

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Anorganická chemie



Tomáš Kruliš

AMINOFOSFINOVÉ KYSELINY

Aminophosphinic acids

Diplomová práce

Vedoucí diplomové práce: doc. RNDr. Vojtěch Kubíček, Ph.D.

Praha, 2015

PROHLÁŠENÍ:

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

V Praze dne 24. srpna 2015

Podpis: _____

Abstrakt

Byly připraveny bis(fosfinové) kyseliny, a to: kyselina 1-hydroxy-ethan-1,1-bis[*N,N*-bis(karboxymethyl)aminomethylfosfinová]; H_6L^1 a kyselina methylenbis[*N,N*-bis(karboxymethyl)aminomethylfosfinová]; H_6L^2 . Obě látky byly charakterizovány pomocí NMR spektroskopie, hmotnostní spektroskopie a elementární analýzy.

Byly studovány acidobazické a komplexotvorné vlastnosti obou ligandů pomocí potenciometrických titrací. Podrobněji byly zkoumány prostřednictvím UV/VIS spektroskopie komplexní částice ligandů s ionty Cu^{2+} v roztoku.

Klíčová slova:

Organofosforová syntéza, bisfosfinové kyseliny, koordinační vlastnosti

Abstract

Two phosphinic acids were prepared: 1-hydroxy-ethan-1,1-bis[*N,N*-bis(karboxymethyl)aminomethyl]phosphinic acid; H_6L^1 and methylenebis[*N,N*-bis(karboxymethyl)aminomethyl]phosphinic acid; H_6L^2 .

Acid-base and complexation properties were studied by potentiometric titrations. Complexes of both ligands with Cu^{2+} ions were studied in detail using UV/VIS spectrometry.

Keywords:

Organophosphorus synthesis, bisphosphinic acids, coordination properties

Obsah

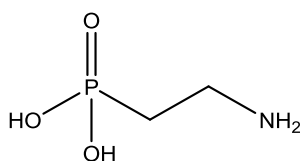
| | |
|--|----|
| Abstrakt | 3 |
| Abstract..... | 4 |
| 1. Úvod | 7 |
| 1.1 Všeobecná struktura a základní vlastnosti aminofosfinových kyselin | 9 |
| 1.2 Koordinační vlastnosti aminofosfinových kyselin | 11 |
| 1.3 Aplikace aminofosfinových kyselin | 14 |
| 1.3.1 Medicinální aplikace aminofosfinových kyselin..... | 14 |
| 1.3.2 Využití aminofosfinových a aminofosfonových kyselin v zemědělství | 17 |
| 2. Cíl práce..... | 19 |
| 3. Experimentální část | 20 |
| 3.1 Použité chemikálie | 20 |
| 3.2 Použité metody měření a přístroje | 20 |
| 3.2.1 Spektroskopie nukleární magnetické resonance (NMR)..... | 20 |
| 3.2.2 Hmotnostní spektrometrie | 20 |
| 3.2.3 Tenkovrstvá chromatografie (TLC) | 21 |
| 3.2.4 Potenciometrické titrace | 21 |
| 3.2.5 UV/VIS spektroskopie | 22 |
| 3.3 Syntéza..... | 23 |
| 3.3.1 Kyselina <i>N, N</i> -bis(karboxymethyl)aminomethylfosfinová, H_3L^0 | 23 |
| 3.3.2 Kyselina 1-hydroxy-ethan-1, 1-bis[<i>N, N</i> -bis(karboxymethyl)aminomethyl fosfinová], $H_6L^1 \cdot 0,5HCl \cdot 3H_2O$ | 24 |
| 3.3.3 Kyselina methylenbis[<i>N, N</i> -bis(karboxymethyl)aminomethylfosfinová], $H_6L^2 \cdot 2HCl \cdot H_2O$ | 26 |
| 4. Výsledky a diskuze..... | 27 |
| 4.1 Syntéza..... | 27 |
| 4.1.1 Syntéza kyseliny 1-hydroxy-ethan-1, 1-bis[<i>N, N</i> -bis(karboxymethyl)aminomethyl fosfinové], H_6L^1 | 27 |
| 4.1.2 Syntéza kyseliny methylenbis[<i>N, N</i> -bis(karboxymethyl)aminomethylfosfinové], H_6L^2 | 28 |
| 4.2 Potenciometrické titrace..... | 29 |
| Acidobazické vlastnosti ligandů H_6L^1 a H_6L^2 | 29 |
| Komplexační vlastnosti ligandů H_6L^1 a H_6L^2 | 32 |
| 5. Závěr..... | 47 |

| | |
|------------------------------------|----|
| Poděkování | 48 |
| 6. Seznam použité literatury | 49 |

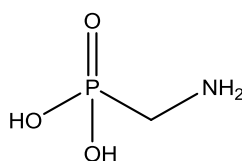
1. Úvod

Aminofosfonové a aminofosfinové kyseliny přitahují pozornost vědců již dlouhou dobu. První vědecké práce zabývající se syntézou aminofosfonových kyselin se datují již od počátku čtyřicátých let 20. století, kdy vznikl patent,¹ zabývající se syntézou aminomethylfosfonové kyseliny a jejích dalších derivátů. Po vzniku této práce zájem o aminofosfonové kyseliny utichl až do nalezení ciliatinu,² neboli kyseliny 2-aminoethanfosfonové (**1**), v bachoru ovce. Následně byla dokumentována přítomnost ciliatinu v tělech mnoha živočichů, bakterií, bezobratlých i některých obratlovců.

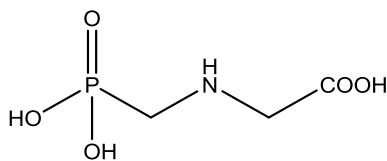
Dalším významným momentem v počátcích výzkumu aminofosfinových a aminofosfonových kyselin bylo zjištění schopnosti kyseliny aminomethylfosfonové (**2**) potlačovat růst tabákových výhonků.³ Komerčně začal být používán až *N*-fosfonomethylglycin (**3**), který byl poprvé připraven v roce 1971 ve společnosti Monsanto.⁴ Komerčně využívaný přípravek byl pojmenován jako glyfos a je užíván jako širokospektrální herbicid. Po vývoji glyfosu bylo syntetizováno mnoho jeho strukturních analogů, z nichž dalšího uplatnění dosáhl derivát aminofosfinové kyseliny, a to kyselina methyl-(3-amino-3-karboxy)propylfosfinová (**4**),⁵ komerčně označovaná jako glufosinát. Glyfos a glufosinát se vyznačují vysokou účinností v kombinaci s dobrou biologickou kompatibilitou. Jejich úspěch zvýšil zájem mnoha vědců i soukromých subjektů o výzkum syntetických postupů pro přípravu dalších aminofosfonových a aminofosfinových kyselin a určení vlastností připravených strukturních analogů.



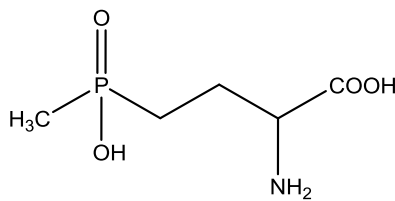
1 – Kyselina aminoethylfosfonová, ciliatin



2 – Kyselina aminomethylfosfonová



3 – *N*-fosfonomethylglycin, glyfos



4 – Kyselina methyl-(3-amino-3-karboxy)propylfosfinová, glufosinát

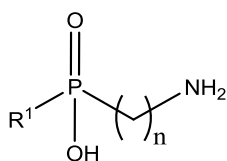
V dnešní době je spektrum možných uplatnění aminofosfinových a aminofosfonových kyselin poměrně široké. Sahá od zmíněných herbicidů, pesticidů přes inhibitory různých enzymů (například HIV proteázy) a receptorů (GABA receptory) až po hledání nových a účinnějších antihypertenziv a antibiotik. Též jsou aminofosfinové kyseliny zkoumány z pohledu možné úpravy povrchů materiálů pro absorpci rozpuštěných kovových iontů (zejména Cu^{2+} a Ni^{2+}).

1. 1 Všeobecná struktura a základní vlastnosti aminofosfinových kyselin

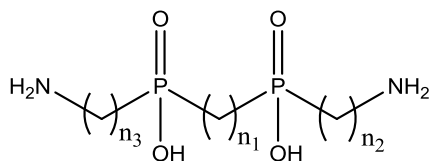
Aminofosfinové kyseliny (**5**) lze popsat jako strukturní analogy aminokarboxylových kyselin. Mezi jejich společné vlastnosti patří kyselý charakter, možnost tvorby obojetných iontů v roztocích (záporně nabitá fosfinátová skupina a kladně nabitá, protonovaná aminoskupina). Rozdíly lze najít ve tvaru kyselé skupiny (karboxylát je planární, zatímco fosfinát zaujímá tvar tetraedru), velikosti (fosfinát je podstatně větší) a bazicitě (fosfinát je méně bazický).

Aminofosfinové kyseliny ve své molekule vždy obsahují atom fosforu, na který je dvojnou vazbou vázán atom kyslíku a jednoduchou vazbou skupina OH. Zbývající dvě vazby jsou, v případě monosubstitovaných aminofosfinových kyselin, využity alkylovým zbytkem obsahujícím atom dusíku ve svém řetězci (nemusí se jednat jen o primární aminoskupinu), a atomem vodíku (takové kyseliny jsou také označovány jako H-fosfinové kyseliny). V případě disubstituovaných aminofosfinových kyselin je atom vodíku nahrazen dalším alkylovým zbytkem.

V případě bis(aminofosfinových) kyselin jsou dvě fosfinátové skupiny propojeny alkylových zbytkem. Alkylový můstek mezi atomy fosforu může být libovolně dlouhý, ale z důvodu využití koordinačních vlastností obou skupin fosfinové kyseliny je tvořen nejčastěji pouze jedním atomem uhlíku. Takové bis(aminofosfinové) kyseliny jsou nazývány geminálními bis(aminofosfinovými) kyselinami.



5 – Kyselina aminofosfinová,
všeobecný vzorec



6 – Kyselina bis(aminofosfinová),
všeobecný vzorec

Aminofosfinové kyseliny kombinují mnoho zajímavých strukturních prvků. V první řadě je to fosfinátová skupina, která je záporně nabitá a může být umístěna uvnitř řetězce, na rozdíl od například karboxylové skupiny, která může být v řetězci jen v terminální poloze.

Dalším strukturním prvkem je vazba atomu uhlíku přímo na atom fosforu, tzv. P–C vazba (v případě geminálních bis(aminofosfinových) kyselin P–C–P vazba), která je často

poměrně stabilní a v biologických podmínkách nehydrolyzuje. Tohoto faktu je hojně využíváno při výzkumu enzymatických procesů a inhibici enzymů (viz. kapitola 1.3.1).

Posledním strukturním prvkem všeobecně přítomným ve všech aminofosfinových kyselinách je aminová skupina, která se může vyskytovat ve formě primárního, sekundárního nebo terciálního aminu. Primární aminoskupina obvykle vytváří charakter pseudo-aminokyseliny, která může utvářet fosfonopeptidy, užívané dále v biochemických výzkumech (viz. kapitola 1.3.1). Všeobecně aminoskupina (případně imino- nebo nitrido skupina) vystupuje jako další donorová skupina pro koordinaci při tvorbě komplexních sloučenin.

Aminofosfinové kyseliny jsou středně silnými kyselinami s pK_{a1} v oblasti od 1 do 4. V roztocích o neutrálním nebo slabě kyselém pH je tedy aminofosfinová kyselina obvykle ve formě podvojného iontu, s deprotonovanými fosfinátovými skupinami a protonovanými aminoskupinami.

1.2 Koordinační vlastnosti aminofosfinových kyselin

Mnoho aplikací aminofosfinových kyselin (viz. kapitola 1.3) využívá jejich schopnosti tvořit koordinační sloučeniny s ionty kovů, ať už při inhibici metaloenzymů, nebo při chelaci kovových iontů za účelem regulace jejich množství v organismu. Z tohoto důvodu je výzkumu koordinačních vlastností aminofosfinových kyselin věnována velká pozornost.

Všeobecně jsou koordinační vlastnosti aminofosfinových kyselin srovnávány s koordinačními vlastnostmi aminokarboxylových kyselin. Aminofosfinové kyseliny jsou méně bazické, fosfinátová skupina má tvar tetraedru a je větší než karboxylátová. Při srovnávání pK_a kyselých OH skupin aminokarboxylových, aminofosfonových a aminofosfinových kyselin získáme pořadí:

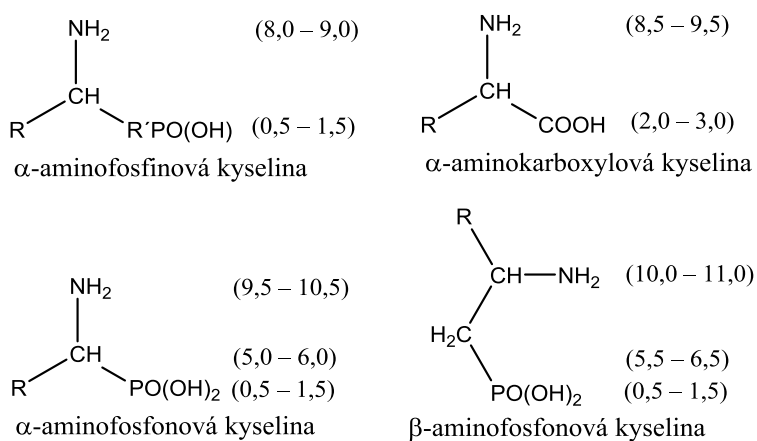


Při sledování pK_a aminoskupiny v těchto látkách bylo zjištěno pořadí:



kteří je v korelaci s elektronově-akceptorním charakterem kyselé skupiny. Vliv elektronově-akceptorního charakteru kyselé skupiny klesá se vzdáleností aminoskupiny od kyselé skupiny.

Tyto trendy zobrazuje též Obrázek 1, spolu s rozsahem hodnot pK_a daných funkčních skupin:



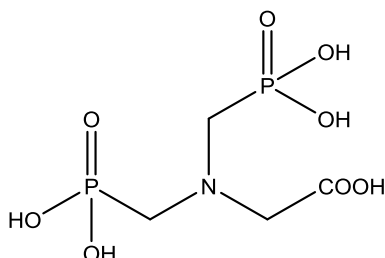
Obrázek 1: Hodnoty pK_a aminokarboxylových, aminofosfonových a aminofosfinových kyselin spolu s jejich obecnými strukturálními vzorci.

Z hlediska schopnosti tvořit komplexy s ionty kovů jsou aminofosfinové kyseliny v porovnání s aminokarboxylovými kyselinami horšími ligandy. Nejčastějším koordinačním módem je bidentátní koordinace prostřednictvím deprotonované OH skupiny a NH_2 skupiny.

V roztocích o nízkém pH je pravděpodobný vznik monodentátní koordinace pomocí deprotonované OH skupiny, protonovaná skupina NH_3^+ se nekoordinuje.

Všeobecně je stabilita komplexů tvořených aminofosfinovými kyselinami ovlivňována basicitou donorových skupin. Čím vyšší je basicita, tím stabilnější bude výsledný komplex. Dalším důležitým faktorem stability komplexu je vzdálenost donorových skupin. Nejdříve dochází ke koordinaci fosfinátové skupiny, která je pak při dostatečně vysokém pH následována koordinací NH_2 skupiny za vzniku pětičlenného kruhu v případě α -aminofosfinové kyseliny, resp. šestičlenného kruhu v případě β -aminofosfinové kyseliny. γ -aminofosfinové kyseliny již sedmičlenné kruhy netvoří. Pro koordinaci aminofosfinových kyselin platí též pravidlo o obecně vyšší stabilitě pětičlenného chelačního kruhu proti šestičlennému.⁶

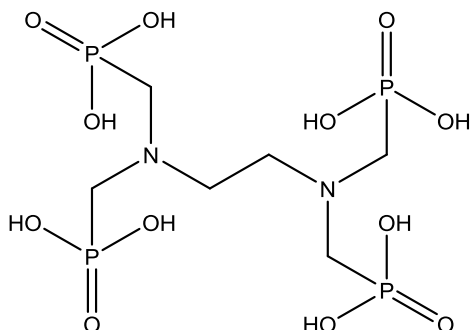
Přítomnost dalších silných donorů též zvyšuje stabilitu komplexu, například při navázání další karboxylové skupiny na aminoskupinu α -aminofosfinové kyseliny za vzniku kyseliny *N*-(karboxymethyl)aminomethylfosfinové se molekula stává mnohem lepším ligandem díky možnosti tridentátní koordinace. Ještě vyšší schopnosti koordinace pak disponuje kyselina *N, N*-bis(fosfonomethyl)aminomethylkarboxylová (**7**) s dvěma fosfonovými skupinami vázanými na aminoskupině.⁷



7 – kyselina *N, N*-bis(fosfonomethyl)aminomethylkarboxylová

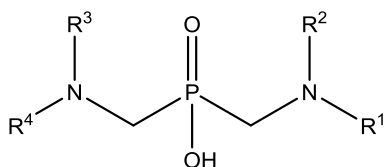
Přítomnost fosfinátové skupiny a aminoskupiny v molekule aminofosfinové kyseliny (resp. aminofosfonové) dává možnost ke vzniku mnoha vodíkových vazeb. V molekule obsahující aminoskupiny (příp. imino, nitrilo skupiny) a fosfinátové skupiny by byla očekávána protonace nejdříve aminoskupin v oblasti pH 8 – 9, následně protonace fosfinátové (resp. fosfonátové) skupiny v oblasti pH 1 (resp. 3). Avšak toto pořadí může být pozměněno tvorbou vodíkového můstku. Například pro kyselinu ethylendiamin-*N, N, N', N'*-tetrakis(methylenfosfonovou), H_8EDTMP (**8**), byla zjištěna první protonace na dusíkovém atomu, avšak změna NMR posunů naznačuje jako místo druhé protonace fosfonátovou skupinu, právě z důvodu vzniku vodíkové vazby mezi protonovaným a deprotonovaným atomem dusíku.⁸

Multidentátní ligandy podobné struktury jako H₈EDTMP často tvoří mononukleární komplexy protonované v oblasti nízkého pH. Konstanty stability komplexů se snižují se zvyšující velikostí iontu kovu, interakce iontu s ligandem je tedy převážně iontového charakteru.⁹

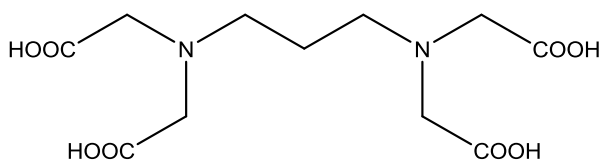


8 – kyselina ethylendiamin *N, N, N', N'*-tetrakis(methylenfosfonová), H₈EDTMP

Pro fosfinátové strukturální analogy **8** platí podobné trendy. Všeobecně je stabilita komplexů nižší než u fosfonátových derivátů z důvodu nižší basicity fosfinátových skupin¹⁰ a jejich menšího náboje. Při studiu derivátů, jejichž obecný vzorec je č. **9**, bylo zjištěno, že přítomnost fosfinátu ve struktuře výrazně snižuje basicitu atomu dusíku snížením elektronové hustoty jeho volného elektronového páru. V případě navázání alespoň jedné methylenkarboxylové skupiny na atom dusíku dochází k dalšímu snižování basicity.¹¹ Avšak při tvorbě komplexních sloučenin s ionty kovů roste stabilita komplexů s rostoucím počtem karboxylových skupin. Pro kyselinu di[*N, N*-bis(karboxymethyl)aminomethyl]fosfinovou (**9**; R¹, R², R³, R⁴ = –CH₂COOH) byla zjištěna podobná nebo vyšší stabilita komplexů než pro kyselinu 1,3-diaminopropan-*N, N, N', N'*-tetraoctovou (**10**). Důvodem je silnější elektrostatická interakce mezi iontem kovu a ligandem.



