

# **Termodynamika inkluzních komplexů 1-adamantylbenzylaminů s cyklodextriny**

Alena Matelová

---

Bakalářská práce  
2011



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně  
Fakulta technologická

---

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně  
Fakulta technologická  
Ústav technologie a mikrobiologie potravin  
akademický rok: 2010/2011

## **ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE**

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Alena MATELOVÁ**  
Osobní číslo: **T08343**  
Studijní program: **B 2901 Chemie a technologie potravin**  
Studijní obor: **Chemie a technologie potravin**

Téma práce: **Termodynamika inkluzních komplexů  
1-adamantylbenzylaminů s cyklodextriny**

Zásady pro vypracování:

**Na základě studia doporučené literatury a publikací získaných z odborných časopisů  
vyvinout metodu pro studium termodynamiky titulních komplexačních reakcí.**

Rozsah bakalářské práce:

Rozsah příloh:

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná/elektronická**

Seznam odborné literatury:

[1] H.-J. Schneider, A. Yatsimirsky: Principles and methods in supramolecular chemistry. ISBN: 0-471-97253-3. [2] C. Schalley: Analytical methods in supramolecular chemistry. ISBN: 978-3-527-31505-5. [3] H. Dodziuk: Cyclodextrins and their complexes. ISBN: 3-527-31280-3.

Vedoucí bakalářské práce: **Mgr. Robert Vícha, Ph.D.**

Ústav chemie

Datum zadání bakalářské práce: **11. února 2011**

Termín odevzdání bakalářské práce: **30. května 2011**

Ve Zlíně dne 12. dubna 2011



doc. Ing. Petr Hlaváček, CSc.  
*děkan*



doc. Ing. Jan Hrabě, Ph.D.  
*ředitel ústavu*

Příjmení a jméno: MATELOVA' ALENA.....

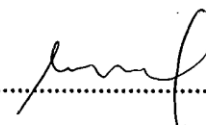
Obor: CHTP.....

## PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

- beru na vědomí, že odevzdáním diplomové/bakalářské práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, bez ohledu na výsledek obhajoby <sup>1)</sup>;
- beru na vědomí, že diplomová/bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému dostupná k nahlédnutí, že jeden výtisk diplomové/bakalářské práce bude uložen na příslušném ústavu Fakulty technologické UTB ve Zlíně a jeden výtisk bude uložen u vedoucího práce;
- byl/a jsem seznámen/a s tím, že na moji diplomovou/bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3 <sup>2)</sup>;
- beru na vědomí, že podle § 60 <sup>3)</sup> odst. 1 autorského zákona má UTB ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- beru na vědomí, že podle § 60 <sup>3)</sup> odst. 2 a 3 mohu užit své dílo – diplomovou/bakalářskou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- beru na vědomí, že pokud bylo k vypracování diplomové/bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tedy pouze k nekomerčnímu využití), nelze výsledky diplomové/bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- beru na vědomí, že pokud je výstupem diplomové/bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Ve Zlíně 18.5.2011.....

.....  


<sup>1)</sup> zákon č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, § 47 Zveřejňování závěrečných prací:

(1) Vysoká škola nevdělečně zveřejňuje disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce, u kterých proběhla obhajoba, včetně posudků oponentů a výsledku obhajoby prostřednictvím databáze kvalifikačních prací, kterou spravuje. Způsob zveřejnění stanoví vnitřní předpis vysoké školy.

(2) *Disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce odevzdané uchazečem k obhajobě musí být též nejméně pět pracovních dnů před konáním obhajoby zveřejněny k nahlížení veřejnosti v místě určeném vnitřním předpisem vysoké školy nebo není-li tak určeno, v místě pracoviště vysoké školy, kde se má konat obhajoba práce. Každý si může ze zveřejněné práce pořizovat na své náklady výpisy, opisy nebo rozmnoženiny.*

(3) *Platí, že odevzdáním práce autor souhlasí se zveřejněním své práce podle tohoto zákona, bez ohledu na výsledek obhajoby.*

<sup>2)</sup> *zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 35 odst. 3:*

(3) *Do práva autorského také nezasahuje škola nebo školské či vzdělávací zařízení, užije-li nikoli za účelem přímého nebo nepřímého hospodářského nebo obchodního prospěchu k výuce nebo k vlastní potřebě dílo vytvořené žákem nebo studentem ke splnění školních nebo studijních povinností vyplývajících z jeho právního vztahu ke škole nebo školskému či vzdělávacího zařízení (školní dílo).*

<sup>3)</sup> *zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 60 Školní dílo:*

(1) *Škola nebo školské či vzdělávací zařízení mají za obvyklých podmínek právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla (§ 35 odst. 3). Odprá-li autor takového díla udělit svolení bez vážného důvodu, mohou se tyto osoby domáhat nahrazení chybějícího projevu jeho vůle u soudu. Ustanovení § 35 odst. 3 zůstává nedotčeno.*

(2) *Není-li sjednáno jinak, může autor školního díla své dílo užít či poskytnout jinému licenci, není-li to v rozporu s oprávněnými zájmy školy nebo školského či vzdělávacího zařízení.*

(3) *Škola nebo školské či vzdělávací zařízení jsou oprávněny požadovat, aby jim autor školního díla z výdělku jím dosaženého v souvislosti s užitím díla či poskytnutím licence podle odstavce 2 přiměřeně přispěl na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložily, a to podle okolností až do jejich skutečné výše; přitom se přihlídně k výši výdělku dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.*

## ABSTRAKT

Byly připraveny tři modelové amino deriváty 1-adamantylbenzylaminu a následně naměřeny termodynamické parametry komplexačních reakcí těchto látek s  $\beta$ -cyklodextrinem pomocí isotermální kalorimetrické titrace a  $^1\text{H}$  NMR. V roztoku tyto amino deriváty vytvářely patrně vyšší asociáty a naměřená data tudíž neodpovídala předpokladům. Tento problém byl vyřešen acetylací a měření byla opakována s uspokojivými výsledky. Tyto acetylované aminy také lépe odpovídají konečným uvažovaným strukturám.

Asociační konstanty komplexů ve směsi DMSO:H<sub>2</sub>O (3:1, v : v) se pohybovaly v rozmezí 128–329 M<sup>-1</sup> (určeno titrační kalorimetrií) a 538–1721 M<sup>-1</sup> (určeno NMR titrací). Všechny připravené látky byly popsány pomocí spektrálních metod (NMR, IR, MS).

Klíčová slova: isotermální kalorimetrická titrace,  $^1\text{H}$  NMR titrace,  $\beta$ -cyklodextrin, 1-adamantylbenzylaminy

## ABSTRACT

Three model derivatives of 1-adamantylbenzylamines were prepared and then the thermodynamic parameters of complexes of these substances with  $\beta$ -cyclodextrin were measured by isothermal calorimetry titration and  $^1\text{H}$  NMR titration. Because of the high instability of free amine group probably occurred the formation of higher associates in the  $\beta$ -CD solution and measured data did not correspond with the expectations. This problem was solved by acetylation and the measurements were repeated with satisfactory results. These *N*-acetylated amines also better suited to the considered structures.

Association constants of complexes in DMSO-H<sub>2</sub>O mixture (3:1, v : v) vary 128–329 M<sup>-1</sup> (determined by titration calorimetry) and 538–1721 M<sup>-1</sup> (determined by NMR titration). All prepared substances have been characterized by spectral methods (NMR, IR, MS).

Keywords: isothermal calorimetry titration,  $^1\text{H}$  NMR titration,  $\beta$ -cyclodextrin, 1-adamantylbenzylamines

**Poděkování:**

Ráda bych poděkovala Mgr. Robertu Víchovi, Ph.D. za odborné vedení při práci v laboratoři, předání cenných zkušeností a pomoc při interpretaci získaných výsledků. Dále děkuji Ing. Michalu Rouchalovi a kolektivu laboratoře 433 za užitečné rady a pomoc.

Také je nezbytné poděkovat Ústavu chemie a Národnímu centru pro výzkum biomolekul Přírodovědecké fakulty Masarykovy univerzity v Brně za umožnění měření NMR spekter. Dále děkuji Mgr. Richardu Čmelíkovi, Ph.D. z Ústavu analytické chemie Akademie věd České republiky za změření ESI MS spekter připravených látek.

**Motto:**

Musíš se mnoho učit, abys poznal, jak málo toho víš.

Prohlašuji, že odevzdaná verze bakalářské/diplomové práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou totožné.

# OBSAH

<b>ÚVOD</b> .....	<b>10</b>
<b>I TEORETICKÁ ČÁST</b> .....	<b>11</b>
<b>1 ADAMANTAN</b> .....	<b>12</b>
1.1 AMANTADIN .....	13
1.2 MEMANTIN .....	13
1.3 RIMANTADIN .....	13
<b>2 MIKROKALORIMETRIE</b> .....	<b>14</b>
2.1 ISOTERMÁLNÍ TITRAČNÍ MIKROKALORIMETRIE .....	14
<b>3 CYKLODEXTRINY</b> .....	<b>18</b>
3.1 MODIFIKOVANÉ CYKLODEXTRINY .....	19
3.2 VODÍKOVÉ VAZBY V MOLEKULÁCH CYKLODEXTRINŮ .....	19
3.3 VAZBY MEZI HOSTEM A HOSTITELEM.....	20
3.4 KOMPLEXY B-CD .....	21
<b>4 NUKLEÁRNÍ MAGNETICKÁ REZONANCE</b> .....	<b>22</b>
4.1 CHEMICKÝ POSUN .....	22
4.2 INTENZITA SIGNÁLU.....	24
4.3 ROZPOUŠTĚDLA V <sup>1</sup> H NMR .....	25
4.4 <sup>13</sup> C NMR SPEKTROSKOPIE.....	26
4.5 URČENÍ VAZEBNÉ KONSTANTY .....	26
4.5.1 Určení vazebné konstanty pomocí NMR spektroskopie .....	27
<b>II PRAKTICKÁ ČÁST</b> .....	<b>28</b>
<b>5 PŘÍSTROJE A VYBAVENÍ</b> .....	<b>29</b>
<b>6 PŘÍPRAVA LÁTEK</b> .....	<b>30</b>
6.1 <i>N</i> -ACETYL-2-(1-ADAMANTYL)-1-[(4-AMINOMETHYL)FENYL]ETHAN-1-ON.....	30
6.1.1 Acetylce 2-(1-adamantyl)-1-[(4-aminomethyl)fenyl]ethan-1-onu.....	30
6.2 <i>N</i> -ACETYL-(1-ADAMANTYL)-[(4-AMINOMETHYL)FENYL]METHANON .....	31
6.2.1 Redukce (1-adamantyl)-[(4-azidomethyl)fenyl]methanonu .....	31
6.2.2 Acetylce (1-adamantyl)-[(4-aminomethyl)fenyl]methanonu.....	31
6.3 <i>N</i> -ACETYL-2-(1-ADAMANTYL)-1-[(3-AMINOMETHYL)FENYL]ETHAN-1-ON.....	32
6.3.1 Příprava Grignardova činidla .....	32
6.3.2 Příprava 2-(1-adamantyl)-1-[(3-methyl)fenyl]ethan-1-onu.....	33
6.3.3 Příprava 2-(1-adamantyl)-1-[(3-brommethyl)fenyl]ethan-1-on .....	34
6.3.4 Příprava 2-(1-adamantyl)-1-[(3-azidomethyl)fenyl]ethan-1-onu .....	34
6.3.5 Redukce 2-(1-adamantyl)-1-[(3-azidomethyl)fenyl]ethan-1-onu.....	35
6.3.6 Acetylce 2-(1-adamantyl)-1-[(3-aminomethyl)fenyl]ethan-1-onu.....	35
<b>7 TERMODYNAMIKA INTERAKCÍ</b> .....	<b>37</b>



<b>8</b>	<b>VÝSLEDKY A DISKUZE</b> .....	<b>38</b>
8.1	PŘÍPRAVA LÁTEK .....	38
8.1.1	<i>N</i> -acetyl-2-(1-adamantyl)-1-[(4-aminomethyl)fenyl]ethan-1-on .....	38
8.1.2	<i>N</i> -acetyl-(1-adamantyl)-[(4-aminomethyl)fenyl]methanon .....	38
8.1.3	<i>N</i> -acetyl-2-(1-adamantyl)-1-[(3-aminomethyl)fenyl]ethan-1-on .....	39
8.2	TERMODYNAMIKA INTERAKCÍ .....	40
8.3	NMR TITRACE .....	43
8.4	ESI – MS .....	49
	<b>ZÁVĚR</b> .....	<b>50</b>
	<b>SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY</b> .....	<b>51</b>
	<b>SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK</b> .....	<b>53</b>
	<b>SEZNAM OBRÁZKŮ</b> .....	<b>54</b>
	<b>SEZNAM TABULEK</b> .....	<b>55</b>
	<b>SEZNAM PŘÍLOH</b> .....	<b>56</b>

## ÚVOD

Cílem mé práce bylo připravit tři amino deriváty 1-adamantylbenzylaminů, lišící se délkou vazby mezi adamantanovým skeletem a benzenovým jádrem, a také polohou na benzenovém kruhu (*m*- či *p*-).

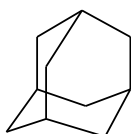
Druhá část mé práce spočívala ve zkoumání interakcí těchto látek s  $\beta$ -cyklodextrinem a určení termodynamických parametrů. V průběhu měření bylo nutné se zabývat zásadním problémem, kdy v roztoku vznikaly vyšší asociáty aminů. Toto se podařilo vyřešit navázáním acetylového zbytku na příslušnou amino skupinu. Dále bylo nezbytné optimalizovat podmínky titračních experimentů. Všechny tři nově připravené *N*-acetylované deriváty byly popsány fyzikálně-chemickými metodami (NMR spektroskopie, IR spektroskopie, MS spektroskopie).

1-Adamantylbenzylaminové skupiny v komplexech s cyklodextriny se často využívají pro formulaci léčiv. Znalost termodynamických vlastností těchto komplexů nám pomáhá předpovědět možné chování složitějších látek.

## **I. TEORETICKÁ ČÁST**

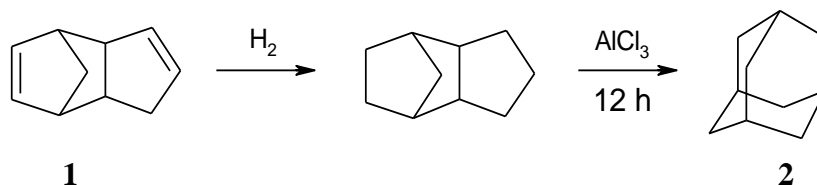
## 1 ADAMANTAN

Adamantan (tricyklo[3.3.1.1<sup>3,7</sup>]dekan) je bezbarvá, organická, krystalická látka sumárního vzorce C<sub>10</sub>H<sub>16</sub> (**Obr. 1**). Adamantan je špatně rozpustný ve vodě, avšak dobře rozpustný v uhlovodících a vykazuje výbornou tepelnou i chemickou stabilitu. Jeho pojmenování je odvozeno z řeckého *adamantinos* (vztahující se k oceli či diamantu), bezpochyby díky jeho diamantoidní struktuře. Vzhledem ke své stabilitě a konformační tuhosti je 1-adamantylová skupina hojně používaným substituentem v organické chemii.<sup>1,2</sup>



**Obr. 1:** Adamantan

Adamantan je struktura o minimální energii (ve srovnání s jinými izomery C<sub>10</sub>H<sub>16</sub>), a proto lze pro přípravu adamantanu a jeho derivátů s úspěchem využít termodynamicky řízených přesmyků katalyzovaných Lewisovými kyselinami. Proces založený na izomerizaci tetrahydrodicyklopentadienu (**1**) chloridem hlinitým je v současnosti nejvíce využívaným průmyslovým zdrojem adamantanu (**2**). Výtěžek takto provedené reakce se pohybuje v rozmezí 15–20 %. Pokud se místo samotného AlCl<sub>3</sub> použije AlCl<sub>3</sub> + HCl nebo HF – BF<sub>3</sub> lze dosáhnout výtěžku až 40 %. Reakce využívající pro katalýzu pouze chlorid hlinitý, se stala pro svou jednoduchost nejvýznamnějším komerčním zdrojem adamantanu, přestože výtěžky nepřesahují 20 % (**Schéma 1**).<sup>2,3,4</sup>

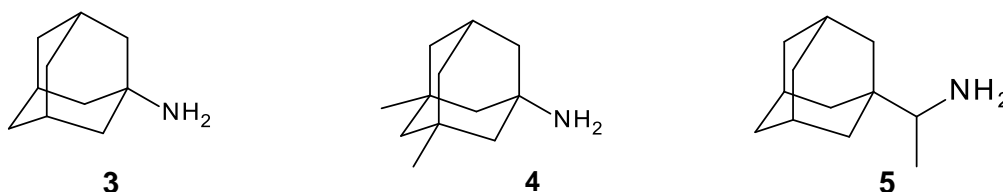


**Schéma 1**

Další deriváty adamantanu se získávají jeho následnou derivatizací. Vysoce substituované deriváty adamantanu se rovněž vyskytují v současné živé přírodě. Dosud byly prokázány v zástupcích dvou rodů z čeledi Guttiferae (naše třezalky).<sup>2,3</sup>

