

Studium tvorby supramolekulárních komplexů vybraných derivátů na bázi adamantanu s cyklodextriny a cucurbit[n]urily v plynné fázi

Šimon Janků

Bakalářská práce
2025



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav chemie

Akademický rok: 2024/2025

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení:	Šimon Janků
Osobní číslo:	T21170
Studijní program:	B0721A210002 Technologie a hodnocení potravin
Specializace:	Chemie a analýza potravin
Forma studia:	Prezenční
Téma práce:	Studium tvorby supramolekulárních komplexů vybraných derivátů na bázi adamantanu s cyklodextriny a cucurbit[n]urily v plynné fázi

Zásady pro vypracování

I. Teoretická část

- Stručná charakteristika adamantanu.
- Stručná charakteristika supramolekulární chemie.
- Zpracování literární rešerše o využití hmotnostní spektrometrie v supramolekulární chemii.

II. Praktická část

- Provést ESI-MS analýzy vybraných derivátů na bázi adamantanu.
- Připravit a uskutečnit sérii experimentů s cílem popsat možnosti tvorby supramolekulárních komplexů vybraných derivátů s cyklodextriny a cucurbit[n]urily pomocí ESI-MS.
- Získané výsledky zpracovat, vyhodnotit a provést jejich interpretaci.

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

Seznam doporučené literatury:

1. CASAS-HINESTORZA, J. L., BUENO, M., IBÁÑEZ, E., CIFUENTES, A. Recent advances in mass spectrometry studies of non-covalent complexes of macrocycles – A review. *Analytica Chimica Acta* **2019**, *1081*, 32–50.
2. KALENIUS, E., GROESSL, M., RISSANEN, K. Ion mobility-mass spectrometry of supramolecular complexes and assemblies. *Nature Reviews Chemistry* **2019**, *3*, 4–14.
3. SCHALLEY, C. *Analytical Methods in Supramolecular Chemistry*. 2007, WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim. ISBN 978-3-527-31505-5.
4. S využitím databází SciFinder a Scopus.

Vedoucí bakalářské práce: **doc. Ing. Michal Rouchal, Ph.D.**
Ústav chemie

Datum zadání bakalářské práce: **2. ledna 2025**
Termín odevzdání bakalářské práce: **16. května 2025**

L.S.

prof. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan

doc. Ing. Michal Rouchal, Ph.D.
ředitel ústavu

Ve Zlíně dne 20. února 2025

PROHLÁŠENÍ AUTORA BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

Beru na vědomí, že

- odevzdáním bakalářské práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1998 Sb., v platném znění bez ohledu na výsledek obhajoby;
- bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému a bude dostupná k nahlédnutí;
- jedno vyhotovení bakalářské práce v listinné podobě bude ponecháno Univerzitě Tomáše Bati ve Zlíně k uložení;
- na moji 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;
- podle § 60 odst. 1 autorského zákona má Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- podle § 60 odst. 2 a 3 mohu užít své dílo – 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);
- pokud bylo k vypracování bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tj. k nekomerčnímu využití), nelze výsledky bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- pokud je výstupem 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.

Prohlašuji, že

- jsem na bakalářské práci pracoval(a) samostatně a použitou literaturu jsem řádně citoval(a); v případě publikace výsledků budu uveden(a) jako spoluautor;
- odevzdaná verze bakalářské práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou obsahově totožné.

Ve Zlíně, dne

.....
podpis autora

ABSTRAKT

Náplní této bakalářské práce bylo studium tvorby supramolekulárních komplexů typu hostitel–host vybraných disubstituovaných pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidinů obsahujících adamantanový skelet s nativními cyklodextriny a cucurbit[7]urilem v plynné fázi. Analýza tvorby supramolekulárních komplexů byla provedena pomocí hmotnostního spektrometru s iontovou pastí vybaveného elektrosprejovou ionizací.

Klíčová slova: adamantan, cyklodextrin, cucurbit[7]uril, supramolekulární chemie, komplex hostitel–host, hmotnostní spektrometrie

ABSTRACT

The main goal of this bachelor thesis is the study of the formation of supramolecular host–guest complexes in the gas phase. Analysed guest molecules were chosen from series of disubstituted pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidines bearing adamantane moiety. Macrocycles functioning as hosts in this thesis were native cyclodextrins and cucurbit[7]uril, respectively. Analysis was performed using mass spectrometer with ion trap equipped with an electrospray ionization source.

Keywords: adamantane, cyclodextrin, cucurbit[7]uril, supramolecular chemistry, host–guest complex, mass spectrometry

Tímto bych rád poděkoval vedoucímu mé bakalářské práce doc. Ing. Michalu Rouchalovi, Ph.D. za velmi cenné rady, pozitivní přístup a především za čas, který mi věnoval při tvorbě této práce.

Dále bych rád poděkoval rodině a přátelům za jejich podporu a trpělivost.