9 – Obecný vzorec zkoumaných disubstituovaných fosfinových kyselin



10 – kyselina 1,3-diaminopropan-*N, N, N', N'*-tetraoctová

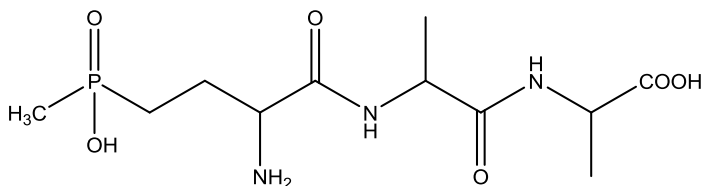
Dále byla u ligandu **9** (R¹, R², R³, R⁴ = –CH₂COOH) pozorována značná tendence tvořit dvoujaderné komplexy M₂L¹¹ s ionty *d*- i *f*-prvků, což u obdobných derivátů NTA nebylo pozorováno.

1.3 Aplikace aminofosfinových kyselin

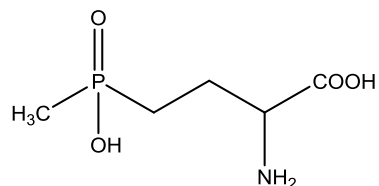
1.3.1 Medicinální aplikace aminofosfinových kyselin

Stále více vyvíjených léčiv v oblasti regulátorů neurální nebo imunitní aktivity má charakter peptidů. Avšak v těchto látkách je obvykle část peptidového řetězce nahrazena strukturálním analogem proteinogenní aminokyseliny. Mezi takovéto analogy patří aminofosfonové a aminofosfinové kyseliny. Aminofosfonové, případně aminofosfinové kyseliny při navázání na peptid tedy vytvoří fosfonopeptid (resp. fosfinopeptid), který dále soupeří s peptidem tvořeným aminokyselinami o interakci s aktivním místem enzymu nebo receptoru. Karboxylová a fosfonová skupina se liší v mnoha ohledech (viz kap. 1.1).

Výzkum aplikace aminofosfinových kyselin jako antibiotik nabyl na významu s objevem bialafosu¹² (**11**), který je přírodním antibiotikem. Mechanismus jeho působení byl popsán¹³ jako aktivní transport bialafosu skrz buněčnou stěnu bakterií pomocí permeázy a následné rozštěpení peptidové vazby pomocí enzymu za uvolnění aminofosfinové kyseliny, která se pak váže na cílový enzym a zamezí jeho činnosti. Bialafos po štěpení uvolňuje fosfinothricin (**12**), který inhibuje činnost enzymu klíčového pro dusíkový metabolismus bakterií.¹²

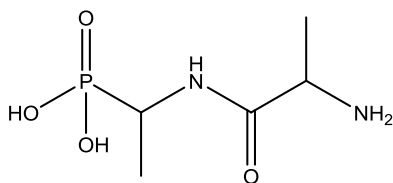


11 – bialafos

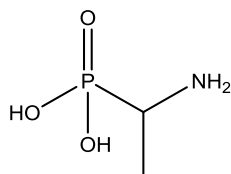


12 – fosfinothricin

Významným výsledkem výzkumu fosfonopeptidů byl objev alafosfalinu¹⁴ (**13**). Tento fosfonopeptid byl vyvíjen jako mimetikum *D*-alanyl-*D*-alaninu, který je důležitý pro tvorbu buněčných stěn bakterií.¹⁵ Alafosfalin vstupuje do bakteriální buňky stejným mechanismem jako bialafos, kde štěpením vzniká fosfonoalanin (**14**), který inhibuje činnost enzymu spolupracujícího na tvorbě buněčných stěn bakteriálních buněk. Alafosfalin je zvažován pro léčbu bakteriálních onemocnění močového traktu.



13 – alafosfalin



14 – fosfonoalanin

Další oblastí medicíny, kde se uplatnily aminofosfinové kyseliny, je léčba vysokého krevního tlaku. Klinické aplikace dosáhl fosinopril (**15**), jako účinná složka přípravku Monopril. Fosinopril je tzv. proléčivem, v lidském těle musí dojít nejdříve k jeho aktivaci. K té dochází v lidské plasmě (viz. Schéma 1),¹⁶ kde fosinopril hydrolyzuje za vzniku volné fosfinové kyseliny, která vysoce účinně inhibuje činnost angiotensin-konvertázy, ACE (z angličtiny angiotensin converting enzyme).¹⁷ Další výhodou fosinoprilu je jeho vylučování, které probíhá kompenzativně, tedy není třeba měnit dávku účinné látky, pokud má jedna z vylučovacích cest omezenou funkci.¹⁸

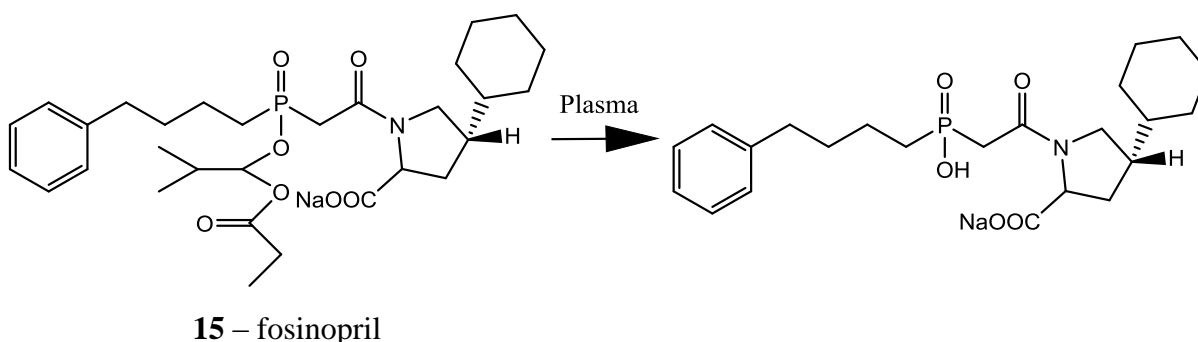
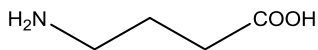


Schéma 1: Hydrolyza fosinoprilu za vzniku účinné látky inhibující ACE

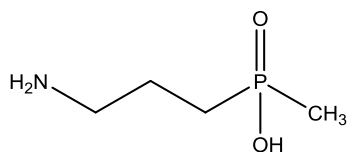
GABA (z angličtiny γ -aminobutyric acid, v překladu kyselina γ -aminobutanová, **16**) je jednou z látek zodpovědných za přenos informací mezi mozkovými buňkami, neurony, patří tedy mezi tzv. neurotransmitery. Neurotransmitery mohou ovlivnit neuron mnoha způsoby, mezi které patří ovlivnění elektrické excitovatelnosti neuronu. Přítomnost neurotransmiteru může ovlivnit tok iontů skrze membránu neuronu ve smyslu buď snížení pravděpodobnosti vzniku akčního potenciálu na druhém neuronu (neurotransmitter pak působí jako inhibitor přenosu), nebo zvýšení pravděpodobnosti (excitační neurotransmitter). GABA je inhibičním neurotransmiterem, který působí na třech typech receptorů označovaných jako GABA_A,¹⁹ GABA_B²⁰ a GABA_C.²¹ Aminofosfinové kyseliny jsou využívány k interakci s GABA_B a GABA_C receptory. Agonisté receptoru GABA_B mohou být využity při léčbě bolesti,²² zatímco antagonisté jako antidepresiva nebo léky proti úzkosti.²³

Při substituci karboxylové skupiny v GABA za metylfosfinátovou skupinu získáme kyselinu 3-aminopropyl(methyl)fosfinovou, označovanou CGP35024 (**17**), která vykazuje vyšší účinek²⁴ než klinicky užívaný přípravek baclofen (**18**). Bohužel má tato látka toxické vedlejší efekty. Kyselina 3-aminopropyl-2-hydroxy(methyl)fosfinová (CGP44533, **19**)

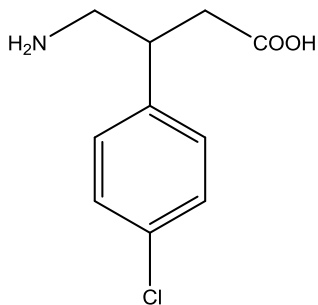
připravená v rámci stejné studie²⁴ již toxické vedlejší efekty nevykazovala a je v klinickém testování jako léčivo křečových onemocnění.



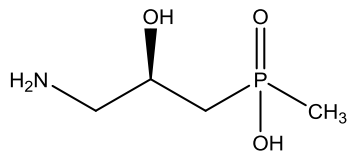
16 – GABA, kyselina γ -aminobutanová



17 – kyselina 3-aminopropyl(metyl)fosfinová, CGP35024



18 – baclofen



19 – Kyselina 3-aminopropyl-2-hydroxy(methyl)fosfinová, CGP44533

V neposlední řadě jsou aminofosfinové kyseliny užívány pro výzkum možných vhodných inhibitorů proteáz. Proteázy jsou enzymy štěpící proteiny. Jejich činnost krom prospěšných metabolických činností může být i projevem nemoci, mezi které patří zánětlivá a nádorová onemocnění, hypertenze a v neposlední řadě AIDS.

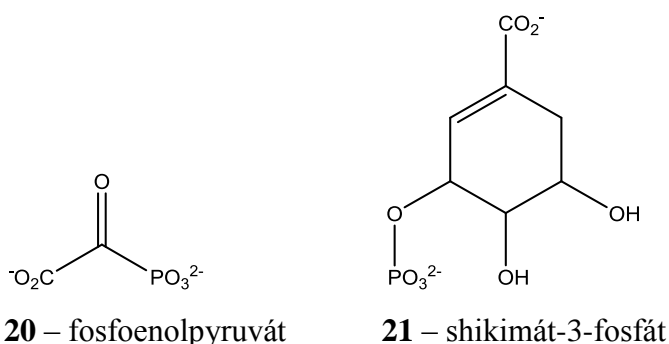
Ve spojitosti s diagnostikou nádorových onemocnění je zkoumána inhibice renální dipeptidázy (RDP). Silný inhibitor by RDP znemožnil štěpení peptidových vazeb imunotvorných peptidů, a protože RDP je silně vylučována nádory v trávicím traktu, mohl by umožnit též detekci těchto nádorů.²⁵ Zatím žádná látka nedosáhla klinické aplikace.

HIV proteáza je enzym důležitý pro infekčnost viru.²⁶ Způsobuje štěpení virových proteinů na několika specifických místech, přičemž během štěpení vzniká na substrátu tetraedrický intermediát.²⁷ Právě napodobením geometrie tohoto intermediátu a navázáním inhibitoru velmi silnými interakcemi je dosaženo inhibice činnosti proteinu. Z tohoto pohledu jsou fosfinové kyseliny zajímavými látkami, protože mají odpovídající geometrii a obsahují dva kyslíkové atomy. Zatím ale žádný inhibitor HIV proteázy na bázi fosfinové kyseliny není v klinickém testování.

1.3.2 Využití aminofosfinových a aminofosfonových kyselin v zemědělství

Jak bylo zmíněno již výše, prvním významným impulzem k výzkumu aminofosfinových a aminofosfonových kyselin byl objev schopnosti aminomethylfosfonové kyseliny potlačovat růst tabákových výhonků. Následující výzkum přinesl výsledky v podobě přípravků glyfos (**3**), glufosinát (**4**) a bilanafos (**11**) (též nazývanému bialafos), které dosáhly komerčního využití.

Glyfos byl objeven Franzem ve společnosti Monsanto v roce 1971.⁴ Glyfos je využíván jako neselektivní, širokospektrální herbicid. Volná fosfonová kyselina je ve vodě poměrně nerozpustná, v užívaném přípravku je tedy ve formě monoisopropylamonné soli. Postřik přípravkem je prováděn na listy, z jejichž plochy je pak *N*-fosfonomethylglycin metabolickými cestami distribuován do celého těla rostlin, včetně kořenů, čímž umožňuje likvidaci i vytrvalých plevelů. Glyfos působí jako kompetitivní inhibitor reakce fosfoenolpyruvátu (**20**) s shikimát-3-fosfátem (**21**)²⁸ tím, že se váže na aktivní místo enzymu a vytváří stabilní ternární komplex s shikimát-3-fosfátem.²⁹



Z pohledu biologické odbouratelnosti je glyfos též vhodný k použití. Jeho degradaci v půdě nebo povrchových vodách pomocí mikroorganismů vzniká aminomethylfosfonová kyselina, která se dále rozkládá na CO₂, NH₃ a anorganické fosfáty. Dalším produktem degradace je glyoxalát, který podléhá dalšímu rozkladu na oxid uhličitý a vodu.³⁰

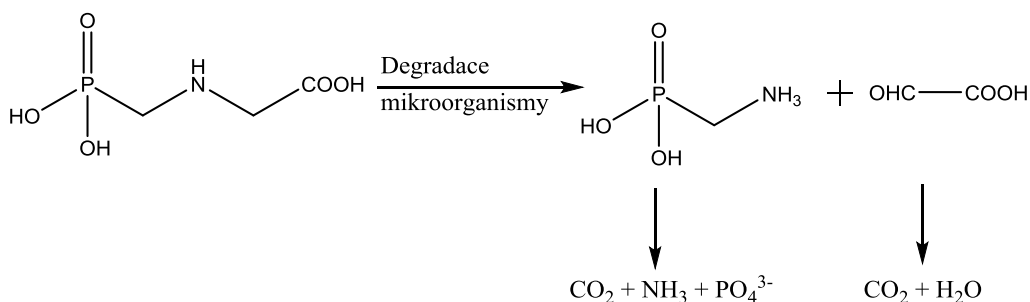
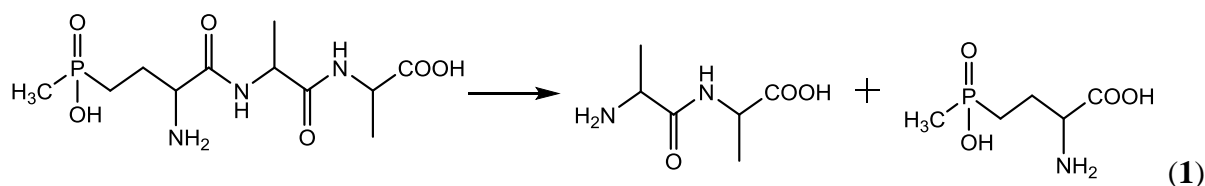


Schéma 2: Degradace glyfosu pomocí mikroorganismů v půdě a povrchových vodách

Glufosinát (**4**) byl připraven krátce po izolaci bilanafosu (**11**) z bakterií *Streptomyces viridochromogenes*.¹² U obou těchto látek byly prokázány bakteriocidní, fungicidní a herbicidní vlastnosti.⁵ Obě látky jsou v konečném přípravku ve formě svých anorganických solí, glufosinát jako amonná sůl a bilanafos jako sodná sůl.³¹ Obě látky jsou opět neselektivními, širokospektrálními herbicidy, avšak narozdíl od glyfosu již nedosahují tak dobré systémové distribuce.

Glufosinát (a stejně tak i bilanafos, který se v těle rostliny rozkládá na glufosinát a alanyl-alanin, reakce **1**) v těle rostliny inhibuje enzym glutamin syntázu, který katalyzuje přeměnu *L*-glutaminu na *L*-glutamát.³²



V průběhu enzymatické reakce vzniká γ -glutamyl fosfát, který reaguje s amoniakem za vzniku tetraedrického intermediátu. Po odštěpení fosfátu vzniká glutamát (Schéma 3). Glyfosinát je strukturně podobný s kyselinou glutamovou, pouze místo karboxylové skupiny má na konci svého řetězce metylfosfinátovou skupinu. Tento rozdíl zaniká při tvorbě tetraedrického intermediátu, kdy je řetězec intermediátu ukončen tetraedrem. Glyfosinát (respektive fosforylovaná forma glyfosinátu (**22**)) napodobuje strukturu tetraedrického intermediátu a tvoří s enzymem velmi stabilní komplex, čímž enzymu znemožní další činnost.³³ V rostlinné buňce pak dochází k akumulaci amoniaku, znemožnění činnosti chloroplastů a zamezení fotosyntéze.³⁴

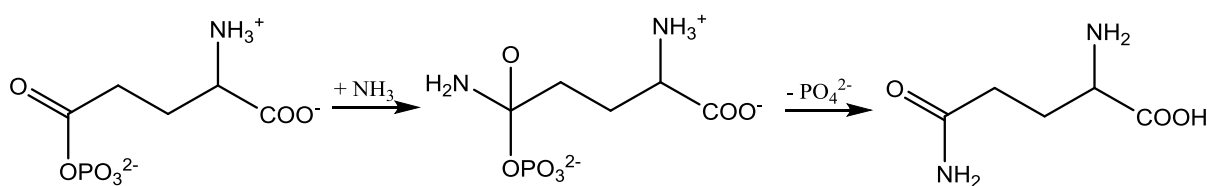
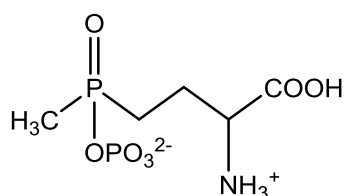


Schéma 3: Funkce glutamin syntázy

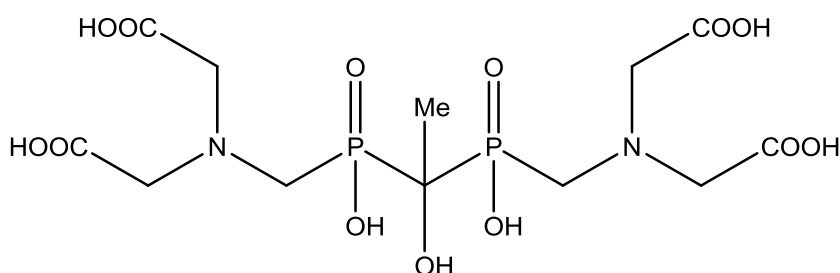


22 – fosforyl-glyfosinát

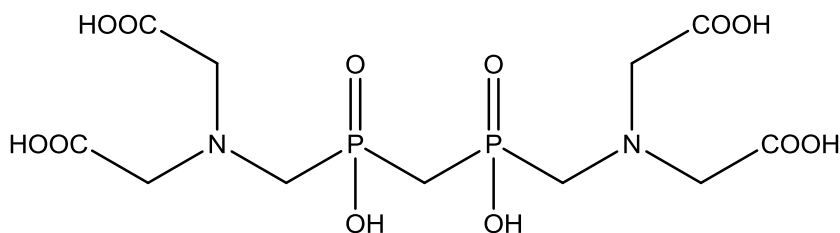
2. Cíl práce

Fosfinové a aminofosfinové kyseliny jsou látky nabízející mnoho způsobů užití, viz kap. 1. Tato práce navazuje na již dříve publikovanou práci vytvořenou v naší laboratoři³⁵.