Adamantan a jeho sloučeniny nabízejí použití ve farmacii, při výrobě polymerů, v agrochemii, v elektrolytickém leštění nerezavějící oceli, jako srovnávací látka v chromatografii a <sup>1</sup>H a <sup>13</sup>C NMR spektroskopii. Nejvýznamnější a nejnadějnější je jeho využití ve farmacii.<sup>5</sup>

O využití adamantanu a jeho derivátů ve farmacii se vědci začali zabývat poté, co byly objeveny antivirové účinky těchto látek vůči široké škále virů, mimo jiné i proti chřipkovému viru A i B, hepatitidě typu C či herpes virům. Chřipka je hlavní příčinou akutních respiračních infekcí vyskytující se v různém rozsahu a závažnosti. Nejlepší antivirové účinky vykázaly amantadin (**3**), memantin (**4**) a rimantadin (**5**) (**Obr. 2**).<sup>5,6,7</sup>



**Obr. 2:** Deriváty adamantanu

### 1.1 Amantadin

Amantadin (adamantan-1-amin) je specifický inhibitor dekapsidační fáze reprodukce chřipkového viru. Předpokládá se, že spojuje vodíkovými vazbami histidinový zbytek s M2 proteinem (transmembránový proton-selektivní iontový kanál) chřipkového viru, čímž tento kanál efektivně blokuje. Tento iontový kanál plní důležitou funkci při virovém vstupu. M2 protein však podléhá mutacím, může se tedy stát, že dojde ke vzniku virových kmenů rezistentních vůči amantadinu.<sup>6</sup>

### 1.2 Memantin

Memantin (3,5-dimethyladamantan-1-amin) se využívá při léčbě Alzheimerovy choroby. Mechanismus účinku spočívá v tom, že chrání mozkové buňky vůči kyselině glutamové, které jsou touto chorobou již zasaženy a to tak, že blokuje receptory neurotransmiterů, jež tuto kyselinu přenášejí.<sup>8</sup>

### 1.3 Rimantadin

Rimantadin (1-(1-adamantyl)ethan-1-amin) vykazuje také antivirovou aktivitu a bylo prokázáno, že má méně nežádoucích účinků než amantadin. Slouží zejména k prevenci proti chřipce typu A. Mechanismus účinku není přesně znám, předpokládá se však, že inhibuje replikaci chřipkových virů tím, že zabraňuje jejich „rozbalení“ z ochranného kapsidu.<sup>9</sup>

## 2 MIKROKALORIMETRIE

Moderní mikrokolorimetrie je významná a nezbytná experimentální metoda, díky níž můžeme určit změnu entalpie a rovnovážnou konstantu z jediného experimentu. Je stále více využívána, protože pracuje s malými objemy k určení rovnovážné konstanty. V supramolekulární chemii, biochemii, biotechnologii či farmakologii jsou reaktanty obvykle k dispozici v limitovaných množstvích a jsou velmi drahé, a proto je rozumné zvyšovat citlivost přístrojů (tudíž dojde ke snížení požadovaného množství reaktantů pro jeden experiment). V uplynulých několika letech byla citlivost mikrokolorimetrů rapidně zvýšena až na úroveň několika mikrokolorií či ještě menší.<sup>10,11</sup>

V současné době je komerčně dostupné velké množství kalorimetrů, využívající různé experimentální provedení. Pouze dvě tyto metody však lze využít ke studiu komplexů cyklodextrinů. Jsou to metody diferenční skenovací kalorimetrie – DSC (differential scanning calorimetry) a isotermická titrační kalorimetrie – ITC (isothermal titration calorimetry). Obě metody mohou být považovány za navzájem se doplňující nástroje pro zkoumání molekulárních vztahů mezi hostem a hostitelem jak v roztoku, tak v pevném stavu.<sup>10,12</sup>

Při DSC je zkoumaný vzorek (v tuhém či tekutém skupenství) postupně zahříván či chlazen určitou rychlostí a molekulové jevy zapříčiněné změnou teploty (fázové přechody, tání, rozklad, atd.) jsou zaznamenány jako vydání tepla či jeho absorpce.<sup>10,12</sup>

Při ITC experimentech je jedna látka účastnící se reakce postupně přidávána do roztoku jiné látky (látek). Všechny jevy uplatňující se při jednotlivých přidávcích jsou zaznamenány v termogramu.<sup>10</sup>

Využitím obou metod můžeme získat kompletní termodynamické informace o zkoumaném systému při různých molárních poměrech i teplotách.<sup>10</sup>

### 2.1 Isotermální titrační mikrokolorimetrie

ITC je termodynamická technika, která nám umožňuje studovat interakce dvou látek. Když tyto dvě látky spolu interagují, dochází k uvolňování/absorpci tepla. Měřením těchto reakčních tepel můžeme určit rovnovážnou konstantu ( $K$ ), reakční stechiometrii ( $n$ ) a termodynamické parametry: entalpii ( $\Delta H$ ) a entropii ( $\Delta S$ ). Měřením těchto systémů při různých teplotách můžeme určit tepelnou kapacitu reakce ( $\Delta C_p$ ).<sup>11,13</sup>

$$\Delta G^0 = -RT \ln K_{asoc.}$$

$$\Delta H = \Delta U + \Delta(pV)$$

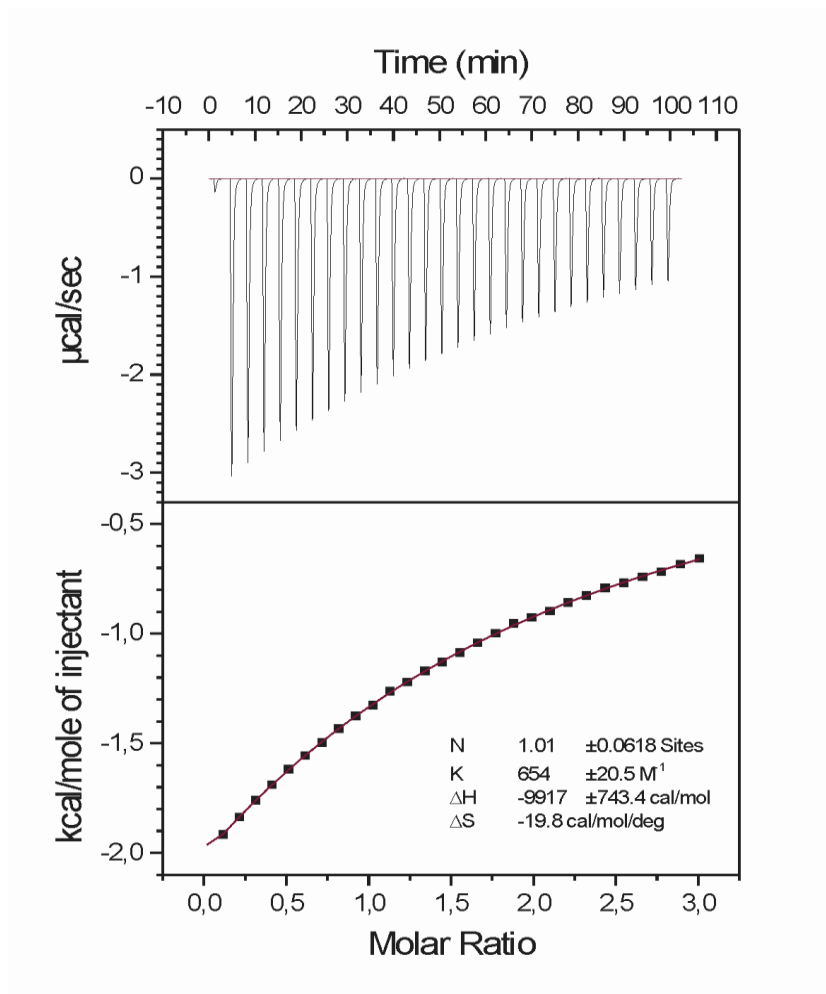
$$\Delta S^0 = \frac{\Delta H^0 - \Delta G^0}{T}$$

$$\Delta C_p = \frac{\Delta H^0}{\Delta T}$$

Základní termodynamické vztahy, podle kterých jsou dané veličiny dopočítávány.

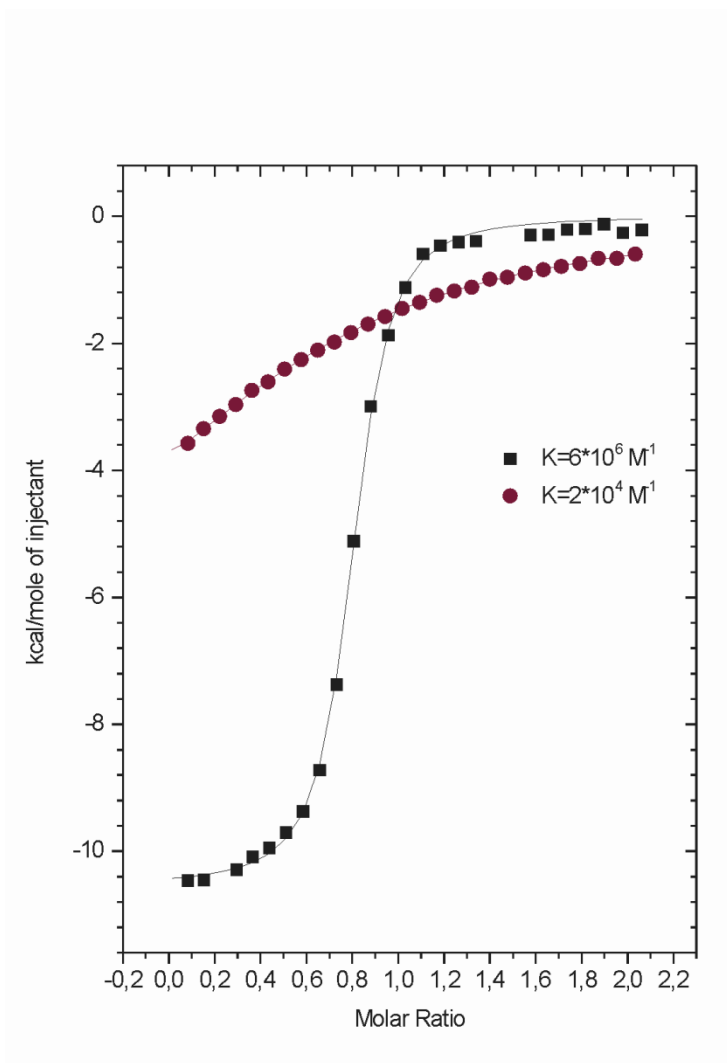
Titrační mikrokalorimetr MicroCal je nejběžnější přístroj používaný v mnoha vědeckých studiích termodynamiky kompletačních reakcí cyklodextrinů.<sup>10,14</sup>

Tvar křivky získaný titračními experimenty se výrazně liší v závislosti na koncentracích sledovaných látek a velikosti rovnovážné konstanty. Je-li rovnovážná konstanta malá a počáteční koncentrace reaktantů jsou nízké, pak pouze malá část přidávané látky (host) může reagovat s látkou v cele (hostitel) kalorimetru.<sup>10,14</sup>



**Obr. 3:** Tvar titrační křivky pro komplexační model 1:1 při malé K

Pokud jsou počáteční koncentrace reaktantů (hosta i hostitele) vyšší nebo afinita větší, pak se tvar titrační křivky podstatně mění až k sigmoidální křivce.<sup>10,14</sup>



**Obr. 4:** Tvar titrační křivky pro komplexační model 1:1 při nízké i vysoké hodnotě  $K$

Jsou-li počáteční koncentrace reaktantů dostatečně vysoké či vznikající komplexy dostatečně stabilní, přidávaný host reaguje s hostitelem v cele od počátku titrace až do stechiometrického bodu, množství uvolňovaného tepla je po celou dobu jednoho přidavku téměř konstantní. Po dosažení stechiometrického bodu množství nezreagovaného hostitele v cele rapidně poklesne, a proto se množství uvolněného tepla obdobně sníží dokonce i při přidavku nadbytku hosta (tenhle efekt můžeme vidět jako „rovnou část“ v pravé části grafu, charakterizované vysokými molárními poměry). Z titrační křivky je poté pomocí speciálního programu (ORIGIN) dopočítána rovnovážná konstanta a standardní molární



entalpie reakce. Tento software navíc dokáže určit standardní odchylku na základě míry rozptýlení referenčních bodů každé titrační křivky.<sup>10,14</sup>

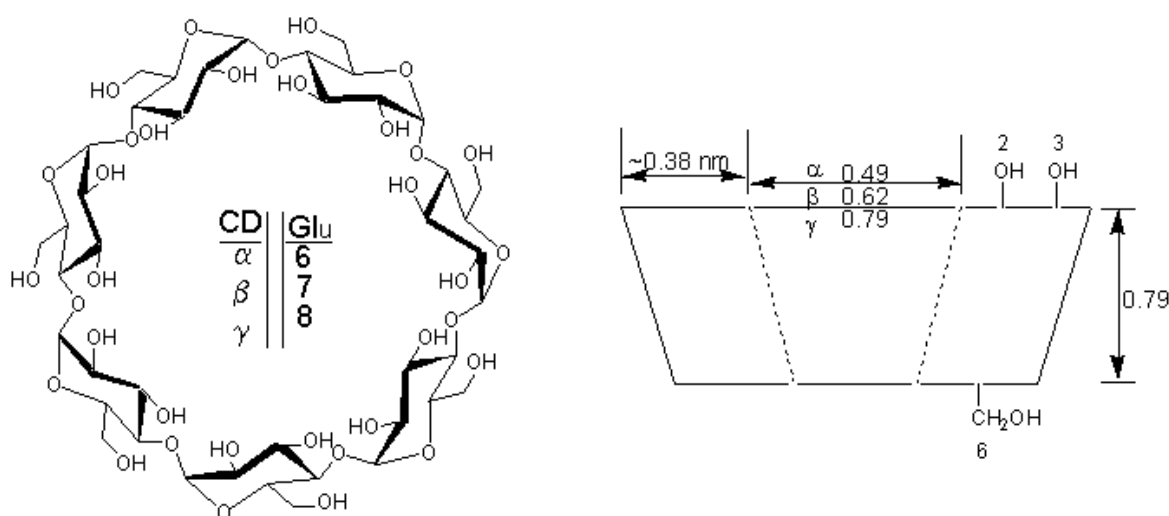
Typický mikrokaloimetrický titrační experiment je podle velikosti rovnovážné konstanty tvořen 15–25 přídávky hosta o konstantním objemu (5–10  $\mu\text{l}$ ) do reakční cely naplněné roztokem hostitele cyklodextrinu v témž roztoku. Reakční cely je izolována od prostředí a její teplota je regulována na teplotu 5–10 °C nižší, než je teplota okolí, aby mohlo docházet k ochlazení reakcí vznikajícího tepla. Tepelné změny získané titrací musí být korigovány na zředovací teplo roztoku hosta v čistém roztoku neobsahujícího hostitele, které je získáno dalším experimentem, při němž je použito stejného počtu přídávků o témže objemu, stejné koncentrace hosta a identické složení rozpouštědla jako ve vlastním titračním experimentu. Zředovací entalpie získané při kontrolním experimentu jsou algebraicky odečteny od výsledků získaných při titracích.<sup>10,14</sup>

Při experimentech využívajících ITC techniku rozeznáváme dva možné zdroje náhodných chyb. Jedna z chyb je spojena s náhodným vychýlením experimentálních bodů od teoretické křivky při každém praktickém experimentu. Tato chyba je důsledkem zejména tzv. šumu (baseline noise), objemových výkyvů jednotlivých přídávků či velikosti vydaného tepla při jednotlivých přídávcích. Jako „druhý typ“ chyb jsou chyby, které nejsou způsobeny nedokonalostí přístroje, jako např. malé odchylky v koncentraci vzorku, pH či iontová síla.<sup>10</sup>

### 3 CYKLODEXTRINY

Cyklodextriny jsou cyklické oligosacharidy složené z glukózových jednotek. Nativní CD vznikají enzymatickou degradací amylozy (působením enzymu cyklodextringlykozyltransferáza). Nejhojněji zastoupené trojrozměrné struktury byly popsány jako  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -,  $\delta$ -,  $\epsilon$ - a  $\iota$ - cyklodextriny, které obsahují 6, 7, 8, 9, 10 a 14 glukózových jednotek. V praxi jsou nejčastěji využívány  $\alpha$ -,  $\beta$ - a  $\gamma$ - cyklodextriny. Pyranózový kruh každé glukóзовé jednotky je uspořádán do  ${}^4C_1$  židličkové konformace. Glykozidová  $\alpha$ -1,4 vazba je zodpovědná za konformační flexibilitu makrocyklu.<sup>15</sup>

Kavita CD obsahuje na své vnitřní části H3 a H5 protony a glykozidové kyslíkové atomy, což dodává kavitě hydrofobní charakter, zatímco „základna“ kavity je lemována sekundárními (C2, C3) či primárními (C6) hydroxylovými skupinami, což má za následek hydrofilní charakter okrajů kavity.<sup>15</sup>