OBSAH

ÚVOD.....	11
I TEORETICKÁ ČÁST	12
1 ADAMANTAN	13
1.1 HISTORIE ADAMANTANU	13
1.1.1 První syntéza	13
1.1.2 Syntéza metodou přesmyku	14
1.2 VÝSKYT ADAMANTANU.....	15
1.3 VLASTNOSTI ADAMANTANU	16
1.3.1 Fyzikální vlastnosti	16
1.3.2 Chemické vlastnosti	16
1.4 VYUŽITÍ ADAMANTANU.....	18
2 SUPRAMOLEKULÁRNÍ CHEMIE	20
2.1 NEKOVALENTNÍ INTERAKCE.....	20
2.1.1 Ion–iontová interakce	21
2.1.2 Ion–dipólová interakce	21
2.1.3 Dipól–dipólová interakce	22
2.1.4 Vodíkové vazby	22
2.1.5 π – π interakce	24
2.1.6 Van der Waalsovy síly	25
2.2 CHEMIE TYPU HOSTITEL–HOST	26
2.3 CYKLODEXTRINY	27
2.4 CUCURBIT[N]URILY.....	29
3 HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIE.....	31
3.1 HISTORIE.....	31
3.2 IONTOVÉ ZDROJE	32
3.2.1 Elektronová ionizace	33
3.2.2 Měkké ionizační techniky	33
3.2.3 Ionizace elektrosprejem	34
3.3 HMOTNOSTNÍ ANALYZÁTOR.....	35
3.3.1 Iontová past	35
3.4 DETEKTOR.....	36
3.5 VYUŽITÍ HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIE	36
3.6 APLIKACE HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIE V SUPRAMOLEKULÁRNÍ CHEMII.....	37
II PRAKTICKÁ ČÁST	41
4 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	42
4.1 VYBAVENÍ A PŘÍSTROJE.....	42

4.2	CHARAKTERISTIKA ANALYZOVANÝCH LIGANDŮ	42
4.3	ANALÝZA SAMOTNÝCH LIGANDŮ	44
4.3.1	Parametry ESI–MS analýzy	44
4.3.2	Parametry CID.....	44
4.4	ANALÝZA SUPRAMOLEKULÁRNÍCH KOMPLEXŮ	45
4.4.1	Parametry ESI–MS analýz supramolekulárních komplexů.....	46
5	VÝSLEDKY A DISKUZE	47
5.1	ESI–MS ANALÝZA SAMOTNÝCH LIGANDŮ	47
5.2	STUDIUM KOMPLEXACE LIGANDŮ S POUŽITÝMI MAKROCYKLY	50
5.2.1	Supramolekulární komplexy L1 a L2 s α -cyklodextrinem.....	50
5.2.2	Supramolekulární komplexy L3 a L4 s α -cyklodextrinem.....	52
5.2.3	Supramolekulární komplexy L1 a L2 s β -cyklodextrinem.....	52
5.2.4	Supramolekulární komplexy L3 a L4 s β -cyklodextrinem.....	54
5.2.5	Supramolekulární komplexy L1 a L2 s γ -cyklodextrinem	55
5.2.6	Supramolekulární komplexy L3 a L4 s γ -cyklodextrinem	56
5.2.7	Supramolekulární komplexy L1 a L2 s cucurbit[7]urilem	57
5.2.8	Supramolekulární komplexy L3 a L4 s cucurbit[7]urilem	58
5.3	SHRNUTÍ VÝSLEDKŮ ANALÝZY	60
	ZÁVĚR.....	61
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	61
	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK	68

ÚVOD

Pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidiny byly v minulosti identifikovány jako možné inhibitory vybraných proteinkinas a jako látky s antiproliferačními účinky vůči vybraným typům nádorových buněčných linií. V rámci výzkumné skupiny doc. Víchy působící na ústavu chemie FT UTB byla připravena série pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidinů, které v pozici 4 obsahují aromatický amin s adamantanovým skeletem. Biologická aktivita těchto látek byla testována vůči vybraným proteinkinásám a nádorovým buněčným liniím, kdy byly testovány nejen samotné sloučeniny, ale také jejich ekvimolární směsi s β -cyklodextrinem. Proteinkinasy hrají významnou roli při buněčném dělení všech eukaryotických buněk a inhibice specifických proteinkinas může vést k zastavení buněčného dělení vybraných nádorových buněčných linií. Tato práce tak tematicky navazuje na tento výzkum a jejím cílem je popsat chování těchto látek s vybranými makrocykly v plynné fázi.

Adamantanový skelet, kterým tyto látky disponují často bývá, díky své vysoké lipofilitě, kombinován se známými farmakofory při přípravě bioaktivních látek za účelem zlepšení jejich farmakologického profilu. Další zlepšení by mohla přinést také schopnost adamantanového skeletu tvořit nekovalentně vázané supramolekulární inkluzní komplexy s některými makrocyclickými sloučeninami. Jedná se o látky disponující kavitou, do které dokážou pomocí nekovalentních interakcí vázat jiné molekuly (tzv. hosty). V kontextu supramolekulární hostitel–host chemie se tyto látky nazývají „hostitelé“. Mezi tyto látky patří také sloučeniny z rodiny cyklodextrinů a cucurbit[*n*]urilů. Na téma formace supramolekulárních komplexů typu hostitel–host byla publikována celá řada vědeckých článků a představují tak v současné době významnou oblast zájmu výzkumných týmů z celého světa. Vliv komplexace adamantanem substituovaných derivátů na bázi purinu s β -cyklodextrinem již byl studován, přičemž bylo zjištěno, že vznik komplexů vede ke zlepšení rozpustnosti purinových derivátů ve vodném prostředí bez zásadního negativního ovlivnění jejich biologické aktivity, stability či biologické dostupnosti.