Cílem této práce byla příprava kyseliny 1-hydroxy-ethan-1,1-bis[*N,N*-bis(karboxymethyl)aminomethyl]fosfinové; H_6L^1 a kyseliny methylenbis[*N,N*-bis(karboxymethyl)aminomethyl]fosfinové; H_6L^2 a studie koordinačních vlastností těchto ligandů.



kyselina 1-hydroxy-ethan-1,1-bis[*N,N*-bis(karboxymethyl)aminomethyl]fosfinová; H_6L^1



kyselina methylenbis[*N,N*-bis(karboxymethyl)aminomethyl]fosfinová; H_6L^2

3. Experimentální část

3.1 Použité chemikálie

Pro syntézu a přípravu roztoků iontů kovů byly použity chemikálie z komerčních zdrojů (Aldrich, Fluka, Lach-Ner, Lachema, Linde)

Deionizovaná voda byla získána reverzní osmózou.

Sušená rozpouštědla: CH_2Cl_2 :

1 l CH_2Cl_2 byl přelit do baňky o objemu 2 l. K CH_2Cl_2 bylo přisypáno P_2O_5 , dokud se v roztoku po zamíchání nepohybovaly volné částice prachu P_2O_5 . Baňka byla uzavřena zátkou a ponechána stát 2 dny. Poté byla provedena destilace CH_2Cl_2 . Destilace byla ukončena při dosažení přibližně 900 ml suchého CH_2Cl_2 .

3.2 Použité metody měření a přístroje

3. 2. 1 Spektroskopie nukleární magnetické resonance (NMR)

^{31}P NMR spektra byla měřena na spektrometru Varian VNMRS 300 (rezonanční frekvence: ^1H 299,94 MHz, ^{13}C 75,4 MHz a ^{31}P 121,4 MHz), ^1H a ^{13}C na spektrometru Bruker Avance III 600 MHz (rezonanční frekvence: ^1H 600,17 MHz, ^{13}C 150,93 MHz a ^{31}P 242,97 MHz). Pro měření byly použity 5 mm kyvety. Teplota měření byla 25 °C. ^1H NMR spektra byla měřena v D_2O (reference: $\delta = 4.79$ ppm, s, H_2O nebo $t\text{-BuOH}$ $\delta = 1.25$ ppm, s, C-CH_3). Pro vyhodnocení ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ NMR spekter byl použit externí standart $t\text{-BuOH}$ ($\delta = 30,29$ ppm, s, C-CH_3) a pro ^{31}P spektra byl jako reference použit externí standart 85% H_3PO_4 ($\delta = 0$ ppm, s).

3. 2. 2 Hmotnostní spektrometrie

Hmotnostní spektra byla měřena na spektrometru Bruker ESQUIRE 3000 se zdrojem iontů získaných metodou ESI (Electrospray ionization) a detekcí pomocí IT (Ion trap). Spektra byla měřena v pozitivním (+) i negativním (–) módu.

3. 2. 3 Tenkovrstvá chromatografie (TLC)

Chromatografie na tenké vrstvě byly prováděny na hliníkových destičkách s vrstvou silikagelu impregnovaným fluorescenčním barvivem (Merck 1,0554 F₂₅₄).

Detekce: TLC destička byla nejdříve několik minut zahřívána pomocí horkovzdušné pistole. Po vysušení byla ponořena do roztoku KMnO₄; složení: 1 g KMnO₄ a 2 g Na₂CO₃ ve 100 ml vody. Z tohoto roztoku byla destička po krátké chvíli vyndána a opláchnuta proudem horké vody.

3. 2. 4 Potenciometrické titrace

Titrace byly provedeny v nádobě termostatované na 25 ± 0,1 °C při konstantní iontové síle $I(\text{NMe}_4\text{Cl}) = 0,1 \text{ M}$ v rozmezí pH 1,5 – 12 nebo 2 – 12, v případě iontů La³⁺ a Lu³⁺ do vzniku sraženiny hydroxidů těchto iontů. V průběhu měření byly měřené roztoky udržovány v atmosféře Ar udržované konstantním průtokem plynu syceného parami roztoku NMe₄Cl o iontové síle 0,1 M.

Pro měření byla použita skleněná elektroda GK2401C. Jako pH–metr byl použit přístroj Radiometer PHM240 napojený na počítač. Titrační roztok byl přidáván automatickou byretou ABU 900 o maximálním objemu 2 ml. Každá titrace byla provedena třikrát až čtyřikrát s počtem nejméně 50 titračních bodů.

Jako titrační roztok byl použit NMe₄OH o koncentraci 0,21507 mol/dm³. Počáteční objem titrovaného roztoku se pohyboval okolo 5 ml a byl určen s přesností na 3 desetinná místa. Koncentrace ligandu v měřicí nádobce byla přibližně 0,004 M. Určení konstant stability komplexů ligandů s ionty kovů byla prováděna v poměru ligand:kov 1:1 a 1:2. Konstanty stability hydroxokomplexů testovaných iontů kovů byly získány z reference³⁶, stejně jako hodnota součinu vody $\text{p}K_w = 13,81$ pro $I(\text{NMe}_4\text{Cl}) = 0,1$ a teplotu 25°C. Protonizační konstanty ligandů a konstanty stability komplexů s ionty kovů byly vypočteny pomocí programu OPIUM.³⁷ Program používá k proložení experimentálních bodů křivkovou funkci nelineární regrese s metodou nejmenších čtverců. Hodnoty parametrů elektrody byly získány z kalibrační titrace použitím kalibrační funkce

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

kde E_0 je standartní elektrodový potenciál, S je Nernstovská směrnice, J_A a J_B jsou koeficienty popisující kyselou a basickou chybu elektrody a K_w je iontový součin vody. Kalibrační titrace byla prováděna vždy před a po každé titraci.

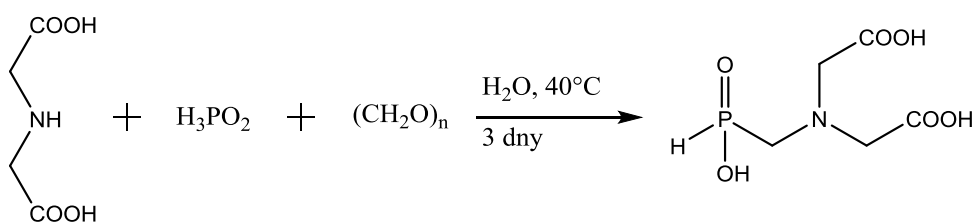
Z naměřených dat byly programem určeny celkové rovnovážné konstanty β . Protonizační konstanta je definována dle vztahu $\beta_{hl} = [H_n L_1] / [H^+]^h \cdot [L^{n-}]^l$ a konstanta stability vztahem $\beta_{mhl} = [M_m H_n L_1] / [M^{x+}]^m [H^+]^h \cdot [L^{n-}]^l$. Vztah mezi celkovou konstantou β a konsektivní konstantou pK je pak definován jako $pK_n = \log \beta_n - \log \beta_{(n-1)}$.

3.2.5 UV/VIS spektroskopie

UV/VIS spektra byla měřena na jednopaprskovém spektrometru Specord 50 PLUS (měřicí rozsah 190 – 1100 nm). Šířka štěrbinu monochromátoru přístroje je 1,4 nm. Přístroj byl ovládán z externího PC prostřednictvím program WinASPECT PLUS. Měření UV spekter bylo prováděno v kyvetách o tloušťce 1 mm, měření VIS spekter v kyvetách o tloušťce 1 cm. Před měřením každé sady spekter bylo provedeno měření reference, kterou byla deionizovaná voda.

3. 3 Syntéza

3. 3. 1 Kyselina *N,N*-bis(karboxymethyl)aminomethylfosfinová, H_3L^0



Do baňky o objemu 500 ml, opatřené magnetickým míchadlem a refluxním chladičem, bylo naváženo 10,04 g (75,4 mmol) kyseliny iminodioctové. Za laboratorní teploty bylo do baňky přilito 100 cm³ vody. Tato směs byla míchána a zahřívána na teplotu 40 °C na vodní lázni. Během 10 minut bylo do směsi postupně přilito z odměrného válce 40 cm³ (0,38 mmol) 50% roztoku H₃PO₂. V průběhu přidávání H₃PO₂ se dosud nerozpuštěná kyselina iminodioctová rozpustila. Během následující hodiny bylo do reakční směsi postupně přidáno 2,5 g (83,4 mmol) (CH₂O)_n. Do vzniklé reakční směsi bylo ještě přidáno 40 kapek koncentrované HCl. Reakce byla ponechána míchat při 40 °C po dobu 3 dnů. Kyselina *N,N*-bis(karboxymethyl)aminomethylfosfinová se vyloučila ve formě výrazné bílé sraženiny nerozpustné v reakční směsi. Produkt byl odfiltrován na skleněné fritě S3 a rozpuštěn v destilované vodě o teplotě 55 °C. Do vzniklého roztoku bylo za horka přidáno 40 kapek koncentrované HCl, baňka byla uzavřena a ponechána k rekrystalizaci v lednici. Po týdnu byly vyloučené bílé krystaly zfiltrvány na skleněné fritě S3 a promyty malým množstvím vody. Filtrát byl zahuštěn na vakuové odparce a byla z něj provedena další rekrystalizace. Krystaly byly sušeny týden až dva v exsikátoru s náplní P₂O₅, poté byly zváženy. Výtěžek reakce činil 8,88 g (56 %).

Charakterizace:

NMR (D₂O, NaOD, pD = 12): ¹H: δ 2,70 (d, 2H, P-CH₂, ²J_{PH} = 12,0 Hz); δ 3,24 (s, 4H, CH₂-COOH); δ 6,98 (d, 1H, P-H, ¹J_{PH} = 516 Hz)

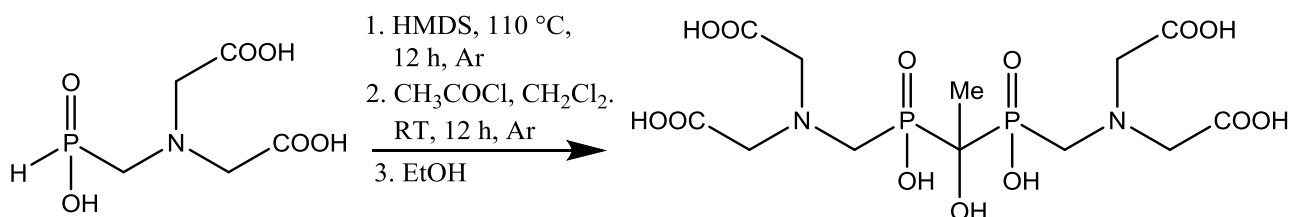
¹³C {¹H}: δ 56,1 (d, P-CH₂, ¹J_{CP} = 105,7 Hz); δ 60,4 (d, CH₂-COOH, ³J_{CP} = 6,0 Hz); δ 179,9 (s, CH₂-COOH)

³¹P: δ 23,9 (dt, ¹J_{PH} = 516 Hz, ²J_{PH} = 12,0 Hz)

MS (ESI): (-) 210,0 (M-H⁺)⁻, vypočteno 210,1; 421,2 (2M-H⁺)⁻, vypočteno 421,2.

(+) 212,3 (M+H⁺)⁺, vypočteno 212,1; 234,3 (M+Na⁺)⁺, vypočteno 234,1.

3. 3. 2 Kyselina 1-hydroxy-ethan-1, 1-bis[*N, N*-bis(karboxymethyl)aminomethyl fosfinová], $H_6L^{1.0,5}HCl.3H_2O$



Do trojhrdlé baňky o objemu 500 ml s vloženým magnetickým míchadlem umístěné v olejové lázni bylo nasypáno 5,76 g (27,3 mmol) kyseliny *N,N*-bis(karboxymethyl)aminomethylfosfinové. Na boční vývod baňky byl nasazen kohout s napojeným přívodem argonu. Druhý boční vývod baňky byl uzavřen zátkou. Na prostřední vývod byl umístěn refluxní chladič. Na vývod chladiče byl nasazen kohout připojený na membránovou vývěvu.

Následně byla aparatura sekurována (aparatura byla evakuována a následně naplněna argonem, tento proces byl 3x opakován). Poté byl výrazně zvýšen průtok argonu, přívod vedoucí k membránové vývěvě byl odpojen a odvod kohoutu byl zakončen bublačkou, zátku ve vývodu baňky byla vyměněna za septum. Stále za zvýšeného proudu argonu byl vyjmut kohout napojený na vývod chladiče, místo něj byla napojena zábrusová nálevka a co nejrychleji bylo přes chladič v protiproudu argonu nalito do baňky 100 cm³ (0,483 mol) hexamethyldisilazanu. Následně byla nálevka vyměněna za kohout napojený na bublačku a proud argonu byl snížen na přibližně 3 bubliny za 5 vteřin. Reakční směs byla zahřívána za míchání přes noc na teplotu 110 °C, při teplotě přibližně 80 °C došlo k rozpuštění fosfinové kyseliny a vzniku mírně zakaleného roztoku.

Druhý den byla baňka vyjmuta z olejové lázně a ponechána vychladnout na laboratorní teplotu. Do baňky bylo přidáno injekční stříkačkou 200 cm³ suchého CH₂Cl₂ přes septum. Přes septum z injekční stříkačky byl dále postupně po kapkách přidán roztok 1,13 g (14,4 mmol) CH₃COCl v 20 cm³ suchého CH₂Cl₂ a reakční směs byla ponechána za laboratorní teploty, míchání a mírného proudu argonu přes noc.

Další den bylo do kádinky o objemu 1 dm³ opatřené velkým míchadlem nalito 500 cm³ EtOH. Do reakční směsi byla skrz septum zavedena kanula, jež byla druhým koncem ponořena v míchaném roztoku EtOH v kádince. Uzavřením kohoutu vedoucím k bublačce a zvýšením tlaku přiváděného argonu bylo dosaženo postupného převedení reakční směsi do kádinky s EtOH. Produkt se vysrážel ve formě naoranžovělé sraženiny.

Sraženina byla odfiltrována na fritě S4. Pevná fáze byla poté rozpuštěna v malém množství vody a zbavena části nečistot na silném aniontovém iontoměnič (DOWEX 1x2,

OH⁻ cyklus, objem kolony cca 300 cm³). Po nanesení reakční směsi na iontoměnič byl iontoměnič promýván vodou až do neutrálního pH vytékajícího roztoku. Následně byla použita gradientová eluce, kdy se složení mobilní fáze měnilo po 600 cm³, v pořadí 10% CH₃COOH, 50% CH₃COOH a předčištěná směs byla uvolněna 3% roztokem HCl. Dále bylo přistoupeno k sloupcové chromatografii na silikagelu. Předčištěná směs byla rozpuštěna ve vodě a nanášena na chromatografickou kolonu. Produkt znečištěný malým množstvím fosfonátu, jež pravděpodobně vzniká oxidací fosfinové kyseliny, byl eluován směsí THF:MeOH:NH₄OH 1:12:5. Produkt byl pak převeden na volnou kyselinu na iontoměniči DOWEX 1x2 adsorpcí na iontoměnič v OH⁻ cyklu a elucí pomocí 3% HCl. Nakonec byl produkt dočištěn chromatografií na silikagelu s eluční směsí *i*-PrOH:MeOH:NH₄OH 1:2:5. Produkt byl opět nanášen na chromatografickou kolonu jako vodný roztok. Izolovaný produkt ve formě pevného odparku byl pak rozpuštěn v co nejmenším množství vody, nanášen na aniontový iontoměnič (DOWEX 1x2, OH⁻ cyklus, objem kolony cca 200 cm³) a promýván vodou až do neutrálního pH vytékajícího roztoku. Produkt byl opět eluován roztokem 3% HCl. Po odpaření elučního roztoku byl mírně nažloutlý prášek rozpuštěn ve vodě a přefiltrován s aktivním uhlím. Produkt byl izolován jako hemihydrochlorid trihydrát, H₆L¹.0,5HCl.3H₂O

Výtěžek syntézy činil 1,64 g, což je 26 %.

Charakterizace:

NMR (D₂O, pD = 0,6) ¹H: δ 1,55 (t, 3H, C-CH₃, ³J_{PH} = 18,0 Hz); δ 3,61 (m, 4H, P-CH₂); δ 4,36 (m, 8H, CH₂-COOH).