**Obr. 5:** Struktura cyklodextrinu

Velký význam cyklodextrinů spočívá v jejich schopnosti formovat inkluzní komplexy s jinými molekulami, ionty či dokonce radikály. CD jsou často označovány jako „hostitel“ (H), jiná molekula označována jako „host“ (G), zpravidla menší, může vstoupit do této kavity za vzniku inkluzního komplexu.<sup>15</sup>

Cyklodextriny obsahující 6–9 glukózových jednotek svým tvarem připomínají komolý kužel s dutinou. Molekuly CD, jež jsou tvořeny více než 9 glukózovými jednotkami si kvůli napětí na glykozidových vazbách již nedokáží udržet kruhový tvar, jsou tímto napětím deformovány do tvaru elipsy, jež je zakřivena do tvaru sedla. Tenhle tvar makromolekuly se uplatňuje v CD o počtu glukózových jednotek 14. Struktury CD obsahující více glukózových jednotek nabývají komplikovanějších tvarů. Při formování komplexů mohou CD mírně měnit strukturu kavity tak, aby mohly co nejlépe přijmout hosta. Velikost kavity má vliv na pevnost a orientaci přechodného komplexu a také ovlivňuje strukturu konečného komplexu.<sup>15</sup>

### 3.1 Modifikované cyklodextriny

Chemickou modifikací je možné cíleně měnit fyzikálně-chemické vlastnosti cyklodextrinů. Mnohé deriváty CD byly připraveny za účelem zlepšení jejich komplexotvorných vlastností a s cílem udělat je vhodnými pro rozličné využití. Nejčastěji jsou CD substituovány v pozici 2, 3 a/nebo 6 a to alkylovými, aldehydickými, *p*-toluensulfonylovými, sulfopropylovými a jinými skupinami.<sup>16</sup>

Hlavní předpoklad pro modifikaci CD je vysoká nukleofilita hydroxylových skupin na uhlících C2, C3 a C6. Iniciačním krokem je elektrofilní atak těchto pozic. Z uvedených tří hydroxylových skupin je –OH skupina na uhlíku C6 nejvíce bazická a nukleofilní, –OH skupina na uhlíku C2 je nejvíce kyselá a –OH skupina na C3 uhlíku je z těchto tří nejméně reaktivní, proto elektrofilní činidlo nejprve atakuje polohu C6. Reaktivnější činidla atakují polohu C6 a zároveň C2 a C3.<sup>16</sup>

### 3.2 Vodíkové vazby v molekulách cyklodextrinů

V krystalickém stavu cyklodextriny vytváří intra- i intermolekulární vodíkové vazby, které je stabilizují. V makromolekulách, jež obsahují 6–9 glukózových jednotek jsou dvě sousední jednotky v *cis* uspořádání a sekundární hydroxylové skupiny vytvářejí vodíkové vazby. U „větších“ CD jsou dvě sousední jednotky v *trans* uspořádání, což umožňuje vznik vodíkových vazeb mezi 3-OH a 6-OH hydroxylovou skupinou.<sup>17</sup>

### 3.3 Vazby mezi hostem a hostitelem

Vnitřní kavity cyklodextrinů obsahují molekuly vody, které jsou obklopeny hydrofobní „stěnou“ tvořenou zejména vodíkovými atomy. Tyto molekuly vody proto nemohou plně vytvářet vodíkové vazby a jsou energeticky méně stabilní v porovnání s „normálními“ molekulami vody. Když je host (vhodné velikosti a nejlépe hydrofobní povahy) přidán k CD, molekuly vody v kavitě CD jsou nahrazeny molekulou hosta. Začlenění molekuly hosta vyvolává změny struktury v CD. Pokud cyklodextriny vytváří komplex s molekulou, jež je větší než prostor kavity, je tato molekula zanořena v kavitě jen částečně.<sup>17</sup>

Molekuly hosta včleněné v molekule CD nejsou vázány kovalentně, ale jsou stabilizovány vodíkovými vazbami, van der Waalsovými silami, elektrostatickými interakcemi atd.<sup>17</sup>

Host má tedy obvykle určitou míru „svobody“ pro translační a rotační pohyby.<sup>17</sup>

Vznik krystalů z komplexů cyklodextrinů je řízen zejména uspořádáním molekuly CD, protože tato molekula ovládá intermolekulární vazby pro vytvoření krystalické mřížky. Neexistuje však jen jeden druh struktury pro určitý typ cyklodextrinu, ale liší se dle molekuly hosta. Rozeznáváme tři struktury: kanálkovou, klecovou a vrstevnatou.

- Klecová struktura – tahle struktura je typická pro relativně malé molekuly, které mohou být uzavřeny v kavitě hostitele. Oba konce kavity jsou uzavřeny sousedními molekulami, čímž je vytvořena izolovaná klec.
- Kanálková struktura – tato struktura je tvořena lineárním hromaděním CD kruhů za vzniku sloupců, jednotlivé sloupce mají mezi sebou „kanálky“. Rozeznáváme dva typy uspořádání CD v jednotlivých sloupcích: „head-to-head“ a „head-to-tail“. Struktura „head-to-head“ je tvořena lineárním uspořádáním dimerů, kde dimer je tvořen tak, že dvě kavity jsou k sobě obráceny stranami se sekundárními hydroxylovými skupinami a spojeny vodíkovými vazbami. Pokud je realizována struktura „head-to-tail“, jsou molekuly CD orientovány tak, že primární hydroxylové skupiny jedné kavity jsou vodíkovými vazbami spojeny se sekundárními hydroxylovými skupinami kavity následující.
- Vrstevnatá struktura – tato struktura bývá často pozorována v takových případech, kdy je molekula hosta tak velká, že část molekuly nemůže být umístěna uvnitř kavity. Kruhy CD jsou uspořádány tak, že vytváří vrstvy, kde dvě sousední vrstvy jsou posunuty o půl molekuly (vytváří tak jakýsi vzor cihlové zdi). Ta část

molekuly, jež není inkludována v kavitě, vyčnívá do mezimolekulárního prostoru a dotýká se kavity v sousední vrstvě.<sup>17</sup>

### 3.4 Komplexy $\beta$ -CD

$\beta$ -CD komplexuje silně například některé steroidní deriváty. Kavita  $\beta$ -CD je poměrně dosti široká a dokáže axiálně inkludovat naftalenový kruh. Adamantan a jeho deriváty tvoří ve vodných roztocích relativně silné komplexy s  $\beta$ -cyklodextrinem.<sup>17</sup>

Typ inkluze závisí nejen na velikosti a tvaru molekuly hosta, ale i na jeho fyzikálně chemických vlastnostech. Neionogenní a/nebo hydrofobní malé molekuly zpravidla vytváří s  $\beta$ -CD klecovou strukturu. Vrstevnatá struktura je pozorována u triethylendiaminů a sulfothiazolů. Komplexy  $\beta$ -CD s léčivy zpravidla vytvářejí strukturu kanálkovou.<sup>17</sup>

## 4 NUKLEÁRNÍ MAGNETICKÁ REZONANCE

NMR spektroskopie je jednou z nejdůležitějších spektroskopických technik používaných v chemickém, biochemickém, biologickém a medicínském výzkumu.<sup>11</sup>

Tato spektrální metoda je v podstatě rezonanční spektrometrie, při které se interakcí radiofrekvenčního záření mění stav jaderných spinů. Tato interakce se uskutečňuje v přítomnosti silného homogenního magnetického pole, které způsobuje energetické rozštěpení hladin jednotlivých spinových stavů.

Jádra atomů se vyznačují různými hodnotami spinů v závislosti na počtu protonů a neutronů v jádře.

- Jádra se sudým počtem protonů a neutronů mají spinové kvantové číslo 0 (He, <sup>12</sup>C, <sup>16</sup>O,...). Tato jádra jsou nemagnetická.
- Jádra s lichým počtem protonů a nepárovým počtem neutronů mají spinové kvantové číslo 1 (<sup>2</sup>H, <sup>14</sup>N).
- Jádra s nepárovým počtem protonů nebo neutronů mají spinové kvantové číslo 1/2, 3/2, 5/2 atd.... Například <sup>1</sup>H, <sup>11</sup>B, <sup>31</sup>P, <sup>35</sup>Cl, <sup>79</sup>Br, ... (ref. <sup>18,19</sup>)

Jádra atomů, jejichž spinové kvantové číslo je nenulové, jsou schopná absorbovat radiofrekvenční záření v magnetickém poli, jsou tedy měřitelná pomocí NMR spektroskopie.<sup>20</sup>

Potřebné množství vzorku bývá řádově několik miligramů. Vzorek nesmí být znečištěn paramagnetickými látkami (ionty Fe). Při základní interpretaci <sup>1</sup>H NMR spektra se přihlíží k poloze signálů (chemický posun), k jejich intenzitě a multiplicitě. Spektrometry pracují s konstantní intenzitou magnetického pole, jehož stálost se udržuje laděním na přítomnou referentní látku, standart (zpravidla tetramethylsilan) nebo rozpouštědlo („lockování“).<sup>19</sup>

Při ozáření silným radiofrekvenčním zářením dojde ke stavu nasycení. Tento stav nasycení se vrací do výchozího rovnovážného stavu procesem relaxace. Jsou to procesy, kterými se snižuje celková energie spinů a dochází k volnému zániku indukce.<sup>18</sup>

### 4.1 Chemický posun

Použití NMR spektroskopie v chemii je založené na tom, že strukturně různá jádra téhož prvku mají různé hodnoty rezonačních frekvencí při konstantní intenzitě magnetického

pole. Příčinou existence chemického posunu je různé stínění jader vůči působení vnějšího magnetického pole. Tím dostávají signály různých protonů různou polohu, která se označuje jako chemický posun. Chemický posun se vyjadřuje jako rozdíl mezi rezonančními frekvencemi signálů zkoumané látky a rezonanční frekvencí signálu standardní sloučeniny. Udává se nejčastěji v jednotkách  $\delta$ , jež odpovídají 1 ppm (tj.  $10^{-6}$  vzhledem k magnetické indukci nebo k frekvenci). Hodnoty stupnice  $\delta$  rostou zprava doleva, směrem k menší intenzitě pole. Hodnoty chemického posunu pro  $^1\text{H}$  a  $^{13}\text{C}$  spektroskopii se vztahují na tetramethylsilan (TMS), který má hodnotu  $\delta = 0$ .<sup>15,20</sup>

Poloha signálu je veličina citlivá i na nepatrné změny struktury a je stejná jen pro skutečně ekvivalentní atomy se stejným okolím, přičemž se uplatňuje i vliv nevázaných atomů. U labilních konformací je magnetická ekvivalence způsobena volnou otáčivostí. Signály obecně splývají, jestliže je výměna rychlejší než rozdíl chemických posunů vyjádřený ve frekvenčních jednotkách (Hz). Nabývá-li bariéra rotace větších hodnot, přesmyk se zpomalí a ekvivalence se porušuje.<sup>18,19</sup>

Chemické posuny protonů závisí na vnitřních a vnějších vlivech.

#### a) Vnější vlivy

- Rozpouštědla – molekuly zkoumané látky vytváří s molekulami rozpouštědla kolizní komplexy, při kterých nastává přenos náboje.
- Teplota – Při změnách teploty při měření spekter lze pozorovat nové signály, které mohou být způsobeny rotačními izomery, konformery, tautomery,...
- Vodíkové vazby – je-li proton zapojený do vodíkové vazby, nastává v spektru posun signálu k vyšším hodnotám  $\delta$  v porovnání se signálem volného protonu.

#### b) Vnitřní vlivy

- Elektronové efekty – souvisí s indukčním efektem atomu nebo skupiny, na kterou je navázaný proton. Čím je proton navázaný na elektronegativnější atom nebo elektronakceptornější skupinu, tím menší je stínění elektrony (tzn., že jeho rezonanční signál lze zjistit při vyšší hodnotě  $\delta$ ).
- Diamagnetické anizotropní efekty – K stínění protonů přispívají i magnetická pole, která vznikají v důsledku elektrických proudů indukovaných v elektronových obalech atomů nebo skupin, které jsou v sousedství protonu.

- Van der Waalsovo odpuzování – jsou-li protony blízko u sebe, může se projevit jejich van der Waalsovo odpuzování. Rezonanční signál protonu se pak pozoruje při nižších hodnotách  $\delta$ .<sup>18,20</sup>

## 4.2 Intenzita signálu

Druhým významným faktorem spektra  $^1\text{H}$  NMR je integrovaná intenzita signálu, která je úměrná počtu ekvivalentních atomů vodíku. U rozštěpených pásů je třeba integrovat celý multiplet. Intenzitu spektrálních pásů charakterizuje plocha S, která je pod signálem.<sup>14,18</sup> Intenzitu signálu, představovanou integrovanou plochou zakreslují přístroje přímo do spektra.<sup>19</sup>

V NMR spektrech nepozorujeme pouze jednoduché spektrální pásy (singlety), ale i dubletové, tripletové až multipletové spektrální pásy. Příčina tohoto štěpení je nepřímá interakce mezi spiny jader, při které nastává vzájemné magnetické působení mezi jádry, respektive skupinami jader. Tato interakce se uskutečňuje prostřednictvím vazebných elektronů. Základním principem interakce mezi spiny jader je magnetická polarizace spinů a elektronů.<sup>20</sup>

Na určení počtu čar v multipletu existují tato pravidla

- a) Jestliže je rozdíl v chemickém posunu interagujících jader nulový, splynou signály do jednoho rezonančního signálu (singlet). Ekvivalentní protony poskytují ostré singletové signály, jestliže na sousedním atomu nejsou navázané protony.
- b) Jakmile jsou na sousedním atomu navázány protony, lze multiplicitu signálů  $m$  vypočítat dle vztahu:

$$m = n + 1,$$

kde:

$m$ ...počet čar v multipletu

$n$ ...počet ekvivalentních protonů navázaných na sousední atomy<sup>17</sup>

Podstatná změna NMR stínění, které můžeme pozorovat při formování komplexů host-hostitel, je hlavní příčina, proč je tato technika zdaleka nejvýznamnější metodou měření asocičních konstant a je také často využívána pro charakterizování konformací těchto



komplexů. Vodíkové atomy jsou na rozdíl od těch uhlíkových umístěny na krajích molekul, a proto jsou více vystaveny intermolekulárnímu stínění.<sup>11</sup>

Velkou výhodou NMR spektroskopie je získání několika nezávislých signálů, které mohou být použity pro vyhodnocení supramolekulárních rovnováh. Použitím vhodných metod můžeme získat asociační konstanty  $K$ , které se zpravidla liší méně než o 10 %. Odchylka  $\pm 1$  % může být zavádějící a může zakrývat ve skutečnosti mnohem nižší přesnost, a to kvůli nesprávně zvoleným titračním podmínkám a/nebo systémové chybě. Jestliže je odchylka větší než 10 % mezi asociačními konstantami získanými pomocí různých signálů, jež jsou pozorovány, musí být pozměněn výpočtový model. Ve vodíkových vazebných asociacích jsou samozřejmě největší posuny pozorovány u protonů účastnících se vodíkových vazeb. Tyto posuny však mohou být zároveň rozmazané/zastřené kvůli výměně s jinými protony (např. z rozpouštědla) a/nebo stopami kyselin či zásad.<sup>11</sup>

V případě rychlé výměny, která je tak typická pro supramolekulární komplexy látek s CD, získáme pouze jeden ostrý signál v střední průměrné vážené pozici mezi signály volných a komplexovaných molekul. V případě rychlé výměny, můžeme získat zároveň s asociační konstantou CIS (kompletační indukovaný posun) hodnotu pro plně komplexovaný stav. Srovnání této hodnoty s předpokládanými daty nám může také pomoci rozhodnout, zdali některé posuny a příslušné asociační konstanty jsou ovlivněny „znečištěním“ kyselinami či zásadami. Pro slabší komplexy je nutné použít pro tuto metodu vyšší koncentrace, které však mohou změnit objemové vlastnosti roztoku a tím také ovlivní skutečné CIS a  $K$  hodnoty. Na druhou stranu, CIS hodnota může být vypočítána z jediného měření s jednou přesně známou koncentrací, pokud je známa asociační konstanta nebo tato konstanta může být spolehlivě určena z jiných dat. Ačkoli pouhé jedno měření umožňuje určit CIS, je vhodné použít k jejímu určení nejméně dvě měření. Metoda získání posunů molekul hosta i hostitele z jediného měření je obzvlášť důležitá, jestliže rotace systému je tak složitá, že nelze pozorovat všechny signály v běžném jednorozměrném spektru nebo jestliže poměr signál/šum je nedostatečný k tomu, aby proběhla celá časově náročná titrace. V takovémto případě nám dovoluje dvourozměrná technika měření jako je COSY analyzovat mnoho překrývajících se signálů.<sup>11</sup>

### 4.3 Rozpouštědla v $^1\text{H}$ NMR

Při praktickém provedení se studují látky v roztocích, většinou koncentrovanějších.<sup>20</sup>