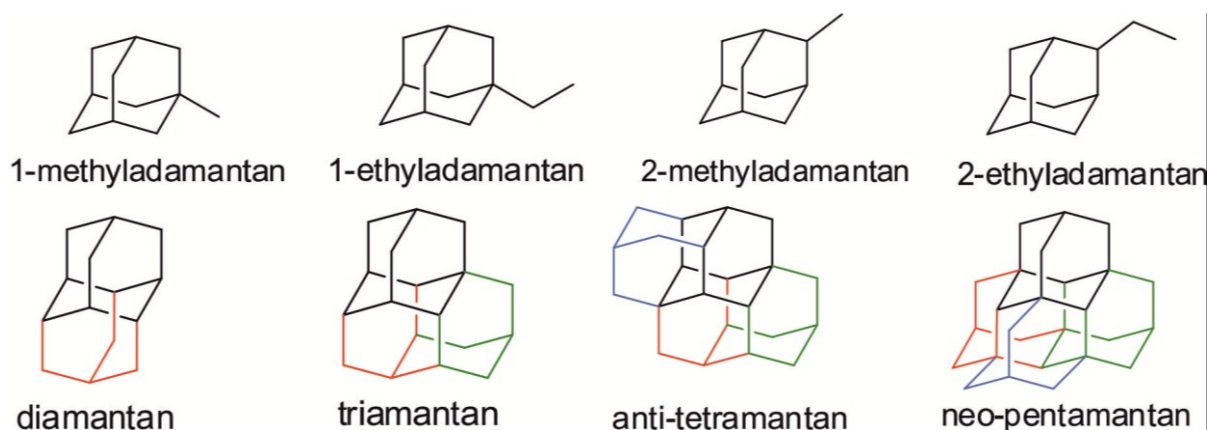
Experimentální část této bakalářské práce se zabývá studiem vzniku komplexů vybraných makrocyklů s deriváty na bázi pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidinu v plynné fázi. K tomu bylo využito hmotnostního spektrometru s iontovou pastí vybaveného elektrosprejovou ionizací.

I TEORETICKÁ ČÁST

1 ADAMANTAN

1.1 Historie adamantanu

Struktura adamantanu byla poprvé hypotetizována H. Deckerem a nazvána „dekaterpen“. Adamantan byl poprvé izolován Stanislavem Landou v roce 1932 ze vzorku hodonínské ropy procesem frakční destilace. Chlazení parních destilátů ropy vedlo ke kondenzaci pevné látky, která byla díky své vysoké teplotě identifikována jako adamantan. Efektivnější separace bylo později dosaženo extrakční krystalizací s thiomocovinou. [1] V ropě byly následně objeveny další sloučeniny obsahující adamantanový skelet, například monosubstituované alkylderiváty adamantanu jako 1-methyladamantan, 1-ethyladamantan, 2-methyladamantan a 2-ethyladamantan nebo polysubstituované jako 1,3,5,7-tetramethyladamantan. Současně byly v ropě nalezeny vyšší homology adamantanu jako diamantan, triamantan, *anti*-tetramantan a *neo*-pentamantan. (**Obrázek 1**). [2]

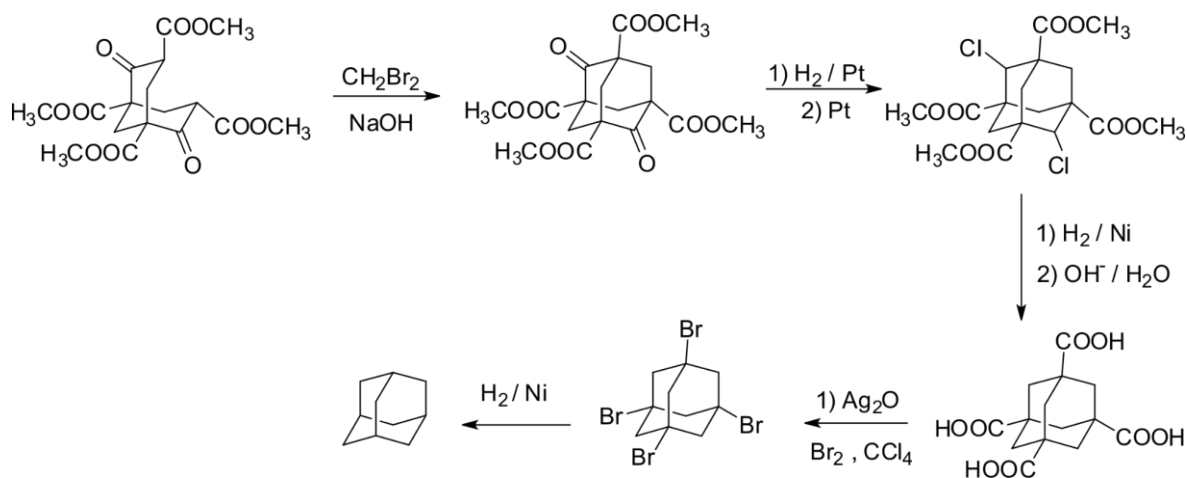


Obrázek 1. Příklady polycyklických uhlovodíků v nalezených v ropě.

1.1.1 První syntéza

Přestože izolace z ropy byla úspěšná, koncentrace adamantanu se pohybovala v rozmezí 0,02–0,03 % což znamenalo, že k získání 200 g adamantanu bylo třeba zpracovat až 66 kg ropy. Tento fakt tedy vedl ke snaze o vyvinutí efektivních metod syntézy. První pokus o syntézu adamantanu proběhl ještě před jeho první izolací, a to v roce 1922. O ni se pokusil Meerwein, kde výchozí látkou byl produkt reakce formaldehydu s diethyl-malonátem, který byl nazván Meerweinův ester. Tento pokus však dopadá neúspěšně a první úspěšná syntéza probíhá až v roce 1937. Autorem první syntézy adamantanu se stává Böttger, který reakcí Meerweinova esteru s dibrommethanem v alkalickém prostředí získal substituovaný adamantan (**Obrázek 2**). V roce 1941 Prelog a Seiwertsh syntetizovali nesubstituovaný

adamantan z adamantan-1,3-dikarboxylové kyseliny. Výtěžek izolovaného adamantanu činil pouze 0,3 %. Nejvyššího výtěžku bylo dosaženo metodou znázorněnou na Obrázku 2. Reakce Meerweinova esteru s dibrommethanem poskytuje derivát adamantanu, který po hydrogenaci a následném působení chloridu fosforečného poskytuje odpovídající dichlorderivát. Ten po reakci s vodíkem a alkalické hydrolyze vede ke vzniku 1,3,5,7-tetrakarboxylé kyseliny. Následuje reakce s oxidem stříbrným a bromem za vzniku tetrabromadamantanu. Posledním krokem je reakce tetrabromadamantanu s vodíkem, která vede ke vzniku adamantanu s výtěžkem 7 %. [1][2]