¹³C {¹H}: δ 17,9 (s, C-CH₃); δ 50,5 (m, P-CH₂); δ 55,7 (s, CH₂-COOH);

δ 75,2 (t, C-CH₃, ¹J_{PC} = 105,7 Hz); δ 168,3 (s, CH₂-COOH)

³¹P: δ 27,09 (s)

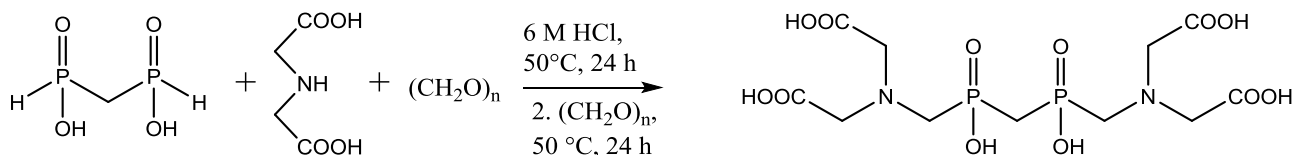
MS (ESI): (-) 463,4 (M-H⁺)⁻

(+) 465,6 (M+H⁺)⁺; 487,6 (M+Na⁺)⁺; 503,6 (M+K⁺)⁺

EA (pro H₆L¹.0,5HCl.3H₂O): C: 26,0 %; H: 5,1 %; N: 5,0 %; P: 10,8 %; Cl: 3,4 %;

(vypočteno: C: 26,4 %; H: 5,4 %; N: 5,1 %; P: 11,4 %, Cl: 3,3 %).

3. 3. 3 Kyselina methylenbis[*N, N*-bis(karboxymethyl)aminomethylfosfinová], H₆L²·2HCl·H₂O



V baňce o objemu 100 cm³, opatřené magnetickým míchadlem, byl rozpuštěn 1,0 g (6,94 mmol) kyseliny methylenbisfosfinové spolu s 2,77 g (20,9 mmol) kyseliny iminodioctové a 0,83 g (27,8 mmol) paraformaldehydu v 30 ml 6 M kyseliny chlorovodíkové. Reakční směs byla zahřívána na teplotu 50 °C po dobu jednoho dne. Následně bylo do reakční směsi přidáno dalších 0,83 g paraformaldehydu (27,8 mmol). Reakční směs byla ponechána reagovat další den stále při teplotě 50 °C.

Poté byla reakční směs odpařena dosucha na vakuové odparce, odparek byl rozpuštěn v malém množství vody a převeden na silný aniontový iontoměnič (DOWEX 1x2, OH⁻ cyklus). Zde byl promyt vodou, 20 % kyselinou octovou pro odstranění přebytečné kyseliny iminodioctové a 3% HCl pro eluci produktu. Frakce HCl byla pak odpařena dosucha, pevný odparek byl rozpuštěn a rekrystalizován z horké vody. Vzniklá pevná fáze produktu byla odfiltrována na fritě S3 a dosušena ve vakuovém exsikatoru naplněném P₂O₅. Produkt byl izolován jako dihydrochlorid monohydrát, H₆L²·2HCl·H₂O.

Výtěžek syntézy činil 50 %.

Charakterizace:

NMR (D₂O; pD = 2) ¹H: δ 2,73 (t, 2H, P-CH₂-P, ²J_{PH} = 17 Hz); δ 3,58 (d, 4H, P-CH₂-N, ²J_{PH} = 11 Hz); δ 4,40 (s, 8H, CH₂-COOH).

¹³C {¹H}: δ 36,9 (t, P-CH₂-P, ¹J_{PC} = 84 Hz); δ 55,3 (d, P-CH₂-N, ¹J_{PC} = 93 Hz); δ 55,9 (s, CH₂-COOH); δ 168,6 (s, CH₂-COOH).

³¹P {¹H}: δ 22,3 (s)

MS (ESI): (-) 432,9 (M-H⁺)⁻

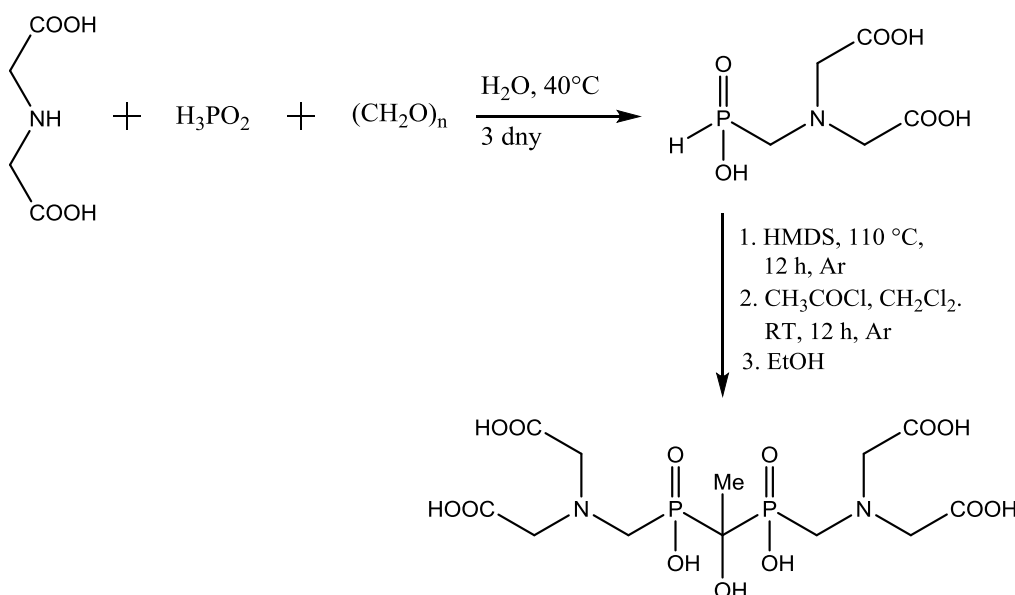
(+) 432,1 (M+H⁺)⁺; 457,1 (M+Na⁺)⁺; 473,0 (M+K⁺)⁺

EA (pro H₆L²·2HCl·H₂O): C: 25,2 %; H: 4,6 %; N: 5,3 % (vypočteno: C: 25,1 %; H: 4,6 %; N: 5,3 %)

4. Výsledky a diskuze

4.1 Syntéza

4.1.1 Syntéza kyseliny 1-hydroxy-ethan-1, 1-bis[*N,N*-bis(karboxymethyl)aminomethyl fosfinové], H_6L^1



Látka H_6L^1 byla připravena modifikací postupu popsáném v bakalářské práci.³⁸ Prekurzorem pro přípravu H_6L^1 je kyselina *N,N*-bis(karboxymethyl)aminomethyl fosfinová (H_3L^0), připravená již dříve v naší laboratoři.³⁹ Látka H_3L^0 je připravena reakcí Mannichovského typu kyseliny fosforové, paraformaldehydu a kyseliny iminodiacetové ve vodě za zvýšené teploty. Po 3 dnech je vyloučená pevná fáze H_3L^0 odfiltrována z reakční směsi a rekrystalována ve výtěžku ~60 %.

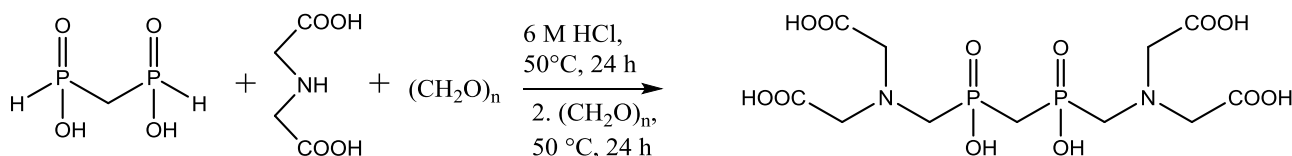
Ligand H_6L^1 pak vzniká dvoustupňovou reakcí z H_3L^0 . Prvním krokem je silylace H_3L^0 hexametyldisilazanem. Poté je bez izolace intermediátu do reakční směsi přidán roztok CH_3COCl v CH_2Cl_2 . Nejdříve dochází k substituci Cl^- v molekule CH_3COCl za vzniku ketofosfinátu. Následně se aduje další molekula L^0 na karbonylovou skupinu ketofosfinátu za vzniku L^1 . Posledním reakčním krokem je hydrolyza chránících skupin za vzniku produktu.

Čištění produktu vyžaduje několik čistících operací zahrnujících sloupcovou chromatografii a iontové výměny na iontoměničích. Pro úplné odstranění nečistot je třeba provést dvě chromatografie. Ligand H_6L^1 má nízkou rozpustnost v obou nalezených mobilních směsích pro sloupcovou chromatografii a je třeba jej nanášet na chromatografickou kolonu ve formě vodného roztoku. Obě chromatografické směsi obsahují NH_4OH a po každé

chromatografii je třeba převést ligand pomocí aniontového iontoměníče na volnou kyselinu pro zvýšení jeho rozpustnosti. Nakonec je provedena filtrace s aktivním uhlím pro odstranění stopových znečištění.

Navzdory vysoké konverzi reakce bylo dosaženo výtěžku 26 %, z důvodu komplikované separace produktu.

4.1.2 Syntéza kyseliny methylenbis[*N,N*-bis(karboxymethyl)aminomethylfosfinové], H_6L^2



Ligand H_6L^2 byl připraven dvoustupňovou reakcí Mannichovského typu. Kyselina methylenbis(fosfinová), získaná hydrolýzou komerčně dostupného bis(dichlorofosfino) methanu, reaguje s přebytkem kyseliny iminodioctové a paraformaldehydu v 6 M HCl za teploty 50 °C. Po čištění chromatografií na iontoměníči je z horké vody rekrystalován čistý produkt ve formě dihydrochloridu.

4.2 Potenciometrické titrace

Pomocí potenciometrických titrací byly zjištěny protonizační konstanty ligandů H_6L^1 a H_6L^2 , spolu s konstantami stability jejich komplexů s Cu^{2+} , Zn^{2+} , Ni^{2+} , La^{3+} , Eu^{3+} a Lu^{3+} .

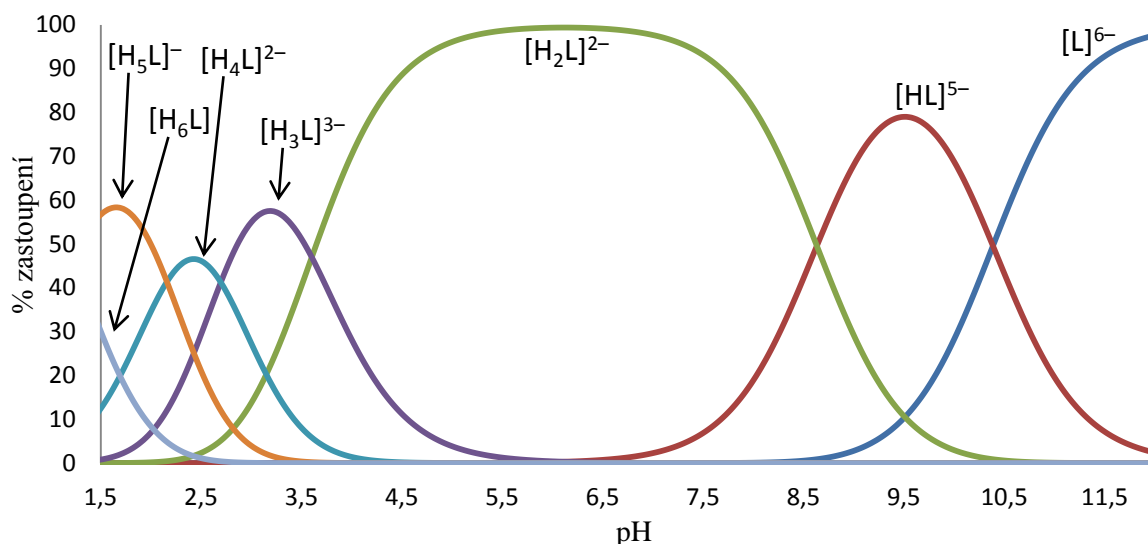
Acidobazické vlastnosti ligandů H_6L^1 a H_6L^2

Pro oba ligandy bylo stanoveno 6 celkových protonizačních konstant (β) (Tabulka 1). Hodnoty pK_{a1} a pK_{a2} obou ligandů svými hodnotami odpovídají protonaci dusíkových atomů. Hodnoty $pK_{a3} - pK_{a6}$ odpovídají protonaci karboxylových skupin. Hodnoty pK_a fosfinátů obvykle nelze stanovit pomocí potenciometrické titrace, což platí i pro zkoumané ligandy. Titrace byly prováděny v rozsahu $pH = 1,5 - 12$.

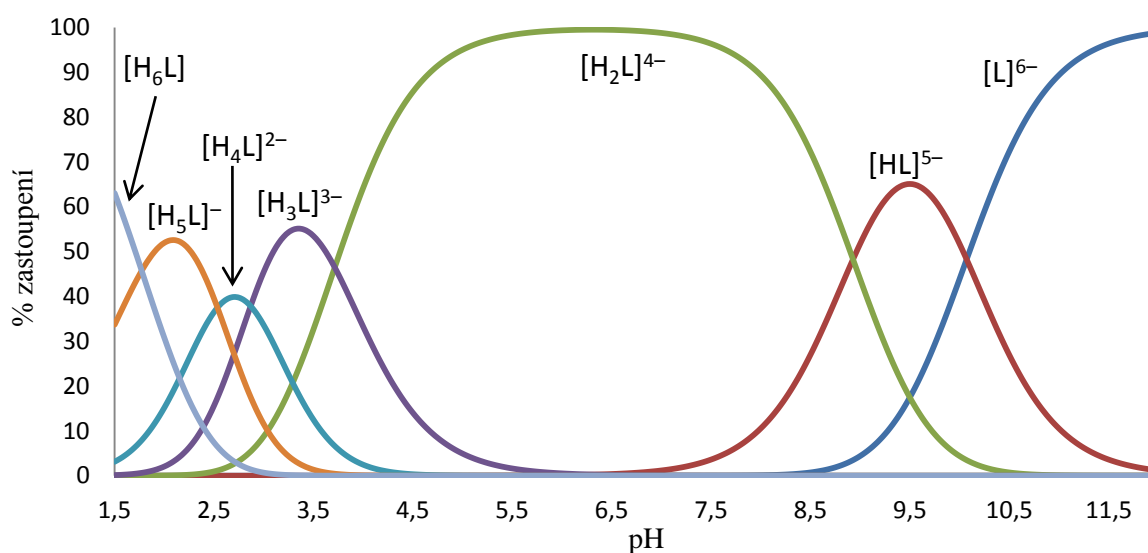
Distribuční diagramy obou zkoumaných ligandů (Obrázky 2 a 3) jsou si velmi podobné. Na počátku titrace jsou v měřeném roztoku přítomny částice $[H_6L]$, $[H_5L]^-$ a $[H_4L]^{2-}$. V oblasti $pH 1,5 - 4$ dochází k postupné deprotonaci karboxylových skupin ligandu. Žádná částice nemá v této oblasti pH dominantní zastoupení. S deprotonací poslední karboxylové skupiny vzniká částice $(H_2L)^{4-}$, která převládá až do $pH 8,5$. Při $pH 8,5$ se jako převládající částice tvoří $(H_1L)^{5-}$ s jedním deprotonovaným atomem dusíku. Při tomto pH také začíná vznikat plně deprotonovaná částice $(L^1)^{6-}$. Při $pH 9,5$ dosahuje částice $(H_1L)^{5-}$ maxima zastoupení a začíná zanikat ve prospěch tvorby částice $(L^1)^{6-}$, která od $pH 11$ převládá v roztoku.

Tabulka 1: Celkové protonizační konstanty (β) forem H_6L^1 a H_6L^2 v roztoku a odpovídající disociační konstanty. ($T = 25\text{ }^\circ\text{C}$, $I = 0,1\text{ M NMe}_4\text{Cl}$ a $c_{\text{lig}} = 4\text{ mmol/dm}^3$).

| H_6L^1 | | | | H_6L^2 | | | |
|----------------------|----------|-----------|-------|----------------------|----------|-----------|-------|
| $\beta[H_1L^1]^{5-}$ | 10,39(1) | pK_{a1} | 10,39 | $\beta[H_1L^2]^{5-}$ | 10,07(1) | pK_{a1} | 10,07 |
| $\beta[H_2L^1]^{4-}$ | 19,02(1) | pK_{a2} | 8,63 | $\beta[H_2L^2]^{4-}$ | 19,00(1) | pK_{a2} | 8,93 |
| $\beta[H_3L^1]^{3-}$ | 22,62(1) | pK_{a3} | 3,60 | $\beta[H_3L^2]^{3-}$ | 22,71(1) | pK_{a3} | 3,71 |
| $\beta[H_4L^1]^{2-}$ | 25,32(1) | pK_{a4} | 2,70 | $\beta[H_4L^2]^{2-}$ | 25,57(1) | pK_{a4} | 2,86 |
| $\beta[H_5L^1]^-$ | 27,48(2) | pK_{a5} | 2,16 | $\beta[H_5L^2]^-$ | 28,11(1) | pK_{a5} | 2,54 |
| $\beta[H_6L^1]$ | 28,70(2) | pK_{a6} | 1,22 | $\beta[H_6L^2]$ | 29,88(1) | pK_{a6} | 1,77 |



Obrázek 2: Distribuční diagram ligandu H_6L^1 ($c_{\text{lig}} = 4 \text{ mmol/dm}^3$; $I(\text{NMe}_4\text{Cl}) = 0,1 \text{ mol/dm}^3$; $T = 25^\circ\text{C}$).



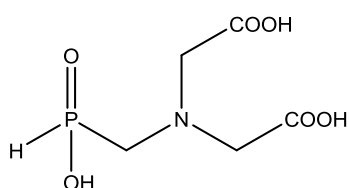
Obrázek 3: Distribuční diagram ligandu H_6L^2 ($c_{\text{lig}} = 4 \text{ mmol/dm}^3$; $I(\text{NMe}_4\text{Cl}) = 0,1 \text{ mol/dm}^3$; $T = 25^\circ\text{C}$).

Ligandy H_6L^1 a H_6L^2 mají velmi podobné hodnoty pK_a . Z vybraných strukturně podobných ligandů (H_3L^0 , $H_5L^3 - H_3L^7$, $H_3\text{NTA}$; Tabulka 2) mají ligandy H_6L^1 a H_6L^2 jedny z nejvyšších hodnot pK_{a1} , vyšší má jen H_3L^6 , velmi blízké (nižší hodnoty) pak dosahují ligandy H_5L^3 a $H_3\text{NTA}$. Bazicitu aminoskupin jednoduchých analogů kyseliny nitrilotrioctové (H_3L^0 , H_4L^6) i bis(aminomethyl)fosfinátů (H_5L^3 , HL_5) odpovídá obecnému trendu aminofosfinát < aminokarboxylát < aminofosfonát. Z tohoto trendu oba studované

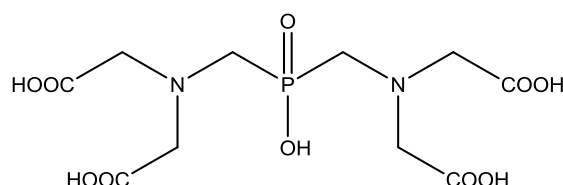
ligandy vybočují. V případě ligandů H_6L^1 a H_6L^2 dochází pravděpodobně k tvorbě vodíkových můstků mezi protonem na atomu dusíku a vzdálenější fosfinátovou skupinou, podobně jako u ligandu H_2L^4 , kde byly tyto vodíkové můstky nalezeny rentgenostrukturní analýzou v pevném stavu.³⁵ Substituenty na atomu dusíku dále zvyšují elektronovou hustotu jeho volného elektronového páru, tedy jeho bazicitu. Hodnoty pK_{a2} podléhají stejným efektům, všechny bis(fosfinátové) ligandy dosahují podobných hodnot.