Podmínkou použití rozpouštědla je, aby bylo chemicky inertní, dobře rozpouštělo zkoumanou látku, magneticky izotropní a neobsahovalo magneticky neekvivalentní vodíkové atomy.<sup>20</sup>

Tetrachlormetan či sirouhlík nevytváří žádný rezonanční signál. Aceton, chloroform, DMSO, benzen, kyselina trifluoroctová, dioxan či voda poskytují jeden rezonační signál. Deuterovaná rozpouštědla jako je chloroform-*d*, aceton-*d*<sub>6</sub>, DMSO-*d*<sub>6</sub>, benzen-*d*<sub>6</sub>, pyridin-*d*<sub>5</sub> apod. nedávají rezonanční signál. Obsahují však malé množství nedeuterovaných molekul, a proto se ve spektru může objevit tzv. reziduální signál příslušných protonů, které je třeba při interpretaci eliminovat. Při použití deuterovaných rozpouštědel jako je těžká voda D<sub>2</sub>O, ethanol-*d*<sub>6</sub> a jiných, se protony navázané na heteroatomech (O, N, S) zkoumaných sloučenin substituují deuteriem, což způsobí vymizení signálu a zrušení spinových interakcí.<sup>20</sup>

Nejužívanějším deuterovaným rozpouštědlem je CDCl<sub>3</sub>.<sup>18,19</sup>

#### 4.4 <sup>13</sup>C NMR spektroskopie

Velký význam má i <sup>13</sup>C NMR spektroskopie, pracující s přirozenou koncentrací tohoto izotopu. V běžném spektru je každý signál štěpen hlavně protony vázanými na daný atom C. Toto štěpení je možno dekaplingem zrušit, takže se ztratí informace o počtu navázaných protonů, ale dojde ke zvýšení relativní intenzity signálu vůči šumu. Při dekaplingu dochází k ozáření vzorku sekundárním zdrojem o frekvenci určitého signálu, dojde k nasycení a „vymazání“ tohoto signálu ze spektra. Současně splynou multiplety, jejichž rozštěpení bylo vyvoláno tímto signálem. V praxi se při měření <sup>13</sup>C NMR spekter používá širokopásmový dekapling (tzv. broad-band decoupling) a všechny signály uhlíků jsou pozorovány jako singlety. Tento přístup zvyšuje citlivost měření (výšku signálu nad šumem), neboť nedochází k rozměňování intenzity signálu do případného multipletu.<sup>19</sup>

#### 4.5 Určení vazebné konstanty

Formulace komplexů mezi hostem a hostitelem je základní a důležitý proces v supramolekulární chemii. Selektivita v komplexaci je důležitá vlastnost v určování molekulární rozpoznávací schopnosti molekuly hostitele, která rozlišuje mezi různými druhy hosta.<sup>21</sup>

Hlavní způsob určení vazebné konstanty je založen na jednoduchém vazebném rovnovážném modelu:



pak platí:

$$K = \frac{[C]}{([H]_0 - a \cdot [C])^a \cdot ([G]_0 - b \cdot [C])^b}$$

kde:

a,b...stecheometrie

C...komplex

[C]...koncentrace komplexu

[H]<sub>0</sub>, [G]<sub>0</sub>...proměnné, které lze nastavit jako experimentální podmínky

#### 4.5.1 Určení vazebné konstanty pomocí NMR spektroskopie

K určení stechiometrie se nejčastěji používá Continuous variation method (Job's plot). Při použití této metody musí být dodrženo:

- udržení sumy [H]<sub>0</sub> a [G]<sub>0</sub> konstantní (α)
- změna [H]<sub>0</sub> od 0 do α
- možnost zjištění [C]
- zpracování dat (Job's plot)

Stechiometrie  $\left(\frac{a}{a+b}\right)$  je získána ze souřadnice x v maximu křivky (viz **Obr. 12**), kde y =

[C] a  $x = \frac{[H]_0}{([H]_0 + [G]_0)}$ . Z této rovnice ( $x = \frac{a}{a+b}$ ) vyplývá, že při komplexaci 1:1 nabývá x

hodnoty 0,5, neboť a = b = 1. V případě komplexace 1:2  $x = 0,333$ .<sup>21</sup>

Koncentrace komplexu bývá zpravidla obtížně zjistitelná s dostatečnou přesností, proto se používá místo této hodnoty nějaký experimentálně dostupný parametr. V případě NMR a rychlé výměny to bývá zpravidla rozdíl chemických posunů pro sledované jádro v nekomplexovaném stavu a v roztoku komplexu, tedy  $|\delta - \delta_0|$  vynásobený molárním zlomkem komponenty komplexu obsahující sledované jádro.<sup>21</sup>

## **II. PRAKTICKÁ ČÁST**

## 5 PŘÍSTROJE A VYBAVENÍ

Pro kvalitativní i kvantitativní analýzu reakčních směsí byl použit plynový chromatograf s kvadrupólovým hmotnostním detektorem Shimadzu GC-MS QP2010, kolona Supelco SLB-5ms 30m x 0,25mm x 0,2  $\mu\text{m}$ . Teplotní program: 100 °C/5 min; 25 °C/ min; 250 °C. Teplota nástřiku 250 °C. Nosný plyn: He. Iontový zdroj: 200 °C, 70 eV. Analýzy byly prováděny v režimu konstantní lineární rychlosti 40,8 cm/s. Teploty tání byly naměřeny na Koflerově bloku a nejsou korigovány. IČ spektra měřena na přístroji Nicolet technikou KBr tablet. Spektra NMR byla měřena na přístroji BRUKER AM-300 při frekvenci 300 MHz pro  $^1\text{H}$  a 75,5 MHz pro  $^{13}\text{C}$ , jako inertní standart bylo používáno rozpouštědlo.

Termodynamika interakcí byla studována na přístroji MicroCal VP-ITC s reakční celou o pracovním objemu 1,4 ml, automatickou byretou o objemu 250  $\mu\text{l}$ . Experimenty byly prováděny při teplotě okolo 303,00 K.

ESI-MS analýza byla provedena na Esquire LC ion-trap hmotnostním spektrometru (Bruker Daltonics, Bremen, Germany) vybaveného ESI zdrojem. Roztok vzorku (8,8  $\mu\text{m}$  v rozpouštědle methanol-voda, 1:1, v : v) byl vstříknut do iontového zdroje o rychlosti průtoku 3  $\mu\text{L}/\text{min}$  skrz kovovou kapiláru a za vysokého napětí ( $\pm 3,5$  kV). Další instrumentální podmínky byly následující: teplota sušícího plynu 250 °C, rychlost průtoku sušícího plynu 5  $\text{dm}^3/\text{min}$ , tlak atomizéru 41,37 kPa. Jako sušící i rozprašující plyn byl použit dusík. Napětí na skimmeru a oktopólu bylo upraveno a optimalizováno před každým experimentem.

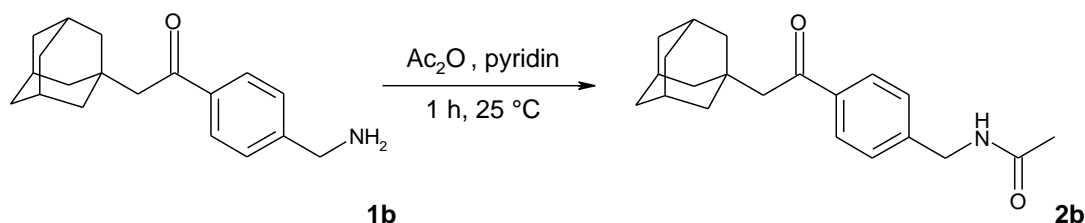
Komerční  $\beta$ - a  $\alpha$ - CD byl sušen do  $\Delta m = 0$  při teplotě 328,0 K a tlaku 27 kPa.

Všechny připravené vzorky ligandů i roztoky cyklodextrinů byly před měřením vždy odplyněny na přístroji ThermoVac při teplotě 300,0 K.

## 6 PŘÍPRAVA LÁTEK

### 6.1 *N*-acetyl-2-(1-adamantyl)-1-[(4-aminomethyl)fenyl]ethan-1-on

#### 6.1.1 Acetylace 2-(1-adamantyl)-1-[(4-aminomethyl)fenyl]ethan-1-onu



192,8 mg (0,6808 mmol) výchozí látky bylo smícháno s 2 cm<sup>3</sup> pyridinu a 0,2 cm<sup>3</sup> acetanhydridu. Směs byla míchána za laboratorní teploty pod CaCl<sub>2</sub> uzávěrem po dobu 1 h. Průběh reakce byl sledován TLC. Po vymizení výchozí látky byla reakční směs vlita na led, když led roztál, byla přidána rozpouštědla DEE : HEX (v poměru 2 : 1), vše bylo kvantitativně převedeno do děličky a směs byla 4 × promyta danými rozpouštědly. Poté byly organické podíly spojeny a promyty vodným roztokem NaHCO<sub>3</sub>, 5% roztokem HCl, destilovanou vodou s malým množstvím DEE a nasyceným roztokem NaCl a vysušeny nad Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Rozpouštědlo bylo odpařeno na RVO. Byl získán světle žlutý olej, který byl rozpuštěn v hexanu a byl nechán krystalizovat v mrazáku při -18 °C. Směs byla poté přefiltrována přes fritu, byly získány bíložluté krystalky. Výtěžek byl **43 %**.

**Bod tání:** 84–88 °C

**EI-MS:** 41(8); 43(16); 77(14); 79(20); 93(13); 105(17); 106(15); 135(17); 176(55); 253(10); 266(100); 267(22) m/z (%).

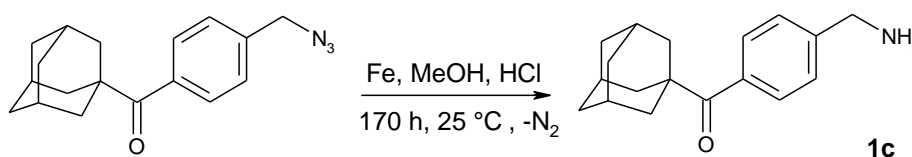
**<sup>1</sup>H NMR (DMSO/D<sub>2</sub>O):** δ = 1,50 (dd, 12H, CH<sub>2</sub>(Ad)); 1,82 (s, 3H, CH<sub>2</sub>(Ad)); 1,88 (s, 3H, COCH<sub>3</sub>); 2,50 (t, 1H, NH); 2,66 (s, 2H, CH<sub>2</sub>(Ad)); 4,27 (s, 2H, CH<sub>2</sub>NH); 7,32 (d, 2H, Ph), 7,85 (d, 2H, Ph) ppm.

**<sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>):** δ = 23,3 (CH), 28,9 (CH<sub>3</sub>); 34,2 (C); 37,0 (CH<sub>2</sub>); 43,2 (CH<sub>2</sub>); 43,4 (C); 51,5 (C); 127,8 (CH<sub>3</sub>); 129,0 (CH<sub>3</sub>); 138,3 (C); 143,5 (C); 170,3 (C); 200,5 (C) ppm.

**IR (KBr):** 3261 (s); 3079 (s); 2903 (s); 2844 (s); 2673 (w); 2655 (w); 1652 (m); 1609 (m); 1561 (s); 1426(m); 1371 (s); 1350 (w), 1286 (s); 1263 (s); 1214 (m); 1100 (m); 1027 (s); 983 (m); 915 (w); 813 (m); 771 (m); 623 (w); 585 (s); 511 (m)  $\text{cm}^{-1}$ .

## 6.2 *N*-acetyl-(1-adamantyl)-[(4-aminomethyl)fenyl]methanon

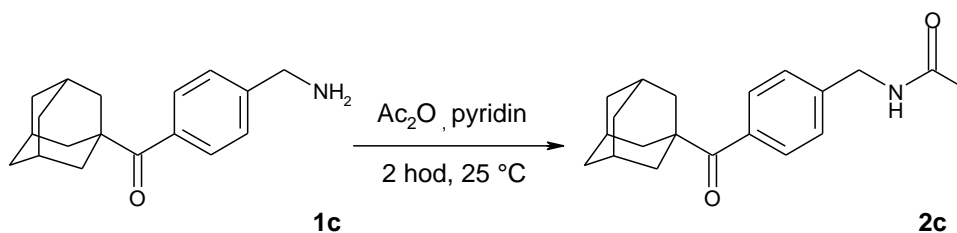
### 6.2.1 Redukce (1-adamantyl)-[(4-azidomethyl)fenyl]methanonu



K 195,8 mg (0,6629 mmol) 1-adamantyl)-[(4-azidomethyl)fenyl]methanonu bylo přidáno 40  $\text{cm}^3$  cca 0,05M methanolické HCl a 158 mg (2,843 mmol) železa. Směs byla míchána za laboratorní teploty pod  $\text{CaCl}_2$  uzávěrem. Reakční směs byla monitorována pomocí TLC. V průběhu reakce byla také kontrolována kyselost, postupně byly přidány 2  $\text{cm}^3$  konc. HCl. Vždy po spotřebování veškerého železa bylo přidáváno cca 50 mg (0,8953 mmol) dalšího Fe až do skončení reakce. Reakce probíhala 170 h. Reakční směs byla zalkalizována cca 10% NaOH. Vzniklá směs byla převedena do dělicí nálevky a promyta 10 × 20 ml DEE:HEX (1:1). Organické podíly byly spojeny a promyty NaCl, vysušeny nad  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . Rozpouštědlo odpařeno na RVO. 1-adamantyl)-[(4-aminomethyl)fenyl]methanon **1c** byl získán jako žlutý olej. Výtěžek byl **70 %**.

**EI-MS:** 79(18); 93(16); 105(5); 106(6); 107(10); 134(20); 135(100); 136(11); 252(10) m/z (%).

### 6.2.2 Acetylace (1-adamantyl)-[(4-aminomethyl)fenyl]methanonu



125,6 mg (0,4666 mmol) výchozí látky bylo smícháno s 1,256 cm<sup>3</sup> pyridinu a 0,1256 cm<sup>3</sup> acethanhydridu. Směs byla míchána za laboratorní teploty pod CaCl<sub>2</sub> uzávěrem po dobu 2 h. Průběh reakce byl sledován TLC. Po vymizení výchozí látky byla reakční směs vлита na led, po roztání ledu byl přidán DEE a vše bylo kvantitativně převedeno do děličky, směs byla 4 × promyta DEE. Při poslední extrakci bylo přidáno malé množství hexanu. Organické podíly byly spojeny, promyty vodným roztokem NaHCO<sub>3</sub>, 5% roztokem HCl, destilovanou vodou s malým množstvím DEE a roztokem NaCl, vysušeno nad Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Rozpouštědlo odpařeno na RVO. Byl získán světle žlutý olej, který byl přečištěn na koloně s mobilní fází PE:EA 1:1. Olej v mrazáku při -18 °C zkrystalizoval. Výtěžek byl 40 %.

**Bod tání:** 114–117 °C

**EI-MS:** 43(6); 67(7); 79(20); 89(5); 91(5); 93(15); 107(10); 135(100); 176(8); 311(9) m/z (%).

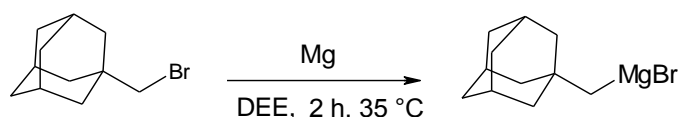
**<sup>1</sup>H NMR (DMSO/D<sub>2</sub>O):** δ = 1,74 (m, 6H, CH<sub>3</sub>+Ad); 1,98 (d, 6H, Ad); 2,05 (m, 6H, Ad); 4,44 (d, 2H, CH<sub>2</sub>); 6,10 (s, 1H); 7,27 (d, 2H, Ph); 7,51 (d, 2H, Ph) ppm.

**<sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>):** δ = 23,3 (CH); 28,3 (CH<sub>3</sub>); 36,7 (CH<sub>2</sub>); 39,3 (CH<sub>2</sub>); 43,5 (C); 47,1 (C); 127,6 (CH<sub>3</sub>); 138,9 (C); 140,7 (C); 170,9 (C); 209,8 (C) ppm.

**IR (KBr):** 325 (s); 3085 (s); 2904 (s); 2848 (s); 2658 (m); 1686 (s); 1646 (s); 1612 (m); 1548 (s); 1452 (s); 1421 (m); 1406 (w); 1375 (m); 1344 (w); 1292 (s); 1273 (s); 1237 (s); 1180 (m); 1122 (m); 1099 (m); 989 (s); 931 (m); 837 (w); 742 (s); 687 (m); 641 (s); 595 (s); 495 (s) cm<sup>-1</sup>.