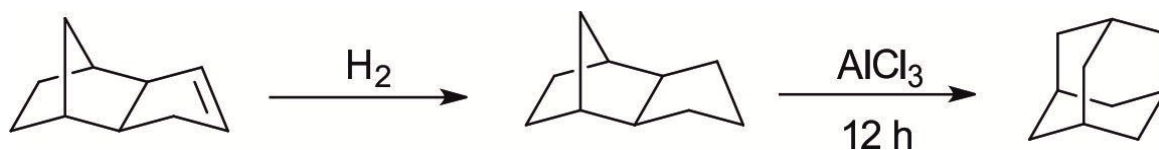
Obrázek 2. Schéma syntézy adamantanu.

1.1.2 Syntéza metodou přesmyku

Jelikož výtěžky klasických metod syntézy nebyly nijak uspokojivé, začali vědci hledat jiné způsoby přípravy adamantanu. Adamantan je látka jejíž struktura disponuje nejnižší termodynamickou energií ze všech izomerů o sumárním vzorci C_{10}H_6 . Tato vlastnost vedla k hypotéze, že by adamantan mohl být syntetizován pomocí metody katalytického přesmyku, kde by vhodný prekurzor postupně zaujímal konfiguraci o nejnižší energii, tedy adamantanu. [2]

První úspěšná syntéza adamantanu metodou přesmyku byla provedena v roce 1957 hydrogenací dicyklopentadienu za vzniku tetrahydrodicyklopentadienu, který pod refluxem v přítomnosti chloridu hlinitého izomeroval na adamantan. [1] Výtěžek této reakce se povedlo zvýšit dvěma modifikacemi. Tou první byla výměna AlCl_3 za HF-BF_3 , kde došlo k zvýšení výtěžku z původních 20 % na 30 % a druhou bylo použití směsi AlCl_3 a HCl za vysokého tlaku, kde výtěžek dosahoval 40 %. Objevitelem této reakce byl Paul von Ragué Schleyer, který prozkoumal další možné prekurzory jako cholesterol, cedren nebo skvalen,

avšak žádný neposkytoval nesubstituovaný adamantan, ale převážně ethyl- a methyl-deriváty. [1]



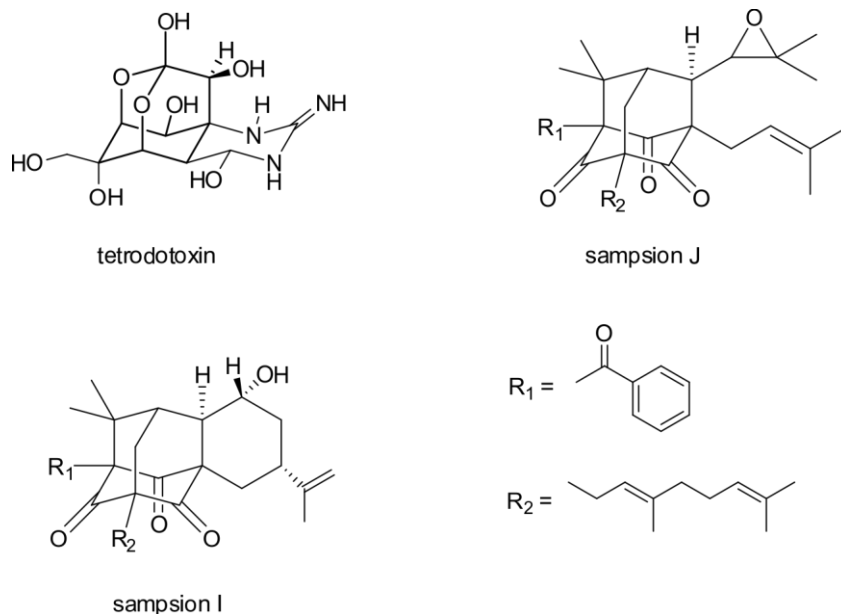
Obrázek 3. Schéma Schleyerovy syntézy adamantanu.

Syntéza adamantanu využívající pouze chlorid hlinitý je díky své jednoduchosti nejvyužívanější komerční metodou přípravy. Tuto metodu využívala i česká firma Pliva – Lachema a.s.. Použití $AlCl_3$ vede k vzniku značného množství nežádoucího odpadu, a tak se kvůli rostoucím nárokům na ochranu životního prostředí hledají nové metody. Jako vhodné se jeví využití zeolitických katalyzátorů, které jsou recyklovatelné, a tak jsou efektivnější jak z hlediska ekologického, tak ekonomického. [2]

1.2 Výskyt adamantanu

Sloučeniny s adamantanovým skeletem se v přírodě vyskytují v již zmíněné ropě a v krystalické mřížce diamantu. Příkladů sloučenin na bázi adamantanu vyskytujících se v biologických soustavách není mnoho ale existují. Jednou z nejznámějších látek obsahující „adamantanový“ skelet, resp. dioxoadamantan, je tetrodotoxin (**Obrázek 4**). Jedná se o silný neurotoxin, vyskytující se v tělech ryb rodu *Fugu*, který byl poprvé izolován z vaječníků ryby *Spheroides rubripes*. Avšak schopností produkovat tetrodotoxin disponují i někteří obojživelníci a korýši. [3]

V rostlinách lze adamantan najít například v listech zástupců rodu *Guttiferae*, které obsahují sampsonion I a sampsonion J. (**Obrázek 4**) [1]



Obrázek 4. Příklady sloučenin na bázi adamantanu vyskytující se v přírodě.

