

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI
PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA
Katedra anorganické chemie



Bakalářská práce

Téma:

Příprava a charakterizace derivátů přemostěného cyklamenu a jejich
komplexů s železem a manganem

Veronika Fialová

Chemie pro víceoborové studium – biologie

Vedoucí práce: RNDr. Bohuslav Drahoš, Ph.D.

Olomouc 2015

Prohlašuji, že jsem tuto bakalářskou práci vypracovala samostatně, pod odborným dohledem RNDr. Bohuslava Drahoše, Ph.D. Veškerou použitou literaturu jsem uvedla na konci práce.

V Olomouci 6. 5. 2015

.....

Veronika Fialová

Na tomto místě bych ráda poděkovala vedoucímu bakalářské práce, panu RNDr. Bohuslavu Drahošovi, Ph.D, za vstřícný přístup, trpělivost, podporu, za čas věnovaný konzultacím a kontrole této bakalářské práce, za cenné rady a poskytnutou literaturu. Děkuji také všem pracovníkům na katedře anorganické chemie za vytvoření příjemného pracovního prostředí a také za veškerou pomoc.

V neposlední řadě bych poděkovala rodině a přátelům za poskytnutou podporu při psaní této práce.

Bibliografická identifikace:

Jméno a příjmení autora:	Veronika Fialová
Název práce:	Příprava a charakterizace derivátů přemostěného cyklamů a jejich komplexů s železem a manganem
Typ práce:	Bakalářská
Pracoviště:	Katedra anorganické chemie, Přírodovědecká fakulta UP
Vedoucí práce:	RNDr. Bohuslav Drahoš, Ph.D.
Rok obhajoby práce:	2015

Abstrakt:

Bakalářská práce se zabývá syntézou a charakterizací vybraných makrocyclických ligandů odvozených od přemostěného cyklamů tzv. cross-bridged cyklamů, a to ligandů s dvěma protilehlými dusíky substituovanými methylovými, benzylovými nebo 2-pyridylmethylovými skupinami (L1, L2 a L3). Během syntézy strukturně nového ligandu L3 se podařilo připravit i jeho monosubstituovaný analog s pouze jedním 2-pyridylmethylovým ramenem – L3a. Oba nové ligandy byly detailně charakterizovány pomocí multinukleární 1D a 2D NMR spektroskopie. Pomocí pH-NMR titrace byly pro ligand L3 stanoveny protonizační konstanty $pK_2 = 8,59$ a $pK_3 = 0,46$, extrémně vysokou hodnotu pK_1 nebylo možné určit s daným experimentálním vybavením. Dále byly v rámci práce připraveny manganatý, železnatý a měďnatý komplex ligandu L3, které byly charakterizovány pomocí elementární analýzy a hmotnostní spektrometrie. U měďnatého komplexu byla změřena jeho rychlost disociace v silně kyselém prostředí pomocí změny absorbance ve viditelné oblasti spektra. Fitováním získaných dat byl vypočten poločas rozpadu měďnatého komplexu $\tau = 4,4$ minuty, jehož hodnota je nejkratší v porovnání s komplexy se strukturně podobnými ligandy odvozenými od cross-bridged cyklamů. Zkoumání především strukturních a magnetických vlastností připravených komplexů je předmětem dalšího studia.

Klíčová slova:	cross-bridged cyklam, tetraazamakrocycklus, ligand, komplex, pyridin, železo, mangan, měď
Počet stran:	52
Jazyk:	Čeština

Bibliographical identification:

Author's first name and surname: Veronika Fialová

Title: Preparation and characterization of cross-bridged cyclam derivatives and their iron and manganese complexes

Type of thesis: Bachelor

Department: Department of Inorganic Chemistry, Faculty of Science, Palacky University

Supervisor: RNDr. Bohuslav Drahoš, Ph.D.

The year of presentation: 2015

Abstract:

The bachelors thesis deals with the synthesis and characterization of selected macrocyclic ligands based on cross-bridged cyclam, i.e. ligands with two opposite nitrogen atoms substituted by methyl, benzyl or 2-pyridylmethyl groups (L1, L2 and L3). During the synthesis of structurally new ligand L3, its monosubstituted analogue with only one 2-pyridylmethyl pendant arm was prepared as well. Both new ligands were characterized in details by multinuclear 1D and 2D NMR spectroscopy. Protonization constants for ligand L3, $pK_2 = 8,59$ and $pK_3 = 0,46$, were determined by pH-NMR titration, but extremely high value of pK_1 was not accessible under experimental conditions. Furthermore, in the frame of the thesis, manganese(II), iron(II) and copper(II) complexes of L3 were prepared and characterized by elemental analysis and mass spectrometry. The rate of the copper(II) complex dissociation in acid media was measured by a change of absorbance in visible spectra. The half-time of the complex dissociation, $\tau = 4.4$ minutes, was obtained from the fitting of these data. Its value is the shortest observed among the copper(II) complexes with structurally similar ligands based on cross-bridged cyclam. Description of especially structural and magnetic properties of prepared complexes is a main point of further studies.

Keywords: cross-bridged cyclam, tetrazamacrocycle, ligand, complex, pyridine, iron, manganese, copper

Number of pages: 52

Language: Czech

OBSAH

1. Úvod	7
2. Cíle práce	8
3. Teoretická část	9
3.1. Obecná charakteristika cyklamu	9
3.2. Bis-aminalové chránění	10
3.3. Přemostěné cyklamy	11
3.4. Cross-bridged cyklam a jeho deriváty	13
3.4.1 Alkylové deriváty	14
3.4.2 Další ligandy	15
3.5. Komplexy cross-bridged cyklamu a jeho derivátů	17
3.5.1 Komplexy s železem a manganem	17
3.5.2 Komplexy s kobaltem	20
3.5.3 Komplexy s mědí	20
3.5.4 Komplexy s mědí jako malarická léčiva	22
4. Experimentální část	24
4.1. Použité chemikálie	24
4.2. Metody charakterizace	25
4.3. Syntéza prekurzorů	26
4.4. Syntéza ligandů	30
4.5. Syntéza komplexů	34
4.6. pH NMR titrace L3	36
4.7. Disociace komplexu CuL3	37
5. Diskuze	38
5.1. Syntéza	38
5.2. pH-NMR titrace ligandu L3	42
5.3. Syntéza komplexů s ligandem L3	44
5.4. Disociace komplexu CuL3	45
6. Závěr	49
7. Seznam použité literatury	50

1. Úvod

Cross-bridged cyklam je zvláštní typ ligandu, který má velmi rigidní makrocyclický skelet se čtyřmi atomy dusíku a vytváří neobvyklé komplexy s kovy přechodných skupin s různými zajímavými vlastnostmi, např. stabilitou neobvykle vysokých nebo nízkých oxidačních čísel zakomplexovaného kovu. Tyto komplexy pak nacházejí uplatnění např. v bioaplikacích nebo katalýze.

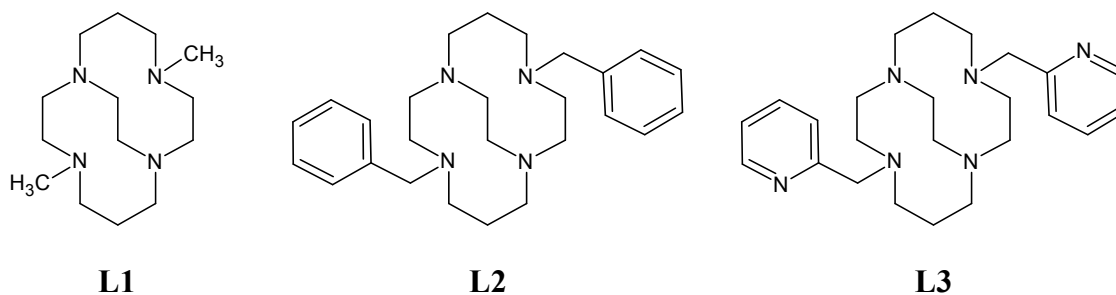
Na druhou stranu magnetickým vlastnostem komplexů s cross-bridged cyklamem nebyla doposud věnována žádná významná pozornost. Z tohoto důvodu se tato práce zabývá syntézou strukturně nového derivátu cross-bridged cyklamu se dvěma pyridinovými rameny a přípravou jeho komplexů s přechodnými kovy, které by mohly vykazovat zajímavé strukturní a magnetické vlastnosti.

2. Cíle práce

Cílem této bakalářské práce bylo seznámení se s postupy a mechanismy syntézy cross-bridged cyklamu (1,4,8,11-tetraazabicyklo[6.6.2]hexadekan), dále samotná syntéza makrocyclického prekursoru cyklamu, včetně syntézy jeho dimethylovaného a dibenzylovaného derivátu **L1** (4,11-dimethyl-1,4,8,11-tetraazabicyklo[6.6.2]hexadekan) a **L2** (4,11-dibenzyl-1,4,8,11-tetraazabicyklo[6.6.2]hexadekan) podle postupů v literatuře.

Dalším cílem práce byla příprava strukturně nového ligand **L3** (4,11-bis(2-pyridylmethyl)-1,4,8,11-tetraazabicyklo[6.6.2]hexadekanu) obsahujícím dvě pyridinová pendantní ramena a jeho charakterizace především pomocí měření NMR.

A posledním cílem této práce byla příprava a charakterizace komplexů ligandu **L3** s vybranými přechodnými kovy, a to především s manganem, železem, niklem, kobaltem a mědí.



Obrázek 1- Strukturní vzorce připravovaných ligandů **L1**, **L2** a **L3**.

3. Teoretická část

3.1. Obecná charakteristika cyklamů

Syntéza a výzkum čtrnáctičlenného tetraaminového makrocyklu cyklam (1,4,8,11-tetraazacyklotetradekan) má své důležité postavení v koordinační chemii. Cyklam má totiž v komplexech s přechodnými kovy charakteristické koordinační vlastnosti, které se neobjevují u necyklických ligandů a jsou přítomny v daleko menší míře u makrocyklů s jiným počtem donorových atomů (vazností) a/nebo celkovým počtem atomů tvořící makrocyklus (např. dvanáctičlenný analog cyklenu – Obrázek 2).¹

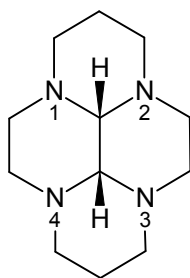
Důležitou vlastností cyklamů, podobně jako i ostatních tetraazamakrocyclických ligandů např. cyklenu, je jeho vysoká bazicita ($pK_1 = 11,29$; $pK_2 = 10,19$; $pK_3 = 1,61$; $pK_4 = 1,91$)². Jeho komplexy s přechodnými kovy vykazují neobvyklé redoxní chování, jsou termodynamicky velmi stabilní (vysoká hodnota disociační konstanty komplexu),^{3,4} což je do značné míry způsobeno makrocyclickým efektem⁵ (atomy makrocyclických ligandů mají mnohem menší koordinační volnost a nedochází tak k energeticky náročné reorganizaci) a jsou kineticky inertní. Příkladem takové stability je poločas rozpadu komplexu $[Ni^{II}(\text{cyklam})]^{2+}$ v prostředí 1M $HClO_4$ při 25°C, který je 30 let.^{3,4} Kinetická stabilita komplexů cyklamů je přičítána pevnosti (rigiditě) makrocyclického skeletu, blokování přístupu vodíkových iontů k amino skupinám díky „uzavřenému/nepřístupnému“ charakteru ligandu.⁶



Obrázek 2: Strukturní vzorec cyklam (1,4,8,11-tetraazacyklotetradekan) a cyklenu (1,4,7,10-tetraazacyklododekan).

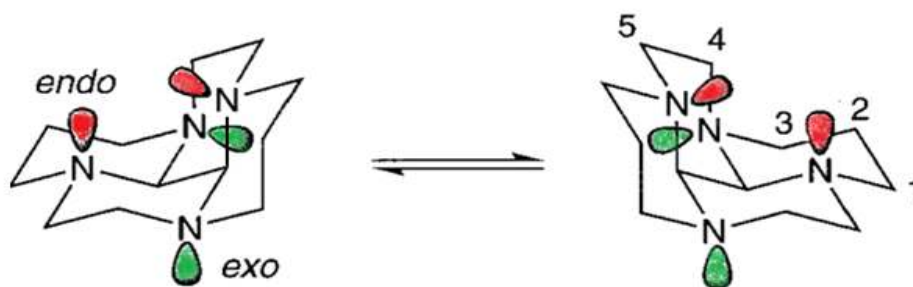
3.2. Bis-aminalové chránění

První produkty kondenzace glyoxalu s cyklamem nebo cyklenem nazývané bis-aminaly (Obrázek 3, pozn. dále v textu je termín *bis-aminal* použit pouze pro *bis-aminal cyklam*) byly připraveny před více jak 30 lety a našly uplatnění v podobě chránění těchto makrocyclů během dalších substitučních/alkylačních reakcí na atomech dusíku.⁷ Chráněný tetraazacyklus může být považován za cyklický polyamin se čtyřmi terciárními amino skupinami. Ve většině podmínek vede kondenzace k termodynamicky stabilnějšímu produktu, který obsahuje čtyři šestičlenné kondenzované kruhy ve stoličkové konformaci a cis-konfiguraci na centrálním dvouuhlíkatém můstku (Obrázek 3). Výsledkem cis-konfigurace je, že se bis-aminal uspořádá do stoličkové konformace, která řídí reaktivitu elektronových párů atomů dusíku. Zvláštností bis-aminalu je, že všechny atomy dusíku jsou orientovány ke konvexní straně molekulární struktury a jsou silně nukleofilní.⁸



Obrázek 3: Strukturální vzorec bis-aminalu vyznačující jeho cis-konfiguraci včetně číslování dusíkových atomů.

Alkylační reakce probíhající s tetracyklickým bis-aminalem (využívána při syntéze např. cross-bridged cyklamů, viz níže) je velmi selektivní, protože je řízena jeho konformací. Cis-kondenzovaný bis-aminal ve stoličkové C_2 konformaci vytváří „dutinu“.⁷ Dva *exo*-dusíky a jejich volné elektronové páry směřují z konvexní strany molekuly, zatímco volné elektronové páry dvou *endo*-dusíků jsou skryty v konkávní straně (míří do „dutiny“). Enantiomerizace, během které se vyměňují *exo* a *endo* polohy, je velmi rychlá i za laboratorních podmínek (znázorněno na Obrázku 4 – *exo* polohy volných elektronových párů jsou znázorněny zeleně, *endo* polohy jsou znázorněny červeně). Substituční reakce proto přednostně probíhají do *exo*-poloh a v případě alkylace do druhého stupně lze připravit pouze *trans* izomery.⁸

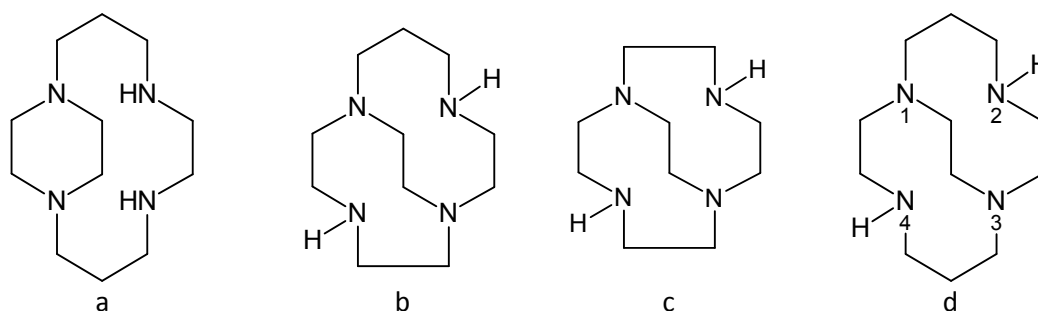


Obrázek 4: Znázornění bis-aminalu v jeho cis-konfiguraci s barevně vyznačenými volnými elektronovými páry na atomech dusíku v endo (červeně) a exo (zeleně) polohách.⁸

Některé deriváty bis-aminalů by mohly nalézt zajímavé uplatnění, zejména bis-aminal bis-cyklamů byly studovány jako nová třída antivirových látek, které vykazují potenciální inhibiční efekty proti HIV-1 a HIV-2 replikaci spolu s vysokou selektivitou.⁹

3.3. Přemostěné cyklamy

Design, syntéza a koordinační vlastnosti nových polyaminových ligandů a jejich derivátů s různými pendantními rameny zvyšuje zájem o jejich výzkum i kvůli potenciálním aplikacím v radiofarmaceutické, biomimetické chemii a katalýze.⁸ Wainwright a Hancock zkoumali „strukturně-zpevněné“ makrocyclické tetraaminy, kde byly sousední atomy dusíků spojeny pomocí ethylenového můstku tzv. „side-bridged“ (Obrázek 5a), který podporuje trans koordinaci ligandu na kovové kationty (Schéma 1).^{10,11}



Obrázek 5: Strukturální vzorec side-bridged cyklamů (a), bicyklo[6.5.2] (cross-bridge homocyklam) (b), bicyklo[5.5.2] (cross-bridged cyklen) (c) a bicyklo[6.6.2] (cross-bridged cyklam) (d) tetraaminů

Wong, Weisman a kolektiv připravili několik členů z nové skupiny ligandů, které měly spojeny protější atomy dusíků N₁ a N₃ (Obrázek 5) a vznikly takzvané „cross-bridged“ neboli přemostěné cyklamy. U těchto bicyklo[6.6.2], [6.5.2] a [5.5.2] tetraaminů

(znázorněno v Obrázek 5) jsou možné konformace, kdy se všechny 4 volné elektronové páry atomů dusíku soustředí nad vzniklou markocyklickou dutinou, což následně umožní velmi silnou komplexaci malých kovových iontů nebo velmi silné vázání protonů. Tvarem se takovéto ligandy podobají „zavřeným škeblím“.⁸ Výsledkem takového uspořádání je, že se cross-bridged cykly chovají jako tzv. protonové houby (z angl. proton sponge), tzn. jako báze, které velmi silně váží proton ($pK_1 \geq 13$). Proto je obtížné takové ligandy připravit ve formě volné báze. Potvrzení tohoto konceptu bylo ověřeno reakcemi s lithiem a dalšími vybranými kovovými ionty.¹² Přirozené uspořádání těchto rigidních ligandů znemožňuje trans koordinaci v oktaedrickém okolí, a proto se jejich komplexy vyskytují pouze v cis-konfiguraci. Tato konfigurace je výhodnější i z toho důvodu, že v ní působí menší tlak na centrální ethylenový můstek.