## 6.3 N-acetyl-2-(1-adamantyl)-1-[(3-aminomethyl)fenyl]ethan-1-on

### 6.3.1 Příprava Grignardova činidla

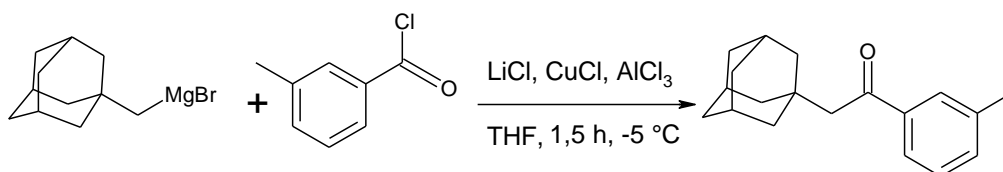


0,6358 g (21,16 mmol) hořčičku a malé množství jodu bylo v baňce zahříváno na teplotu 170 °C až do výstupu růžových par. Poté co se páry přestaly uvolňovat, bylo do vychládlé



baňky přes septum přidáno 20 cm<sup>3</sup> DEE. Směs byla na vodní lázni zahřáta k varu. Následně byl stříkačkou po kapkách přidán 1-adamantylmethylbromid (21,8 mmol), rozpuštěný v 5 cm<sup>3</sup> DEE. Po přidání veškerého 1-adamantylmethylbromidu byla reakční směs míchána a zahřívána ještě 1 h. Reakční směs byla po vychladnutí převedena kanylou do vyžehnaného a argonem promytého válce. Poté byla acidimetrickou titrací stanovena koncentrace připraveného Grignardova činidla.

### 6.3.2 Příprava 2-(1-adamantyl)-1-[(3-methyl)fenyl]ethan-1-onu

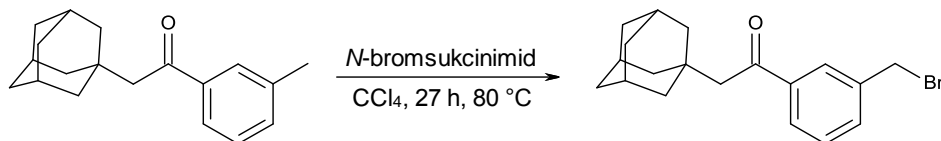


Do tříhrdlé baňky promyté argonem bylo přidáno 24,5 cm<sup>3</sup> předestilovaného THF. Postupně (po rozpuštění předchozího) byly přidávány složky katalyzátoru v následujícím pořadí: LiCl (37,8 mg, 0,7362 mmol), CuCl (36,8 mg, 0,3681 mmol) a AlCl<sub>3</sub> (51 mg, 0,3681 mmol). Po rozpuštění posledního chloridu bylo přidáno 1,63 cm<sup>3</sup> 3-methylbenzoylchloridu (12,27 mmol). Reakční směs byla ochlazena na -5 °C (pomocí směsi led + voda + NaCl), přidáno veškeré Grignardovo činidlo (12,27 mmol) připravené v předchozím bodě a za stálého chlazení byla reakční směs míchána ještě 5 min. Poté byl led odstraněn a směs byla míchána ještě 1 h za laboratorní teploty. Dále bylo přidáno 50 cm<sup>3</sup> 1M-HCl a mícháno dalších 15 min.

Reakční směs byla promyta 3 × 20 cm<sup>3</sup> DEE, organické podíly spojeny a 3 × 15 cm<sup>3</sup> extrahovány K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> a 1 × NH<sub>4</sub>Cl. Spojené etherové podíly byly sušeny nad Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Po odpaření rozpouštědla na RVO bylo provedeno přečištění pomocí sloupcové chromatografie v mobilní fázi PE - získán 1,2-bis(1-adamantyl)ethan, poté mobilní fáze změněna na PE:EA 1:1 – získán požadovaný 2-(1-adamantyl)-1-[(3-methyl)fenyl]ethan-1-on. Výtěžek byl **92 %**.

**EI-MS:** 41(6); 65(9); 77(6); 79(10); 91(40); 92(8); 93(8); 119(100); 120(9); 135(18); 253(19); 268(33); 269(7) m/z (%).

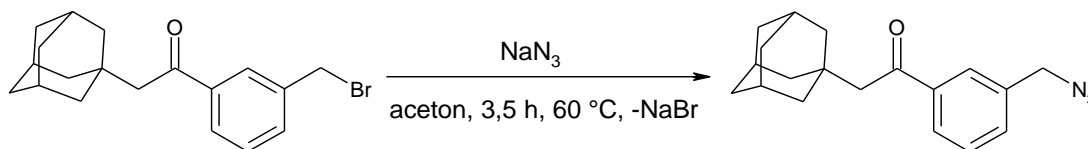
### 6.3.3 Příprava 2-(1-adamantyl)-1-[(3-brommethyl)fenyl]ethan-1-on



K 2,3329 g (8,858 mmol) 2-(1-adamantyl)-1-[(3-methyl)fenyl]ethan-1-onu bylo přidáno 16 cm<sup>3</sup> predestilovaného CCl<sub>4</sub>, 1,577 g (8,858 mmol) *N*-bromsukcinimidu a katalytické množství dibenzoylperoxidu. Reakční směs byla osvětlena wolframovou lampou a zahřívána na olejové lázni k varu (pod zpětným chladičem), mícháno pod CaCl<sub>2</sub> uzávěrem. Aktuální stav reakční směsi byl kontrolován pomocí TLC a GC-MS. Po 8,5 hod již nedocházelo k přeměně další výchozí látky, přestože bylo zreagováno teprve 55 % výchozí látky, proto bylo přidáno malé množství dibenzoylperoxidu. I přesto nedošlo k úplnému zreagování výchozí látky, bylo proto do reakční směsi přidáno 10 % *N*-bromsukcinimidu a po dvou hod dalších 5 %. Reakce byla ukončena po 27 hodinách zahřívání. Reakční směs byla přefiltrována přes fritu a filtrát odpařen na RVO. Surový produkt byl získán jako hnědý olej. Výtěžek byl **97 %**.

**EI-MS:** 41(8); 65(5); 77(8); 79(16); 81(5); 89(11); 90(25); 91(26); 92(9); 93(15)<sup>+</sup>; 105(6); 107(6); 118(15); 119(33); 133(7); 135(36); 197(17); 199(17); 253(13); 267(100); 268(25) m/z (%).

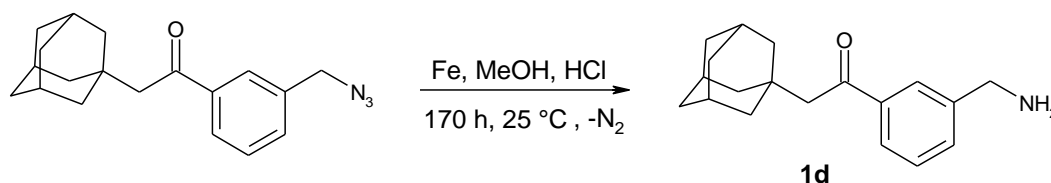
### 6.3.4 Příprava 2-(1-adamantyl)-1-[(3-azidomethyl)fenyl]ethan-1-onu



K 2,5431 g (7,323 mmol) 2-(1-adamantyl)-1-[(3-brommethyl)fenyl]ethan-1-onu bylo přidáno 15 cm<sup>3</sup> acetonu a 7,13 g (73,24 mmol) NaN<sub>3</sub>. Vzniklá směs byla zahřívána na olejové lázni (pod zpětným chladičem) k varu, pod argonovou atmosférou. Reakce probíhala 3,5 h. Po skončení reakce byla přidána destilovaná voda, aby došlo k rozpuštění nezreagovaného NaN<sub>3</sub> a takto vzniklá směs byla kvantitativně převedena do dělicí nálevky a extrahována 4 × 20 cm<sup>3</sup> DEE. Organické podíly byly spojeny a sušeny nad Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Po

odpaření rozpouštědla na RVO obsahoval surový produkt velké množství vody, proto byl rozpuštěn v hexanu a opět sušen nad  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . Po odpaření hexanu byl získán hnědý olej, který byl následně přečištěn pomocí sloupcové chromatografie v mobilní fázi PE:EA 16:1. 2-(1-Adamantyl)-1-[(3-azidomethyl)fenyl]ethan-1-on byl získán jako nažloutlý olej ve výtěžku **55 %**.

### 6.3.5 Redukce 2-(1-adamantyl)-1-[(3-azidomethyl)fenyl]ethan-1-onu

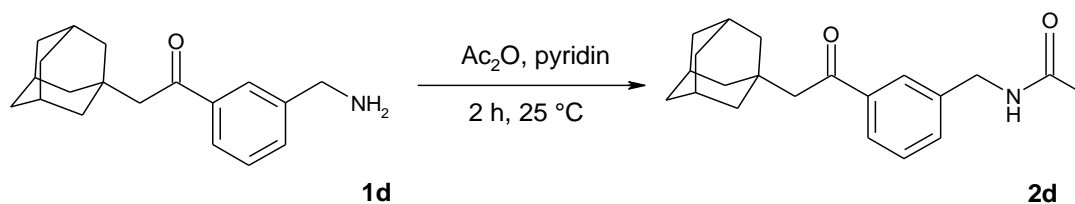


K 1,2447 g (4,023 mmol) azidu bylo přidáno 65,5  $\text{cm}^3$  0,5M methanolickej HCl a 1,0044 g (17,98 mmol) železa. Směs byla míchána za laboratorní teploty pod  $\text{CaCl}_2$  uzávěrem.

Reakční směs byla monitorována pomocí TLC. Reakce byla skončena po 3,5 h. Reakční směs byla zalkalizována cca 8% NaOH. Vzniklá směs byla převedena do dělicí nálevky a promyta 10 × 20  $\text{cm}^3$  DEE:HEX (1:1). Organické podíly byly spojeny a promyty NaCl, vysušeny nad  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . Rozpouštědlo odpařeno na RVO. Byl získán nažloutlý olej, který byl poté přečištěn sloupcovou chromatografií v mobilní fázi  $\text{CHCl}_3$ :MeOH 1:3. Byl tak získán 2-(1-adamantyl)-1-[(3-aminomethyl)fenyl]ethan-1-on (**1d**) ve výtěžku **80 %**.

**EI-MS:** 41(14); 53(6); 55(10); 67(10); 76(6); 77(37); 79(32); 81(7); 89(7); 91(16); 92(6); 93(15); 104(11); 105(14); 106(25); 107(9); 118(19); 119(6); 134(100); 135(31); 253(11); 266(53); 267(11) m/z (%).

### 6.3.6 Acetylace 2-(1-adamantyl)-1-[(3-aminomethyl)fenyl]ethan-1-onu



K 415,7 mg (1,467 mmol) 2-(1-adamantyl)-1-[(3-aminomethyl)fenyl]ethan-1-onu **1d** bylo přidáno 4,157 cm<sup>3</sup> pyridinu a 0,4157 cm<sup>3</sup> acetanhydridu. Dále postup stejný jako u **2.2.3.2.** Odpařením rozpouštědla na RVO byla získána bílá krystalická látka. Výtěžek byl **74 %**.

**Bod tání :** 115–120 °C

**EI-MS:** 43(18), 55(5), 67(11), 73(5), 77(23), 79(33), 81(8), 89(8), 90(7), 91(18), 43(18), 92(6), 93(22), 104(3), 105(18), 105(35), 107(17), 118(26), 119(11), 134(13), 135(100), 136(11), 148(20), 149(9), 172(7), 176(73), 177(8), 190(10), 253(93), 254(19), 266(65), 267(14), 325(5) m/z (%).

**<sup>1</sup>H NMR (DMSO/D<sub>2</sub>O):** δ = 1,66 (m, 12H, CH<sub>2</sub>(Ad)); 1,94 (s, 3H, CH<sub>3</sub>); 2,04 (s, 3H); 2,70 (s, 2H); 4,47 (d, 2H, CH<sub>2</sub>NH); 6,16 (s, 1H); 7,41 (m, 2H, Ph); 7,82 (d, 2H, Ph) ppm.

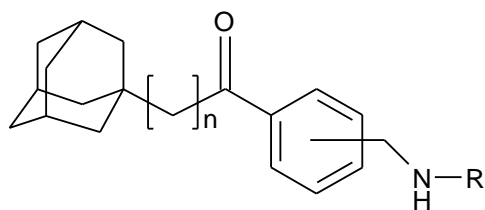
**<sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>):** δ = 23,4 (CH); 28,9n (CH<sub>3</sub>); 34,2 (C); 37,0 (CH<sub>2</sub>); 43,4 (CH<sub>2</sub>); 43,6 (C); 51,5 (C); 127,6 (CH); 129,0 (CH); 132,3 (CH); 139,2 (C); 170,4 (C); 200,3 (C) ppm.

**IR (KBr):** 3251 (s); 3077 (s); 2990 (w); 2905 (s); 2846 (s); 2674 (w); 2660 (w); 1672 (s); 1644 (s); 1600 (m); 1553 (s); 1437 (s); 1371 (m); 1290 (m); 1251 (m); 1026 (m); 803 (w); 760 (m); 582 (w); 515 (m) cm<sup>-1</sup>.

**RTG:** viz příloha P1

## 7 TERMODYNAMIKA INTERAKCÍ

Pro měření termodynamiky interakcí (acetylovaných) aminů s  $\beta$ -CD byly do vialek připravovány roztoky ligandů o objemu 2 cm<sup>3</sup>. Jako rozpouštědlo byla využívána směs DMSO:H<sub>2</sub>O v poměru 3:1 (v:v). Dále byl připraven roztok cyklodextrinu, který byl rozpuštěn v téže směsi rozpouštědel. Roztok  $\beta$ -CD byl připravován do odměrné baňky o objemu 25 cm<sup>3</sup>. Jeden experiment byl tvořen dvěma titracemi a jedním zředováním.



**Tab. I:** Připravené amino deriváty

	n	poloha na benzenovém kruhu	R
<b>1a</b>	0	<i>m</i>	H
<b>1b</b>	1	<i>p</i>	H
<b>1c</b>	0	<i>p</i>	H
<b>1d</b>	1	<i>m</i>	H

**Tab. II:** Připravené *N*-acetylované deriváty

	n	poloha na benzenovém kruhu	R
<b>2a</b>	0	<i>m</i>	COCH <sub>3</sub>
<b>2b</b>	1	<i>p</i>	COCH <sub>3</sub>
<b>2c</b>	0	<i>p</i>	COCH <sub>3</sub>
<b>2d</b>	1	<i>m</i>	COCH <sub>3</sub>

**Tab. III:** Výchozí koncentrace látek

	koncentrace $\beta$ -CD [mM]	koncentrace ligandu [mM]
<b>1b</b>	0,3183	3,3892
<b>2a</b>	0,9536	7,05283
<b>2b</b>	0,9536	10,5687
<b>2c</b>	0,9611	10,4841
<b>2d</b>	0,9387	9,4827

## 8 VÝSLEDKY A DISKUZE

Látky obsahující ve své struktuře 1-adamantyl(benzyl)aminy se využívají ve výrobě léčiv. Vzhledem k vysoké lipofilitě adamantanu může docházet k rychlejšímu pronikání léčivých látek skrze biomembrány, rozpustnost ve vodě může být významně zvýšena právě vytvořením komplexu s  $\beta$ -CD. Zkoumání komplexů amino derivátů s cyklodextriny pomáhá předpovědět chování syntetizovaných léčivých látek obsahujících tento skelet při komplexaci s  $\beta$ -CD. V případě potřeby pak lze vzniklé problémy řešit již na této elementární úrovni a ušetřit tak čas, námahu a v neposlední řadě finanční prostředky, které by byly spojené s přípravou těchto léčivých látek. Další výhodou těchto pokusů je, že dokážeme přesněji lokalizovat možný zdroj problémů, víme-li, že interakce amino derivátů s  $\beta$ -CD je bezproblémová.

### 8.1 Příprava látek

#### 8.1.1 *N*-acetyl-2-(1-adamantyl)-1-[(4-aminomethyl)fenyl]ethan-1-on

Acetylace aminu **1b** byla prováděna reakcí s acetanhydridem a pyridinem, kde pyridin slouží k navázání uvolňující se kyseliny octové. Reakce byla prováděna za přítomnosti sušidla  $\text{CaCl}_2$ , aby nedocházelo k jímání vody do reakční směsi. Po skončení reakce byla směs vlita na led, acetylovaný amin byl z vodného roztoku extrahován směsí DEE:HEX. Organický podíl byl poté vždy promytý  $\text{NaHCO}_3$  (zneutralizování přebytečných kyselin), 5% HCl (zbavení se přebytečného pyridinu), destilovanou vodou s malým množstvím DEE (odstranění zbývajících, dosud neodstraněných kyselin) a roztokem NaCl (odstranění zbytku vody, který mohl v organickém podílu zůstat po extrakci). Sušením nad  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  byly odstraněny poslední zbytky vody. Výtěžek činil jen 43%. Patrně došlo k velkým ztrátám při extrakcích, neboť bylo použito malé množství výchozí látky. Určité množství požadované látky patrně nevykristalizovalo a přešlo do matečného louhu.

#### 8.1.2 *N*-acetyl-(1-adamantyl)-[(4-aminomethyl)fenyl]methanon

Příprava aminu **1c** probíhala přidáním methanolické HCl a pentakarbonylovaného železa k příslušnému azidu. Rychlost reakce závisela na množství HCl v methanolu. V tomto případě byl použit málo koncentrovaný roztok, a proto reakce probíhala poměrně dosti dlouhou dobu. V průběhu reakce bylo nutné kontrolovat kyselost směsi. pH směsi bylo

určováno pH papírky. Při zjištění nedostatečné kyselosti byla ke směsi přidána koncentrovaná HCl. Po ukončení reakce bylo pH směsi převedeno do alkalické oblasti a tento roztok byl pečlivě promytý DEE:HEX 1:1 a získaný organický podíl byl promytý koncentrovaným roztokem NaCl. Výtěžek činil 70 %.