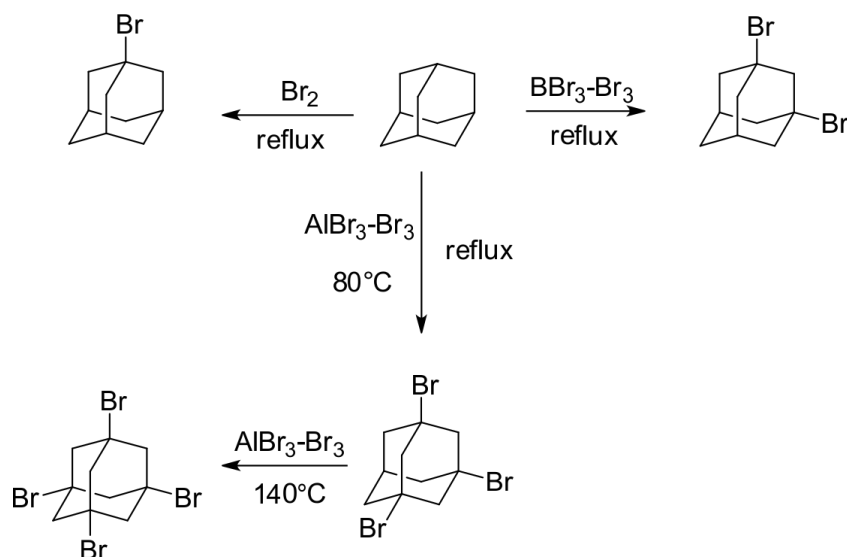
1.3 Vlastnosti adamantanu

1.3.1 Fyzikální vlastnosti

Adamantan tvoří bezbarvé krystaly kafrové vůně. Geometrické uspořádání atomů uhlíku této molekule dává unikátní fyzikální a chemické vlastnosti. Všechny délky vazeb jsou $1,54 \pm 0,01$ Å a C–C–C vazebné úhly jsou $109,5 \pm 1,5^\circ$. Molekula je tudíž kompletně bez úhlového a torzního pnutí. Poloměr adamantanu je 6,4 Å, vypočítaná plocha je 134 Å^2 a objem je 128 Å^3 . [4] Adamantan je dobře rozpustný v nepolárních rozpouštědlech, ale za to je špatně rozpustný v polárních rozpouštědlech a ve vodě je téměř nerozpustný. Jeho struktura má vliv na teplotu tání, která je při 269°C pro uhlovodík velmi neobvyklá. Jelikož jsou atomy v prostoru rozmístěny podobně jako u diamantu, krystalizuje adamantan podobně, a to v plošně centrované krychlové soustavě. [1]

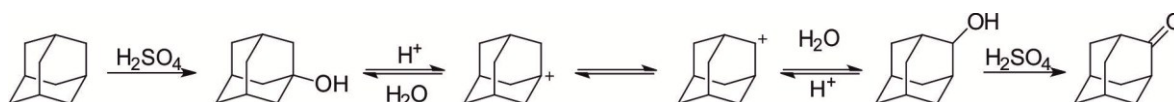
1.3.2 Chemické vlastnosti

Adamantan obsahuje pouze alifatické atomy uhlíku (CH a CH_2), je proto velmi stabilní. Jeden z nejdůležitější typů reakcí, kterým podléhá, je bromace, při které adamantan reaguje s bromačním činidlem (**Obrázek 5**). Bylo potvrzeno, že bromace je adamantanu probíhá iontově, nikoliv radikálově. Reakce je katalyzována Lewisovou kyselinou a přítomnost světla, peroxidu nebo azobisisobutyronitrilu nemá na rychlost reakce vliv. [1]



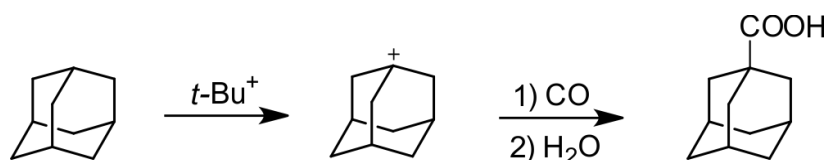
Obrázek 5. Schéma bromace adamantanu.

Reakce s kyselinou sírovou poskytuje adamantan-2-on. Reakce v prvním kroku probíhá za vzniku 1-hydroxyadamantanu, přičemž po odštěpení molekuly vody vzniká adamantylový kation, který může „migrovat“ mezi polohou C1 a C2 což vyústí v rovnováhu mezi 1-hydroxyadamantanem a 2-hydroxyadamantanem. Oxidace 2-hydroxyadamantanu poskytuje výsledný adamantan-2-on. **(Obrázek 6)** [5]



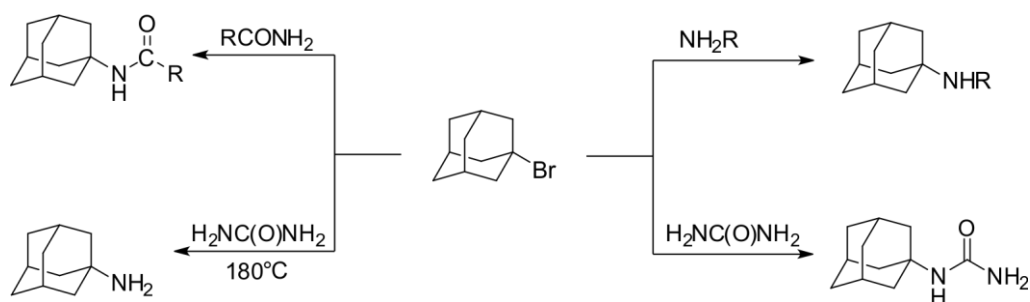
Obrázek 6. Schéma přípravy adamantan-2-onu.