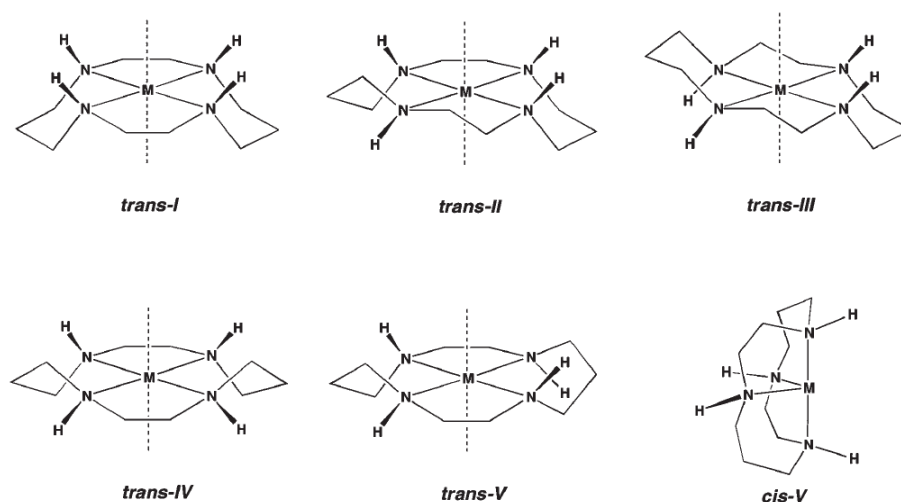
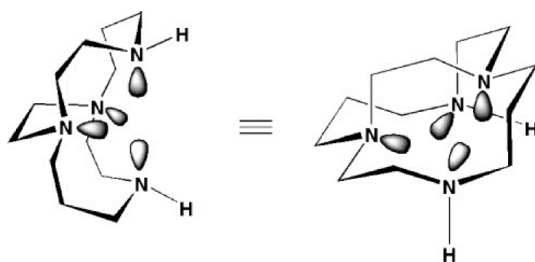


Schéma 1: Možné konfigurace cyklamu v jeho komplexech označené pomocí Bonish-Tobeovy nomenklatury¹³

Kinetická inertnost komplexů cross-bridged cyklamu je důsledkem preferované cis-skládané konfigurace (cis-V v Bonish-Tobeově nomenklatuře¹⁴, Schéma 1). Takto prostorově uspořádaný ligand váže kationt přechodného kovu do „dutiny“ pomocí čtyř volných elektronových párů čtyř atomů dusíku. Tato konfigurace a způsob vazby ligandu na kov se zatím jeví pro cross-bridged cyklam jako jediná možná, protože byla potvrzena strukturními a spektrálními studii u všech dosud připravených komplexů s cross-bridged cyklamem.^{13,14}



Obrázek 6: Znázornění cis-V konfigurace cross-bridged cyklamů¹⁴ včetně orientace volných elektronových párů na atomech dusíku.

Toto je velký rozdíl v porovnání s komplexy, které tvoří cyklam, s nímž bylo nalezeno několik trans- koordinačních konfigurací v pevné fázi (Schema 1). Dále bylo zjištěno, že komplexy cyklamů mohou existovat jako rovnovážná směs několika konfiguračních diastereoizomerů.¹⁵

Komplexy s těmito cross-bridged ligandy nacházejí uplatnění jak v analytické a supramolekulární chemii, tak v medicíně (pozitronová emisní tomografie - PET, jednofotonová emisní výpočetní tomografie - SPECT, radioterapiích, tomografie magnetické rezonance - MRI). Vzhledem k přítomnosti dvou sekundárních atomů dusíku, které mohou být dále substituovány různými funkčními skupinami, lze značným způsobem rozšířit další využití těchto látek.¹⁶

3.4. Cross-bridged cyklam a jeho deriváty

Existuje několik skupin derivátů cross-bridged cyklamů, které mohou být rozděleny podle typu funkčních skupin vázaných na makrocyclický skelet na (i) alkyl deriváty, (ii) neutrální nebo záporně nabitě deriváty obsahující zbytky kyselin, (iii) neutrální aminové deriváty. Syntéza jednotlivých ligandů může být provedena dvěma základními postupy. První z možností je přímá alkylace bis-aminalem chráněného cyklamů následovaná redukcí, což je metoda používaná především pro přípravu alkyl derivátů. Druhou možností je příprava samotného cross-bridged cyklamů přes dibenzylovaný derivát **L2**, ve kterém jsou následně přímo substituovány sekundární aminové skupiny.

3.4.1 Alkylové deriváty

Syntéza derivátů cross-bridged cyklamu s různými alkylovými zbytky v trans polohách je založena na přímé dialkylaci bis-aminalu a následné redukci bis-aminalového můstku.⁸

Primární alkylace je stericky přístupnější a energeticky méně náročná pro *exo*-dusíky než pro *endo*-dusíky. *Exo*-alkylovaný produkt je konformačně zablokovaný kvarterním dusíkem, který zabraňuje jiným konformačním změnám a udržuje konformaci „twist-boat“ (zobrazeno ve schématu 2). Vysoká selektivita sekundární alkylace, která je kvalitativně pomalejší než primární alkylace, připadá na zbývající *exo*-dusík. Tento *exo*-dusík je stericky méně skrytý než další dva *endo*-dusíky. *Exo*-alkylace také minimalizuje odpudivou sílu mezi stejně nabitými částicemi (Coulombův zákon), která je menší než u alkylace *endo*-dusíků. Vysoká stereoselektivita primární alkylace naznačuje, že sterický faktor může být zodpovědný za výsledek sekundární alkylace. Pro úspěšný průběh sekundární alkylace se volí i vhodné rozpouštědlo tak, že je vzniklý dialkylovaný produkt v daném rozpouštědle velmi málo rozpustný, čímž dojde k jeho vysrážení z reakční směsi a zabrání se případné alkylaci do dalších stupňů.^{7, 17}

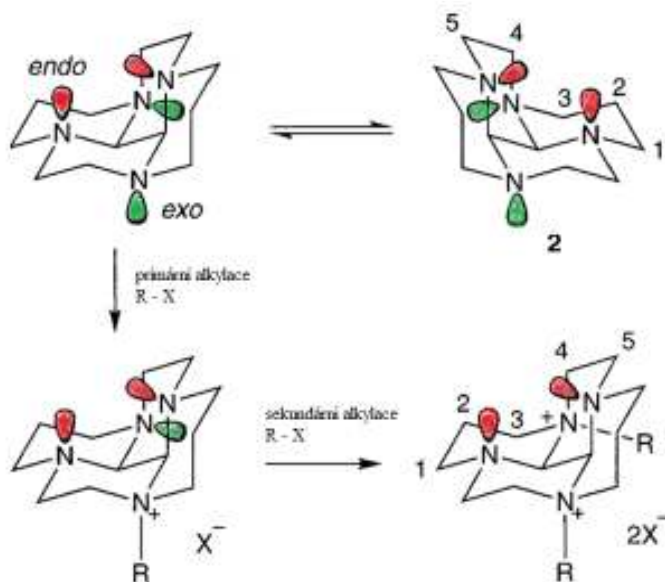


Schéma 2: Znárodnění průběhu primární a sekundární alkylace bis-aminalu.⁸

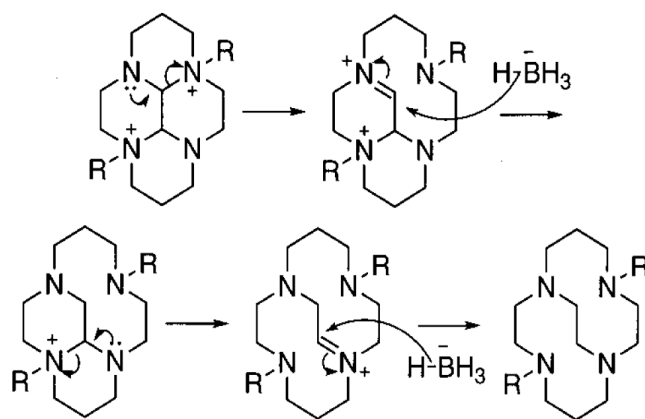


Schéma 3: Znázornění mechanismus redukce bis-aminalu pomocí NaBH_4 .⁸

Po průběhu druhé alkylace, kdy jsou oba *exo*-dusíky substituovány, dochází k dvojité redukci bis-aminalového chránění (Schéma 3). Alder a kolektiv důmyslně využili redukční štěpení alkylovaného bis-aminalu a připravili tak celou řadu přemostěných bicyklických diaminů. Všeobecně používali k redukci LiAlH_4 v diethyletheru.¹⁸ Wong, Weisman a kolektiv přišli na to, že k redukci bis-aminalu na cross-bridged cyklam může být využit také NaBH_4 v 95% ethanolu při pokojové teplotě. Ačkoliv redukce pomocí NaBH_4 probíhá pomalu, její produkty dosahují vysoké čistoty. Při použití vyšších teplot nebo většího množství vody dochází k znečištění produktu. Redukce s NaBH_4 je stereoselektivní, ale ne stereospecifická.⁸

Nejběžnější alkyl deriváty cross-bridged cyklamu jsou dimethylovaný a dibenzylovaný derivát **L1** a **L2** (znázorněno v Obrázek 1). Oba dva tyto ligandy jsou velmi bazické, pro **L1** jsou hodnoty $\text{p}K_{\text{a}1}$ je větší než 13,5 a hodnota $\text{p}K_{\text{a}2}$ je 10,8.⁴

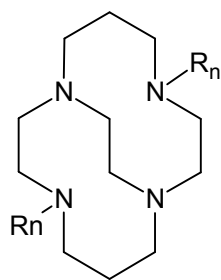
3.4.2 Další ligandy

Výchozí cross-bridged cyklam může být převeden na celou řadu $\text{N,N}'$ -funkcionalizovaných derivátů s různými pendantními rameny (Obrázek 7).⁷ Mezi nejběžnější přívěsná ramena patří acetátové (CBC-1), fosfonátové (CBC-2,4), fosfinátové, amidové (CBC-3) a alkoxy deriváty.¹⁹ Některé komplexy s těmito ligandy mají široké využití jako kontrastní látky nebo jako protilátkové biokonjugáty obsahující kovové radionuklidy v magnetické rezonanci. Biokonjugát je termín pro biomolekuly, na které jsou navázány nanočástice, a takový systém potom nese vlastnosti obou složek, tj. biomolekuly i nanočástice.²⁰

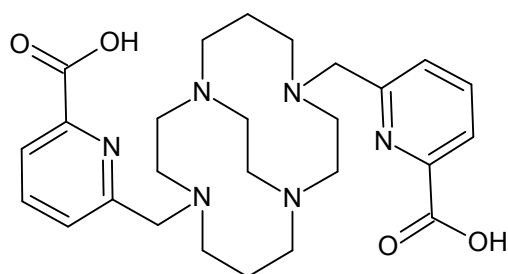
Některé z N,N'-difunkčních derivátů mohou být brány jako selektivní chelatační činidla (známé jako bifunkční chelátory - BFC). Využívají se v medicíně jako léky, které z organismu vyvazují a následně vylučují některé kovy. Tyto léky se užívají při hemochromatóze (jedná se o onemocnění, kdy je v organismu nadměrné množství železa) nebo při otravách některými těžkými kovy např. olovem.²¹

Velmi slibným se jevil ligand CBC-1 pro radio-Cu vazby, jehož měďnaté komplexy vykazují pozoruhodnou kinetickou inertnost, což vede k lepšímu in vivo chování s jeho ⁶⁴Cu značenými biokonjugáty. Nicméně pomalá kinetika rozpadu tohoto komplexu, potřebná pro radioaktivního značení, vyžaduje použití agresivnějších metod – zahřátí na 85°C, zvýšení pH na 8 po dobu 1 hodiny, což jsou podmínky, které nelze splnit in vivo, a proto je stále praktičtější použít pro biokonjugaci místo derivátu cross-bridged cyklamu sensitivnější peptidy nebo biomolekuly.²²

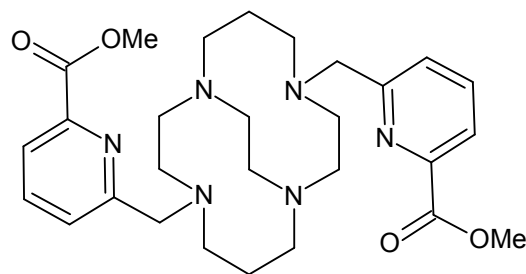
Fosfonátové cross-bridged cyklamy mají zrychlenou kinetiku tvorby koordinační vazby a také vysokou termodynamickou stabilitu. CBC-2 byl připraven jako analog k CBC-1.²³ Syntéza CBC-2 používá jako výchozí látku cyklam a je variantou Kabachnik-Fieldsovy syntézy (Kabachnik-Fieldsova reakce je založena na spojení 3 složek - obecně se jedná o karbonyl-ke-ton, amin a fosfonátu a), která je podobná Manichově reakci.²⁴



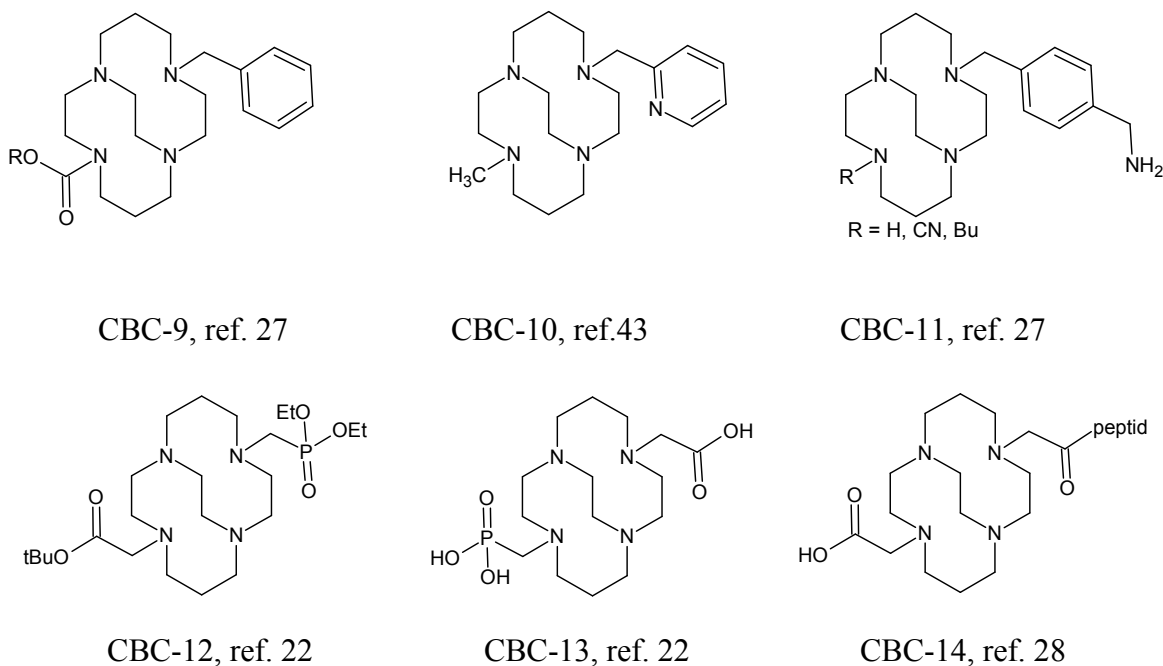
$R_1 = \text{CH}_2\text{COOH}$,	CBC-1, ref. 8
$R_2 = \text{CH}_2\text{PO}_3\text{H}_2$,	CBC-2, ref.22
$R_3 = \text{CH}_2\text{CONH}_2$	CBC-3, ref. 8
$R_4 = \text{CH}_2\text{PO}(\text{OEt})_2$	CBC-4, ref. 22
$R_5 = \text{CH}_2\text{CO}(\text{NEt})_2$	CBC-5, ref. 25
$R_8 = \text{CH}_2\text{COOEt}$	CBC-6, ref. 8



CBC-7, ref.36



CBC-8, ref. 36



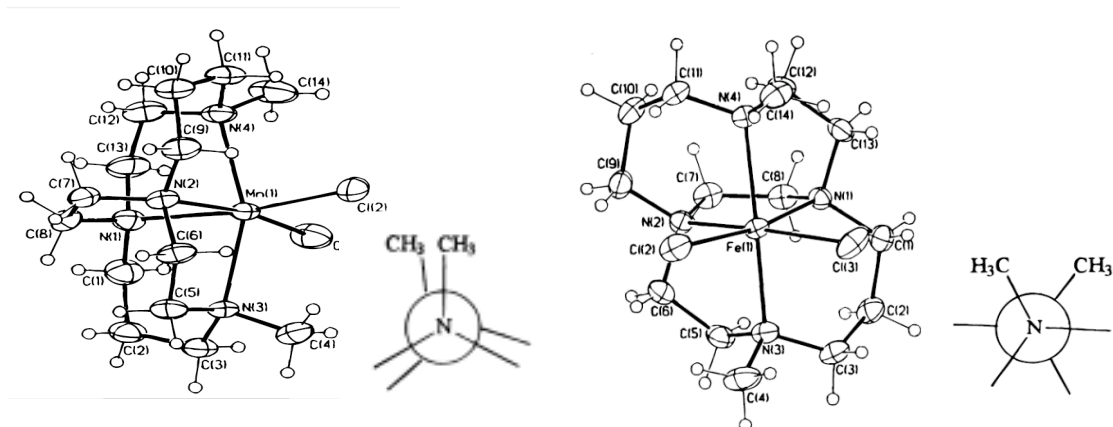
Obrázek 7: Strukturní vzorce dříve připravených derivátů cross-bridged cyklamů s různými funkčními skupinami v protilehlých pendantních ramenech.