Acetylace aminu **1c** byla prováděna shodným postupem jako v bodě **3.1.1.1.** Rozdílem bylo, že amin **1c** byl z reakční směsi extrahován nikoliv směsí DEE:HEX, ale pouze DEE, ke kterému bylo při posledním promytí DEE přidáno malé množství HEX. Při přidání většího množství HEX docházelo ke srážení. Získaný surový amid **2c** bylo nutné přechistit na sloupcové chromatografii. Výtěžek činil jen 40% patrně proto, že již množství výchozí látky bylo nízké a ztráty způsobené při manipulaci s roztoky byly tudíž relativně vysoké. Produkt byl také čištěn sloupcovou chromatografií, výtěžek je tedy nižší i z důvodu odstranění směsí produkt-nečistota, které by byly obtížně dělitelné.

### 8.1.3 *N*-acetyl-2-(1-adamantyl)-1-[(3-aminomethyl)fenyl]ethan-1-on

Pro přípravu *N*-acetyl-2-(1-adamantyl)-1-[(3-aminomethyl)fenyl]ethan-1-onu **2d** bylo nutné připravit Grignardovo činidlo. Toto činidlo bylo pak využito pro přípravu 2-(1-adamantyl)-1-[(3-methyl)fenyl]ethan-1-onu. Reakční směs obsahující tuto látku byla extrahována DEE. Tento etherický podíl byl následně promyt K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (zbavení kyselin) a NH<sub>4</sub>Cl (odstranění měďnatých iontů). Reakce probíhala pod argonovou atmosférou. Výtěžek činil 92 %.

Produkt této přípravy byl přečištěn na sloupcové chromatografii. Přečištěný produkt byl použit k radikálové bromaci pomocí *N*-bromsukcinimidu. Vznik radikálů byl iniciován katalyzátorem dibenzoylperoxidem, zahřátím a osvětlením wolframovou lampou. CaCl<sub>2</sub> zabránil přístupu vzdušné vlhkosti do reakční směsi. Když po delším čase a přidání katalyzátoru nedocházelo k zreagování veškeré výchozí látky, bylo nutné přidat další *N*-bromsukcinimid.

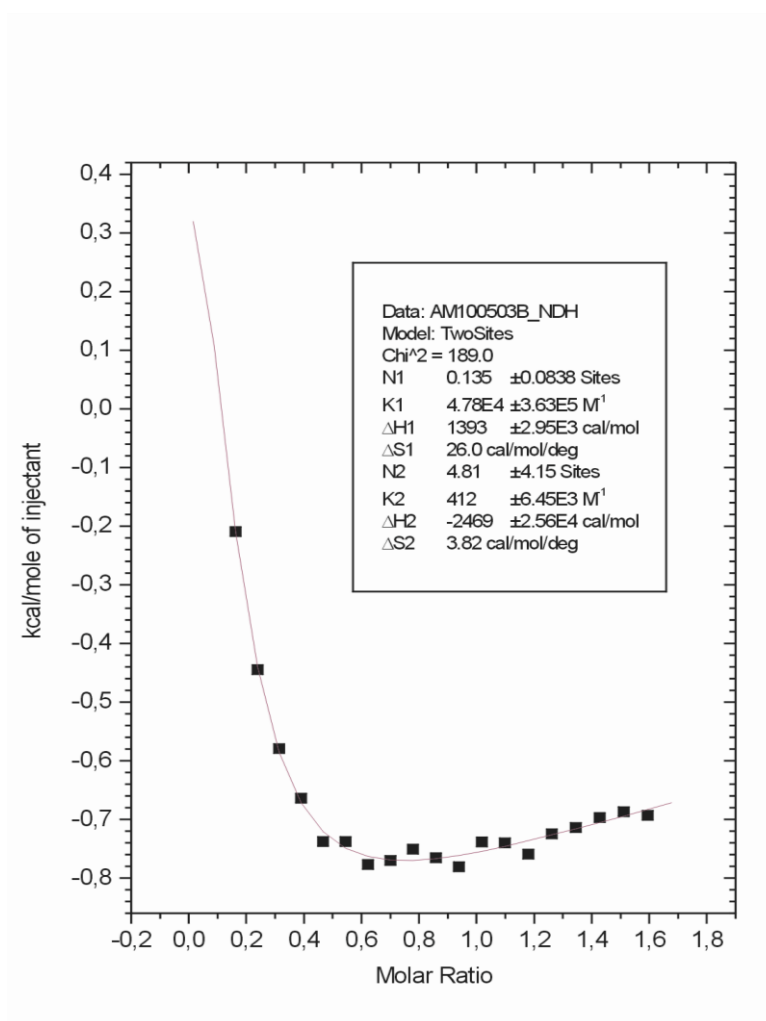
Příprava azidu byla provedena využitím NaN<sub>3</sub> a acetonu jako rozpouštědla. Reakce probíhala pod argonovou atmosférou. Po ukončení reakce a zpracování reakční směsi bylo nutné surový produkt přechistit na sloupcové chromatografii. Výtěžek byl 55 %, tedy nižší než u předchozích reakcí. K větším ztrátám došlo nejspíše při čištění sloupcovou chromatografií.

Příprava aminu **1d** probíhala obdobně jako u předchozího aminu **1c** přidáním methanolické HCl a pentakarbonylovaného železa k příslušnému azidu. Pro tuhle reakci však byl připraven nový koncentrovanější roztok HCl v MeOH, reakce tudíž proběhla několikanásobně rychleji. Zpracování reakční směsi dále probíhalo stejným způsobem. Surový amin **1d** musel být přečištěn pomocí sloupcové chromatografie.

Acetylace aminu **1d** probíhala shodně s acylací aminu **1c**.

## 8.2 Termodynamika interakcí

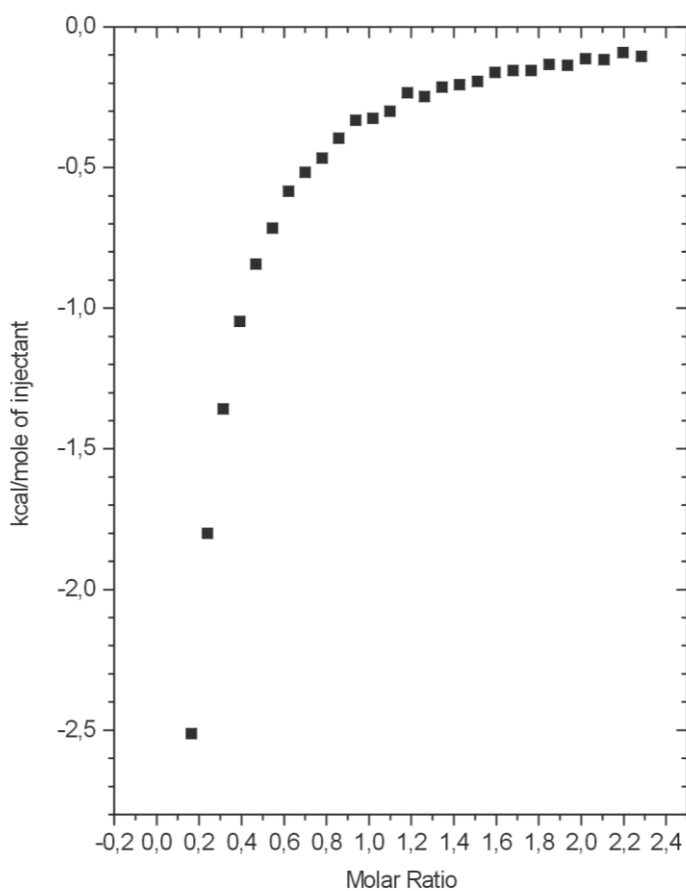
Při měření termodynamiky samotných aminů s  $\beta$ -CD byla opakovaně naměřená dodatečná tepla. Při odečítání zředovacích tepel od titračních pokusů byly získány křivky, které nešlo upravit na model komplexů 1:1, ale ani model 2:1 neposkytuje po proložení příslušné křivky experimentálními daty smysluplné hodnoty termodynamických parametrů (**Obr. 6**).



**Obr. 6:** Termodynamika aminu **1b**



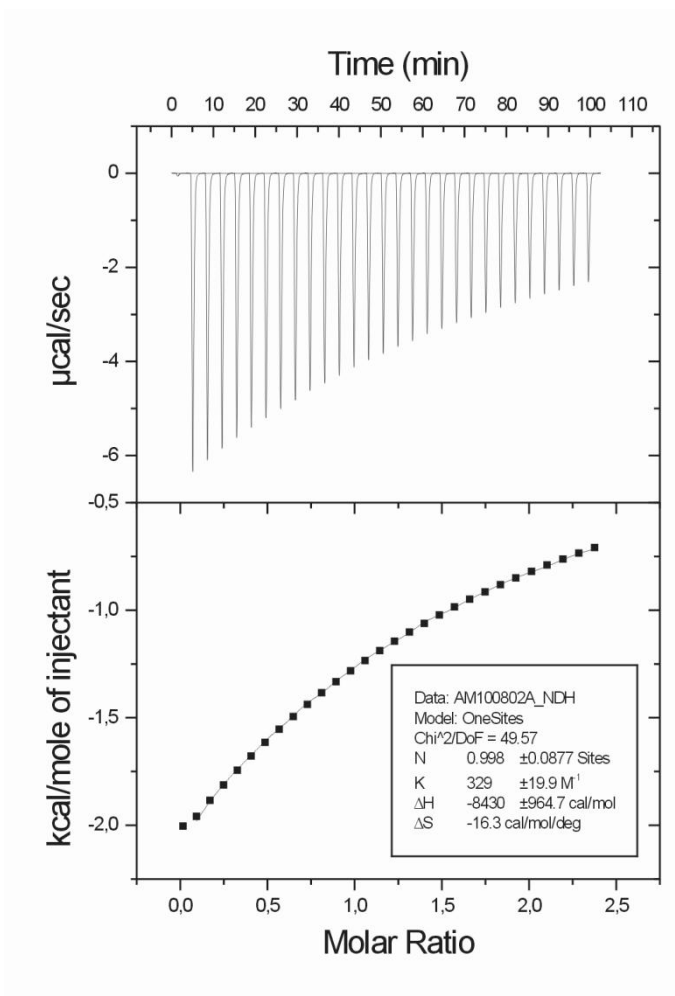
Je tedy možné předpokládat, že v roztoku ligandu vznikají vyšší asociáty. Kvůli potlačení tvorby těchto asociátů byly sníženy výchozí koncentrace. Bohužel při snížení koncentrací jsou experimenty značně zkresleny šumem a zatíženy velkou chybou, tudíž nereprodukovatelné. **Obr. 7** představuje zředovací experiment samotného aminu, z čehož usuzují právě vznik těchto vyšších asociátů, neboť získaná data nejdou proložit křivkou pro jednoduchý disociační model.



**Obr. 7:** Zředovací experiment aminu **1b**

Vysoká reaktivita podobných amino-derivátů byla již dříve řešena acetylací této volné amino skupiny. Při naměření termodynamiky *N*-acetylovaných aminů s  $\beta$ -CD byly získány výsledky, které zhruba odpovídaly předpokladům.

Rozhodla jsem se tedy takto řešit i můj problém s vysokou reaktivitou připravených amino-derivátů. Pro naměření „nejlepších“ termodynamických výsledků jsem musela správně zvolit hodnotu výchozích koncentrací. Lepších výsledků jsem dosáhla při zvyšování koncentrací (**Obr. 8**). Takto zvyšovat koncentrace však nelze donekonečna, protože při zvyšování množství ligandu nedojde k rozpuštění veškeré látky.



**Obr. 8:** Termodynamika *N*-acetylovaného aminu **2b**

Veškeré experimenty byly prováděny ve směsi DMSO-H<sub>2</sub>O v poměru 3:1. Tato směs se jevila jako nejvhodnější stanovení požadovaných termodynamických parametrů, protože umožňovala připravení měřitelných koncentrací ligandů. Při použití samotného DMSO dojde k rapidnímu snížení asociační konstanty (viz NMR titrace) a velmi malá uvolňovaná tepla neumožňují racionální analýzu kalorimetrických experimentálních dat. Výsledky

stanovování termodynamických parametrů látek **2a–2d** jsou shrnuty v **Tab. IV**. Protože i za neoptimálnějších podmínek byla naměřená data zatížena relativně silným šumem a protože asociační konstanty jsou relativně nízké nedocházelo při prokládání modelových křivek experimentálními daty ke konvergenci iterace ke smysluplné hodnotě parametru  $n$  (stechiometrie komplexu). Proto byl tento parametr pro iterace nastaven jako neproměnný  $n=1$ . Tento postup byl později ospravedlněn stanovením stochiometrie komplexů pomocí NMR Job's plotu. Cílem dalšího zkoumání bude zvyšování rozpustnosti v tomto či jiných rozpouštědlech.

### 8.3 NMR titrace

NMR spektroskopie je nedestruktivní metoda strukturní analýzy. Spolu s infračervenou spektroskopií a hmotnostní spektrometrií jsou základními metodami pro identifikaci látek.

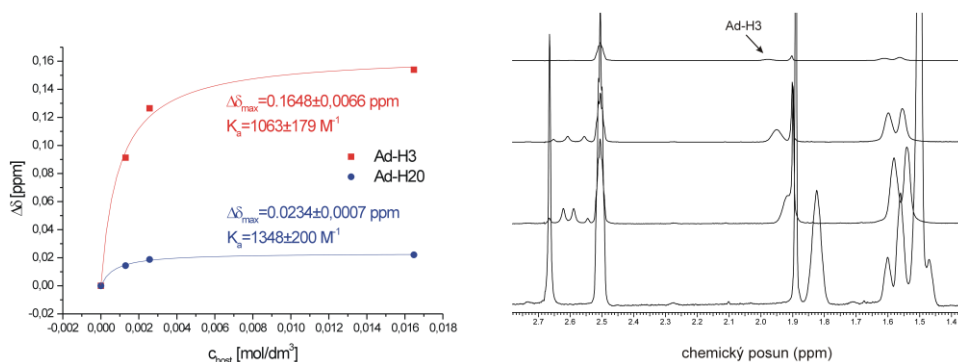
Při NMR titraci dochází k posunu signálů sledovaných jader (v našem případě protonů), který bývá označován jako CIS – complexation induced shift (alternativně značený  $\Delta\delta$ ). Chemický posun je ovlivňován řadou faktorů (elektronegativita substituentů, magnetická anizotropie, sterické efekty, teplota, koncentrace, rozpouštědlo atd.). Nejvýznamnější z nich je elektronegativita substituentů. Platí, že s rostoucí elektronegativitou sousedního atomů nebo skupiny roste hodnota chemického posunu  $\delta$ . Protože chemické posun ovlivňují i atomy, které se nacházejí (nebo alespoň nějakou dobu setrvávají) v geometrické blízkosti studovaného jádra bez nutnosti být vázán ve stejné molekule, je tato metoda vhodná pro studium inkluzních nekovalentních komplexů.

Přestože velikost CIS nesouvisí přímo s polohou měřeného jádra v kavitě, největší posuny jsme zaznamenali u vodíků na adamantanovém skeletu. Titrace byly prováděny tak, že k roztoku ligandu v NMR kyvetě byly přidávány alikvotní podíly roztoku cyklodextrinu. Závislost takto získaných CIS vybraných protonů ligandu na koncentraci cyklodextrinu byla zpracována v programu ORIGIN. Experimentální body byly proloženy vhodným matematickým modelem a proložení bylo optimalizováno standardní metodou nejmenších čtverců. Pro vztah mezi pozorovaným parametrem CIS a koncentrací látky, která CIS způsobuje lze odvodit vztah

$$CIS = CIS_{\max} \cdot \frac{K \cdot c_{CD}}{1 + K \cdot c_{CD}}$$

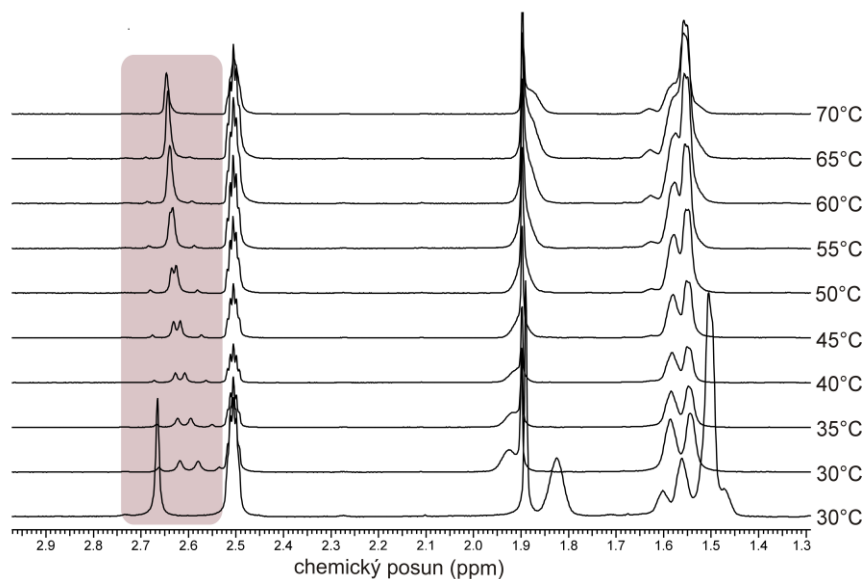
který je rovnicí pravoúhlé hyperboly s parametry  $K$  a  $CIS_{max}$ . Nelineární regresí lze pak tyto parametry zjistit.