Příprava adamantankarboxylových kyselin probíhá metodou Kochovy–Haafovy karboxylace, která využívá *in situ* generaci oxidu uhelnatého ze směsi HCOOH v H₂SO₄ a *tert*-butylového kationtu vznikajícího z *tert*-butanolu (**Obrázek 7**). [5]



Obrázek 7. Příprava adamantylkarboxylové kyseliny.

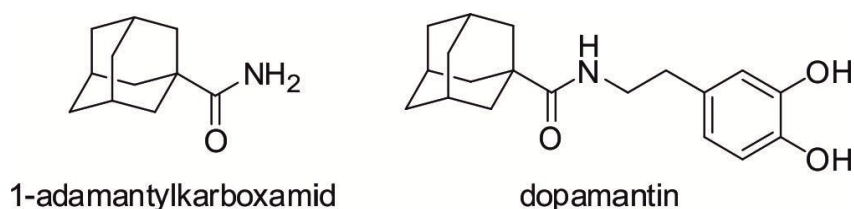
Aminoadamantan lze získat reakcí 1-bromadamantanu s močovinou při teplotě 180 °C. [1]
Další významné reakce jsou s amoniakem, amidy a nitrily. [5] (**Obrázek 8**)



Obrázek 8. Vybrané reakce 1-bromadamantanu s dusíkatými sloučeninami.

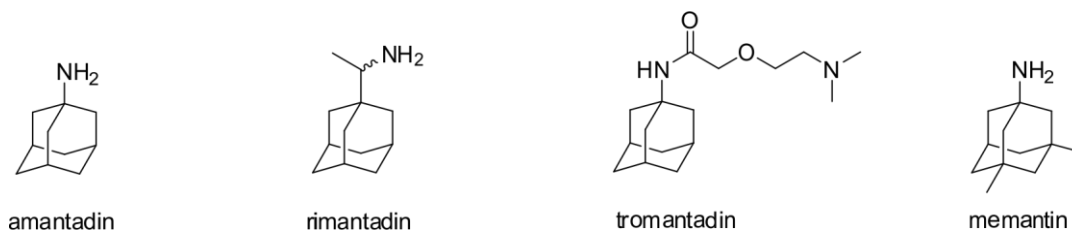
1.4 Využití adamantanu

Adamantan disponuje unikátními vlastnostmi díky, kterým našel velmi brzy po jeho objevení uplatnění v medicíně, kde se osvědčil jako ideální nástroj ke zvýšení farmakologické aktivity léčiv. Zejména svou lipofilitou a schopností zvyšovat stabilitu molekul tím, že chrání blízké funkční skupiny před metabolickými procesy, čímž dochází ke zlepšení farmakokinetického profilu daného léčiva.[7] Jelikož až 98 % kandidátů na nová léčiva neprostupuje efektivně hematoencefalickou bariérou, [4] je adamantan zakomponován do molekulární struktury potenciálního léčiva, nebo je jím nahrazena jiná lipofilní část původní molekuly. [7] Zlepšení schopnosti procházek hematoencefalickou bariérou dokazují klinické testy sedativa 1-adamantylkarboxyamidů a dopamantinu, který by mohl najít využití při léčbě Parkinsonovy choroby.[4]



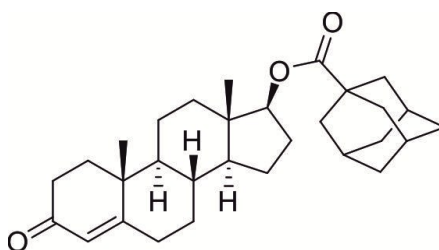
Obrázek 9. Struktura léčiv na bázi adamantanu

První látkou uvedenou do klinické praxe, která ve své struktuře obsahuje adamantanový skelet, byl amantadin (1-aminoadamantan).[8] Tato látka našla využití jako lék proti chřipkovému viru typu A. Mechanismus účinku tohoto léku spočívá v zablokování iontového kanálu M_2 a inhibici transmembránového toku protonů, čímž zabraňuje svlékání kapsidy tohoto viru a jeho následné replikaci. [9] Později bylo zjištěno, že tato látka je účinná i proti virům Rousova sarkomu. [8] Dále bylo prokázáno, že amantadin a další aminoadamantany, jako rimantidin a tromantadin jsou účinné proti širšímu spektru virových onemocnění. [4]



Obrázek 10. Příklady aminosadamantanů disponujících antivirálními účinky.

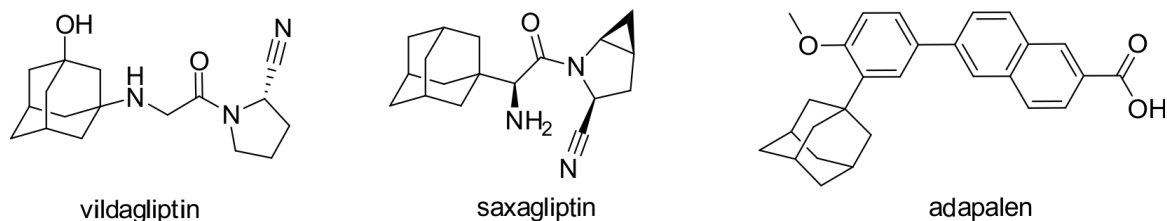
Přítomnost adamantanu v molekule ovlivňuje metabolismus léčiv, jak bylo dokázáno při *in vivo* testech 19-nortestosteron-17-adamantanoátu, kde adamantan prodloužil anabolickou aktivitu více než jiné alifatické estery. [4]



Obrázek 11. Struktura 19-nortestosteron-17-adamantanoátu.