3.5. Komplexy cross-bridged cyklamů a jeho derivátů

3.5.1 Komplexy s železem a manganem

Doposud byly s manganem a železem připraveny komplexy od ligandů **L1**, **L2**, cross-bridge cyklamů. S ligandem **L1** byly připraveny dichloro komplexy s $\text{Fe}^{2+/3+}$ a $\text{Mn}^{2+/3+}$, které jsou výjimečné z pohledu jejich vysokých kinetických stabilit a jejich redoxních aktivit. Jejich krystalová struktura ukazuje deformovanou oktaedrickou geometrii se dvěma cis pozicemi, které jsou obsazeny labilními chloridovými anionty (viz. Obrázek 8).²⁶

Výsledky magnetických měření prokázaly, že se jedná o vysokospinové komplexy v rámci celé teplotní škály měření s odpovídajícími hodnotami magnetických momentů.²⁶ Experimentální data magnetického měření jsou znázorněna v Obrázek 9.

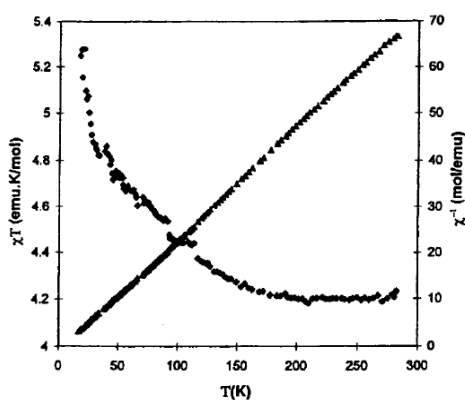


Obrázek 8: Znáornění molekulové struktury komplexu $[\text{MnL1Cl}_2]$ (vlevo) a $[\text{FeL1Cl}_2]$ (vpravo) společně s Newmanovou projekcí N–M–N vazby, která lépe vystihuje konformaci methylových skupin.

Tabulka 1: Hodnoty efektivních magnetických momentů a Weissovy konstanty pro $[\text{MnL1Cl}_2]$ a $[\text{FeL1Cl}_2]$.^{26,27}

komplex	$\mu_{\text{eff}} (\mu_{\text{B}})$	$\theta (\text{cm}^{-1})$
$[\text{MnL1Cl}_2]$	5,80	$4,8 \pm 1,0$
$[\text{FeL1Cl}_2]$	5,50	$9,4 \pm 0,8$
$[\text{MnL1Cl}_2]\text{PF}_6$	5,00	-
$[\text{FeL1Cl}_2]\text{PF}_6$	5,95	-

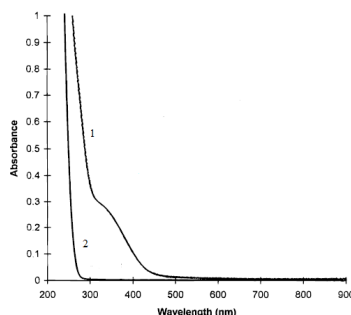
$$\chi = N \cdot \mu_{\text{eff}}^2 / 3k_{\text{B}}(T - \theta)$$



Obrázek 9: Teplotní závislost magnetické susceptibility pro $[\text{MnL1Cl}_2]$ ²⁶

Pozorovaná lineární závislost χT na teplotě ukázala, že získaná data splňují Curie-Weissův zákon. Kladné hodnoty Weissovy konstanty jasně prokazují přítomnost slabých

ferromagnetických interakcí mezi ionty Mn^{2+} nebo Fe^{2+} . Elektronická spektra prokázala, že komplexy nemají žádné intenzivní absorpční vlastnosti v oblasti UV-VIS.



Obrázek 10: Znázorněná elektronická spektra. 1 pro $[FeL1]Cl_2$ a 2 pro $[MnL1]Cl_2$ ²⁶

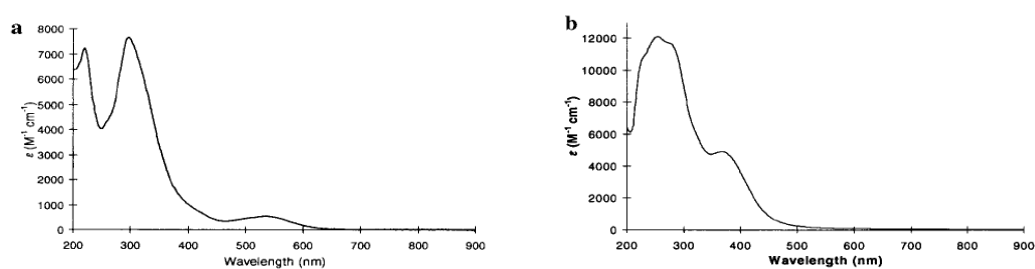
Pomocí cyklické voltametrie bylo zjištěno, že jsou v komplexech stabilizována i méně běžná oxidační čísla, protože byly pozorovány redoxní dvojce např. Mn^{3+}/Mn^{2+} a také Mn^{4+}/Mn^{3+} při nízkých hodnotách redoxních potenciálů.

Kinetická stabilita a disociace $[MnL1]Cl_2$ byla studována pomocí 1H NMR. Ke komplexu se přidávala 1M DCl a poločas rozpadu byl stanoven na 13,8 hodin při teplotě 20°C. Signály v 1H NMR spektru komplexu byly široké a těžce pozorovatelné z důvodu přítomnosti paramagnetického Mn^{2+} , ale po dekomplexaci byly signály volného ligandu stále široké, avšak již pozorovatelné. Při srovnání rychlostí disociace komplexů $[Mn(L1)(H_2O)_2]^{2+}$ a $[Cu(L1)(H_2O)_2]^{2+}$ bylo zjištěno, že manganatý komplex se rozpadá 4000× rychleji než měďnatý komplex.

U manganatého komplexu bylo zjištěno, že reaguje s peroxidem vodíku a dalšími oxidačními činidly za vzniku manganičitého komplexu. Katalytická účinnost tohoto komplexu byla zkoumána ve vodném roztoku epoxidační reakcí karbamazepinu a dehydrogenací v 1,4-cyklohexadienu. Tento komplex byl označen jako selektivní katalyzátor, vykazující mírnou katalytickou aktivitu při přenosu kyslíku, ale daleko významnější je katalytická aktivita při dehydrogenačních reakcích.²⁶

Komplexy železité a manganité s **L1** byly připraveny oxidací jejich dvojmocných analogů. Elektronové konfigurace nových sloučenin se odrážejí v jejich magnetických momentech, μ_{eff} , které byly získány při laboratorní teplotě pevných vzorků a jsou typické pro vysokospinové d^4 komplexy s Mn^{3+} a vysokospinové d^5 komplexy trojmocného železa znázorněny v tabulce 1. Podle elektronických spekter uvedených v Obrázku 11

ukazují, že oba komplexy $[\text{MnL1Cl}_2]\text{PF}_6$ a $[\text{FeL1Cl}_2]\text{PF}_6$ absorbují až při nižších vlnových délkách pod hodnotou 500 nm.



Obrázek 11: Elektronická spektra pro **a** $[\text{MnL1Cl}_2]\text{PF}_6$ a pro **b** $[\text{FeL1Cl}_2]\text{PF}_6$

Labilní chloridové ligandy v $[\text{MnL1Cl}_2]$ podléhají substitučním reakcím, ve vodném roztoku dochází k jejich nahrazení molekulami vody, a v přítomnosti vzdušného kyslíku dochází k oxidaci na Mn(III) a vzniku hydroxo komplexu.²⁷

Manganaté a železnaté komplexy s **L2** byly připraveny pro porovnání jejich struktur a vlastností s komplexy železnatými a manganatými s **L1**. Železnaté komplexy s **L2** tvoří na vzduchu μ -oxo dimery. Dibenzylované manganaté a železnaté komplexy jsou velmi málo rozpustné v acetonitrilu.

3.5.2 Komplexy s kobaltem

Kobalt a jeho komplexy mají standardní využití v moderní koordinační chemii. Ligandy použité v komplexech s kobaltem v oxidačním stavu +III byly CBC-1 a CBC-3. Vznikly nízkospinové d^6 diamagnetické komplexy. Elektronová spektra těchto komplexů ukázala hodnotu absorpce ve viditelných vlnových délkách kolem 500 nm.²⁸

3.5.3 Komplexy s mědí

Měď se ukázala jako vhodný kationt pro tvorbu komplexů s cross-bridged cyklamy. Tyto komplexy nacházejí velké uplatnění a využití v různých bioaplikacích. Jako příklad zde můžeme uvést snahu o nalezení ideální bifunkčního chelátoru (dále jen BFC). Ideální BFC by měl vázat cílové radio kovy s vysokou specifičností, výnosem a vysokou rychlostí. Vytvořený komplex by měl být nejen termodynamicky stabilní, ale i kineticky inertní vůči transchelataci a transmetalaci in vivo. Měď ^{64}Cu s poločasem rozpadu $t_{1/2} = 12,7$ h; β^+ : 0,656 MeV, 17,8%; β^- : 0,573 MeV, 38,4%), se jeví jako velmi

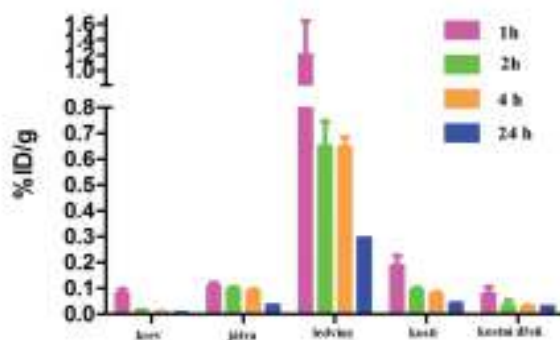
slibný radio izotop s aplikačním potenciálem v diagnostickém zobrazování (pozitronové emisní tomografie (PET)) a cílené radioterapii, kde se používá izotop ^{67}Cu .^{29,30}

Syntéza měďnatého komplexu s CBC-2 probíhá v prostředí methanolu při pH 8 velmi rychle, za 5 minut. Tento modrý komplex má absorpci kolem vlnové délky 639 nm a cyklická voltamografie ukázala kvazi-reversibilní redukci při potenciálu $-0,96\text{ V}$ (Ag/AgCl). Poločas rozpadu komplexu v prostředí 5M HCl a teplotě 90°C byl stanoven na 13,8 h.³¹

Další měďnatý komplex byl připraven s CBC-13. Syntéza tohoto tmavě modrého komplexu také probíhala velmi rychle při laboratorní teplotě a to i v mírně kyselém prostředí pH = 6,5. Maximální absorpce byla při vlnové délce 613 nm a kvazi-reverzibilní -1 V (Ag/AgCl). Poločas rozpadu komplexu byl stanoven na 6,8 h v prostředí 5M HCl a teplotě 90°C .²²

Radiochemické experimenty byly prováděny ve vodných rozpouštědlech při různých hodnotách pH (rozmezí 4,5–8,1) a teplot (25– 95°C) a různých rozmezí koncentrací. Výtěžek značení radionuklidem byl poté stanoven radio-HPLC. Jako nejideálnější pro radio- ^{64}Cu značení byly vyhodnoceny tyto podmínky: 100 μl 26,5 μM roztoku ligandu v 0,1 M NH_4OAc (pH = 8,1) bylo inkubováno s 1 μl $^{64}\text{CuCl}_2$ při laboratorní teplotě. Radiochemický výtěžek byl $> 95\%$ během 30 min.

S cílem zjistit, jak funguje farmakokinetika měďnatého komplexu s CBC-13, byly provedeny biodistribuční studie na samcích Lewisových krys. Výsledky výzkumu jsou uvedeny v Obrázku 12,²² a ukazují, že koncentrace komplexu je nejvyšší v ledvinách a ve všech orgánech velmi rychle klesá, po 24h je z těla téměř vyloučena.



Obrázek 12: Znázornění koncentrací ^{64}Cu s CBC-13, v různých orgánech a časech u Lewisových krys.²²

Dimethyl cross-bridged cyklam tvoří komplex s Cu^{I} u něhož byla zjištěna nejvyšší známá katalytická aktivita (v roce 2006) pro ATRP (atom transfer radical polymerization) reakce. Hodnota rovnovážné konstanty pro ATRP reakci s kyselinou methyl chloroctovou je $30\times$ větší pro výše zmíněný katalytický systém než hodnota pro známý a velmi aktivní katalyzátor $\text{Cu}^{\text{I}}\text{Cl}/\text{Me}_6\text{TREN}$. (Me_6TREN = hexamethyl-tris(2-aminoethyl)amin).³²

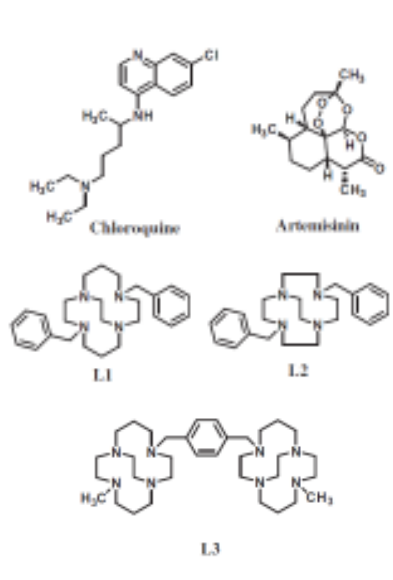
3.5.4 Komplexy s mědí jako malarická léčiva

Malárie je velkým zdravotním problémem zejména v rozvojových zemích Afriky, jihovýchodní Asie a Jižní Ameriky.³³ Všechny stávající antimalarika jsou založena na 4-aminochinolinu. Problémem je, že si parazité vytvořili chemickou resistenci na tyto léčiva.³⁴ Druhým možným lékem je artemisinin, který se nabízí jako alternativa, ale vysoká cena je velkou nevýhodou pro léčbu v chudých oblastech.³⁵

Komplexy s manganem, železem, kobaltem, niklem a zinkem s cross-bridged tetraazamakrocyclickými chelátory jako je cyklen a cyklam se dvěma benzylovanými rameny byly syntetizovány a testovány na in vitro aktivitu proti malárii na chlorochin odolné (W2) a chlorochin citlivé (D6) kmeny *Plasmodium falciparum* (jedná se o parazita, který je přenášen komárem z rodu *Anopheles*).³⁶

Všechny kovové komplexy dibenzyl cross-bridged cyklamu vykazovaly silnou antimalarickou aktivitu. Manganatý komplex tohoto ligandu byl nejúčinnější s hodnotami IC_{50} 0,127 μM na chlorochin citlivé (D6) a 0,157 μM na chlorochin-rezistentní (W2) kmeny *P. falciparum*.