Příklad výsledků a zpracování takové NMR titrace, kdy k roztoku hosta **2b** byl v NMR kytetě postupně přidáván roztok  $\beta$ -CD ve směsi DMSO- $d_6$ :D<sub>2</sub>O (3:1, v:v) je znázorněn na **Obr. 9**. Pravá část **Obr. 9** představuje části čtyř <sup>1</sup>H NMR spekter naměřených pro roztoky látky **2b** se vrůstající koncentrací  $\beta$ -CD. Dobře je patrný posun signálu Ad-H3 směrem k vyšším hodnotám ppm. V levé části **Obr. 9** je pak graf závislosti CIS na  $c_{CD}$  s proloženými křivkami a příslušnými parametry pro dva sledované protony – Ad-H3 a Ad-H20 (Ph-CH<sub>2</sub>-NH). Při titraci látky **2b**  $\beta$ -cyklodextrinem (**Obr. 9**, vpravo) docházelo k rozštěpení signálu původně enantiotopních vodíků v poloze 11 (Ad-CH<sub>2</sub>-CO-Ph). Při titraci volného aminu **1b**  $\beta$ -cyklodextrinem v čistém DMSO jsme tento proces nepozorovali. Jednoznačné vysvětlení tohoto jevu je obtížné, ale zřejmě se jedná o projev rigidní a konzervativní podoby komplexu.



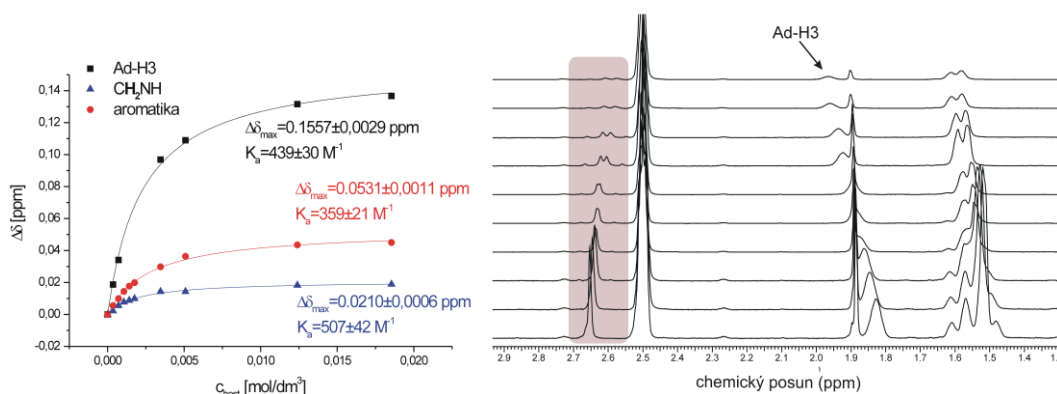
**Obr. 9:** Titrace látky **2b** s  $\beta$ -cyklodextrinem

S cílem objasnit povahu jevu, který způsobil rozštěpení signálu H11 byly provedeny další NMR experimenty. Směs látky **2b** s  $\beta$ -cyklodextrinem (1:1, mol) v DMSO- $d_6$ :D<sub>2</sub>O (3:1, v:v) byla měřena za různých teplot. Při zvyšování teploty můžeme pozorovat jednak posun signálů směrem k původním hodnotám pro nekomplexovaný amid (důsledek klesající hodnoty  $K$  a tím zmenšení obsahu komplexu ve směsi), a také sblížování chemických posunů diastereotopního AB systému s koalescencí přibližně při 60 °C (**Obr. 10**).



**Obr. 10:** Teplotní závislost podoby  $^1\text{H}$  NMR spektra směsi **2b** a  $\beta$ -CD (1:1, mol) ve směsi DMSO- $d_6$ : D $_2$ O (3:1, v:v)

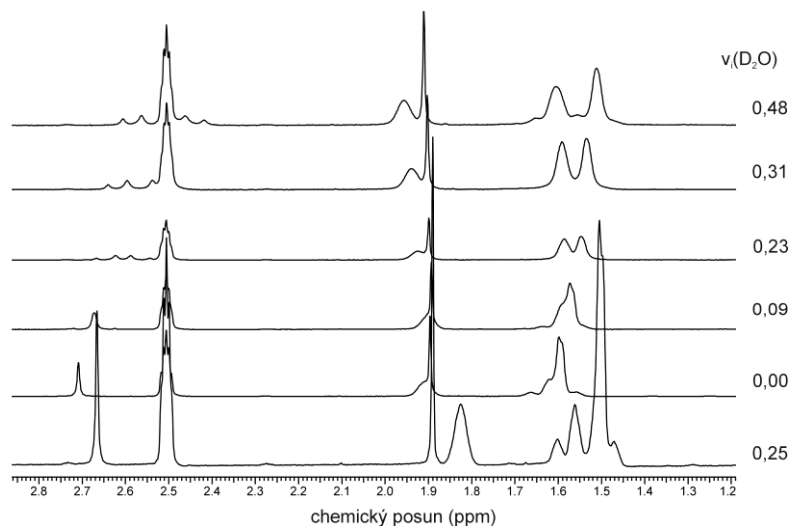
Během zvyšování teploty se chemické posuny signálů adamantanových protonů posunují k původním hodnotám pro nekomplexovaný ligand, ale ani při 70°C jich zcela nedosáhnou. Není zřejmé, zda tento zbytkový posun je dán pouze vyšší teplotou nebo zda I za vysoké teploty dochází k měřitelné asociaci hosta a hostitele. Proto byl proveden titrační experiment při 60°C jehož průběh a výsledek je na **Obr. 11**. Při titraci látky **2b** při teplotě 60 °C můžeme pozorovat zvyšující se množství komplexu (posun signálu Ad-H3 doleva), taktéž je možné sledovat opětovné rozštěpení signálu vodíků v poloze H1. Není překvapivé, že zjištěná  $K$  při 60°C je podstatně nižší než při 30°C, nicméně lze konstatovat, že I při vysoké teplotě je v roztoku nezanedbatelná koncentrace komplexu. Znovuobjevené štěpení H11 signálu je pravděpodobně důsledek zvyšující se koncentrace komplexu v roztoku.



**Obr. 11:** Titrace látky **2b**  $\beta$ -cyklodextrinem při 60 °C

V posledním NMR experimentu byl sledován vliv složení rozpouštědla na tvar signálu protonů H11. Při postupných přidávcích deuterované vody k roztoku aminu **2b** s  $\beta$ -CD v DMSO je opět možné pozorovat rozštěpení původního A<sub>2</sub> systému na diastereotopní AB systém. (**Obr. 12**, spodní spektrum představuje samotný amid **2b** v uvedené směsi rozpouštědel, v ostatních spektrech je podíl amidu **2b** a  $\beta$ -CD 1:1, mol). Opět je pravděpodobné, že rozštěpení signálu souvisí s rostoucí K se zvyšujícím se obsahem polární složky rozpouštědla.

Obdobné rozštěpení odpovídajícího signálu bylo pozorováno i pro samotný amin **1b** pokud byla titrace prováděna ve směsném rozpouštědle DMSO-*d*<sub>6</sub>:D<sub>2</sub>O (3:1, v:v) a dále (i když v podstatně menší míře) i pro amid **2d**. Jev, který rozštěpení způsobuje se tak zřejmě netýká pouze látky **2b**, ale je obecný pro strukturní motiv Ad-CH<sub>2</sub>-CO-Ph komplexovaný  $\beta$ -CD. Chemická neekvivalence CH<sub>2</sub> skupiny může být způsobena anizotropním vlivem sousední karbonylové skupiny při současném „zmražení“ nesymetrické konformace molekuly hosta v důsledku kompletae.



**Obr. 12:** Závislost směsi **2b** a  $\beta$ -CD na složení rozpouštědla DMSO- $d_6$ :D<sub>2</sub>O při postupných přidavcích D<sub>2</sub>O

NMR titrací byly stanoveny asociační konstanty, které se od konstant, naměřených kalorimetricky, liší. Konstanty naměřené NMR titrací jsou vyšší než kalorimetricky stanovené. Nesoulad mezi hodnotami získanými pomocí isotermické kalorimetrické titrace a NMR titrace nepřesahující jeden řád je však akceptovatelný vzhledem ke zcela odlišnému principu obou měření.

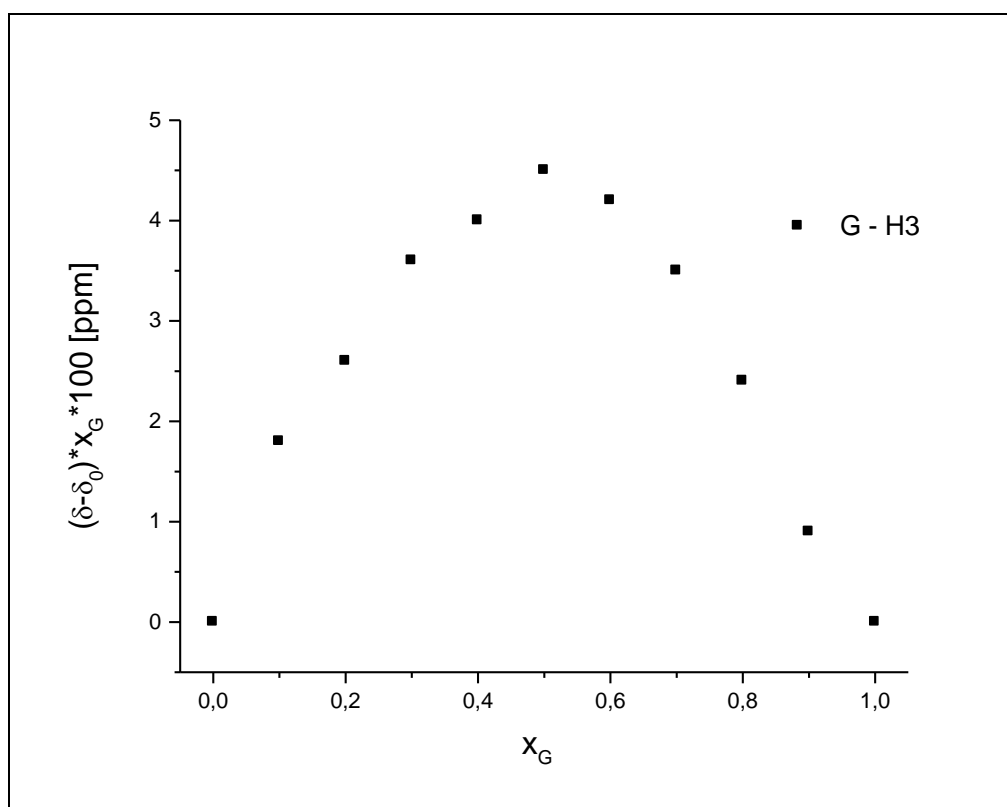
**Tab. IV:** Naměřené asociační konstanty NMR titrací a isotermální kalorimetrickou titrací

	K (NMR) [M <sup>-1</sup> ] <sup>a</sup>	K (ITC) [M <sup>-1</sup> ] <sup>a</sup>	$-\Delta H$ [kJ·mol <sup>-1</sup> ]	$-\Delta S$ [J·mol <sup>-1</sup> ·K]	n [1]
<b>1b</b>	1142 ± 128	-	-	-	-
<b>2a</b>	538 ± 70	128 ± 4	6283 ± 141	11	1.00
<b>2b</b>	1206 ± 107	329 ± 3	8416 ± 51	16	1.00
<b>2b<sup>b</sup></b>	435 ± 74	-	-	-	-
<b>2c</b>	767 ± 75	258 ± 9	6714 ± 158	11	1.00
<b>2d</b>	1721 ± 34	219 ± 5	7394 ± 105	14	1.00

<sup>a</sup> měřeno při 30 °C; <sup>b</sup> měřeno při 60 °C

Při NMR titraci látek  $\alpha$ -cyklodextrinem nebyly ve spektru patrné píky, které by odpovídaly komplexovaným strukturám. Předpokládám tedy, že komplexy *N*-acetylovaných aminů se s  $\alpha$ -CD netvoří, nebo pouze s velmi malou hodnotou *K*.

Při vyhodnocování ITC dat jsem vycházela z faktu, že mezi  $\beta$ -CD a acetylovaným aminem nastává komplexace 1:1. Tato hypotéza byla ověřena pomocí NMR metody Job's plot pro amid **2b**.



Obr. 13: Job's plot pro amid **2b**

Po proložení bodů Gaussovou křivkou jsem zjistila, že se jedná o stecheometrii 1:1, neboť maximum na ose *x* je v bodě 0,49. Což znamená, že při této koncentraci reaktantů dochází k vytvoření maximálního množství komplexů, neboť nenastává nedostatek jedné či druhé ze složek komplexu.



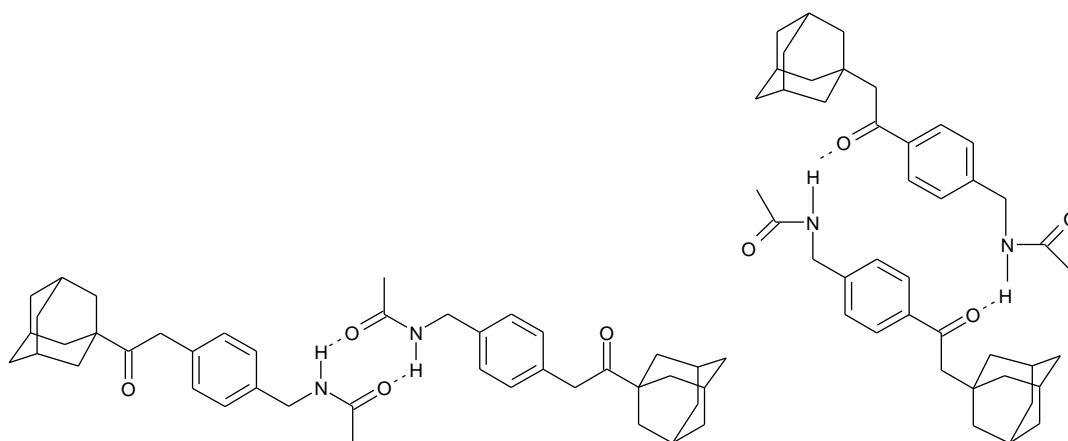
## 8.4 ESI – MS

Tab. V: Naměřené hodnoty m/z metodou ESI-MS

Amid	Nekomplexovaný amid		Dimer		Nekomplexovaný amid + Na		β-CD + amid	
	vypočtené hodnoty	naměřené hodnoty	vypočtené hodnoty	naměřené hodnoty	vypočtené hodnoty	naměřené hodnoty	vypočtené hodnoty	naměřené hodnoty
<b>2b</b>	325,2	326,3	650,4	651,5	348,2	348,3	1460,6	1460,7
<b>2c</b>	311,2	312,2	622,4	623,5	334,2	334,2	1446,6	1446,8
<b>2d</b>	325,2	326,3	650,4	651,5	348,2	348,2	1460,6	1460,7

Schopnost tvořit komplexy s β-CD všech nově připravených amidů byla studována pomocí ESI-MS spektroskopie. Tato technika umožňuje ionizaci velkých molekul, aniž by je štěpila, což znamená, že tyto molekuly mohou být analyzovány neporušené. Pro látku se ve spektru objevují série píků. Ve všech případech byla potvrzena existence komplexů, neboť byly zaznamenány odpovídající [amid+CD+H]<sup>+</sup> signály (**Tab. V**).

Ze záznamů spekter je zřejmé, že všechny studované *N*-acetylované aminy vytváří dimery, které je možno racionalizovat dvojím způsobem, jak je uvedeno na **Obr. 14**.

Obr. 14: Možná podoba dimerů pro látku **2b**

## ZÁVĚR

Připravila jsem všechny tři požadované 1-adamantylbenzylaminy. Měření termodynamiky komplexace těchto amino derivátů však nepřinášelo správné výsledky pravděpodobně v důsledku vysoké reaktivity jejich volné amino skupiny. Tento problém jsem vyřešila *N*-acetylací. Termodynamická měření takto upravených látek přinesla uspokojivé výsledky, bylo však nutné optimalizovat výchozí koncentrace látek. Asociační konstanty se pro všechny čtyři studované *N*-acetylované 1-adamantylbenzylaminy podařilo určit také pomocí NMR titrací. Stechiometrie komplexů 1:1 byla prokázána pomocí Job's plotu. Tvorba asociátů studovaných amidů s  $\beta$ -CD v poměru 1:1 byla potvrzena i pomocí ESI-MS.