Přítomnost adamantanového skeletu zlepšila účinnost kandidátů léčiv proti HIV, hepatitidě C, malárii, Alzheimerově chorobě nebo jako antikonvulziva. Zároveň spojením s peptidy mohou sloužit jako ligandy pro opioidní a estrogenové receptory. Adamantanem modifikované retinoidy jsou uplatňovány při vývoji látek s možnou cytostatickou aktivitou. [7]

Mezi dostupná léčiva na bázi adamantanu patří vildagliptin, inhibitor dipeptidylpeptidázy 4, čímž pomáhá proti hyperglykemii, dále saxagliptin, který disponuje stejným účinkem. Dalším dostupným léčivem je adapalen, který je využívám při léčbě akné. [4,7] Strukturní vzorce uvedených sloučenin jsou vyobrazeny na **Obrázku 12**.



Obrázek 12. Příklady komerčně dostupných léčiv obsahujících adamantalový skelet.

2 SUPRAMOLEKULÁRNÍ CHEMIE

Supramolekulární chemie je vědní disciplína, která slučuje poznatky z chemie, biologie, biochemie a fyziky, kterou definoval Jean-Marie Lehn, jeden z hlavních průkopníků supramolekulární chemie jako „chemii molekulárních soustav a mezimolekulárních vazeb“. Za svou práci získal v roce 1987 Nobelovu cenu za chemii. Mezi další uváděné definice supramolekulární chemie patří „Chemistry beyond the molecule“, což lze přeložit jako „chemie nadmolekulárních soustav“. Supramolekulární chemie je tedy obor zabývající se vývojem vysoce komplexních chemických systémů z komponent, které jsou navzájem poutány nekovalentními interakcemi. Mezi tyto interakce patří vodíkové vazby, van der Waalsovy síly, π - π interakce, iontové a dipólové interakce (ion–ion, ion–dipól, dipól–dipól). Vývoj supramolekulární chemie začal s objevem hostitel–host chemie. Tento pojem poprvé použil Donald Cram, který získal ve stejném roce jako Jean-Marie Lehn Nobelovu cenu za chemii za jeho přínos v oblasti „vývoje a využití strukturně specifických a vysoce selektivně interagujících molekul“. Pojmem „hostitel“ se rozumí molekula, která (zpravidla) disponuje kavitou, do které dokáže pomocí nekovalentních interakcí vázat jednu nebo více molekulu (tzv. „hostů“).

Hostem může být monoatomární ion, anorganický kation nebo více sofistikovaná molekula, jako je hormon, feromon nebo neurotransmiter. Hlavním předpokladem k vytvoření komplexu je prostorová kompatibilita tvaru obou molekul. Komplex hostitel–host obvykle vzniká ve stechiometrickém poměru 1:1, avšak může vznikat v poměru 2:1 či 1:2 (nebo i v jiném). [10]

2.1 Nekovalentní interakce

Nekovalentní interakce hrají důležitou roli v chemii, fyzice a převážně v biochemii. Nejjednodušším příkladem může být interakce mezi keratinovými vlákny na nohou zástupců čeledi gekonovitých s hladkým povrchem skla. Další příklady jsou méně viditelné, ale o to mnohem více důležité. Nekovalentní interakce jsou totiž zodpovědné za specifické vlastnosti vody, jako je její teplota varu a teplota tání, které se významně liší od jiných molekul se stejným počtem elektronů, jako například methan a amoniak. Nekovalentní interakce jsou současně zodpovědné za strukturu biomakromolekul, mezi které patří například DNA, RNA a proteiny. Tyto interakce zároveň hrají klíčovou roli v procesu molekulárního rozpoznávání, které patří mezi jedny z nejdůležitějších procesů v biologických systémech, jelikož je zodpovědné za vysokou přesnost vytvářených komplexů. Všechny výše

jmenované příklady vyžadují jednoduchou formaci a lehké rozpojování supramolekulárních komplexů. Například DNA musí držet pohromadě dost silně, aby dokázala udržet uloženou informaci, ale zároveň dostatečně slabě aby bylo možné ji rozvinout a umožnit tak proces její replikace. Kovalentní vazby se tvoří, když dojde k překrytí dvou orbitalů čímž dochází ke zvýšení elektronové hustoty a následuje tvorba vazby. K nejvíce efektivnímu překrytí dochází při vzdálenostech menších než 2 Å. Nekovalentní vazby existují při mnohonásobně větších vzdálenostech, jsou známy příklady, kdy je vzdálenost delší než 10 Å, což znamená, že za přitažlivost mezi molekulami jsou zodpovědné jiné síly, zejména elektrické a v menší míře magnetické. Elektrostatické interakce existují mezi náboji, dipóly, kvadrupóly a vyššími multipóly obou podsystémů. Pokud interakce probíhá mezi permanentními dipóly nazývá se síla Coulombická. Pokud je jeden z podsystémů neutrální a prostorově symetrický, probíhá interakce mezi permanentními a indukovanými multipóly a jedná se o sílu indukční, která je slabší. Nejslabší interakce vznikají vzájemným působením dvou nepolárních a geometricky symetrických systémů, které se nazývají Londonovy disperzní síly. Ačkoliv je disperzní energie nejnižší, bylo zjištěno, že je značná v aromatických systémech s delokalizovanými elektrony a je porovnatelná s jinými, například s vodíkovými vazbami. Stabilizace nekovalentních komplexů je způsobená výhodnější energetickou hladinou, to znamená, že energie komplexu musí být nižší, než je součet energie obou složek komplexu *in vacuo* ($\Delta E < 0$). Situace se značně mění ve vodném prostředí, kde vazby mohou vznikat nejen díky výhodnější energii, ale i díky výhodnější entropii což vede k tomu, že energie může být i nevýhodná ($\Delta E > 0$). Tento děj se nazývá hydrofobní interakce. [10,11]