Obecně platí, že hydrofóbní ligandy se dvěma benzylovými rameny vykazovaly lepší aktivitu proti malárii ve srovnání s aktivitou monobenzylovaných ligandů, což může být způsobeno jejich vyšší lipofilitou. Zvýšenou aktivitu proti malárii ukazoval i manganatý komplex cross-bridged cyklamů. Výsledky ukázaly, že koordinace přechodného kovu s biologicky aktivními molekulami CBC mohou vést ke zlepšení výsledné účinnosti v závislosti na zvoleném iontu kovu.



Compound	D6 IC ₅₀ (μM)	D6 SI	W2 IC ₅₀ (μM)	W2 SI	Vero IC ₅₀ (ng/mL)
L1	2.679	>4.4	4.358	>2.7	NC
Mn(L1)Cl ₂	0.157	38.45	0.127	47.793	3222.8
Fe(L1)Cl ₂	0.324	>27.6	0.426	>21	NC
[Co(L1)(OAc)]PF ₆	NA	—	5.162	>1.4	NC
[Ni(L1)(OAc)]PF ₆	0.825	>8.6	1.326	>5.4	NC
[Cu(L1)(OAc)]PF ₆	0.423	>16.7	0.809	>8.7	NC
[Zn(L1)(OAc)]PF ₆	0.342	>20.6	0.593	>11.9	NC
L2	1.350	>9.3	2.008	>6.3	NC
Mn(L2)Cl ₂	0.265	>35.6	0.545	>17.3	NC
Fe(L2)Cl ₂	1.384	>6.8	2.139	>4.4	NC
[Co(L2)(OAc)]PF ₆	NA	—	NA	—	NC
[Ni(L2)(OAc)]PF ₆	1.110	>6.7	1.538	>4.8	NC
[Cu(L2)(OAc)]PF ₆	0.147	>50.3	0.312	>23.6	NC
[Zn(L2)(OAc)]PF ₆	2.057	>3.6	3.814	>1.9	NC
L3	1.278	>6.4	1.414	>5.8	NC
[Mn ₂ (L3)Cl ₄]	0.957	>6	0.959	>5.9	NC
Fe(L3) ₂ Cl ₄	NA	—	NA	—	NC
[Co ₂ (L3)(OAc) ₂](PF ₆) ₂	NA	—	NA	—	NC
[Ni ₂ (L3)(OAc) ₂](PF ₆) ₂	NA	—	NA	—	NC
[Cu ₂ (L3)(OAc) ₂](PF ₆) ₂	NA	—	NA	—	NC
[Zn ₂ (L3)(OAc) ₂](PF ₆) ₂	NA	—	NA	—	NC
Artemisinin (ART)	0.024	>>35.5	0.004	>211.4	NC
Chloroquine (CQ)	0.037	20.4	0.679	>1.1	NC

Obrázek 13: Znázornění ligandů, které se účastnily výzkumu (vlevo) společně s tabulkou hodnot naměřených aktivit proti malárii (vpravo).

NC = žádná cytotoxicita; NA = žádná aktivita; SI = selektivní index (poměr hodnot IC₅₀ pro buňky/IC₅₀ pro *P. falciparum*)

4. Experimentální část

4.1. Použité chemikálie

Pro syntézu byly použity komerčně dostupné chemikálie a rozpouštědla (jejich seznam je uveden v Tabulce 2) a byly použity bez dalších úprav, kromě přípravy suchého acetonitrilu, který byl připraven destilací z P_2O_5 . Produkty byly charakterizované především pomocí MS, 1H NMR, ^{13}C NMR a elementární analýzy.

Tabulka 2: Seznam použitých chemikálií

CHEMIKÁLIE	VÝROBCE
acetonitril (MeCN)	Penta
aktivní uhlí	Penta
amoniak, vodný roztok (NH_3)	Penta
deuterovaný dimethylsulfoxid (DMSO- d_6)	Gen-chem
deuterovaný chloroform ($CDCl_3$)	Gen-chem
diethylether (Et_2O)	Penta
ethylester kyseliny octové (ethylacetát)	Penta
hydroxid sodný (NaOH)	Penta
chlorid amonný (NH_4Cl)	Penta
chloroform ($CHCl_3$)	Penta
kyselina chlorovodíková, vodný roztok (HCl)	Penta
kyselina sírová (H_2SO_4)	Penta
metanol (MeOH)	Penta
síran sodný, bezvodý (Na_2SO_4)	Penta
tetrahydridoboritan sodný ($NaBH_4$)	Sigma-Aldrich
tetrahydrofuran (THF)	Penta
kyselina pikolinová ($C_6H_5NO_2$)	Sigma-Aldrich
methyl jodid (CH_3I)	Sigma-Aldrich
benzyl bromid (C_7H_7Br)	Sigma-Aldrich
glyoxal monomer ($C_2H_2O_2$)	Fisher
kyanid draselný (KCN)	Lachema
bis(3-aminopropyl)-1,2-ethylendiaminu(3,2,3-amin)	Sigma-Aldrich
$NiCl_2 \cdot 6H_2O$	Acros
RaNi	Acros
thionyl chlorid ($SOCl_2$)	Fisher
jodid draselný (KI)	Lachema
$Cu(ClO_4)_2 \cdot 6H_2O$	Sigma-Aldrich
$Co(ClO_4)_2 \cdot 6H_2O$	Sigma-Aldrich
$Ni(ClO_4)_2 \cdot 6H_2O$	Sigma-Aldrich

4.2. Metody charakterizace

SPEKTROSKOPIE NUKLEÁRNÍ MAGNETICKÉ RESONANCE

^1H a ^{13}C NMR spektra byla změřena na 400 MHz NMR spektrometru od firmy Varian. Některá ^1H a ^{13}C NMR spektra a 2D spektra (^1H - ^1H COSY, HMQC, HMBC) byla změřena na 600 MHz NMR spektrometru JNM-ECA600II firmy JEOL. Změřená spektra byla referencována na signály reziduálního nedeuterovaného rozpouštědla (CDCl_3 : δ ^1H 7,27 ppm; ^{13}C 77,00 ppm; DMSO-d_6 : δ ^1H 2,50 ppm; ^{13}C 39,51 ppm). Multiplicita signálů byla označena následovně: s – singlet, d – dublet, t – triplet, qr – kvartet, q – kvintet, bs – broad singlet, m – multiplet. Spektra byla měřena při laboratorní teplotě, pokud není uvedeno jinak. Přiřazení atomů vodíku popř. uhlíku pro ligandy **L3** a **L3a** bylo provedeno na základě měření 2D NMR spekter ^1H - ^1H gs-COSY, ^1H - ^{13}C gs-HMQC a ^1H - ^{13}C gs-HMBS (gs = gradient selected, COSY = correlation spectroscopy, HMQC = heteronuclear multiple quantum coherence, HMBC = heteronuclear multiple bond coherence). Chemický posun je vždy uveden v jednotkách ppm.

HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIE

Hmotnostní spektra byla změřena na přístroji LCQ Fleet Ion Mass Trap MS od firmy Thermo Scientific s 3D iontovou pastí a ionizací elektrosprejem. Vzhledem k povaze studovaných látek, byla spektra měřena v kladném módu.

ELEMENTÁRNÍ ANALÝZA

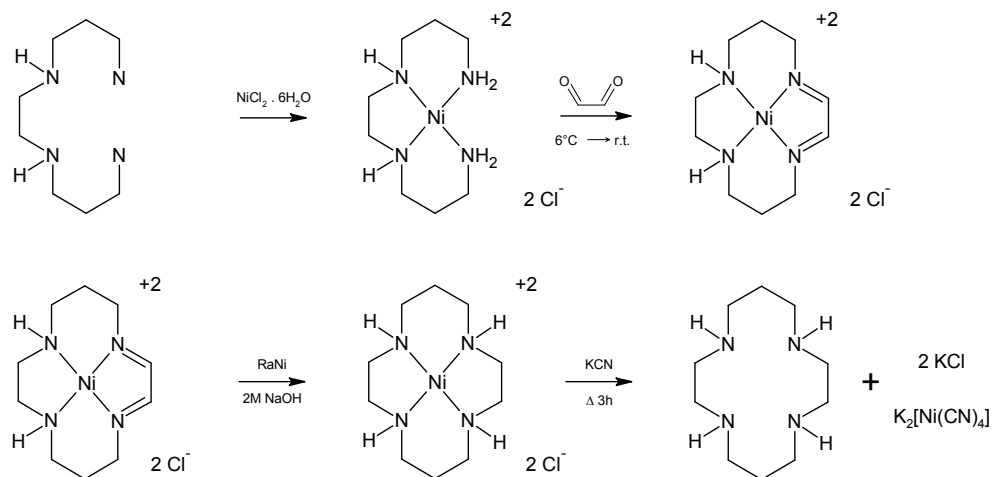
Elementární analýza prvků C, H, N byla provedena na elementárním analyzátoru Thermo Scientific Flash 2000. U vzorků, které byly získány ve formě oleje, elementární analýza nebyla provedena.

UV-VIS SPEKTROSKOPIE

UV-VIS spektra byla měřena na přístroji Perkin-Elmer Lambda 40 určeného k měření roztokových absorpčních spekter v rozsahu vlnových délek 250–900 nm. K měření byla použita plastová kyveta délky 2 cm a objemu 1 ml.

4.3. Syntéza prekurzorů

Syntéza cyklamu (1, 4, 8, 11 – tetraazacyklotetradekanu)



Syntéza cyklamu by se dala podle časové náročnosti rozdělit na tří denní přípravu a byla provedena dle modifikovaného postupu z literatury.^{37,38}

Do kádinky o minimálním objemu 2 dm^3 bylo přidáno 500 ml destilované vody a 20g (115 mmol) bis(3-aminopropyl)-1,2-ethylendiaminu (3,2,3-aminu), bylo vloženo magnetické míchadlo a za neustálého míchání bylo přidáno po částech 27,3 g (115 mmol) $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$. Kádinka s fialovým roztokem byla vložena do ledové lázně a ochlazena na 5°C . Do 120 ml destilované vody bylo přidáno 36 ml (788 mmol) glyoxalu monomeru a zahřáto na 70°C , aby bylo zabráněno výskytu oligomerů. K nikelnatému roztoku, který byl udržován při teplotě 5°C , byl postupně po malých částech přikapáván horký roztok monomerního glyoxalu. Po přidání veškerého aldehydu byl roztok vyjmut z ledové lázně a míchán přes noc při laboratorní teplotě.

Druhý den byl připraven 2M vodný roztok hydroxidu sodného o objemu 500 cm^3 , kterým byl zalkalizován roztok nikelnatého komplexu. K tomuto roztoku bylo přidáno po částech a za velmi intenzivního míchání 25 g (426 mmol) práškového Raneyova niklu, za velké obezřetnosti, protože směs po přidání Raneyova niklu silně pěníla za vývoje H_2 . Získaná suspenze byla opět míchána přes noc za laboratorní teploty.

Nezreagovaný Raneyův nikl a kovový nikl byl odfiltrován na fritě S2 obsahující rozmělněný filtrační papír („vlhká kaše“). (Při filtraci se musí dávat velký pozor na vzplanutí pyroforického niklu). Po kontrole bazického pH bylo k filtrátu přidáno

za míchání 50 g (768 mmol) kyanidu draselného (při práci s kyanidem se musí dávat velký pozor, protože se jedná o prudký jed). Po přidání kyanidu byl roztok refluxován 3 hodiny pod zpětným chladičem. Vzniklá suspenze cyklamu v roztoku kyanidu draselného byla ochlazená na laboratorní teplotu a vzniklý cyklam byl vyextrahován chloroformem o celkovém objemu 800 ml. Jednotlivé frakce po extrakci byly spojeny dohromady a vysušeny bezvodým síranem sodným. Roztok se zahustil na rotační vakuové odparce (RVO) přesně na takový objem, aby právě docházelo ke krystalizaci produktu. Zahuštěná směs byla přelita 3 až 4 násobným objemem acetonitrilu. Vzniklá bílá kaše byla odsáta na fritě S3, promyta acetonitrilem a vysušena proudem vzduchu. Produkt byl izolován ve formě lehkého bílého prášku, který byl přes noc dosušen ve vakuovaném exsikátoru nad KOH.

Podle uvedeného postupu se očekával výtěžek okolo 14 g, což činí 60%. Reálná výtěžnost reakce byla 58,8 % a výtěžek reakce byl 13,8 g. Reakce probíhala mnohem lépe s Raneyovým niklem v podobě jemného prášku než hrubějších kousků. Větší čistoty cyklamu může být dosaženo vakuovou sublimací.

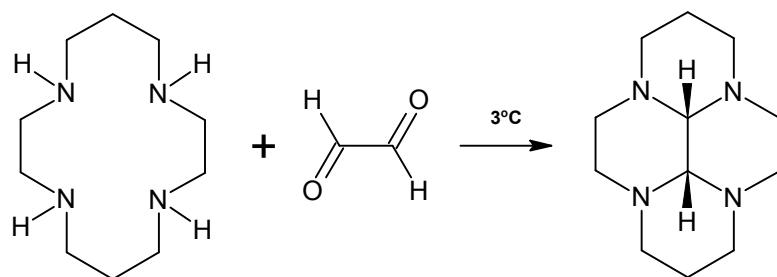
Charakterizace:

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ 2,74 (8H, m); 2,68 (8H, bs); 1,72 (4H, q, $^3J_{\text{HH}} = 10,6$ Hz)

MS(+): 205,89 $[\text{M}+\text{H}]^+$

Elementární analýza pro cyklam ($\text{C}_{10}\text{H}_{24}\text{N}_4 \cdot 0,25\text{H}_2\text{O}$), $M_r = 204,83$; změřeno (vypočteno): C 58,86 (58,64); H 12,31 (12,06); N 27,40 (27,35)

Syntéza bis-aminalu (perhydro-3,5,8,10-tetraazapyrenu)



Bis-aminal byl připraven podle postupu uvedeného v literatuře.³⁹ Jedná se o kondenzát cyklamu a glyoxalu vznikající jejich smícháním v metanolu při laboratorní teplotě. Pro reakci bylo použito 5,0 g (22 mmol) cyklamu a 5,4 g (93 mmol) glyoxalu

monomeru v podobě 40% vodného roztoku. Produkt byl získán v podobě nažloutlého oleje. Výtěžek reakce činil 4,8 g a výtěžnost byla 85,2 %.

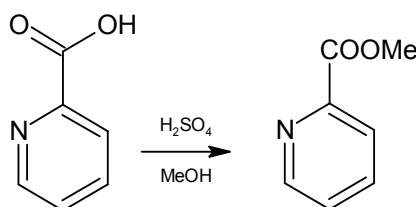
Charakterizace:

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 3,48 (2H, m); 3,05 (2H, s); 2,96–2,89 (6H, m); 2,71 (2H, d, $^2J_{\text{HH}} = 10,6$ Hz); 2,30–2,07 (8H, m); 1,18 (2H, dm, $^2J_{\text{HH}} = 13,3$ Hz)

^{13}C NMR (101MHz, CDCl_3): δ 76,4; 55,5; 53,8; 52,0; 44,3; 19,2

MS(+): 223,24 $[\text{M}+\text{H}]^+$

Syntéza methylesteru kyseliny pikolinové

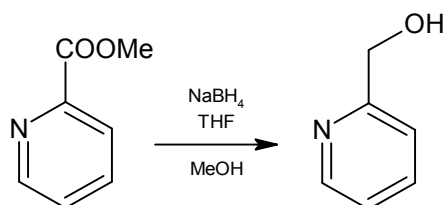


Methylester kyseliny pikolinové byl připraven z 20,0 g (162 mmol) kyseliny pikolinové podle postupu uvedeného v literatuře.⁴⁰ Byl získán světle žlutý olej, který byl dále použit při syntéze bez dalšího čištění. Výtěžek reakce byl 18,3 g a výtěžnost činila 81,9%.

Charakterizace:

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 8,76 (1H, m); 8,15 (1H, m); 7,85 (1H, m); 7,49 (1H, m); 4,01 (3H, s, CH_3)

Syntéza pyridin-2-methanolu



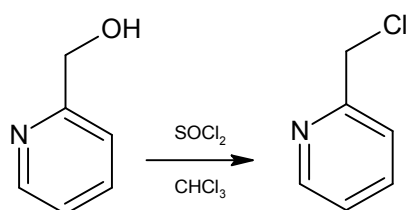
Pyridin-2-methanol byl připraven z methylesteru kyseliny pikolinové z předchozího kroku a podle postupu uvedeného v literatuře.⁴¹ K reakci bylo použito 18,29 g (133 mmol) methylesteru, ke kterému bylo přidáno 180 ml THF a 13,00 g

NaBH₄. Tato směs byla zahřívána pod zpětným chladičem 1 hodinu, poté bylo přikapáno 200 ml metanolu během 45 minut. Dále byla směs znovu refluxována další hodinu. Žlutá průhledná směs byla odpařena na RVO (ne dosucha). Rozpuštěna ve 100 ml nasyceného roztoku NH₄Cl, obazičtěna na pH>12 a vyextrahována 4×50 ml dichlormethanu a poté ještě 3× 50 ml ethylacetátu. Oba extrakty byly vysušeny bezvodým Na₂SO₄ a byly odpařeny dosucha. Celkový výtěžek reakce byl 12,3 g a výtěžnost činila 83,4%.