Tabulka 2: Disociační konstanty studovaných ligandů (H_6L^1 a H_6L^2) a jim strukturně podobných sloučenin^{35, 40, 41, 42, 43, 44}

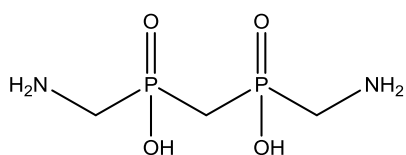
| | H_6L^1 | H_6L^2 | H_3L^0 | H_5L^3 | H_2L^4 | HL^5 | H_3L^6 | H_3NTA |
|-----------|----------|----------|----------|----------|----------|--------|----------|----------|
| pK_{a1} | 10,39 | 10,07 | 7,86 | 10,01 | 9,49 | 8,51 | 10,64 | 9,84 |
| pK_{a2} | 8,63 | 8,93 | 2,35 | 6,50 | 8,80 | 7,07 | 5,57 | 2,52 |
| pK_{a3} | 3,60 | 3,71 | 1,20 | 2,68 | 2,09 | 0,77 | 2,30 | 1,81 |
| pK_{a4} | 2,70 | 2,86 | – | 2,17 | – | – | 1,60 | 1,0 |
| pK_{a5} | 2,16 | 2,54 | – | 1,38 | – | – | – | – |
| pK_{a6} | 1,22 | 1,77 | – | – | – | – | – | – |



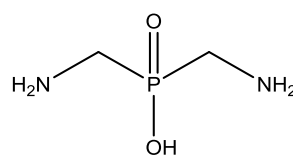
Kyselina *N, N*-bis(karboxymethyl)aminomethylfosfinová, H_3L^0



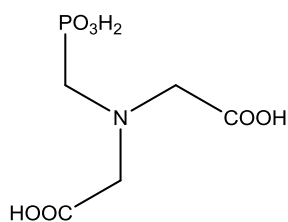
Kyselina bis[*N, N*-bis(karboxymethyl)aminomethyl]fosfinová, H_5L^3



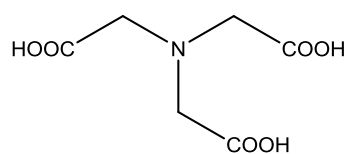
Kyselina methylen-1,1-bis(aminomethyl)fosfinová, H_2L^4



Kyselina bis(aminomethyl)fosfinová, HL^5



Kyselina nitrilo(fosfonomethyl)diacetic, H_3L^6



Kyselina nitrilotriacetic, H_3NTA

Komplexační vlastnosti ligandů H_6L^1 a H_6L^2

Byla zkoumána tvorba komplexů ligandů H_6L^1 a H_6L^2 s ionty *d*- prvků Cu^{2+} , Zn^{2+} , Ni^{2+} a *f*- prvků La^{3+} , Eu^{3+} a Lu^{3+} . Titrace byly provedeny v poměrech ligand:kov 1:1 a 1:2, z důvodu očekávané tvorby dinukleárních komplexů.

V případě komplexů s *d*- prvky v poměru ligand:kov 1:2 distribučním diagramům obou ligandů dominují dle očekávání dvoujaderné komplexy (Obrázek 4 a 5). Avšak i v poměru ligand:kov 1:1 vzniká značné množství dvoujaderných komplexů, a to již při velmi nízkém pH. Toto chování je nejmarkantnější u komplexů s Cu^{2+} . Dle distribučních diagramů (Obrázek 6 a 7) již na počátku titrace vzniká částice $[HCu_2L]^-$, která postupně deprotonuje na $[Cu_2L]^{2-}$. Při vysokém pH pak dochází k tvorbě jednojaderného komplexu $[CuL]^{4-}$ a jednou deprotonovaného $[H_1CuL]^{5-}$. K deprotonaci může docházet buď na koordinované molekule vody (za vzniku hydroxokomplexu), nebo u ligandu H_6L^1 deprotonací skupiny OH na centrálním atomu uhlíku za vzniku alkoholátové skupiny. Všeobecně lze konstanty stability komplexů seřadit v pořadí $Cu^{2+} > Ni^{2+} > Zn^{2+}$, což naznačuje podíl dusíkových atomů na tvorbě komplexů.

Pro porovnání jsou též uvedeny distribuční diagramy H_6L^1 a H_6L^2 s Ni^{2+} (Obrázky 8, 9, 10, 11). Distribuční diagramy komplexů ligandů s Ni^{2+} jsou podobné s distribučními diagramy komplexů s Cu^{2+} . V poměru ligand:kov 1:2 tvoří Ni^{2+} s oběma ligandy velmi stabilní dvoujaderný komplex $[Ni_2L]^{2-}$, který je dominantní částicí ve většině měřeného rozsahu pH. V poměru ligand:kov 1:1 má Ni^{2+} větší preferenci tvořit protonovaný jednojaderný komplex $[HNiL]^{3-}$ než Cu^{2+} , přesto pro ligand H_6L^1 dosahuje dvoujaderný komplex $[Ni_2L]^{2-}$ vyššího zastoupení než $[HNiL]^{3-}$. Podobné chování bylo též pozorováno pro komplexy obou ligandů s ionty Zn^{2+} .

Ligandy H_6L^1 a H_6L^2 tvoří s ionty *f*- prvků velmi stabilní jednojaderný komplex díky jejich nona-, resp. okta- dentátности, což lze vidět na distribučním diagramu ligandů a Eu^{3+} v poměru 1:1 (Obrázek 12 a 13). Ostatní zkoumané ionty *f*- prvků (La^{3+} a Lu^{3+}) mají velmi podobné chování. Přesto i v poměru 1:1 lze zaznamenat při nízkém pH nezanedbatelné zastoupení dvoujaderných komplexů. Všeobecně je stabilita komplexních částic ovlivněna velikostí iontu, kdy stabilita klesá s velikostí iontu, tedy v pořadí $La^{3+} < Eu^{3+} < Lu^{3+}$. Pro dvoujaderné komplexy byla zjištěna větší stabilita komplexů Eu^{3+} než Lu^{3+} .

* $[H_1ML]^{5-}$: Označení H_1 vyjadřuje ztrátu protonu vůči komplexu $[ML]^{4-}$. K této ztrátě může dojít buď na koordinované molekule vody za vzniku hydroxokomplexu nebo na skupině, jež obvykle ve vodných roztocích proton neodštěpuje (např. OH skupina ligandu H_6L^1).

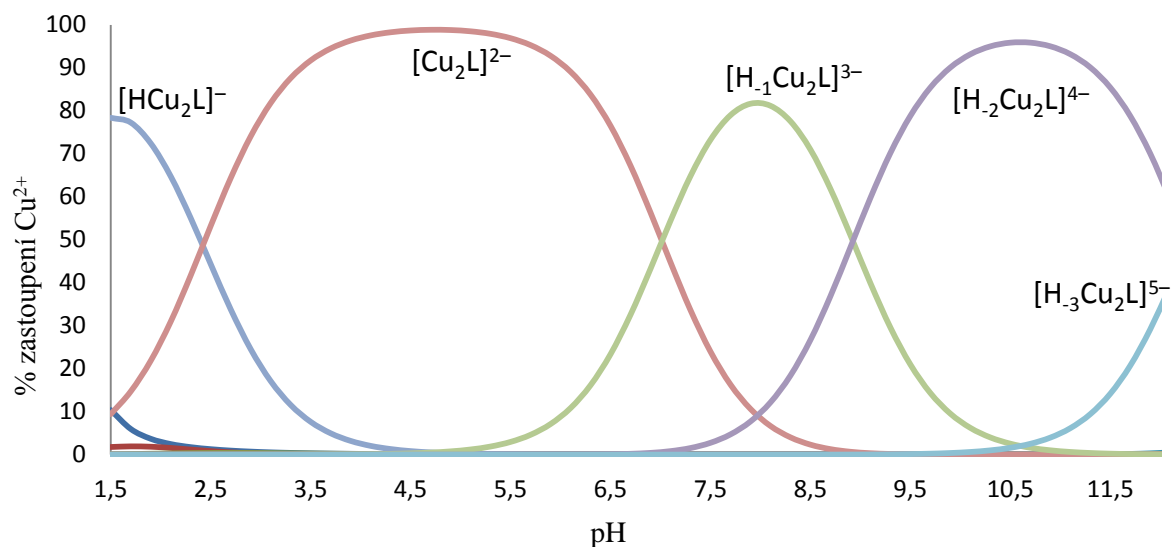
Při titracích obou ligandů v poměru ligand:kov 1:2 docházelo k tvorbě sraženiny, což znemožnilo další pokračování titrace. Při titraci Eu^{3+} a Lu^{3+} vznikala sraženina při $\text{pH} = 3$, u La^{3+} již při $\text{pH} = 2$. Sraženina vzniká buď z důvodu tvorby nerozpustného polymerního komplexu iontu s ligandem, nebo dochází k vysrážení nerozpustného hydroxidu *f*- prvku.

Tabulka 3: Konstanty stability komplexních částic ligandu H_6L^1 . ($T = 25\text{ }^\circ\text{C}$, $I = 0,1\text{ M}$ NMe_4Cl a $c_{\text{lig}} = 4\text{ mmol/dm}^3$).

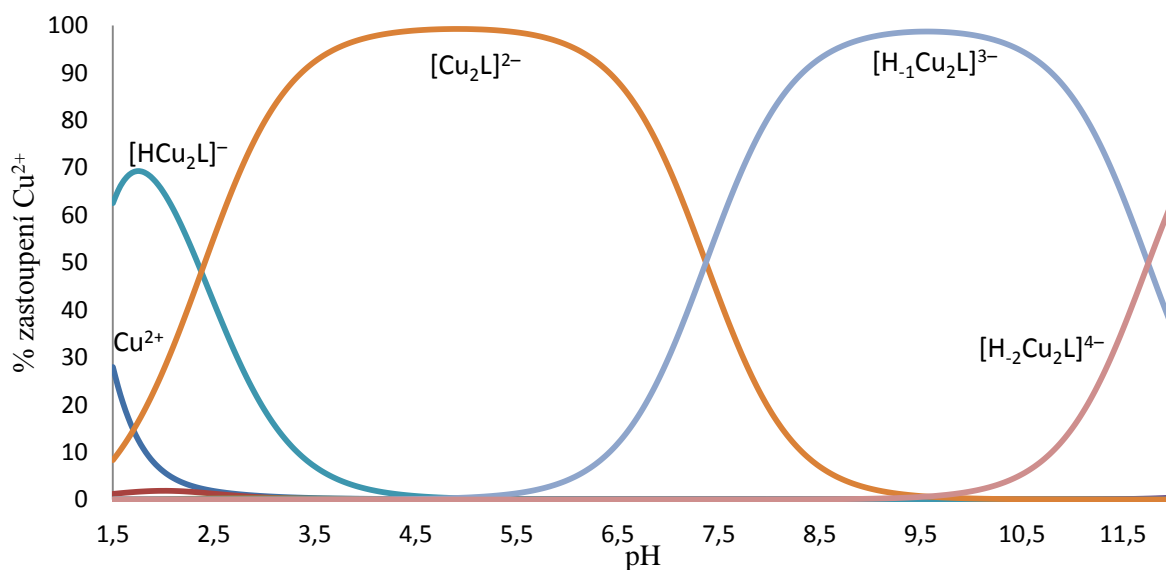
| Částice | Cu^{2+} | Zn^{2+} | Ni^{2+} | La^{3+} | Eu^{3+} | Lu^{3+} |
|--|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| $\beta[\text{H}_3\text{ML}^1]$ | – | 25,76(2) | 26,35(2) | 27,55(2) | – | – |
| $\beta[\text{H}_2\text{ML}^1]$ | 25,93(3) | 23,32(5) | 24,46(2) | 25,32(2) | 25,95(2) | 25,82(4) |
| $\beta[\text{HML}^1]$ | 23,07(3) | 20,76(2) | 21,76(1) | 22,55(2) | 24,02(1) | 24,33(1) |
| $\beta[\text{ML}^1]$ | 16,69(3) | 13,75(2) | 14,93(2) | 19,02(2) | 20,98(1) | 21,77(2) |
| $\beta[(\text{OH})\text{ML}^1]$ | 7,30(3) | 1,93(3) | 3,70(2) | 7,95(2) | 9,97(2) | 10,61(2) |
| $\beta[(\text{OH})_2\text{ML}^1]$ | -5,30(4) | – | – | – | – | – |
| $\beta[\text{HM}_2\text{L}^1]$ | 28,85(5) | 24,10(2) | 25,00(2) | 25,89(6) | 27,56(3) | 26,89(5) |
| $\beta[\text{M}_2\text{L}^1]$ | 26,43(5) | 21,26(1) | 22,77(1) | 23,87(6) | 25,17(2) | 24,45(4) |
| $\beta[(\text{OH})\text{M}_2\text{L}^1]$ | 19,42(5) | 12,42(2) | 13,54(1) | – | – | – |
| $\beta[(\text{OH})_2\text{M}_2\text{L}^1]$ | 10,49(5) | 2,31(2) | 2,94(1) | – | – | – |
| $\beta[(\text{OH})_3\text{M}_2\text{L}^1]$ | -1,79(5) | -9,54(2) | – | – | – | – |

Tabulka 4: Konstanty stability komplexních částic ligandu H_6L^2 . ($T = 25\text{ }^\circ\text{C}$, $I = 0,1\text{ M}$ NMe_4Cl a $c_{\text{lig}} = 4\text{ mmol/dm}^3$).

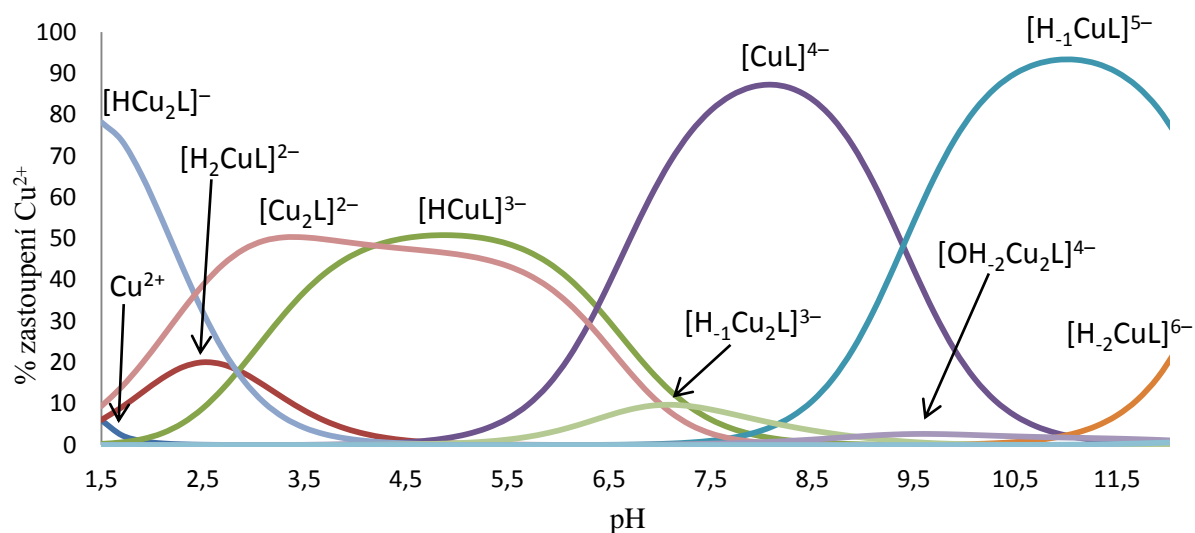
| Částice | Cu^{2+} | Zn^{2+} | Ni^{2+} | La^{3+} | Eu^{3+} | Lu^{3+} |
|--|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| $\beta[\text{H}_3\text{ML}^2]$ | – | – | – | 27,43(4) | – | – |
| $\beta[\text{H}_2\text{ML}^2]$ | 25,69(2) | 23,69(3) | 24,32(3) | 25,41(2) | 26,11(4) | – |
| $\beta[\text{HML}^2]$ | 22,42(2) | 20,63(2) | 21,20(2) | 22,79(2) | 24,21(2) | 24,74(2) |
| $\beta[\text{ML}^2]$ | 15,55(1) | 13,99(1) | 13,99(1) | 18,82(2) | 21,23(2) | 21,17(2) |
| $\beta[(\text{OH})\text{ML}^2]$ | – | – | – | – | – | – |
| $\beta[(\text{OH})_2\text{ML}^2]$ | – | -11,87(5) | – | – | – | – |
| $\beta[\text{HM}_2\text{L}^2]$ | 28,25(1) | 24,28(2) | 25,25(2) | 26,39(2) | 27,80(4) | 26,50(7) |
| $\beta[\text{M}_2\text{L}^2]$ | 25,88(1) | 21,59(1) | 23,03(1) | – | 25,72(3) | 24,77(4) |
| $\beta[(\text{OH})\text{M}_2\text{L}^2]$ | 18,51(1) | 12,47(1) | 12,14(1) | – | – | – |
| $\beta[(\text{OH})_2\text{M}_2\text{L}^2]$ | 6,75(1) | 0,50(3) | – | – | – | – |
| $\beta[(\text{OH})_3\text{M}_2\text{L}^2]$ | – | – | – | – | – | – |



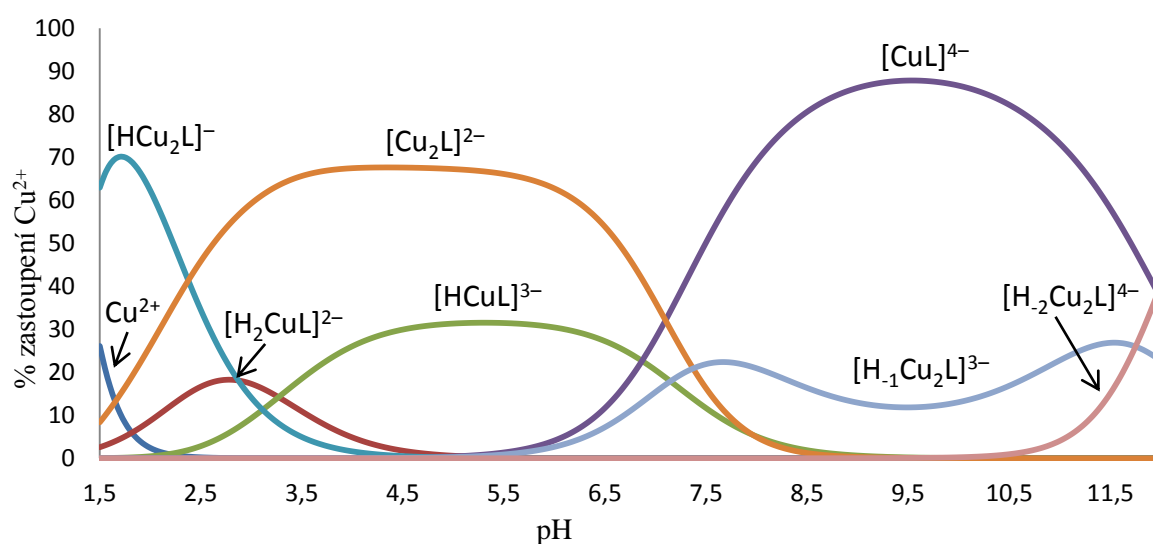
Obrázek 4: Distribuční diagram systému $\text{H}_6\text{L}^1 + \text{Cu}^{2+}$ v poměru ligand:kov 1:2 ($c_{\text{lig}} = 4 \text{ mmol/dm}^3$; $I(\text{NMe}_4\text{Cl}) = 0,1 \text{ mol/dm}^3$; $T = 25^\circ\text{C}$), pro přehlednost nejsou uvedeny minoritní protonované částice přítomné na začátku titrace spolu s volnými ionty Cu^{2+} .