Z hodnot asociačních konstant vyplývá, že delší amidy se strukturálním motivem Ad-CH<sub>2</sub>-CO-Ph jsou v kavitě cyklodextrinu vázány pevněji, než amidy krátké Ad-CO-Ph. Z termodynamických parametrů je pak zřejmé, že všechny studované komplexy jsou řízené entalpicky.

Během NMR titrací látek **1b**, **2b** a **2d** ve směsném rozpouštědle DMSO-*d*<sub>6</sub>:D<sub>2</sub>O (3:1, v:v) bylo pozorováno rozštěpení signálu původně enantiotopních vodíků mezi adamantanovým substituentem a karbonylovou skupinou na AB systém. Tento jev je přisuzován komplexací stabilizované nesymetrické konformaci hosta.

**SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY**

- 1 Solomon, S., Fryhle, K., Organic chemistry, 2003, New York, ISBN 0-471-41799-8, p.175-176, John Wiley & Sons, 6.vydání
- 2 Červinka, O., Chemie organických sloučenin, 1985, Praha, ISBN 04-609-80, s.459, SNTL – Nakladatelství technické literatury, 1.vydání
- 3 Vícha, R., Potáček, M., Kde roste adamantan. *Chemické listy*, 2004, 98, 68 – 74
- 4 Červinka, O., Dědek, V., Ferles, M., Organická chemie, 1970, Praha, ISBN 04-608-70, str.207-208, 461, SNTL – Nakladatelství technické literatury, 1.vydání
- 5 Šůmová, M., Stanislav Landa [online] [cit.2010-05-11]. Dostupný z [www: www.jergym.hiedu.cz/~canovm/objevite/objev5/lan.htm](http://www.jergym.hiedu.cz/~canovm/objevite/objev5/lan.htm)
- 6 Staničová, J., Miškovský, P., Šutiak, V., Amantadine: an antiviral and antiparkinsonian agent, *Jornal of Medical Virology*, 2001, 6, 244-256
- 7 Harrison, K. Rimantadine [online] [cit.2010-05-11]. Dostupný z [www: www.3dchem.com/molecules.asp?ID=235](http://www.3dchem.com/molecules.asp?ID=235)
- 8 Barr, I., McCauley, J., Cox, N., Daniels, R., A Focus on Pentacycloundecane Derivatives, *Medicinal Research Reviews*, 2003, 25, 21-48
- 9 Harrison, K., Rimantadine [online] [cit.2010-05-11]. Dostupný z [www: www.3dchem.com/molecules.asp?ID=235](http://www.3dchem.com/molecules.asp?ID=235)
- 10 Rekharsky, M. V., Inoue, Y., Microcalorimetry, Cyclodextrins and their complexes, edited by Helena Dodziuk, 2006, WILEY-VCH Verlag GmbH&Co.KGAA, ISBN:3-527-31280-3
- 11 Schneider, H.-J., Yatsimirsky, A., Principles and methods in supramolecular chemistry, 2000, nakladatelství WILEY, The United States, 349 p., p.186-190, ISBN 0-471-97253-3
- 12 Considine, G.-D., Van Nostrand's Encyclopedia of chemistry, Wiley, 5.vydání, str.274-5, ISBN 0-471-61525-0, New Jersey
- 13 Isothermal titration calorimetry, Saskatchewan Structural Sciences Centre, cit. [2010-09-11] dostupné z: [http://www.usask.ca/sssc/inst\\_itc.php](http://www.usask.ca/sssc/inst_itc.php)

- 14 Schmidtchen, F.-P., Isothermal titration calorimetry in supramolecular chemistry, Analytical methods in supramolecular chemistry, edited by Schalley,Ch., 2007, nakladatelství WILEY, ISBN 978-3-527-31505-5, p.55-76
- 15 Dodziuk,H.,Molecules with Holes-Cyclodextrines, Cyclodextrins and their complexes, edited by Helena Dodziuk, 2006, WILEY-VCH Verlag GmbH&Co.KgaA, ISBN:3-527-31280-3
- 16 Hattori, K., Ikeda, H.,Modification Reactions of Cyclodextrins and the Chemistry of Modified Cyclodextrins, Cyclodextrins and their complexes, edited by Helena Dodziuk, 2006, WILEY-VCH Verlag GmbH&Co.KgaA, ISBN:3-527-31280-3
- 17 Harata, K., Crystallographic Study of CDs and Their Inclusion Complexes, Cyclodextrins and their complexes, edited by Helena Dodziuk, 2006, WILEY-VCH Verlag GmbH&Co.KgaA, ISBN:3-527-31280-3
- 18 Milata,V., Segla,P., Spektrálne metódy v chémii, 2004, Bratislava, Slovenská technická univerzita, ISBN 80-227-2049-6, str.143-293, 1.vydání
- 19 Exner, O., Struktura a fyzikální vlastnosti organických sloučenin, 1985, Praha, ISBN 04-604-85, str. 157-168, SNTL – Nakladatelství technické literatury, 1.vydání
- 20 Kováč, Š., Ilavský, D., Leško, J., Metódy kontroly technologických procesov  
Spektrálne metódy v organickej chémii a technológii, 1987, Bratislava, ISBN 063-555-87, str.207-252, Alfa – vydavateľstvo technickej a ekonomickej literatury, 1.vydání
- 21 Hirose, K., Determination of binding constants, Analytical methods in supramolecular chemistry, edited by Schalley,Ch., 2007, nakladatelství WILEY, ISBN 978-3-527-31505-5, p. 17 - 46

**SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK**

CIS	kompletační indukovaný posun – complexation induced shift
CD	cyklodextrin
DEE	diethylether
DMSO	dimethylsulfoxid
EA	ethylacetát
HEX	hexan
ITC	isotermální titrační mikrokolorimetrie
MeOH	methanol
NMR	nukleární magnetická rezonance
PE	petrolether
RVO	rotační vakuová odparka
TLC	tenkovrstevná chromatografie
THF	tetrahydrofuran

## SEZNAM OBRÁZKŮ

<b>Obr. 1:</b> Adamantan.....	12
<b>Obr. 2:</b> Deriváty adamantanu.....	13
<b>Obr. 3:</b> Tvar titrační křivky pro komplexační model 1:1 při nízké hodnotě $K$ .....	15
<b>Obr. 4:</b> Tvar titrační křivky pro komplexační model 1:1 při nízké i vysoké hodnotě $K$ ....	16
<b>Obr. 5:</b> Struktura cyklodextrinu .....	18
<b>Obr. 6:</b> Termodynamika aminu <b>1b</b> .....	41
<b>Obr. 7:</b> Zředovací experiment aminu <b>1b</b> .....	42
<b>Obr. 8:</b> Termodynamika <i>N</i> -acetylovaného aminu <b>2b</b> .....	43
<b>Obr. 9:</b> Titrace látky <b>2b</b> s $\beta$ -cyklodextrinem.....	45
<b>Obr. 10:</b> Teplotní závislost podoby $^1\text{H}$ NMR spektra směsi <b>2b</b> a $\beta$ -CD (1:1, mol) ve směsi $\text{DMSO-}d_6$ : $\text{D}_2\text{O}$ (3:1, v:v).....	46
<b>Obr. 11:</b> Titrace látky <b>2b</b> $\beta$ -cyklodextrinem při 60 °C.....	47
<b>Obr. 12:</b> Závislost směsi <b>2b</b> a $\beta$ -CD na složení rozpouštědla $\text{DMSO-}d_6$ : $\text{D}_2\text{O}$ při postupných přidávcích $\text{D}_2\text{O}$ .....	48
<b>Obr. 13:</b> Job's plot pro amid <b>2b</b> .....	49
<b>Obr. 14:</b> Možná podoba dimerů pro látku <b>2b</b> .....	50

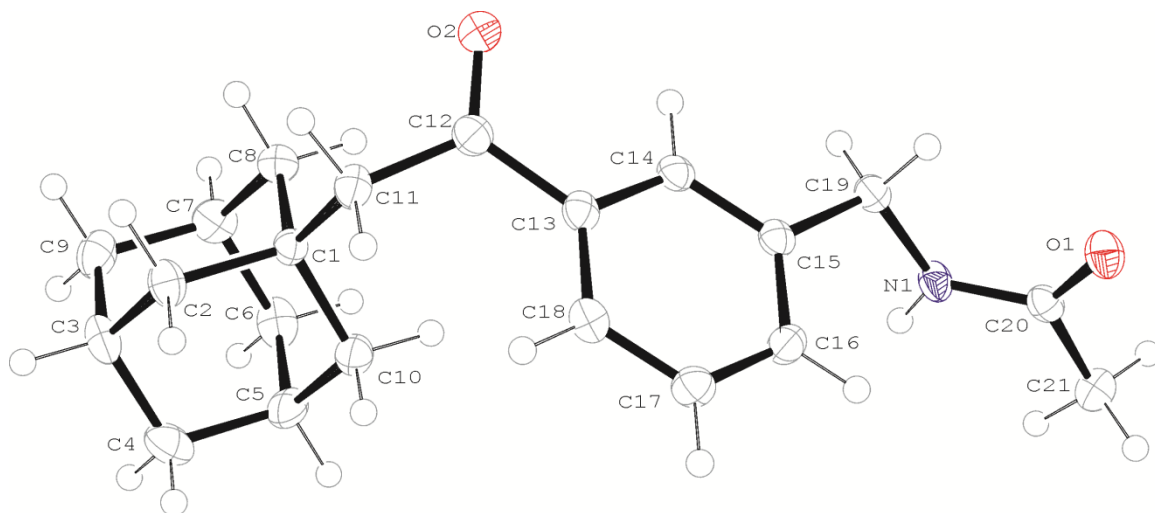
**SEZNAM TABULEK**

<b>Tab. I:</b> Připravené amino deriváty .....	38
<b>Tab. II:</b> Připravené <i>N</i> -acetylované deriváty .....	38
<b>Tab. III:</b> Výchozí koncentrace látek .....	38
<b>Tab. IV:</b> Naměřené asociační konstanty NMR titrací a isothermální kalorimetrickou titrací.....	48
<b>Tab. V:</b> Naměřené hodnoty <i>m/z</i> metodou ESI-MS .....	50

**SEZNAM PŘÍLOH**

<b>Příloha P1:</b> Molekulární struktura látky <b>2d</b> .....	58
<b>Příloha P2:</b> NMR titrace látek <b>2a</b> , <b>2c</b> a <b>2d</b> .....	59,60

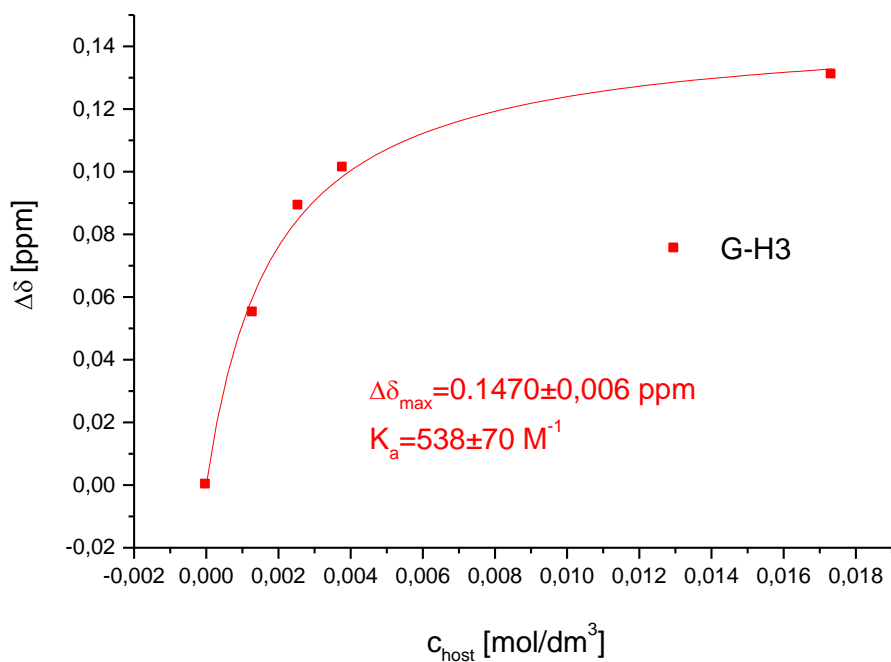


PŘÍLOHA P I: MOLEKULÁRNÍ STRUKTURA LÁTKY **2d**

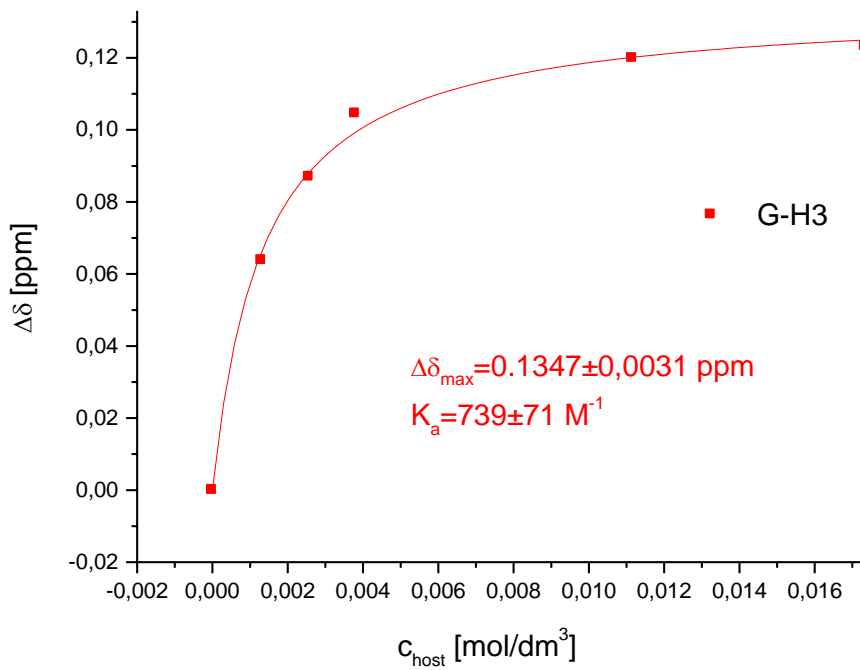
Obrázek znázorňuje jednu ze dvou molekul v asymetrické jednotce látky **2d**, druhá molekula je konformačním enantiomerem s velmi podobnými absolutními hodnotami geometrických parametrů.

Sumární vzorec	$C_{21}H_{27}NO_2$
$M_r$	325,455
Soustava	monoklinická
Prostorová grupa	$P2_1/n$
$a[\text{Å}]$	$1,2874 \pm 0,0004$
$b[\text{Å}]$	$9,6192 \pm 0,0003$
$c[\text{Å}]$	$27,5824 \pm 0,001$
$\alpha[^\circ]$	90,00
$\beta[^\circ]$	$96,653 \pm 0,003$
$\gamma[^\circ]$	90,00
Z	8
T[K]	$120 \pm 2$
R	0,0525

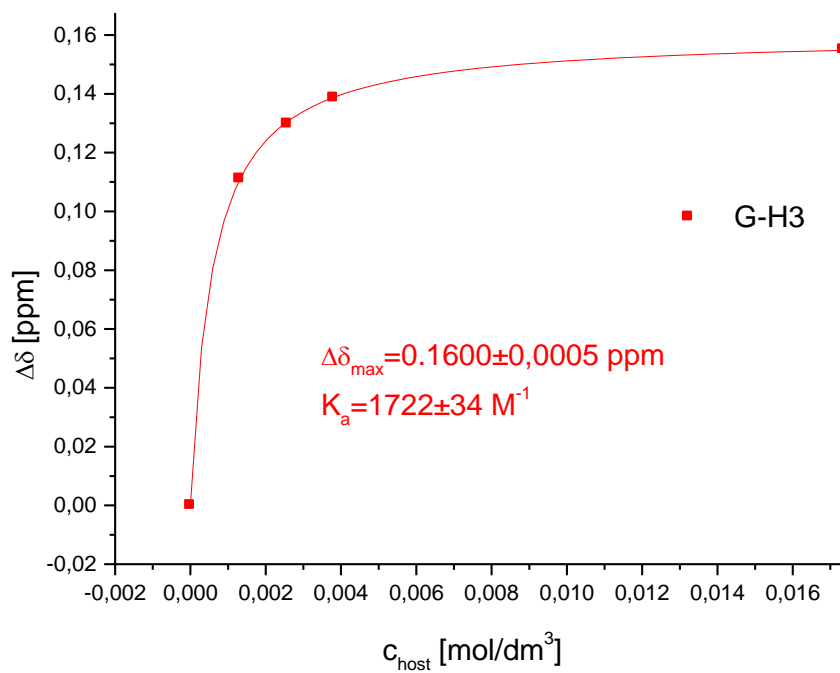
## PŘÍLOHA P 2: NMR TITRACE LÁTEK 2a, 2c A 2d



### Příloha P2 - a: Titrace látky 2a



### Příloha P2 - b: Titrace látky 2c



**Příloha P2 - c:** Titrace látky **2d**