Charakterizace:

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ 8,46 (1H, d, ³J_{HH} = 4,0 Hz); 7,78 (1H, m); 7,46 (1H, d, ³J_{HH} = 7,8 Hz); 7,23 (1H, m); 5,40 (1H, t, ³J_{HH} = 5,9 Hz, OH); 4,56 (2H, d, ³J_{HH} = 5,9 Hz, CH₂OH)

Syntéza 2-chlormethylpyridinu



12,13 g (111 mmol) pyridin-2-methanolu v 80 ml chloroformu bylo ochlazeno v ledové lázni na 2–3°C. Postupně bylo přidáno 39,6 ml thionyl chloridu tak, aby teplota reakční směsi nepřekročila hodnotu 5°C. Po přidání veškerého SOCl₂ byla odstraněna ledová lázeň a směs se nechala reagovat při laboratorní teplotě ještě 1 hodinu. Poté byl přidán diethyleter, který vysrážel produkt v podobě monohydrochloridu. Sraženina byla zfiltrována, promyta diethyletherem na fritě S3 a nechána přes noc ve vakuovém exsikátoru nad KOH. Výtěžek reakce byl 12,5 g a výtěžnost reakce byla 94,4%.

Charakterizace:

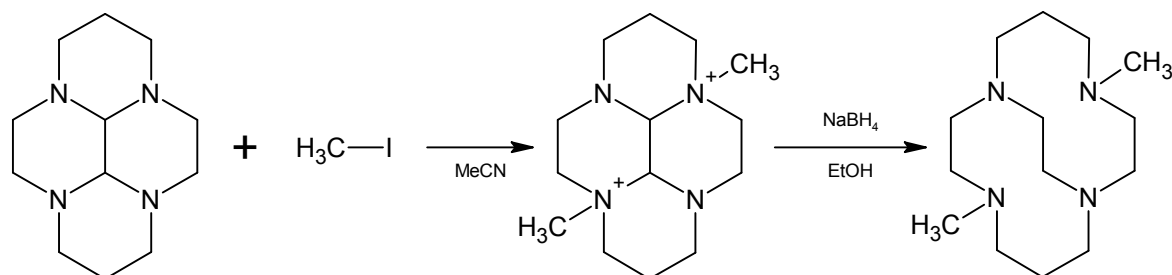
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 8,78 (1H, bs); 8,51 (1H, bs); 8,11 (1H, d, ³J_{HH} = 5,9 Hz); 7,96 (1H, bs); 5,18 (2H, s, CH₂Cl)

MS (+): 128,12 [M+H]⁺

Elementární analýza pro 2-chlormethylpyridin hydrochlorid (C₆H₆NCl·HCl·0,75H₂O), M_r = 182,05; změřeno (vypočteno): C 40,86 (40,59); H 4,43 (4,83); N 8,01 (7,89)

4.4. Syntéza ligandů

Syntéza 4,11-dimethyl-1,4,8,11-tetraazabicyklo[6.6.2]hexadekan (L1)



Syntéza 4,11-dimethyl-1,4,8,11-tetraazabicyklo[6.6.2]hexadekanu byla provedena podle postupu v literatuře.⁸ K syntéze bylo použito 5 g (22 mmol) bis-aminalu a 20 ml (317 mmol) methyljodidu. K extrakci z bazického roztoku byl použit místo benzenu chloroform. Výtěžek reakce byl 3,0 g a výtěžnost reakce byla 93,1%.

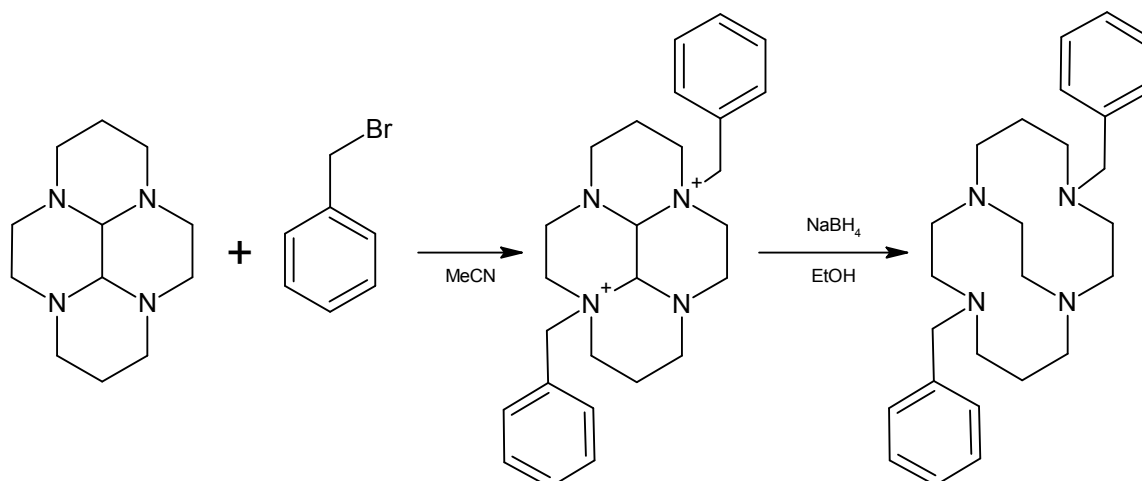
Charakterizace:

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 3,38 (2H, m); 3,25–3,10 (3,39–3,22 (6H, m); 3,07–2,95 (4H, m); 2,87–2,62 (8H, m); 2,36 (6H, s); 1,80–1,62 (4H, m)

MS (+): 255,27 [$\text{L1}+\text{H}$] $^+$

Elementární analýza pro $\text{L1}\cdot\text{HI}$ ($\text{C}_{14}\text{H}_{31}\text{IN}_4$), $M_r = 382,73$; změřeno (vypočteno): C 43,92 (43,98); H 8,96 (8,17); N 14,79 (14,65)

Syntéza 4,11-dibenzyl-1,4,8,11-tetraazabicyklo[6.6.2]hexadekan (L2)



Syntéza 4,11-dibenzyl-1,4,8,11-tetraazabicyklo[6.6.2]hexadekanu byla provedena podle postupu v literatuře.⁸ K syntéze bylo použito 2,0 g (9 mmol) bis-aminu 22,0 g (128 mmol) benzylbromidu. K extrakci z bazického roztoku byl použit místo benzenu chloroform. Výtěžek reakce byl 2,5 g a výtěžnost reakce byla 89,2 %.

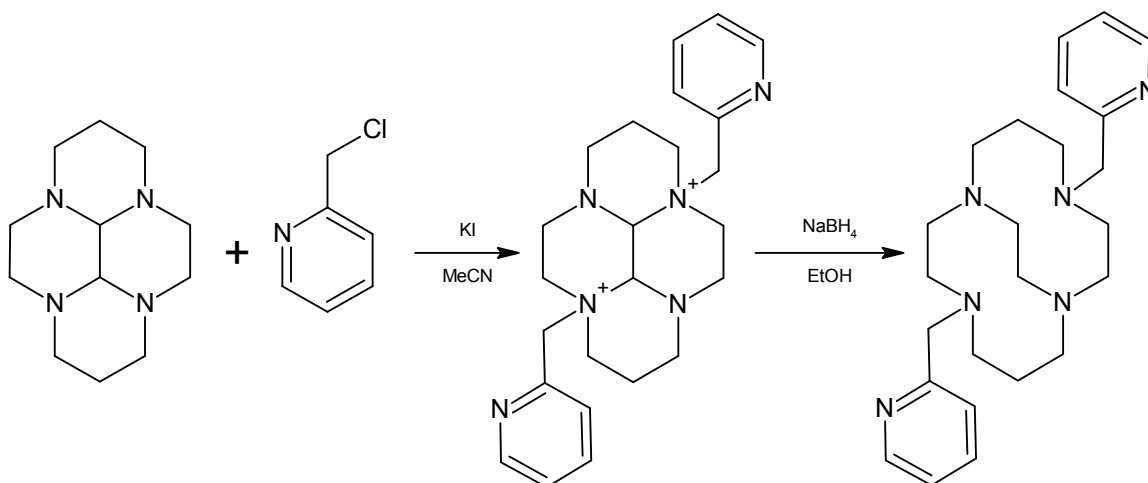
Charakterizace:

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 7,31–7,16 (10H, m); 3,91 (2H, ddd, *J* = 12,5 Hz, *J* = 11,0 Hz, *J* = 4,5); 3,75 + 3,19 (4H, AX, *J* = 13,7 Hz); 2,82 (2H, ddd, *J* = 12,5 Hz, *J* = 11,0 Hz, *J* = 4,0); 2,48–2,26 (16H, m); 1,53 (2H, m); 1,35 (2H, m)

MS (+): 407,32 [L2+H]⁺

Elementární analýza pro L2·2HBr (C₂₆H₄₀BrN₄), *M_r* = 468,43; změřeno (vypočteno): C 54,42 (54,94); H 7,07 (7,09); N 9,54 (9,86)

Syntéza 4,11-bis(2-pyridylmethyl)-1,4,8,11-tetraazabicyklo[6.6.2]hexadekan (L3)

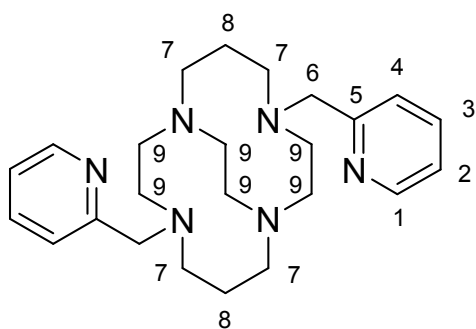


Syntéza 4,11-bis(pyridinmethyl)-1,4,8,11-tetraazabicyklo[6.6.2]hexadekanu probíhala podobně jako syntézy předchozích dvou ligandů. Ke 2,5 g (11 mmol) bis-aminalu rozpuštěného ve 20 ml suchého acetonitrilu se přidalo 2,0 g (12 mmol) jodidu draselného. K této směsi byl přidán 2-chlormethylpyridin, který byl připraven rozpuštěním 7 g (43 mmol) pikolylchloridu hydrochloridu v 4 M roztoku hydroxidu sodného, extrakcí dichlormetanem a odpařením na RVO. Reakční směs se nechala míchat 3 dny při pokojové teplotě. Poté se rozpouštědla odpařila, přidalo se 20 ml ethanolu a 4,7 g (25 mmol) NaBH₄ a reakční směs se nechala míchat přes noc. Nadbytek NaBH₄ byl odstraněn přidávkem 30 ml 10% HCl a rozpouštědla byla odpařena na RVO. Vzniklá sraženina byla rozpuštěna ve vodě, která byla poté obazičtěna na pH 12 a poté extrahována chloroformem.

Po extrakci vznikla směs, která obsahovala nezreagovaný bis-aminal, pikolylchlorid, monosubstituovaný **L3a** a disubstituovaný **L3**. Vzniklá směs byla poté rozdělena pomocí sloupcové chromatografie na silikagelu. Jako vhodné rozpouštědlo pro eluci byl zvolen isopropanol:amoniak:voda (IPAV) v poměru 7:1:1. Nejprve z kolony byly vyeluovány nečistoty a bis-aminal a poté **L3**. Nejdéle na koloně zůstal **L3a**, který musel být vymyt IPAVem 7:3:3..

Produkt byl získán v podobě bezbarvých jehlicovitých krystalů, jejichž složení, jak ukázala elementární analýza, odpovídá dihydrojodidu. Výtěžek reakce byl 200 mg a výtěžnost reakce byla 7,8 %.

Charakterizace:



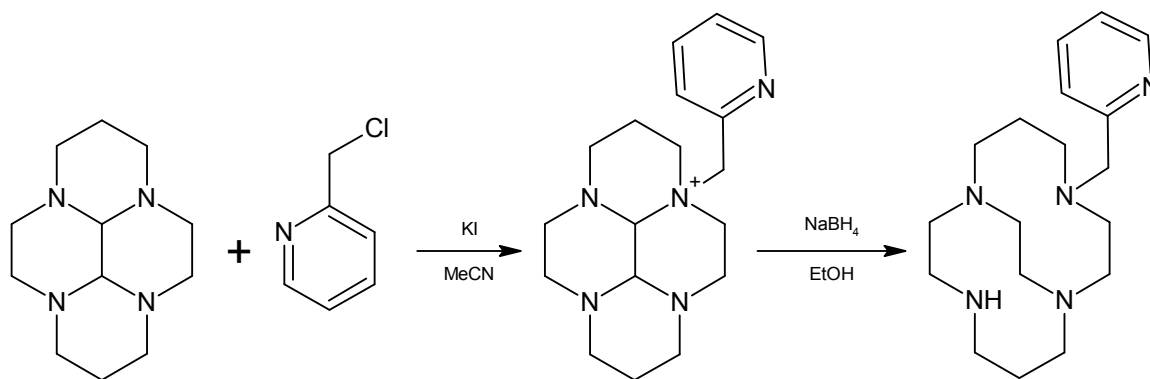
^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6 , 85°C): δ 8,70 (2H, d, $^3J_{\text{HH}} = 4,8$ Hz, H1); 7,61 (2H, td, $^3J_{\text{HH}} = 7,7$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1,7$ Hz, H3); 7,24 (2H, dd, $^3J_{\text{HH}} = 7,7$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 4,8$ Hz, H2); 7,07 (2H, d, $^3J_{\text{HH}} = 8,2$ Hz, H4); 4,65 + 4,22 (4H, AX, $J = 15,5$ Hz, H6); 3,85 + 3,29 (4H, m + m, H9); 3,66 + 2,73 (2H, td, $J = 13,4$ Hz, $J = 3,4$ Hz + 2H, d, $J = 13,4$ Hz, H9); 3,32 + 2,95 (4H, m + m, H9); 3,16 (4H, m, H7); 3,03 + 2,92 (2H, td, $J = 12,7$ Hz, $J = 2,1$ Hz + 2H, m, H7); 2,45 (2H, m, H8); 1,64 (2H, m, H8)

^{13}C NMR (151 MHz, DMSO- d_6): δ 151,3 (C5); 149,4 (C1); 138,0 (C3); 123,7 (C2), 123,3 (C4); 57,8 (2xC7); 56,2 (2xC6); 56,2 (2xC7); 54,2 (2xC9); 49,6 (2xC9); 47,7 (2xC9); 19,0 (2xC8)

MS(+): 409,11 [$\text{L3}+\text{H}$] $^+$

Elementární analýza pro $\text{L3}\cdot 2\text{HI}$ ($\text{C}_{24}\text{H}_{38}\text{I}_2\text{N}_6$), $M_r = 664,41$; změřeno (vypočteno): C 43,42 (43,49); H 5,87 (5,76); N 12,38 (12,65)

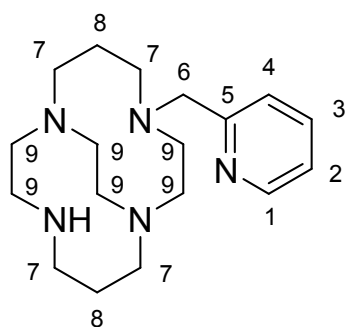
Syntéza 4-(2-pyridylmethyl)-1,4,8,11-tetraazabicyklo[6.6.2]hexadekan (L3a)



Monosubstituovaný ligand L3a byl separován z reakční směsi při přípravě ligandu L3 pomocí sloupcové chromatografie. Produkt byl na silikagelu zadržován ze všech složek směsi nejsilněji a mohl být vymyt až mobilní fází IPAV o složení 7:3:3.

Produkt byl získán ve formě světle hnědého oleje. Výtěžek reakce byl 175 mg. Výtěžnost byla 6,5%

Charakterizace:



^1H NMR (600MHz, DMSO- d_6 , 85°C): δ 8,49 (1H, d, $J = 4,8$ Hz, H1); 7,73 (1H, t, $^3J_{\text{HH}} = 7,6$ Hz, H3); 7,43 (1H, d, $^3J_{\text{HH}} = 8,2$ Hz, H4); 7,22 (1H, m, H2); 3,70 (2H, s, H6); 3,05 + 2,38 (2H, dt, $J = 11,0$ Hz, $J = 6,5$ Hz + 2H, dt, $J = 10,7$ Hz, $J = 5,0$ Hz, H9); 2,98 + 2,16 (2H, dt, $J = 10,3$ Hz, $J = 5,2$ Hz + dt, $J = 10,5$ Hz, $J = 6,0$ Hz, H9); 2,71 + 2,59 (2H, t, $J = 6,2$ Hz + 2H, m, H7); 2,63 + 2,55 (4H, m + m, H9); 2,60 + 2,57 (4H, m + m, H7); 1,65 (2H, q, $^3J_{\text{HH}} = 5,5$ Hz, H8); 1,59 (2H, q, $^3J_{\text{HH}} = 5,8$ Hz, H8)

^{13}C NMR (151 MHz, DMSO- d_6 , 85°C): δ 159,0 (C5); 148,2 (C1); 135,5 (C3); 122,6(C4); 121,4(C2); 58,9 (C6); 55,6(C7); 54,5 (C7); 53,7 (C7); 53,5 (C7); 49,9 (C9); 49,0 (C9); 48,7 (C9); 47,9 (C9); 47,5 (2xC9); 25,2 (C8); 23,6 (C8);

MS(+): 318,09 [$\text{L4}+\text{H}$] $^+$

4.5. Syntéza komplexů

Pokus o syntézu CoL3

50 mg ($7,6 \cdot 10^{-2}$ mmol) ligandu $\text{L3} \cdot 2\text{HI}$ bylo rozpuštěno v 5 ml methanolu a přidáno k 27,5 mg ($7,6 \cdot 10^{-2}$ mmol) hexahydrátu chloristanu kobaltnatého. Barva roztoku se změnila z jasně růžové na růžovooranžovou barvu. Nevznikla žádná sraženina. Ligand byl s kovem zahříván k bodu varu cca 30 minut.