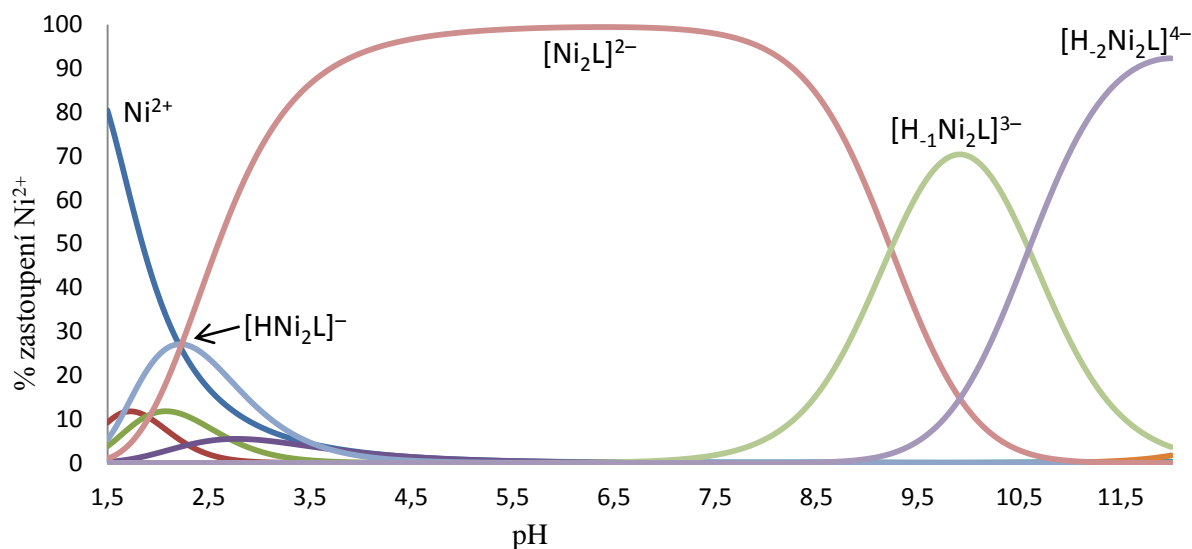
Obrázek 5: Distribuční diagram systému $\text{H}_6\text{L}^2 + \text{Cu}^{2+}$ v poměru ligand:kov 1:2 ($c_{\text{lig}} = 4 \text{ mmol/dm}^3$; $I(\text{NMe}_4\text{Cl}) = 0,1 \text{ mol/dm}^3$; $T = 25^\circ\text{C}$), pro přehlednost nejsou uvedeny minoritní protonované částice přítomné na začátku titrace.



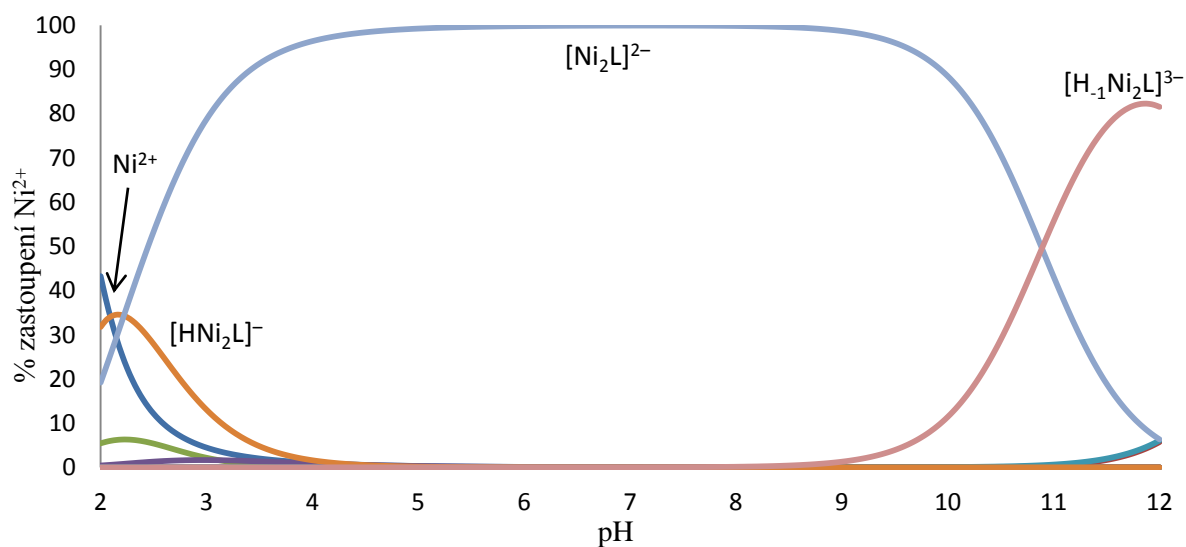
Obrázek 6: Distribuční diagram systému $H_6L^1 + Cu^{2+}$ v poměru ligand:kov 1:1 ($c_{lig} = 4 \text{ mmol/dm}^3$; $I(NMe_4Cl) = 0,1 \text{ mol/dm}^3$; $T = 25^\circ\text{C}$).



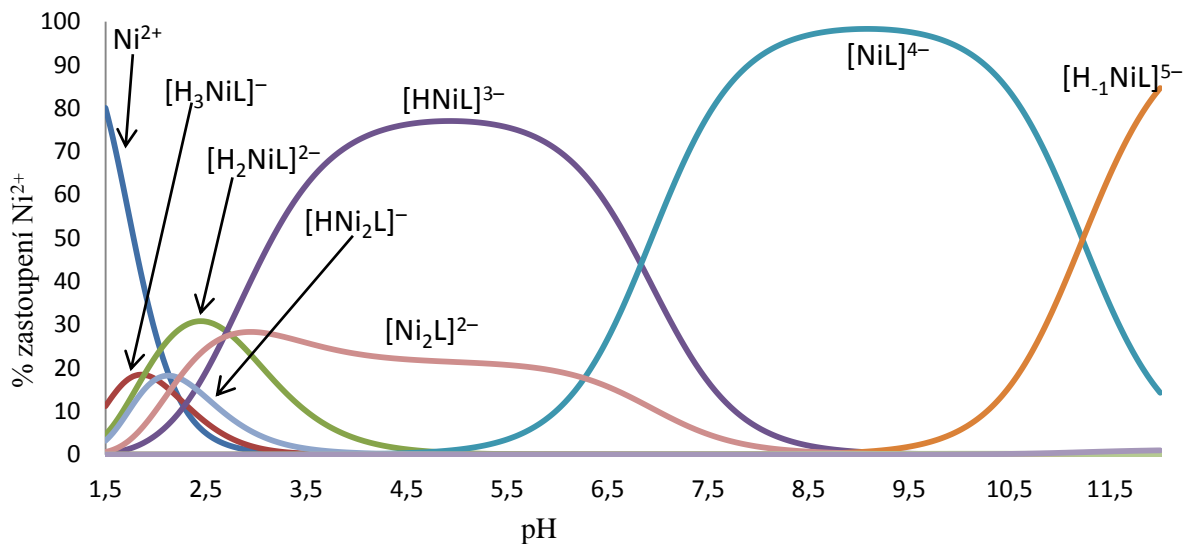
Obrázek 7: Distribuční diagram systému $H_6L^2 + Cu^{2+}$ v poměru ligand:kov 1:1 ($c_{lig} = 4 \text{ mmol/dm}^3$; $I(NMe_4Cl) = 0,1 \text{ mol/dm}^3$; $T = 25^\circ\text{C}$).



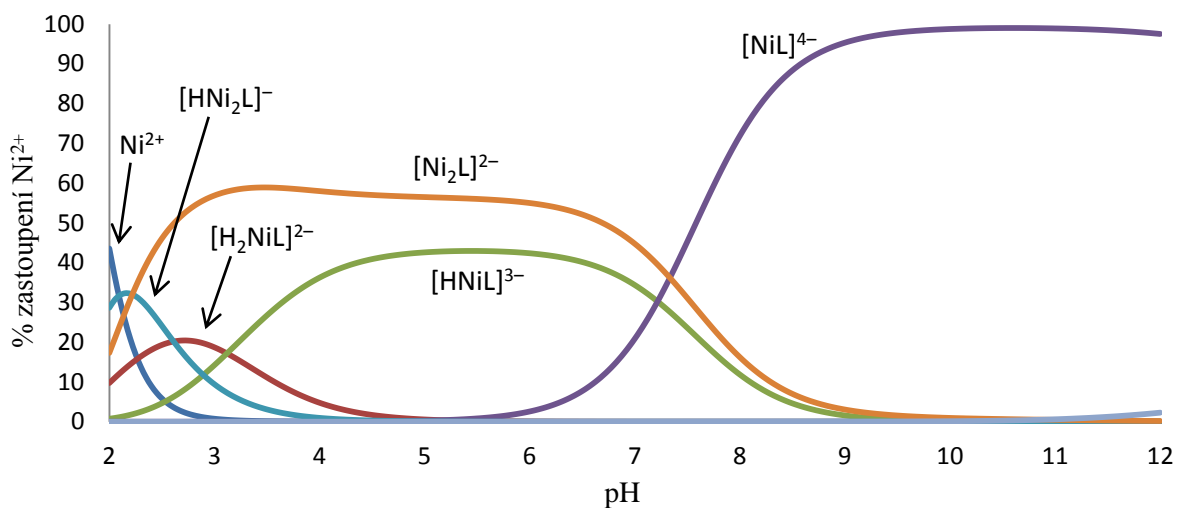
Obrázek 8: Distribuční diagram systému $\text{H}_6\text{L}^1 + \text{Ni}^{2+}$ v poměru ligand:kov 1:2 ($c_{\text{lig}} = 4 \text{ mmol/dm}^3$; $I(\text{NMe}_4\text{Cl}) = 0,1 \text{ mol/dm}^3$; $T = 25^\circ\text{C}$), pro přehlednost nejsou uvedeny minoritní protonované částice přítomné na začátku titrace.



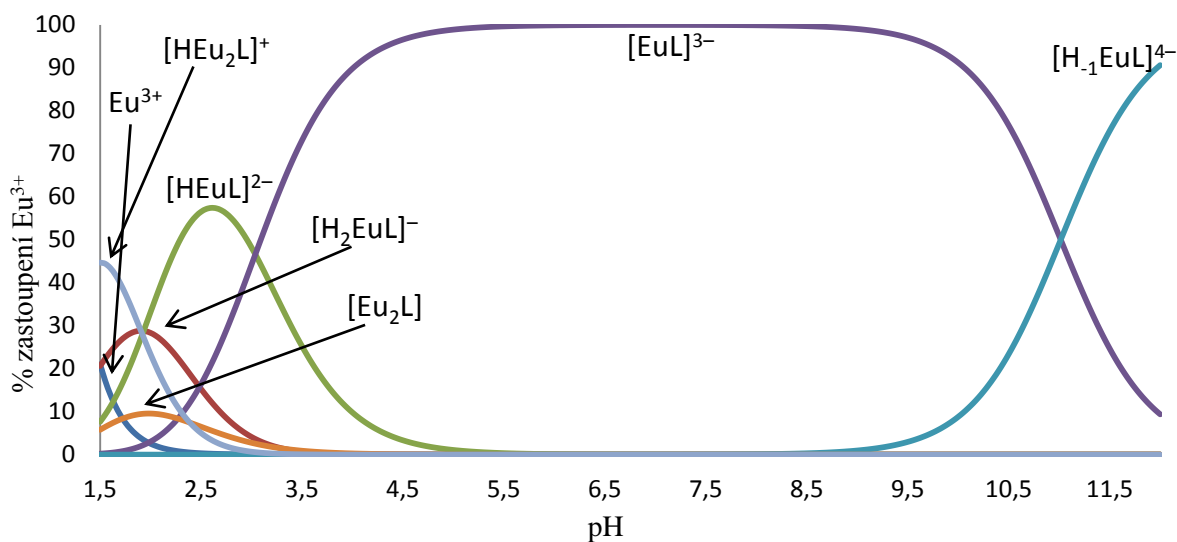
Obrázek 9: Distribuční diagram systému $\text{H}_6\text{L}^2 + \text{Ni}^{2+}$ v poměru ligand:kov 1:2 ($c_{\text{lig}} = \text{mmol/dm}^3$; $I(\text{NMe}_4\text{Cl}) = 0,1 \text{ mol/dm}^3$; $T = 25^\circ\text{C}$), pro přehlednost nejsou uvedeny minoritní protonované částice přítomné na začátku titrace.



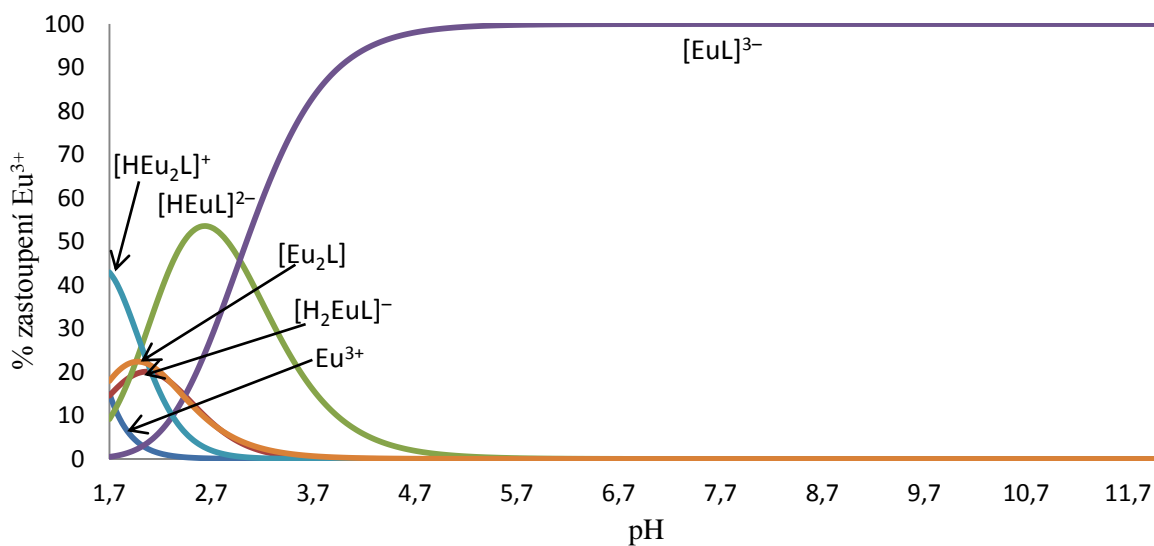
Obrázek 10: Distribuční diagram systému $H_6L^1 + Ni^{2+}$ v poměru ligand:kov 1:1 ($c_{lig} = 4 \text{ mmol/dm}^3$; $I(NMe_4Cl) = 0,1 \text{ mol/dm}^3$; $T = 25^\circ C$).



Obrázek 11: Distribuční diagram systému $H_6L^2 + Ni^{2+}$ v poměru ligand:kov 1:1 ($c_{lig} = 4 \text{ mmol/dm}^3$; $I(NMe_4Cl) = 0,1 \text{ mol/dm}^3$; $T = 25^\circ C$).



Obrázek 12: Distribuční diagram systému $H_6L^1 + Eu^{3+}$ v poměru ligand:kov 1:1 ($c_{lig} = 4 \text{ mmol/dm}^3$; $I(NMe_4Cl) = 0,1 \text{ mol/dm}^3$; $T = 25^\circ C$).



Obrázek 13: Distribuční diagram systému $H_6L^2 + Eu^{3+}$ v poměru ligand:kov 1:1 ($c_{lig} = 4 \text{ mmol/dm}^3$; $I(NMe_4Cl) = 0,1 \text{ mol/dm}^3$; $T = 25^\circ C$).

Byly porovnány vybrané konsektivní konstanty pK_m , pK_{m2} a pK_{a1m} s podobnými ligandy (struktury viz str 30 a 31). Tyto konsektivní konstanty jsou definovány následovně:

pK_m odpovídá reakci $[L] + [M] \rightarrow [ML]$; tedy $pK_m = \frac{[ML]}{[L].[M]}$

pK_{m2} odpovídá reakci $[ML] + [M] \rightarrow [M_2L]$; tedy $pK_{m2} = \frac{[M_2L]}{[ML].[M]}$

pK_{a1m} odpovídá reakci $[ML] + [H] \rightarrow [HML]$; tedy $pK_{a1m} = \frac{[HML]}{[ML].[H]}$

Porovnání komplexů s vybranými *d*-prvky (Tabulka 5) ukazuje na tvorbu velmi stabilních jednojaderných komplexů H_6L^1 a H_6L^2 s ionty *d*-prvků. Vyšší konstantou stability disponuje pouze ligand H_5L^3 , pravděpodobně díky koordinaci oběma iminodiacetátovými skupinami na jeden iont kovu. Naopak ligandy H_6L^1 a H_6L^2 tvoří jednojaderný komplex koordinací jednou iminodiacetátovou skupinou a jedním až dvěma kyslíkovými atomy fosfinátu. Ostatní koordinační místa jsou obsazena molekulami vody. Ligand H_6L^1 disponuje všeobecně vyššími hodnotami konsektivních konstant než H_6L^2 , což napovídá vlivu substituentů centrálního uhlíkového atomu na tvorbu komplexů. Nezanedbatelný vliv na hodnoty konstant stability má pravděpodobně vysoký záporný náboj studovaných ligandů, podpořený elektrostatickými interakcemi fosfinátu s iontem kovu.