1 ml roztoku byl použit pro přípravu monokrystalů vhodných pro rentgenovou strukturní analýzu pomocí plynné difúze diethyletheru v lednici. Další 1 ml byl smíchán s 1 ml tetrafenylboritanu sodného (obsahující 0,4 mmol), kde ihned po přidání vznikla bílá sraženina. Na základě měření MS bylo zjištěno, že se nejednalo o požadovaný komplex, ale o vyloučený protonovaný ligand L3 ve formě tetrafenylboritanu.

Charakterizace:

MS(+): 409,11 [$\text{L3}+\text{H}$] $^+$

Pokus o syntézu NiL3

Pokus o syntézu NiL3 komplexu proběhl stejně jako příprava CoL3, se stejnými negativními výsledky.

Charakterizace:

MS(+): 409,11 [L3+H]⁺

Syntéza CuL3

50 mg ligandu L3·2HI bylo rozpuštěno v 5 ml methanolu a přidáno k 27,5 mg ($7,6 \cdot 10^{-2}$ mmol) hexahydrátu chloristanu měďnatého. Ihned po přidání ligandu roztok změnila barvu z modré na hnědou a vyloučil se bílý prášek, který se nerozpustil ani po 24h míchání při 60 °C. Jednalo se pravděpodobně o jodid měďný a proto bylo později přidáno ještě 27,5 mg chloristanu měďnatého. Ligand s kovem byl refluxován cca 30 minut. Sraženina jodidu měďného byla zfiltrována přes fritu S4. Vzniklý zelenohnědý roztok se nechal volně odpařovat při laboratorní teplotě. Barva roztoku se změnila z hnědé na zelenou a vyloučily se tmavozelené krystaly, které byly zcela spotřebovány na vzorek pro rentgenovou strukturní analýzu a elementární analýzu.

Charakterizace:

MS (+): 471,26 [CuL3]⁺; 570,14 [CuL3(ClO₄)]⁺

Elementární analýza pro [Cu(L3+H)](ClO₄)₂I₃ (C₂₄H₃₉Cl₃CuI₃N₆O₁₂), $M_r = 1054,76$; změřeno (vypočteno): C 27,87 (27,33); H 3,59 (3,73); N 7,54 (7,97)

Syntéza MnL3

Do slzové baňky o objemu 25 ml bylo přidáno míchadlo, byla uzavřena septem, vypláchnuta argonem a byla zvážena. Pod proudem argonu do ní bylo přidáno 30 mg (0,24 mmol) bezvodého MnCl₂ a byla znovu uzavřena a profouknuta argonem. Pod inertní atmosférou byl k MnCl₂ přidán roztok cca 98 mg (0,24 mmol) L3 v 7 ml bezvodého acetonitrilu. Baňka se vzniklou suspenzí byla cca 1 hodinu míchat za laboratorní teploty. Poté byla vzniklá sraženina usazena, acetonitril nad sraženinou byl odsát pomocí jehly a stříkačky, sraženina byla promyta 2 ml čistého acetonitrilu a po opětovném odsátí acetonitrilu byla vysušena proudem argonu. Roztok byl použit

pro přípravu monokrystalů vhodných pro rentgenovou strukturní analýzu pomocí plynné difúze diethyletheru v lednici. Produktem byla bílá sraženina. Výtěžek reakce byl 72 mg. Výtěžnost byla 60,5%.

Charakterizace:

MS (+): 498,15 [MnL3+Cl]⁺

Elementární analýza pro [MnL3]Cl₂+2MnCl₂ (C₂₅H₃₇Cl₆Mn₃N₆), $M_r = 786,11$; změřeno (vypočteno): C 36,45 (37,57); H 5,12 (4,67); N 10,56 (10,52)

Syntéza FeL3

Železnatý komplex s ligandem **L3** byl připraven stejným způsobem jako manganatý komplex, k syntéze bylo použito 20 mg (0,16 mmol) bezvodého FeCl₂ a 65 mg (0,16 mmol) **L3**. Ihned po přidání se barva roztoku změnila na zelenou. Během míchání směsi při laboratorní teplotě po dobu 1 hodiny se vyloučila světle hnědá sraženina, která byla izolována stejným způsobem jako v případě manganatého komplexu. Výtěžek reakce byl 41 mg. Výtěžnost byla 51,9%.

Charakterizace:

MS (+): 499,13 [FeL3+Cl]⁺

Elementární analýza pro [FeL3]Cl₂.2FeCl₂ (C₂₄H₃₆Cl₆Fe₃N₆), $M_r = 788,83$; změřeno (vypočteno): C 34,54 (36,54); H 4,68 (4,60); N 10,30 (10,65)

4.6. pH NMR titrace L3

Pro měření pH NMR titrace byl použit roztoku ligandu **L3** v D₂O, pD bylo měřeno skleněnou elektrodou Theta90 HC 153 pro velmi malé objemy a výsledné hodnoty pH byly spočítány pomocí vztahu $pD = pH + 0,40$. pD bylo upravováno pomocí 2% DCl nebo 1M NaOD na požadované hodnoty. Pro každou hodnotu pD bylo změřeno ¹H NMR spektrum, signály ve spektru byly referencovány na *t*-BuOH v inzerční kyvetě ($\delta = 1,25$ ppm). Hodnoty chemických posunů aromatických a benzylových atomů vodíku byly odečteny z NMR spekter a vyneseny do grafu závislosti chemického posunu δ na pH (Obrázek 15). Fitováním takto získaných dat v programu Opium⁴² byly stanoveny hodnoty dvou protonizačních konstant pK_2 a pK_3 .

4.7. Disociace komplexu CuL3

Nejdříve bylo ve stejné 1cm dlouhé plastové kyvetě změřena Uv-Vis spektra (250–900 nm) samotných roztoků ligandu **L3**, 5M HCl, vodného roztoku 1 mM Cu**L3**. Do stejné plastové kyvety bylo odpipetováno 250 μ l roztoku komplexu Cu**L3** a přidáno 750 μ l 5M HCl, tak aby výsledná koncentrace komplexu byla 1 mM. Ihned po přidání 5M HCl bylo změřeno Uv-Vis spektrum (rychlost měření 480 nm/min) a poté byl roztok vložen do vodní lázně vytemperované na 50 °C. Měření dalších spekter probíhalo nejdříve v 5 minutových intervalech a později v 10 minutových intervalech. Výsledky měření jsou uvedeny v Obrázku 17.

5. Diskuze

5.1. Syntéza

Jako prekurzor pro syntézu navržených ligandů **L1–L3** byl zvolen cyklam (1,4,8,11-tetraazacyklotetradekan), což je komerčně dostupný produkt, ale vzhledem k jeho příliš vysoké ceně (1 g u firmy Sigma Aldrich stojí 1784,70 Kč) byl připraven v laboratoři podle postupu uvedeného v experimentální části. Výtěžek reakce byl shodný s očekávaným výtěžkem, tj. 60%. Produkt byl získán ve formě čisté volné báze, což bylo potvrzeno změřeným ^1H NMR spektrem a odpovídajícím výsledkem elementární analýzy. Pro následující syntézu byl využit bez dalšího čištění, které by mohlo být provedeno vakuovou sublimací.

Prvním krokem přípravy všech požadovaných ligandů bylo bis-aminalové chránění cyklamu, tj. syntéza perhydro-3,5,8,10-tetraazapyrenu, který byl připravován podle literatury³⁹ kondenzací cyklamu a glyoxalu v methanolu při laboratorní teplotě a následně přečištěn rozpuštěním v acetonitrilu (nezreagovaný cyklam se nerozpouští a odstraní se filtrací). Reakce probíhala s dobrým výtěžkem okolo 85%.

Ligand **L1** byl připraven jako první a to především z důvodu seznámení se se syntézou přemostěných cyklamů a porozumění principům a mechanismům přípravy. Bis-aminalem chráněný cyklam byl dialkylován nadbytkem jodmethanu v acetonitrilu. Produkt dimethylace (dimethylovaná bis(amoniiová) sůl) byl v acetonitrilu velmi málo rozpustný a vysrážel se z reakční směsi ve formě bílé sraženiny. Tento meziprodukt byl následně reagován s nadbytkem NaBH_4 v ethanolu, což vedlo k rozložení bis-aminalu za vytvoření můstku mezi protějšími atomy dusíku a vzniku dimethylovaného cross-bridged cyklamu – ligandu **L1**. Jak ukázaly výsledky elementární analýzy, dimethylovaný ligand **L1** byl připraven v podobě monohydrojodidu. Může to být způsobeno i tím, že roztok, ze kterého byl ligand extrahován chloroformem, nebyl dostatečně bazický, protože hodnota $\text{p}K_1$ je pro **L1** větší než 13. pH 12 extrahovaného roztoku, což je maximální hodnota kontrolovatelná pH papírkem, se tudíž ukázalo jako nedostatečné pro přípravu ligandu ve formě volné báze, kterou lze dle literatury získat extrakcí roztoku ligandu teprve až v 30% vodném roztoku NaOH .

Ligand **L2** byl připraven podle postupu v literatuře⁸ obdobným jako při přípravě ligandu **L1** s využitím benzylbromidu jako alkylačního činidla. Důvodem jeho syntézy byl fakt, že slouží jako výchozí látka pro syntézu samotného cross-bridged cyklamů, který vzniká debenzylací ramen v **L2** katalytickou hydrogenací v přítomnosti 10%Pd/C a využívá se jako prekurzor přípravy derivátů cross-bridged cyklamů s různými funkčními skupinami v pendantních ramenech (viz úvod kapitola 3.5). Tímto způsobem byl připraven například i ligand strukturně podobný ligandu **L3** se dvěma pikolinátovými rameny CBC-7.³⁶

Ligand **L3** byl připraven analogicky k prvním dvěma ligandům. K alkylationi bis-aminalu byl použit 2-chlormethylpyridin, jehož syntéza je znázorněna ve Schéma 4. Při syntéze se vycházelo z kyseliny pikolinové, která byla esterifikována bez větších problémů s výtěžky kolem 80 % i při větším množství výchozích látek. Dalším krokem byla redukce methylesteru kyseliny pikolinové borohydridem sodným za zvýšené teploty. Rozpouštědla z reakční směsi byly odpařena na RVO a zbytky NaBH₄ byly rozloženy přidávkou 20% vodného roztoku HCl. Protože se v roztoku pyridin-2-metanol vyskytoval v podobě pyridiniového kationtu, musela být reakční směs obzičtvena na pH vyšší než 12. V případě, že byl tento krok vynechán nebo byl roztok málo bazický, byly výtěžky reakce kolem 20 %. Zásaditá směs byla poté extrahována do chloroformu, vysušeno bezvodým Na₂SO₄ a odpařena RVO. Po dostatečném zvýšení pH se výtěžky reakce dostaly na hodnotu kolem 84%. Předposledním krokem syntézy 2-chlormethylpyridinu byla substituce hydroxylové skupiny chlorem. V předchozím kroku připravenému pyridin-2-methanolu se za chlazení přidal chlorid thionylu a poté byl produkt vysrážen přidávkou diethyletheru. Výtěžky byly kolem hodnoty 94%. Produktem této reakce byl ovšem 2-chlormethylpyridin v podobě hydrochloridu, který se do formy volné báze převedl rozpuštěním v 4M roztoku NaOH a extrakcí chloroformem. Výtěžky reakce byly téměř kvantitativní, avšak produkt byl zbarven do červena. Pro přípravu produktu vyšší čistoty by bylo vhodnější použít místo roztoku NaOH mírnější neutralizační podmínky, např. NaHCO₃ v chloroformu, protože se tak zabrání možné zpětné reakci na alkohol a na další nežádoucí vedlejší produkty.

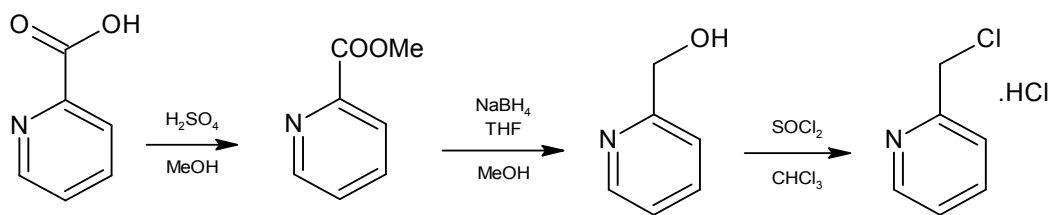


Schéma 4- Reakční schéma přípravy 2-chlormethylpyridinu

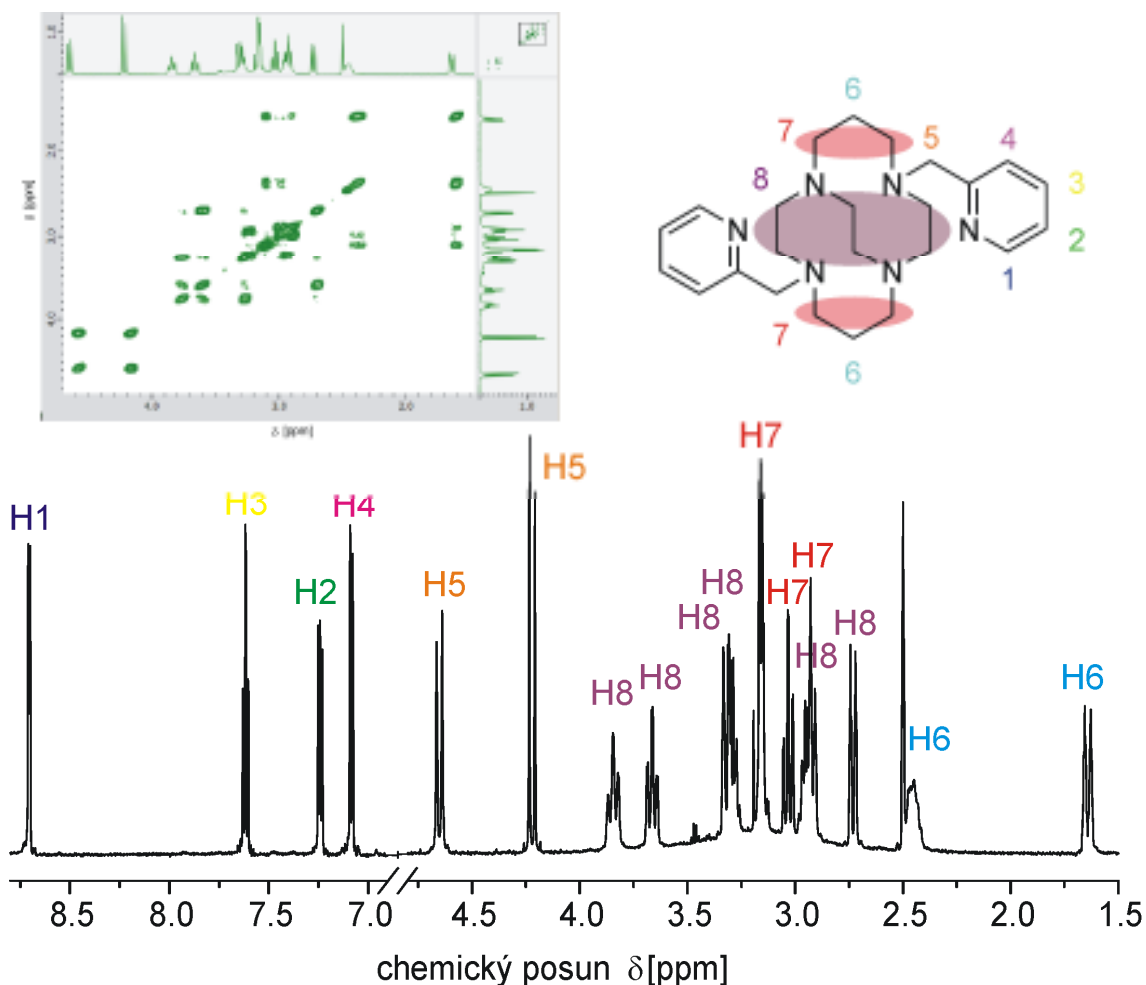
Během alkylace bis-aminalu pomocí 2-chlormethylpyridinu byl do reakční směsi přidán KI, který zvyšuje reaktivitu alkylchloridu vůči substituci. Vzhledem ke špatné rozpustnosti KI v acetonitrilu byly kvůli dalšímu zvýšení reaktivity použity více rozpustné jodidy, a to jodid tetraethylammoný a jodid amonný. Lepší rozpustnost jodidů v reakční směsi neměla žádný zásadní vliv na délku reakční doby nebo na složení výsledných produktů. Větší rozpustnost jodidu byla spíše na škodu, protože tetraethylamonium jodid zůstal přítomný jako nečistota během dalšího zpracování a čištění produktu a významně jej kontaminoval. Očekávalo se, že průběh prvního kroku reakce, tj. alkylace do druhého stupně, bude probíhat podobně jako s benzyl bromidem, tedy že po sekundární alkylationi vznikne sraženina dialkylovaného produktu, která bude separována a dále zpracována. Oproti očekávání ale žádná sraženina nevznikla, takže byla celá reakční směs (po odpaření rozpouštědla na RVO) podrobena dalšímu kroku syntézy a to redukcí NaBH₄ v ethanolu. Nadbytek NaBH₄ byl odstraněn 10% HCl, rozpouštědla byla odpařena na RVO. Vzniklý olej byl poté rozpuštěn v destilované vodě, obazičtěn na pH 12 a extrahován do chloroformu. Vzniklé frakce byly vysušeny bezvodým Na₂SO₄. Po zpracování reakční směsi vznikla žlutohnědá olejovitá směs více produktů, což prokázalo jak kontrolní TLC s několika skvrnami, tak měření hmotnostních spekter, které dokázaly přítomnost nesubstituovaného bis-aminalu, monosubstituovaného a disubstituovaného produktu. Směs byla dále rozdělena pomocí sloupcové chromatografie na silikagelu. Jako vhodné rozpouštědlo pro dělení směsi byl zvolen IPA V o složení 7:1:1. Na silikagelu se vytvořily tři jasné zóny, které byly postupně vyeluovány a jímány. V první zóně byly vyplaveny nečistoty společně volným bis-aminalem, v druhé zóně byl vyeluován disubstituovaný ligand v podobě více protonovaných forem. Až v momentu, kdy se změnilo složení rozpouštědla na IPA V 7:3:3. byl jako poslední z kolony vyeluován monosubstituovaný ligand.

Z výsledků sloupcové chromatografie bylo zřejmé, že alkylace do druhého stupně neprobíhá podle očekávání a použité dva ekvivalenty 2-chlormethylpyridinu jsou

nedostatečné. Toto zjištění není překvapující, protože již dříve bylo zjištěno, že při použití 2-chlormethylpyridinu jako alkylačního činidla probíhá celá řada vedlejších reakcí, jelikož 2-chlormethylpyridin dokáže reagovat sám se sebou. Pro další optimalizaci syntézy by bylo vhodné použít větší nadbytek 2-chlormethylpyridinu (2.5–3 ekvivalenty) a místo ethanolu jako rozpouštědla použít chloroform, který tyto vedlejší reakce více potlačuje.

Malé výtěžky syntézy ligandu **L3** mohly být způsobeny několika důvody. Prvním důvodem je použití malého nadbytku 2-chlormethylpyridinu, které způsobilo vznik směsi bisaminalu, monosubstitovaného a disubstituovaného produktu, což bylo zjištěno na základě měření MS spekter. Dalším důvodem jsou ztráty způsobené sloupcovou chromatografií, která nikdy neprobíhá se 100% účinností. Poslední příčinnou je získání produktu ve více frakcích, které ale nebyly zcela čisté a proto nebyly započítány do celkového výtěžku.

Ligand **L3** stejně jako monosubstituovaný ligand **L3a** byl detailně charakterizován pomocí ^1H a ^{13}C 1D i 2D NMR spekter. Přes veškerou snahu překryv signálů CH_2 skupin na makrocyclu znemožňoval jejich kompletní přiřazení. Navíc po protonizaci se skelet zpevnil natolik, že většina atomů vodíku v CH_2 skupinách přestala být ekvivalentní a docházelo k jejich dalšímu štěpení (podobně jako v CH_2 skupině pyridinových ramen). Proto nebyly signály jednotlivých CH_2 skupin jednoznačně přiřazeny, ale podařilo se je rozdělit do 3 skupin odpovídající CH_2 skupinám v propylenových (H6 a H7) a ethylenových (H8) můstcích (Obrázek 14).

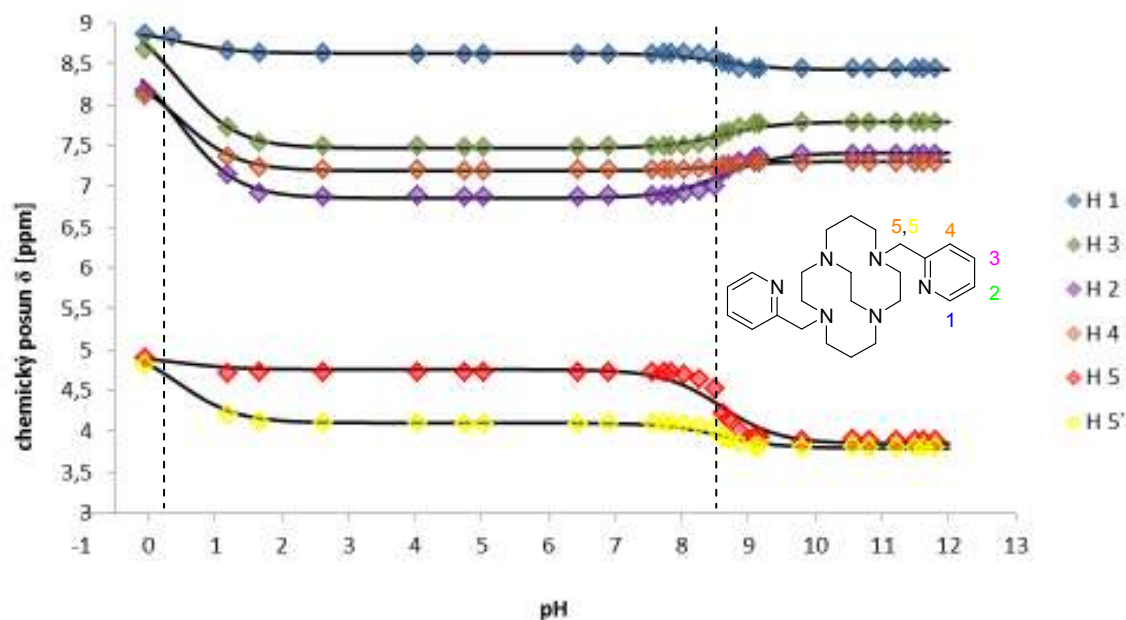


Obrázek 14: ^1H NMR spektrum ligandu **L3.2HI** s přiřazením jednotlivých signálů odpovídajícím vodíkovým atomům v molekule ligandu (signály makrocyklu nejsou jednoznačně přiřazeny), společně s ^1H - ^1H COSY spektrem v rozsahu 1,5–5,0 ppm zobrazujícím interakce mezi nearomatickými skupinami vodíkových atomů.

5.2. pH-NMR titrace ligandu **L3**

pH-NMR titrace je metoda, při které se měří 1D NMR spektra roztoku v závislosti na jeho pH. Pokud dochází k navázání protonu na molekulu, elektronová hustota je v daném místě snížena a dochází ke zvýšení hodnoty chemického posunu signálu atomu/atomů v blízkosti protonovaného místa molekuly. Tímto měřením lze určovat mechanismus protonizace a také hodnoty pK kyselin a bází, zvláště v případech, kdy je potřeba pracovat v extrémních podmínkách, např. při velmi vysokých, či velmi nízkých hodnotách pH, které nejsou dosažitelné běžným potenciometrickým měřením ve vodných roztocích. Proto je tato metoda vhodná pro studium ligandů **L1–L3**, které se chovají jako

„protonové houby“ s pK_1 vyšším než 13. V našem případě byla měřena ^1H NMR spektra a byly sledovány posuny signálů atomů vodíku na pyridinovém jádře (H1–H4) a v benzylové poloze (H5). Výsledky měření jsou znázorněny v Obrázku 15, které ukazují na dva protonizační/deprotonizační kroky při pH 7–10 a $\text{pH}>2$.



Obrázek 15: Záznam pH-NMR titrace vyznačující změnu chemického posunu signálů odpovídajícím vodíkovým atomům H1–H5 v ^1H NMR spektrech (barevné body) měřených v závislosti na změně pH společně s fitem dat, který odpovídá vypočteným hodnotám dvou $pK_2=8,59$ a $pK_3=0,46$ (plné čáry). Pomocí indexů a,b jsou označeny neekvivalentní protony CH_2 skupin v pendantních ramenech.

Fitováním získaných hodnot posunů byly vypočítány dvě hodnoty $pK_2 = 8,59$ a $pK_3 = 0,46$. Bohužel vzhledem k dostupné verzi pH elektrody pro měření malých objemů nebylo možné měřit $\text{pH}>12$, a proto nebylo možné určit příliš vysokou hodnotu pK_1 . To, že musí proběhnout ještě jeden protonizační/deprotonizační krok nad pH 12, bylo vyvozeno z faktu, že pro přípravu roztoku pro titraci byl použit ligand ve formě dihydrojodidu, jak ukázala elementární analýza a nad pH tohoto roztoku (5,14) bylo zjištěno pouze jediné $pK_2 = 8,59$. Další informací, kterou pH-NMR titrace může poskytnout, je pořadí, v jakém jsou jednotlivé dusíkaté atomy makrocyklu protonovány. První dva protony jsou s největší pravděpodobností navázány na dva protější atomy dusíku v makrocyklu, které nesou pyridinová ramena, třetí proton se pravděpodobně váže

na dusíkový atom pyridinové skupiny. Ovšem pro ověření těchto závěrů by bylo nutné analyzovat i signály makrocyclických CH₂ skupin, které se ve spektrech velmi překrývají. Jejich přiřazování by však bylo velmi časově náročné a vyžadovalo by další 2D NMR měření.

5.3. Syntéza komplexů s ligandem L3

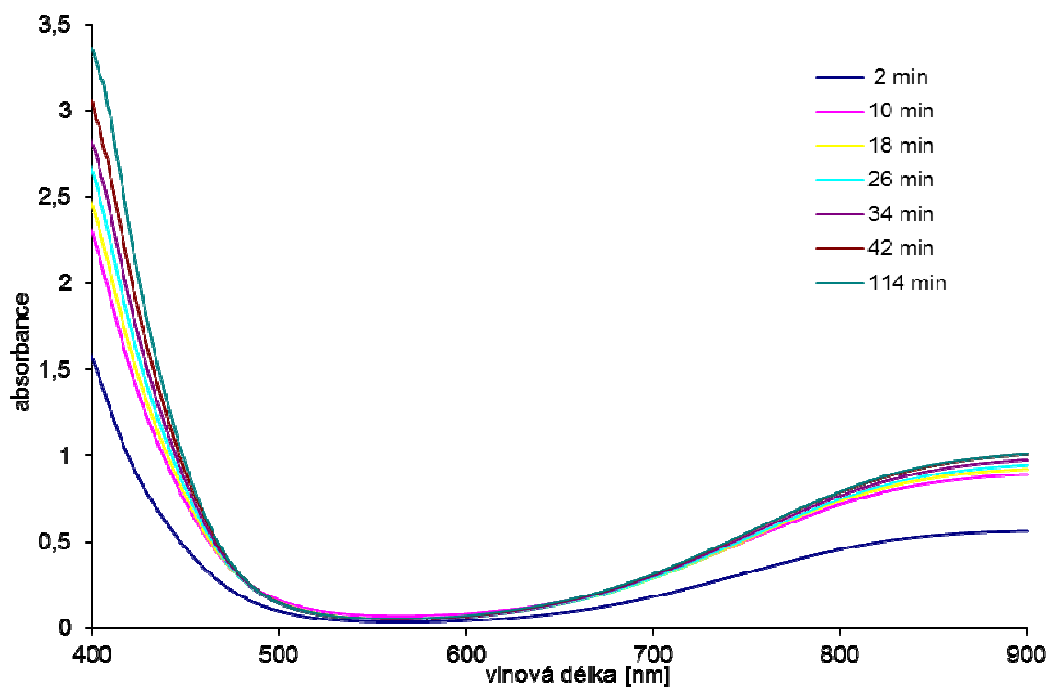
Pro syntézu komplexů byly nejprve vybrány přechodné kovy, u kterých se očekávalo, že budou schopny vytvořit komplex i pokud se použije protonovaný ligand, tzn., že jsou schopny vytěsnit proton z makrocyclické kavity ligandu. Na základě literární rešerše byl vybrán kobalt, nikl a měď. Kobalt a nikl nebyly schopny deprotonovat ligand a navázat se do makrocyclické kavity. Jejich komplexy nevznikly ani po dlouhodobém zahřívání roztoku jejich soli a ligandu na 60°C, což bylo prokázáno měřením MS spekter, která obsahovala pouze píky odpovídající volnému ligandu. Po přidavku roztoku tetrafenylboritanu sodného se vyloučil pouze volný ligand v podobě bílé sraženiny. Reakci mědi s ligandem rušila přítomnost jodidových iontů (ligand byl do reakce použit ve formě dihydrojodidu), protože přednostně probíhala redoxní reakce za vzniku světlé sraženiny CuI a jodu, který ve formě trijodidového aniontu způsoboval hnědé zbarvení roztoku. Tento problém byl částečně vyřešen přidavkem jednoho ekvivalentu Cu(ClO₄)₂·6H₂O, kdy sraženina CuI byla odfiltrována a získaný hnědozelený roztok byl ponechán k volnému odpařování za laboratorní teploty, během kterého vznikly tmavě zelené krystaly komplexu. Vznik měďnatého komplexu byl potvrzen změřenými MS spektry, kdy byly pozorovány signály odpovídající následujícím částicím: [CuL3]⁺ (*m/z* = 471,26), [CuL3(ClO₄)]⁺ (*m/z* = 570,14). V negativním módu byl potom pozorován signál jodidového a trijodidového iontu. Výsledky elementární analýzy ukázaly menší obsah C, H a N, než by odpovídalo předpokládanému složení [CuL3](ClO₄)₂. V kombinaci s informací o přítomnosti většího množství jodidových iontů lze předpokládat následující složení komplexu: [Cu(L3+H)](ClO₄)₂I₃. Jednoznačné potvrzení složení komplexu by přinesla molekulová struktura získaná z rentgenové strukturní analýzy, protože monokrystaly komplexu, které vznikly pomalým odpařování rozpouštědla, byly pro tuto analýzu vhodné. Bohužel z časových důvodů a z důvodů opravy přístroje pro rentgenovou difrakci nebyly prozatím změřeny.

Dále byl učiněn pokus o syntézu komplexů ligandu **L3** s Mn(II) a Fe(II). Aby byly tyto ionty zakomplexovány, musí reagovat pouze s deprotonovaným ligandem ve formě volné báze. Proto musel být ligand **L3**, který byl získán ve formě dihydrojodidu, deprotonován rozpuštěním v 30% vodném roztoku NaOH a extrakcí do chloroformu. Deprotonovaný ligand musel být dále uchován a reagován pod inertní atmosférou, protože jakýkoliv kontakt s vodou by měl za následek protonizaci ligandu (ligand se chová jako „protonová houba“ a odštěpí proton z molekuly vody) bránící komplexaci kovového iontu. Jako soli manganu a železa byly zvoleny jejich bezvodé chloridy. Ty byly pod inertní atmosférou argonu, která byla zvolena i pro zabránění nežádoucí oxidace vznikajících komplexů vzdušným kyslíkem, smíchány s bezvodým **L3** rozpouštěným v bezvodém acetonitrilu. Během přípravy $[\text{MnL3}]\text{Cl}_2$ vznikla bílá sraženina, jejíž hmotnost odpovídala výtěžku reakce 60,5 %, u $[\text{FeL3}]\text{Cl}_2$ vznikla světle hnědá sraženina, jejíž hmotnost odpovídala výtěžku 51,9 %. Na základě hmotnostních spekter byla prokázána komplexace Mn(II) a Fe(II) ligandem **L3**, avšak elementární analýza odhalila nadbytek bezvodé soli oproti připravenému komplexu v poměru asi 2:1. Tato diskrepance je pravděpodobně způsobena nedostatečně přesnými navážkami bezvodých solí v inertní atmosféře bez použití gloveboxu a zároveň nedostatečnou deprotonizací ligandu (v acetonitrilu se nerozpustil veškerý vyextrahovaný ligand). Důležité je ale zjištění, že komplexy s Mn(II) a Fe(II), které byly se strukturně podobnými ligandy dříve připravovány pouze v gloveboxu, lze připravit i za použití méně kvalitní inertní techniky využívající septa. Optimalizace přípravy komplexů a jejich hlubší charakterizace bude předmětem dalšího studia.