Ligandy H_6L^1 a H_6L^2 vykazují významnou tendenci k tvorbě dvoujaderných komplexů. Toto chování podporuje vysoký celkový náboj ligandů a přítomnost bis(fosfinátů). Fosfináty umožňují tvorbu velmi silných intramolekulárních vodíkových vazeb mezi vzdálenější fosfinátovou skupinou a atomem dusíku.³⁵ Také umožňují iminodiacetátovým skupinám reagovat s ionty kovů do značné míry nezávisle vůči sobě.⁴¹ Po navázání prvního iontu je tento systém vodíkových vazeb porušen. Tím druhému dusíkovému atomu výrazně klesne hodnota pK_a a „druhá polovina molekuly“ (fosfinát-iminodiacetátová skupina) reaguje s dalším iontem kovu za vzniku dvoujaderného komplexu. Při vyšších pH je též možná deprotonace OH skupiny za vzniku alkoholátu, který může vytvořit další vazbu na iont kovu nebo mezi dvěma ionty dvoujaderného komplexu vytvořit můstek.³⁵

Hodnoty pK_{a1m} ligandů H_6L^1 a H_6L^2 odpovídají protonaci atomu dusíku. Hodnota protonizační konstanty je snížena díky narušení původního systému vodíkových můstků.

Tabulka 5: Srovnání klíčových konsektivních konstant pK_m , pK_{m2} a pK_{a1m} (definice viz. výše) zkoumaných ligandů H_6L^1 a H_6L^2 s podobnými ligandy (struktury viz str. 30 a 31) v rámci komplexace studovaných iontů d - prvků^{35, 40, 41, 42}

| | | H_6L^1 | H_6L^2 | H_3L^0 | H_5L^3 | H_2L^4 | HL^5 |
|-----------|------------|----------|----------|----------|----------|----------|--------|
| Cu^{2+} | pK_m | 16,69 | 15,55 | 10,02 | 19,30 | 9,87 | 7,64 |
| | pK_{m2} | 9,74 | 10,33 | 4,34 | 3,70 | – | – |
| | pK_{a1m} | 6,38 | 6,87 | – | 2,80 | – | 5,07 |
| Ni^{2+} | pK_m | 14,93 | 13,99 | 9,05 | 17,77 | 7,51 | 5,58 |
| | pK_{m2} | 7,84 | 9,04 | 4,62 | 3,30 | – | – |
| | pK_{a1m} | 6,83 | 7,21 | – | 2,64 | – | 5,42 |
| Zn^{2+} | pK_m | 13,75 | 13,43 | 8,37 | 15,94 | 6,29 | 4,12 |
| | pK_{m2} | 7,51 | 8,16 | 4,22 | 1,61 | – | – |
| | pK_{a1m} | 7,01 | 7,20 | – | 2,14 | – | 6,48 |

Ligandy H_6L^1 a H_6L^2 tvoří s vybranými ionty lanthanoidů velmi stabilní jednojaderné komplexy (srovnání s podobnými ligandy viz Tabulka 6, struktury ligandů viz str. 30 a 31). Důvodem je jejich velký záporný náboj a dostatek (až 9, resp. 8) donorových skupin. Přesto bylo do konečného modelu nutné zahrnout existenci dvoujaderných částic, které mají ale mnohem nižší stabilitu než u d -prvků. Přesto jejich tvorba poukazuje na jistou vzájemnou „nezávislost“ iminodiacetátových skupin, která je pravděpodobně způsobena fosfinátovými skupinami, které znesnadňují koordinaci dvou iminodiacetátových skupin na jeden iont. Tento efekt má největší význam pro ionty d -prvků (viz výše), avšak projevuje se i pro ionty menších f -prvků.⁴¹ Konstanty stability pK_m rostou se snižující se velikostí iontu, tedy koordinační vazba je převážně iontového charakteru. Hodnoty protonizačních konstant pK_{a1m} ligandů odpovídají pravděpodobně protonizaci karboxylátů.

Tabulka 6: Srovnání konsektivních konstant pK_m a pK_{a1m} (definice viz. výše) zkoumaných ligandů H_6L^1 a H_6L^2 s podobnými ligandy (struktury viz str. 30 a 31) v rámci komplexace studovaných iontů f -prvků^{40, 41}

| | | H_6L^1 | H_6L^2 | H_3L^0 | H_5L^3 |
|-----------|------------|----------|----------|----------|----------|
| La^{3+} | pK_m | 19,02 | 18,82 | – | 13,96 |
| | pK_{a1m} | 3,53 | 3,97 | – | 3,47 |
| Eu^{3+} | pK_m | 20,98 | 21,23 | 9,48 | 16,53 |
| | pK_{a1m} | 3,04 | 2,98 | – | 2,25 |
| Lu^{3+} | pK_m | 21,77 | 21,17 | – | 17,06 |
| | pK_{a1m} | 2,56 | 2,57 | – | 1,75 |

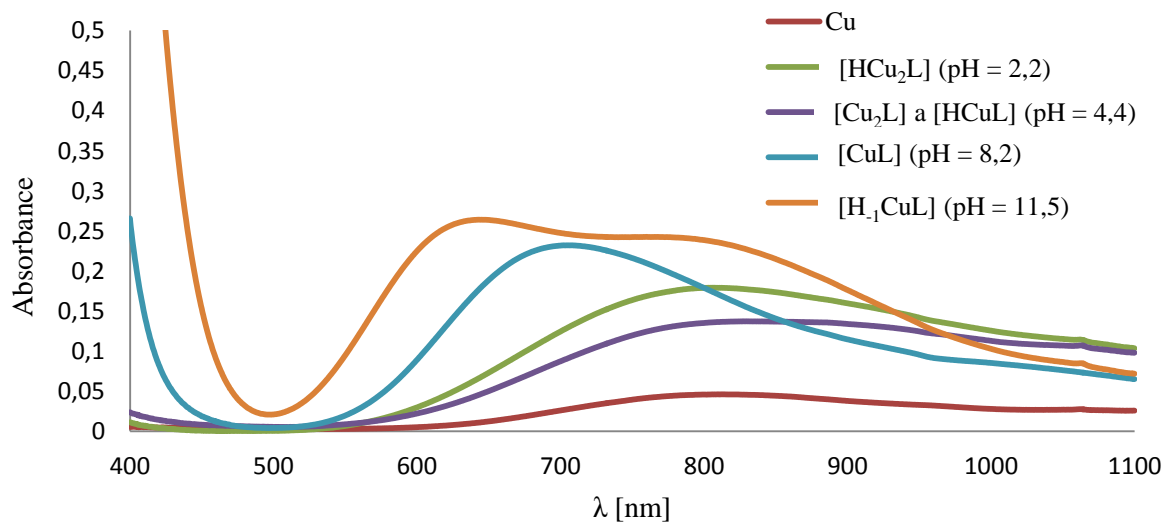
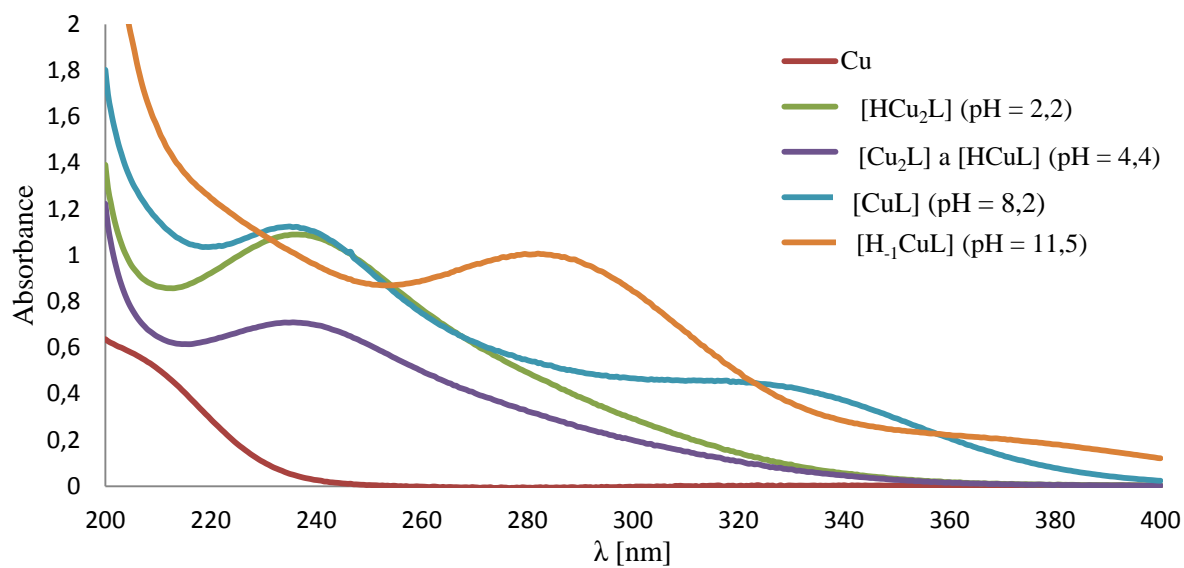
Koordinace Cu^{2+} iontů byla podrobněji sledována prostřednictvím UV/VIS spektroskopie. Spektra systémů ligand + Cu^{2+} v poměrech 1:1 a 1:2 (obrázky 14, 15, 16 a 17) byla měřena v oblastech pH, kde dle distribučního diagramu je v roztoku přítomna dominantní částice.

Při porovnání UV spekter komplexů obou ligandů v poměru 1:1 si lze všimnout vzniku dalšího lokálního maxima v $\lambda \sim 330$ nm při vyšším pH, podobně jako tomu je v předchozí práci.³⁵ Vznik tohoto pásu souvisí s koordinací alkoholátové skupiny na atom mědi. Lze očekávat dimerní strukturu obdobnou již dříve pozorované,³⁵ kdy je každý atom mědi vázán dvěma atomy dusíku, dvěma fosfinátovými atomy kyslíku a alkoholátovou skupinou, která tvoří můstek mezi atomy mědi. Ve viditelných spektrech pro částice $[CuL]^{4-}$ a $[H_1CuL]^{5-}$ lze pozorovat posun d-d přechodů ke kratším vlnovým délkám, což naznačuje zvýšení energie ligandového pole. Z přítomnosti dvou pásů ve spektru částice $[H_1CuL]^{5-}$ ve viditelné oblasti lze usuzovat na vznik dvou odlišných částic stejné stechiometrie.

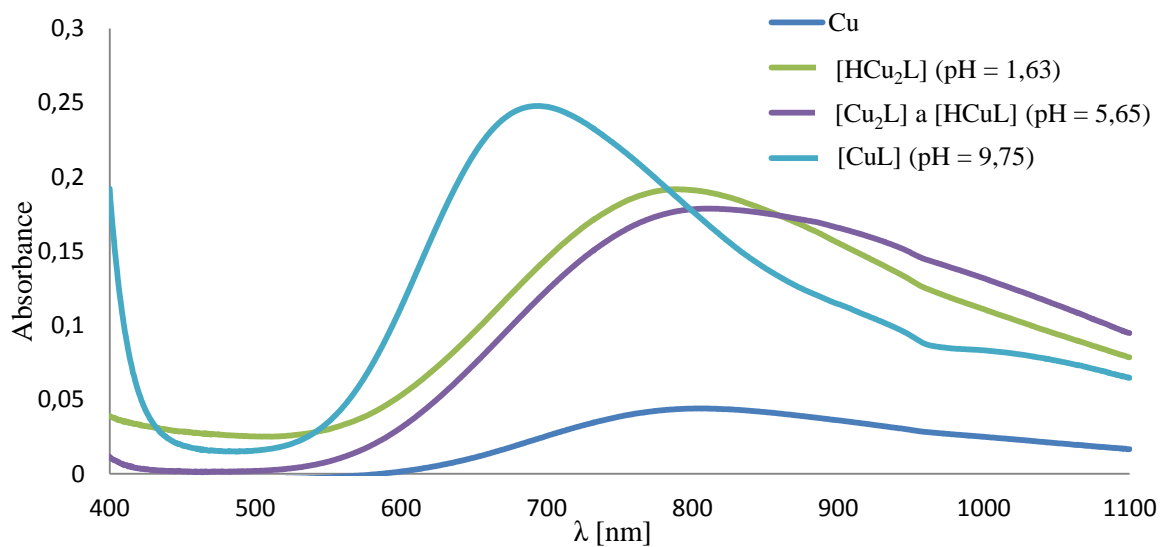
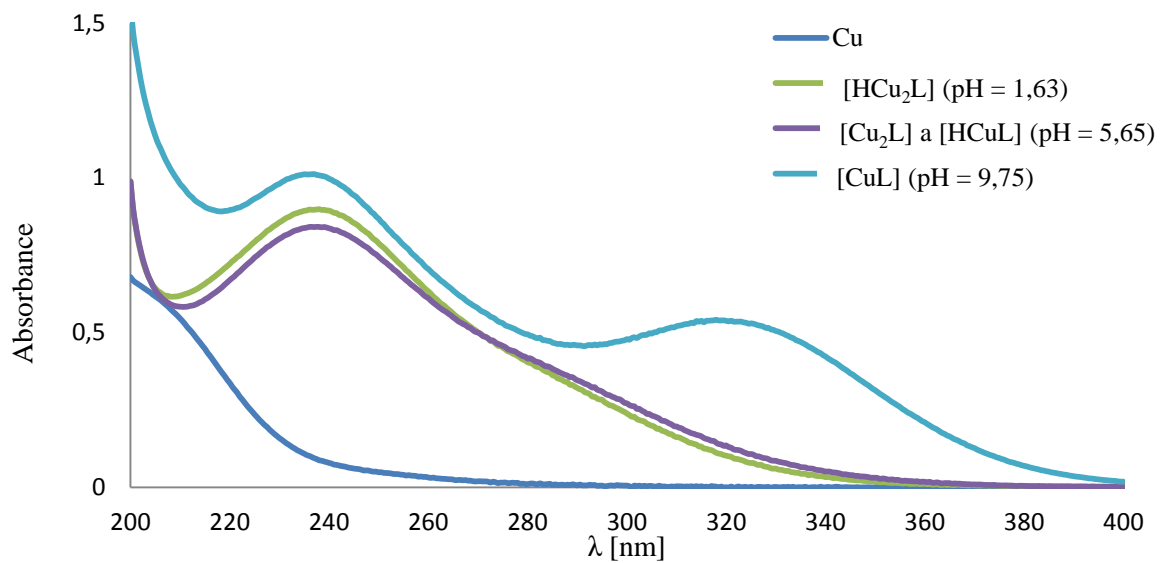
Pro UV a VIS spektra měřená v poměru ligand:kov 1:2 vykazují dvoujaderné komplexy hodnoty maxim podobné jako jednojaderné komplexy. Z toho lze usoudit, že ionty mědi v dvoujaderných komplexech mají v roztoku podobný koordinační mód jako protonované jednojaderné částice. Každý atom mědi je pravděpodobně koordinován dvěma karboxylovými skupinami a fosfinátovým kyslíkem. V případě deprotonovaných částic lze opět pozorovat posun maxima ke kratším vlnovým délkám.

Pro částice $[H_2Cu_2L^1]$ a $[H_1Cu_2L^2]$ dochází pravděpodobně ke vzniku můstkovaných

komplexů, kdy v případě prvního ligandu vzniká můstek prostřednictvím alkoholátové skupiny, v případě druhého pravděpodobně pomocí deprotonované molekuly vody.

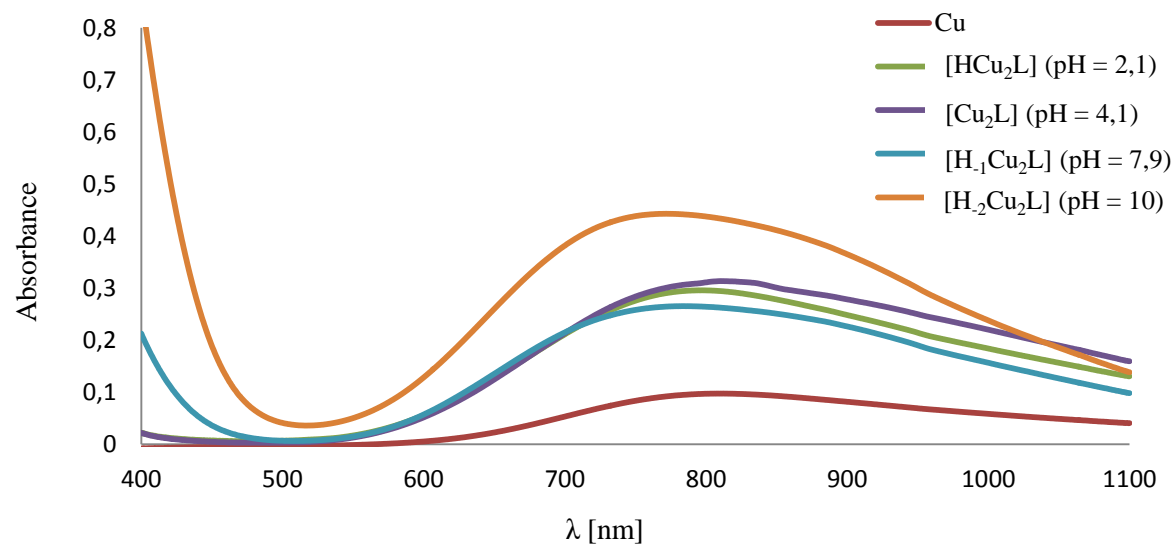
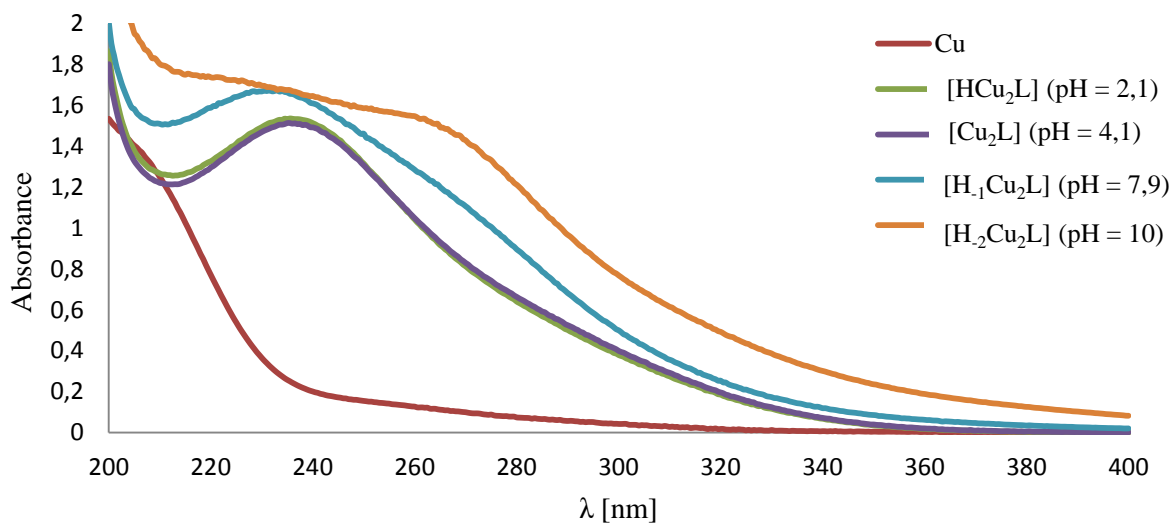


Obrázek 14: Spektra systému $H_6L^1 + Cu^{2+}$ v poměru kov:ligand 1:1 ($c_{lig} = c_{Cu} = 4 \text{ mmol/dm}^3$). Náboje částic pro přehlednost nejsou uvedeny.