5.4. Disociace komplexu **CuL3**

Jak bylo zmíněno v úvodu, měďnaté komplexy přemostěných cyklamů našly a stále nalézají široké uplatnění, pro které je potřeba zjistit, jak moc je daný komplex stabilní. Aby bylo možné porovnat stabilitu připraveného měďnatého komplexu **CuL3** s dříve studovanými komplexy se strukturně podobnými ligandy, bylo provedeno měření rychlosti kyselá-katalyzované disociace tohoto komplexu při 50 °C pomocí změny absorbance v UV-VIS spektru (Obrázek 16). Komplex byl rozpuštěn v 5M HCl a spektra v rozsahu 250–900 nm byla měřena v různých časových odstupech, kdy došlo k postupnému zvyšování absorbance především kolem vlnových délek 350 a 900 nm,

čemuž odpovídá vznik CuCl_2 a jeho chlorido-komplexů, protože komplex samotný absorboval vlnové délky pod 320 nm.



Obrázek 16: Znázornění změny absorbance v rozsahu vlnových délek 400–900 nm roztoku komplexu CuL3 v 5M HCl v čase při teplotě 50 °C.

Závislost absorbance při konkrétní vlnové délce 900 nm na čase, která je znázorněna v Obrázek 16, byla fitována na základě kinetiky pseudo-prvního řádu, tj. podle rovnice 1

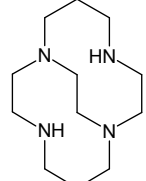
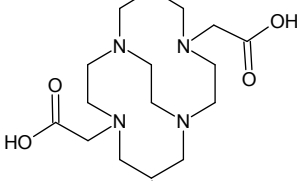
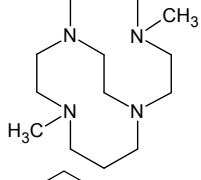
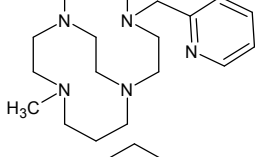
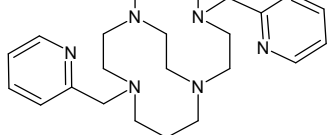
$$A = B + (A_0 - B) \times e^{(-k \times t)} \quad (1)$$

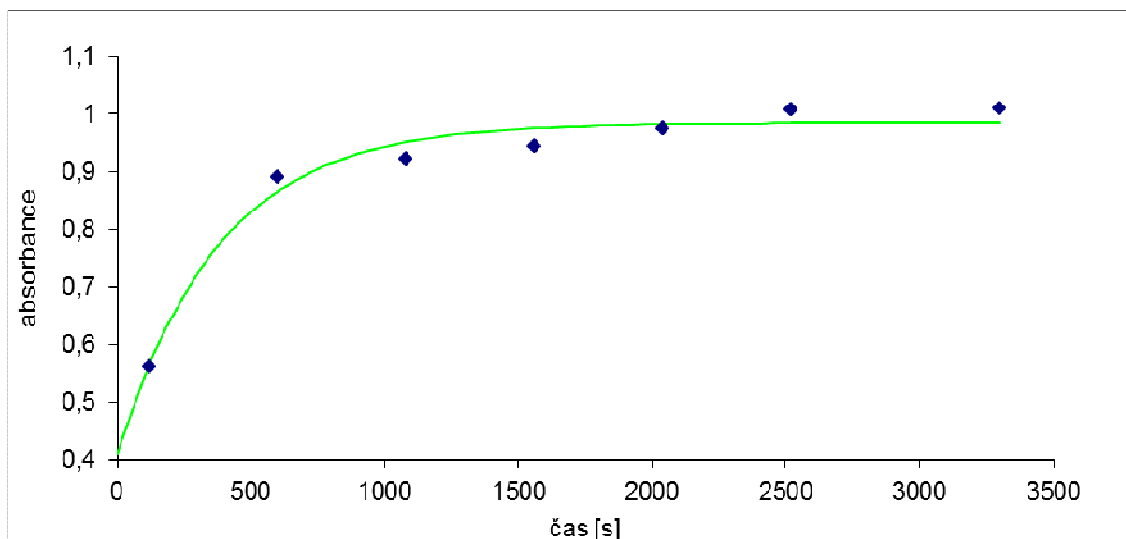
(kde A znamená měřenou absorbanci, A_0 absorbanci komplexu v čase nule, B maximální absorbanci dosaženou na konci experimentu a k rychlostní konstantu, nejlepší fit byl získán pro hodnoty: $A_0 = 0.41 \pm 0.06$, $B = 0.98 \pm 0.01$, $k = 0.0026 \pm 0.006 \text{ s}^{-1}$), a poskytla hodnotu poločasu rozpadu $\tau = 4,4 \text{ min}$, který byl spočítán dosazením získané hodnoty rychlostní konstanty, k , do rovnice 2

$$\tau = \frac{\ln 2}{k} \quad (2)$$

Získaný poločas rozpadu CuL3 je v porovnání s poločasy rozpadů měďnatých komplexů strukturně podobných ligandů (tabulka 3) nejkratší, což ukazuje na jeho nejvyšší kinetickou stabilitu. Přítomnost pyridinového pendantního ramene způsobuje zvýšení rychlosti disociace komplexu, což je zřejmé z klesající hodnoty poločasů rozpadu komplexů Cu(CBC), Cu(CBC-10) a CuL3. Protonizace pyridinového dusíku je asi prvním krokem v mechanismu rozpadu komplexu, což pravděpodobně usnadňuje transfer protonu/ů na makrocyclický/é atom/y dusíku, protože až jejich protonizací dochází k demetalaci. Na druhou stranu přítomnost alkylových nebo acetátových ramen rychlost disociace komplexu zpomaluje.

Tabulka 1: Poločasy rozpadu vybraných měďnatých komplexů v 5M HCl při různých teplotách.⁴³

komplex	50°C	90°C	struktura ligandu
Cu (CBC)	-	11,8 min	
Cu (CBC-1)	-	154 hod	
Cu (L1)	7,3 dní	79 min	
Cu (CBC-10)	14,7 min	< 2 min	
Cu (L3)	4,4 min	-	



Obrázek 17: Graf znázorňující změny absorbance při vlnové délce 900 nm v čase (modré body) společně s fitováním podle rovnice 1 (zelená křivka), které poskytlo hodnotu poločasu rozpadu komplexu CuL3 $\tau = 4,4$ min.

Ze zobrazených dat na Obrázku 17 a z hodnoty směrodatné odchylky rychlostní konstanty lze usuzovat na vysokou nepřesnost měření, která byla způsobena (i) nedokonalým uspořádáním experimentu nezaručujícím konstantní teplotu v průběhu celého experimentu (roztok byl temperován mimo spektrometr, takže během měření teplota nebyla kontrolována), (ii) přítomností jodidových popř. trijodidových iontů, které mohou zasahovat do mechanismu disociační kinetiky nebo zkreslovat hodnoty absorbance. Z těchto důvodů by během dalšího studia bylo vhodné experiment přeměřit a upřesnit získanou hodnotu poločasu rozpadu.

6. Závěr

V rámci práce byly připraveny ligandy **L1** a **L2** podle postupů uvedených v literatuře a byla provedena jejich charakterizace. Dále se podařilo připravit nový ligand **L3** včetně jeho charakterizace a charakterizace meziproduktů jeho syntézy pomocí ^1H a ^{13}C NMR, MS a elementární analýzy. Výtěžek syntézy **L3** byl velmi malý, protože alkylace pomocí 2-chlormethylpyridinu proběhla do druhého stupně nedostatečně z důvodu řady doprovodných vedlejších reakcí, a protože část produktu zůstala na stacionární fázi během separace pomocí sloupcové chromatografie. Touto reakcí se ale také podařilo připravit monosubstituovaný derivát 4-(2-pyridylmethyl)-1,4,8,11-tetraazabicyklo [6.6.2]hexadekan (**L3a**), který byl také získán v čisté formě, byl charakterizován pomocí ^1H a ^{13}C NMR spektroskopie a hmotnostní spektrometrie a může být nadále využit pro syntézy nesymetricky substituovaných cross-bridged cyklamů. Pomocí pH NMR titrace byly stanoveny dvě hodnoty protonizačních konstant $\text{p}K_2 = 8,59$ a $\text{p}K_3 = 0,46$, ovšem předpokládané $\text{p}K_1$ kolem hodnoty vyšší než 12 nebylo detekováno z důvodu překročení měřicího limitu pH elektrody, která byla pro měření k dispozici.

Dále byly připraveny komplexy ligandu **L3** s mědí, manganem a železem, které byly charakterizovány pomocí MS a elementární analýzy. Měďnatý komplex CuL3 byl zkoumán z pohledu reakční kinetiky. Zkoumala se rychlost jeho disociace v kyselém prostředí a byl u něj určen poločas rozpadu 4,4 minuty. Tento poločas rozpadu je v porovnání s ostatními měďnatými komplexy podobné struktury velmi rychlý, v porovnání s $\text{Cu}(\text{CBC-10})$, což je komplex s ligandem obsahujícím pouze jedno pyridinové rameno, je asi 3×rychlejší. Toto zjištění vede k závěru, že přítomnost pyridinové funkční skupiny usnadňuje protonizaci komplexu a urychluje jeho disociaci. Manganaté a železnaté komplexy MnL3 a FeL3 musely být připraveny v inertní atmosféře za využití septové techniky, bohužel ale byly znečištěné výchozími prekurzory – bezvodými chloridy kovů. Pokus o přípravu komplexů s niklem a kobaltem nebyl úspěšný. Výše popsanými postupy byly připraveny nové ligandy **L3**, **L3a** a jejich komplexy s vybranými přechodnými kovy, ovšem tyto postupy si zaslouží optimalizace, které byly v práci zmíněny, a měly by být použity během dalšího studia těchto látek, včetně kvalitnějšího/přesnějšího zkoumání disociační kinetiky CuL3 a protonizace ligandu **L3**. Zkoumání především strukturních a magnetických vlastností připravených komplexů je předmětem dalšího studia.

7. Seznam použité literatury

-
- ¹ Cabinness D.K., Margerum D.W., *J. Am. Chem. Soc.* 1970, 92, 2151
- ² Hancock D. R., Motekaitis R. J., Mashishi J., Cukrowski I., Reibenspies J. H., Martell A. E., *J. Chem. Soc., Perkin Trans. II.*, 1996, 1925
- ³ Billo E.J., *Inorg. Chem.* 1984, 23, 236
- ⁴ Weisman G.R., Rogers M.E., Wong E. H., Jasinski J.P., Paight E. S., *J. Am. Chem. Soc.* 1990, 112, 8604
- ⁵ Lubal, P.: Kurs C8840 Chemie makrocyclických sloučenin. Přednášky 2010/2011, Přírodovědecká fakulta MU, Brno.
- ⁶ Hubin T.J., McCormick J., Collinson S.R., Buchalova M., Perkins C.M., Alcock N.W., Kahol P.K., Raghunathan A., Busch D.H., *J. Am. Chem. Soc.* 2000, 122, 2512
- ⁷ Weisman G.R., Ho S.C.H., Johnson V., *Tetrahedron Lett.* 1980, 21, 335
- ⁸ Wong E.H., Weisman G.R., Hill D.C., Reed D.P., Rogers M.E., Condon J.S., Fagan J.S., Calabrese J.C., Lam K., Guzei I.A., Rheingold A.L., *J. Am. Chem. Soc.* 2000, 122, 10561
- ⁹ De Clercq E., Yamamoto N., Pauwels R. et col., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 1992, 89, 5286
- ¹⁰ Wainwright K.P., *Inorg. Chem.* 1980, 19, 1396
- ¹¹ Hancock R.D., Gary P., Wade P.W., Hosken G.D., *Pure Appl. Chem.* 1993, 65, 473
- ¹² Alder, R.W., *Chem. Rev.* 1989, 89, 1215
- ¹³ Weijun N., Wong E.H., Weisman G.R., Hill C., Tranchemontagne D.J., Lam K.-C., Sommer R.D., Zakharov L.N., Rheingold A., *Dalton Trans.*, 2004, 3535
- ¹⁴ Bonish B., Poon C.K., Tobe M.L., *Inorg. Chem.*, 1965, 4, 1102
- ¹⁵ Alcock N.W., Curzon E.H., Moore P., Pierpoint, *J. Am. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 1984, 605
- ¹⁶ Bernard H., Yaouanc J., Clément J.C., des Abbayes H., Handel H., *Tetrahedron Lett.* 1991, 32, 639
- ¹⁷ Kolinski R.A, Riedell F.G., *Tetrahedron Lett.*, 1981, 22, 2217

-
- ¹⁸ Alder R.W., Eastment P., Hext N.M., Moss R.E., Orpen A.G., White J.M., *J. Am. Chem. Soc. Commun.*, 1988, 1528
- ¹⁹ Kotek J., Hermann P., Vojtíšek P., Rohovec J., Lukeš I., *Collect. Czech. Chem. Commun.*, 2000, 65, 243
- ²⁰ Sprague J.E., Peng Y., Sun X., Weisman G.R., Wong E., Achilefu S., Anderson C.J., *Clin. Cancer Res.*, 2004, 10, 8674
- ²¹ Silversides J.D., Allan Ch. C., Archibald S.J., *Dalton Trans.*, 2007, 971
- ²² Ferdani R., Stigers D. J, Fiamengo A.L., Wei L., Li B.T.Y., Golen J.A., Rheingold A.L., Weisman G. R., Wong E. H., Anderson C. J., *Dalton Trans.*, 2012, 41, 1938
- ²³ Stigers D.J., Ferdani R., Weisman G.R., Wong E.H., Anderson C.J., Golen J.A., Moore C., Rheingold A.L., *Dalton Trans.*, 2010, 39, 1699
- ²⁴ Kafarski P., Zon J. ed. Kukhar V.P., Hudson H.R., Wiley J. & sons, Ltd., Chichester, *Aminophosphonic Acids* , 2000, 33
- ²⁵ Liang X. and Sadler P. J., *Chem. Soc. Rev.*, 2004, 33, 246
- ²⁶ Hubin T. J., McCormick J.M., Alcock N., Busch D.H. et al, *J. Am. Chem. Soc.*, 2000, 122, 2512
- ²⁷ Hubin T. J., McCormick J.M., Alcock N., Busch D.H., *Inorg. Chem.*, 2001, 40, 435
- ²⁸ Lichty J., Allen S.M., Grillo A.I., Archibald S.J., Hubin T.J., *Inorganica Chimica Acta*, 2004, 357, 615
- ²⁹ Wadas T. J., Wong E. H., Weisman G. R. and Anderson C. J., *Chem. Rev.*, 2010, 110, 2858
- ³⁰ Anderson C. J. and Welch M. J., *Chem. Rev.*, 1999, 99, 2219
- ³¹ Woodin K. S., Heroux K. J., Boswell C.A., Wong E. H., Weisman G.R., Niu W. J., Tomellini S. A., Anderson C. J., Zakharov L. N. and Rheingold A. L., *Eur. J. Inorg. Chem.*, 2005, 4829
- ³² Tsarevsky N. V. , Braunecker W.A. , Wei Tang , Brooks S.J. , Matyjaszewski K., Weisman G.R. , Wong E.H., *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*, 2006, 257, 132
- ³³ Chellan P., Land K. M., Shokar A., Au A., An S. H., Taylor D., Smith P. J., Chibale K., Smith, G. S., *Organometallics*, 2013, 32, 4793

-
- ³⁴ Le Bras J., Musset L., Clain J., *Med. Mal. Infect.*, 2006, 36, 401
- ³⁵ Mutabingwa T. K., *Acta Trop.*, 2005, 95, 305
- ³⁶ Hubin T. J., Amoyaw P. N.-A., Roewe K. D., Simpson N. C. at all, *Bioorg. & Med. Chem.*, 2014, 22, 3239
- ³⁷ Barefield E.K., Wagner F., Herbinger A.W., Dahl A.R., *Inorg. Synth.*, 1976, 17, 220
- ³⁸ Meunier I., Mishra A.K., Hanquet B., Cocolis P., Guillard R., *Can. J. Chem.*, 1995, 73, 685
- ³⁹ Plutnar J., Havlíčková J., Kotek J., Herman J., Lukeš I., *New. J. Chem.*, 2008, 32, 496
- ⁴⁰ Schmuck C. and Machon U., *Chem. Eur. J.*, 2005, 11, 1109
- ⁴¹ da Costa J.C.S., Pais K.C., Fernandes E.L., de Oliveira P.S.M., Mendonça J.S., de Souza M.V.N., Peralta M.A., Vasconcelos T.R.A., *ARKIVOC*, 2006, (i), 128
- ⁴² Program Opium dostupný zdarma na webové adrese:
<https://web.natur.cuni.cz/~kyvala/opium.html>
- ⁴³ Jones D. G., Wilson K. R., Cannon-Smith D. J., Shircliff A. D., Zhan Zhang, Zhuqi Chen, Prior T. J., Guochuan Yin, Hubin T.J., *Inorg. Chem.*, 2015, 54, 2221