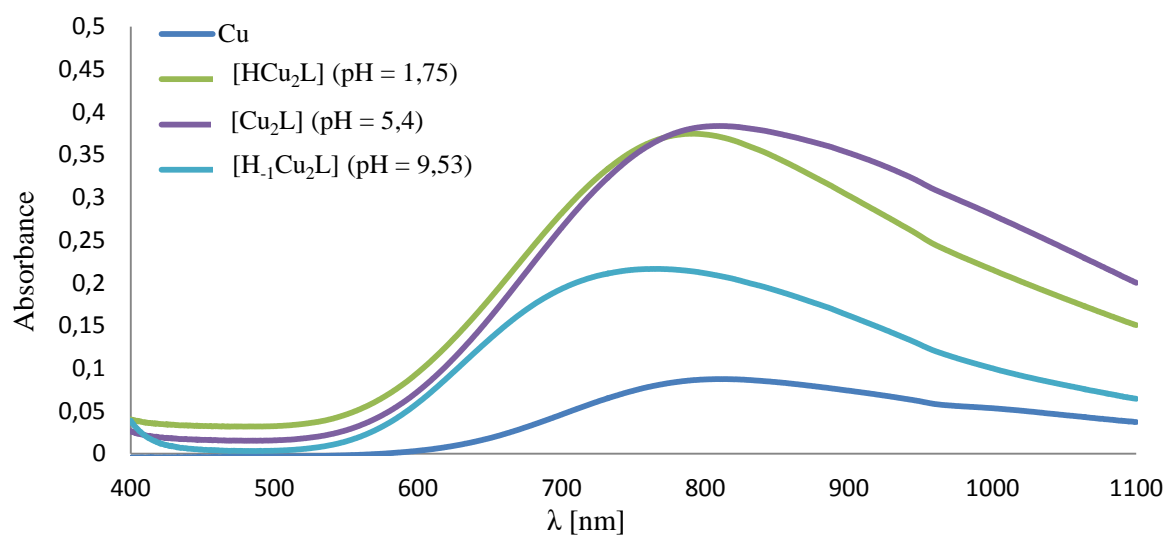
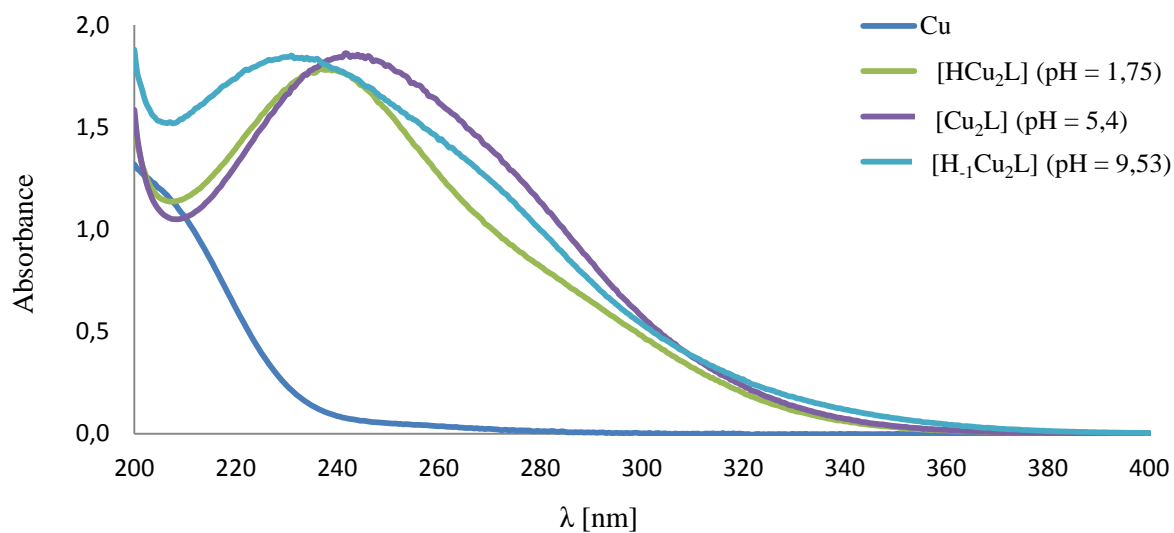


Obrázek 15: Spektra systému $\text{H}_6\text{L}^2 + \text{Cu}^{2+}$ v poměru kov:ligand 1:1.

($c_{\text{lig}} = c_{\text{Cu}} = 4 \text{ mmol/dm}^3$). Náboje částic pro přehlednost nejsou uvedeny.



Obrázek 16: Spektra systému $\text{H}_6\text{L}^1 + \text{Cu}^{2+}$ v poměru kov:ligand 1:2 ($c_{\text{lig}} = 4 \text{ mmol/dm}^3$, $c_{\text{Cu}} = 8 \text{ mmol/dm}^3$). Náboje částic pro přehlednost nejsou uvedeny.



Obrázek 17: Spektra systému $\text{H}_6\text{L}^2 + \text{Cu}^{2+}$ v poměru kov:ligand 1:2 ($c_{\text{lig}} = 4 \text{ mmol/dm}^3$, $c_{\text{Cu}} = 8 \text{ mmol/dm}^3$). Náboje částic pro přehlednost nejsou uvedeny.

5. Závěr

V této diplomové práci byly připraveny dvě látky, a to kyselina 1-hydroxy-ethan-1,1-bis[*N,N*-bis(karboxymethyl)aminomethyl]fosfinová; H_6L^1 a kyselina methylenbis[*N,N*-bis(karboxymethyl)aminomethyl]fosfinová; H_6L^2 modifikací známých postupů. Byly studovány acidobazické a koordinační vlastnosti obou těchto ligandů prostřednictvím potenciometrických titrací. Dále bylo provedeno měření UV/VIS spekter komplexních částic vznikajících v roztoku ligandu a iontů Cu^{2+} . Měření byla prováděna v různých pH, určených distribučním diagramem, tak, aby v dané oblasti pH byla přítomna dominantní komplexní částice. Pomocí těchto informací bylo usouzeno na koordinační módy komplexů Cu^{2+} a daného ligandu v roztoku.

U obou ligandů byla zjištěna velmi vysoká bazicita dusíkových atomů iminodiacetátové skupiny, pravděpodobně díky tvorbě vodíkových můstků mezi vodíkovým atomem navázaným na atomu dusíku a atomem kyslíku vzdálenější fosfinátové skupiny. Tento motiv vodíkových vazeb byl pozorován u strukturně podobné látky v pevném stavu.³⁵ Dále byla pozorována velká preference ligandů ke tvorbě dinukleárních komplexů. Koordinací prvního iontu kovu dochází k porušení systému vodíkových vazeb, čímž je značně snížena hodnota pK_a druhého dusíkového atomu. Díky tomu je umožněna přednostní koordinace druhého iontu kovu.

Poděkování

V první řadě bych tu chtěl moc poděkovat své rodině za podporu během celého studia. Bez Vás bych to určitě nezvládl...

Další velký dík patří mému školiteli, hlavně za vůbec umožnění vzniku této práce, za velkou pomoc při zpracování titračních dat a také za rychlou iteraci mé práce ke spokojenosti nás obou... Dále bych chtěl také poděkovat panu prof. Hermannovi za časté konzultace při potenciometrických titracích.

Když už je řeč o titracích, nelze nezmínit Zuzku, která mě naučila v podstatě vše o potenciometrických titracích v naší laboratoři a jak obsluhovat náš titrační aparát, za což jí patří velký dík. Asi stejně velký jako za hlídání titrací v době obědních pauz.

Za konzultace během syntézy, hlavně v době kdy mi teklo do bot, bych rád poděkoval Sandrovi, bez kterého bych se v mnoha případech těžko hnul z místa. Nesmím taky zapomenout ani na Ondru a Míru, za kterými jsem mohl přijít kdykoli pro radu a častokrát jsem se dozvěděl více, než jsem očekával.

Velký dík patří také mým přátelům, jmenovitě Elišce a Adamovi, za dodávání příjemného rozptýlení během práce i mimo ni a za dodržování správného pitného režimu.

6. Seznam použité literatury

1. Píkl, J. US Patent 2.328.358. (1943).
2. Horiguchi, M. & Kandatsu, M. Isolation of 2-Aminoethane Phosphonic Acid from Rumen Protozoa. *Nature* **184**, 901–902 (1959).
3. Ryzhkov, V. L.; Kabachnik, M. I.; Tarasevich, L. M.; Medved, T. Ya; Zeitlenok, N. A.; Marchenko, N. K.; Vagzhanova, V. A.; Ulanova, E. F.; Cheburkina, N. V. Biological activity of α -aminophosphonic acids. *Dokl. Akad. Nauk SSSR* **98**, 849–52 (1954).
4. Franz, J. E. United States Patent 3799758. (1974).
5. Rupp, W. D. C. D., Finke, M. D. C. D., Bieringer, H. & Langelueddeke, P. Herbicide mittel Herbicides medium. (1977).
6. Appleton, T. G. Donor atom preferences in complexes of platinum and palladium with amino acids and related molecules. *Coord. Chem. Rev.* **166**, 313–359 (1997).
7. Jezowska-Bojczuk, M., Kiss, T., Kozłowski, H., Decock, P. & Barycki, J. Complexes of Aminophosphonates. Part 8. Copper(II) Complexes of N-(Phosphonomethyl)amino Acids and related Compounds. 811–817 (1994).
8. Popov, K., Niskanen, E., Rönkkömäki, H. & Lajunen, L. H. J. ³¹P NMR Study of organophosphonate protonation equilibrium at high pH. *New J. Chem.* **23**, 1209–1213 (1999).
9. Sawada, K., Kanda, T., Naganuma, Y. & Suzuki, T. Formation and protonation of aminopolyphosphonate complexes of alkaline-earth and divalent transition-metal ions in aqueous solution. *J. Chem. Soc. Dalt. Trans.* 2557–2562 (1993).
10. Motekaitis, R. J., Murase, I. & Martell, A. E. New multidentate Ligands .11. Synthesis and chelating Tendencies of Ethylenediamine-N,N'-di(methylenephosphinic) Acid, Ethylenediamine-N,N,N',N'-tetra(methylenephosphinic) Acid and Ethylenediamine-N,N'-di(methylenephosphonic) Acid. *J. Inorg. Nucl. Chem.* **vol. 33**, 3353–3365 (1971).
11. Tircsó, G. *et al.* Complexation properties of the di-, tri-, and tetraacetate derivatives of bis(aminomethyl)phosphinic acid. *Eur. J. Inorg. Chem.* 701–713 (2007).
12. Bayer, E. *et al.* Stoffwechselprodukte von Mikroorganismen. 98. Mitteilung. Phosphinothricin und Phosphinothricyl-Alanyl-Alanin. *Helv. Chim. Acta* **55**, 224–239 (1972).
13. Diddens, H., Zahner, H., Kraas, E., Gohring, W. & Jung, G. On the Transport of Tripeptide Antibiotics in Bacteria. *Eur. J. Biochem.* **66**, 11–23 (1976).
14. Allen, J. G. *et al.* Phosphono-peptides, a new class of synthetic antibacterial agents. *Nature* **272**, 56–58 (1978).

15. Atherton, F. R., Hall, M. J., Hassall, C. H., Lambert, R. W. & Ringrose, P. S. Phosphono-peptides as Antibacterial Agents: Rationale, Chemistry, and Structure-Activity Relationships. **15**, 677–683 (1979).
16. DeForrest, J. M. *et al.* Fosinopril, a Phosphinic Acid Inhibitor of Angiotensin I Converting Enzyme: In Vitro and Preclinical In Vivo Pharmacology. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* **14**, 730–736 (1989).
17. Krapcho, J. *et al.* Angiotensin-Converting Enzyme Inhibitors. Mercaptan, Carboxyalkyl Dipeptide, and Phosphinic Acid Inhibitors Incorporating 4-Substituted Prolines. **31**, 1148–1160 (1988).
18. White, C. M. Pharmacologic, Pharmacokinetic, and Therapeutic Differences among ACE Inhibitors. *Pharmacotherapy* **18**, 588–599 (1998).
19. Clément, Y. Structural and pharmacological aspects of the GABAA receptor: Involvement in behavioral pathogenesis. *J. Physiol.* **90**, 1–13 (1996).
20. Bowery, N. G. Gabab Receptor Pharmacology. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **33**, 109–147 (1993).
21. Johnston, G. A. R. GABAC receptors: relatively simple transmitter-gated ion channels? *Trends Pharmacol. Sci.* **17**, 319–323 (1996).
22. Malcangio, M. & Bowery, N. G. GABA and its receptors in the spinal cord. *Trends Pharmacol. Sci.* **17**, 457–462 (1996).
23. Bittiger, H., Froestl, W., Mickel, S. J. & Olpe, H. R. GABAB receptor antagonists: from synthesis to therapeutic applications. *Trends Pharmacol. Sci.* **14**, 391–394 (1993).
24. Froestl, W. *et al.* Phosphinic Acid Analogues of GABA. 1. New Potent and Selective GABAB Agonists. *J. Med. Chem.* **38**, 3297–3312 (1995).
25. Gurulingappa, H., Buckhalts, P., Kinzler, K. W., Vogelstein, B. & Khan, S. R. Synthesis and evaluation of aminophosphinic acid derivatives as inhibitors of renal dipeptidase. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **14**, 3531–3 (2004).
26. Mitsuya, H., Yarchoan, R. & Broder, S. Molecular targets for AIDS therapy. *Sci.* **249**, 1533–1544 (1990).
27. Davies, D. R. The Structure and Function of the Aspartic Proteinases. *Annu. Rev. Biophys. Biophys. Chem.* **19**, 189–215 (1990).
28. Steinrucken, H. C. & Amrhein, N. 5-Enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase of *Klebsiella pneumoniae*. 2. Inhibition by glyphosate. **143**, 351–357 (1984).
29. Merabet, E. K., Walker, M. C., Yuen, H. K. & Sikorski, J. a. Differential scanning calorimetric study of 5-enolpyruvyl shikimate-3-phosphate synthase and its complexes with shikimate-3-phosphate and glyphosate: Irreversible thermal transitions. *Biochim. Biophys. Acta - Protein Struct. Mol. Enzymol.* **1161**, 272–278 (1993).

30. Rueppel, M. L., Brightwell, B. B., Schaefer, J., Marvel, J. T. & Agri-, M. Metabolism and Degradation of Glyphosate in Soil and Water. **25**, 517–528 (1977).
31. *The Pesticide Manual – A World Compendium*. (British Crop Protection Council; Farnham, Surrey; 1997).
32. Evstigneeva, Z. G., Solov, N. A. & Sidel, L. I. Methionine Sulfoximine and Phosphinothrycin : A Review of Their Herbicidal Activity and Effects on Glutamine Synthetase. **39**, 539–543 (2003).
33. Colanduoni, J. A. & Villafranca, J. J. Inhibition of Escherichia coli glutamine synthetase by phosphinothricin. *Bioorg. Chem.* **14**, 163–169 (1986).
34. Lea, P. J., Joy, K. W., Ramos, J. L. & Guerrero, M. G. The action of 2-amino-4-(methylphosphinyl)-butanoic acid (phosphinothricin) and its 2-oxo-derivative on the metabolism of cyanobacteria and higher plants. *Phytochemistry* **23**, 1–6 (1984).
35. David, T. *et al.* Methylene-bis[(aminomethyl)phosphinic acids]: synthesis, acid-base and coordination properties. *Dalton Trans.* **42**, 2414–22 (2013).
36. C. F. Baes and R. S. Mesmer: *The Hydrolysis of Cations*. (1976).
37. Kývala, M. & Lukeš, I; *International Conference, Chemometrics '95*, Pardubice, ČR, 1995, p. 63; plná verze programu "OPIUM" je dostupná na adrese <http://www.natur.cuni.cz/~kyvala/opium.html>.
38. Kruliš, T. *Bakalářská práce*, PřF UK (2013).
39. Holá, K. *Bakalářská práce*, PřF UK (2010).
40. Ondřejčková, V. *Bakalářská práce*, PřF UK (2015).
41. Nagy, N. V. *et al.* Copper(II) complexes of some N-substituted bis(aminomethyl)phosphinate ligands. An integrated EPR study of microspeciation and coordination modes by the two-dimensional simulation method. *J. Inorg. Biochem.* **98**, 1655–1666 (2004).
42. Kubíček, V., Vojtíšek, P., Rudovský, J., Hermann, P. & Lukeš, I. Complexes of divalent transition metal ions with bis(aminomethyl)phosphinic acid in aqueous solution and in the solid state. *Dalt. Trans.* 3927 – 3938 (2003).
43. Martell, A. E. & Mesmer, R. E. *Critical Stability Constants*. (Wiley, 1976).
44. Martell, A. E. & Mesmer, R. E. NIST Standart reference database 46, version 8.0. (2004).