2.1.1 Ion–iontová interakce

Iontové vazby jsou takové vazby, kde jeden atom přichází o elektron a druhý elektron získává. Tím vzniká kladně nabitý kation a záporně nabitý anion. Částice s opačným nábojem se navzájem přitahují. Za tuto přitažlivost jsou zodpovědné elektrostatické síly, které lze popsat Coulombovým zákonem. [12] Síla iontových vazeb je srovnatelná s vazbou kovalentní a pohybuje se mezi 100–350 kJ mol⁻¹. [10]

2.1.2 Ion–dipólová interakce

Ion – dipólové interakce jsou interakce mezi permanentně nabitou částicí a polární molekulou. Síla těchto vazeb se pohybuje mezi 50 až 200 kJ mol⁻¹ [10] a závisí na relativních velikostech přitažlivých a odpudivých sil mezi iontem a parciálním nábojem molekuly za

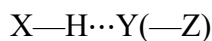
které je zodpovědná prostorová orientace obou látek a na velikosti iontu, kde menší ionty interagují silněji než větší. [12]

2.1.3 Dipól–dipólová interakce

Interakce typu dipól – dipól probíhají mezi dvěma polárními molekulami. Tyto interakce probíhají například v polárních rozpouštědlech jako je chloroform, aceton nebo dimethylsulfoxid, kde způsobují orientaci dipólů tak, že se jejich záporně nabitě a kladně nabitě konce vzájemně přitahují. [12] Tyto interakce jsou slabší než iontové a ion–dipólové a jejich energie se pohybuje v rozmezí 5 až 50 kJ mol⁻¹. [10]

2.1.4 Vodíkové vazby

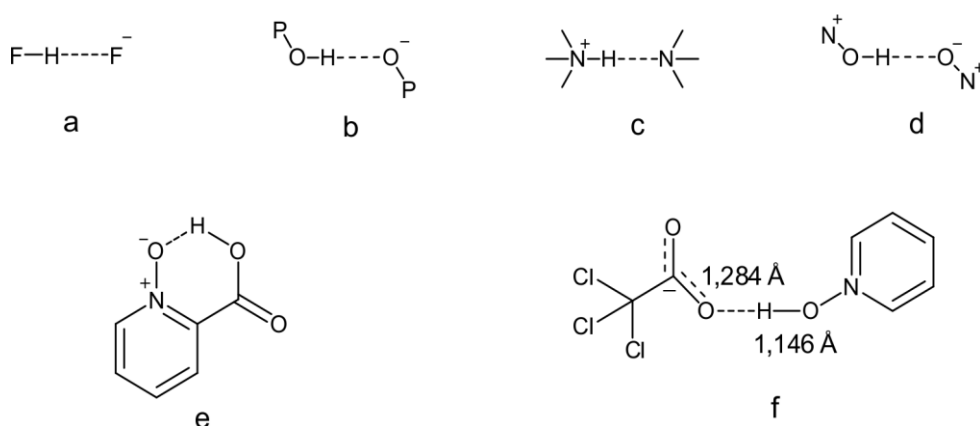
Vodíkové vazby patří mezi nejdůležitější nekovalentní interakce, protože hrají roli při stabilizaci sekundárních struktur proteinů nebo při vzniku dvoušroubovice DNA, ale také mají za následek vysoký bod varu a tání vody nebo například mohou zlepšovat vlastnosti polymerů. [10] Kvůli jejich důležitosti v mnoha vědních disciplínách jsou vodíkové vazby považovány za samostatnou skupinu nekovalentních interakcí, avšak jejich charakter je velmi podobný interakcím typu ion–dipól nebo dipól–dipól v závislosti na tom, jestli je vazebný partner ion nebo polární molekula. [12] Vodíková vazba je obecně zapisována jako:



kde X je prvek, který je elektronegativnější než vodík (např. kyslík, dusík nebo halogen) a je schopný vytvořit na atomu vodíku kladný parciální náboj, ke kterému je přitahován neutrální nebo nabitý atom, molekula [13] či funkční skupina (popřípadě jakýkoliv jiný element schopný interagovat s kladně polarizovaným vodíkem jako jsou například π -systémy). [12] Disociační energie těchto vazeb se většinou pohybuje v rozmezí 4–60 kJ mol⁻¹. [10] Avšak některé velmi kyselé sloučeniny jako například HF₂⁻ mají disociační energii až 163 kJ mol⁻¹. Nejnižší energii má CH₄⋯F–CH₃, kde disociační energie nabývá hodnot 0,8 kJ mol⁻¹. [14] Charakter těchto vazeb není pouze elektrostatický, jedná se totiž o kombinaci interakcí, mezi které patří síly elektrostatické, disperzní, polarizační a v některých případech je charakter částečně kovalentní. Vodíkové vazby je proto možné rozdělit do tří skupin.

- **Silné** – tyto interakce jsou částečně podobné charakteru kovalentních vazeb, vodík se zde vyskytuje ve středu mezi donorem a akceptorem, vazba je lineární a tvoří se především mezi silnými kyselinami a silnými akceptory vodíkové vazby, jako je

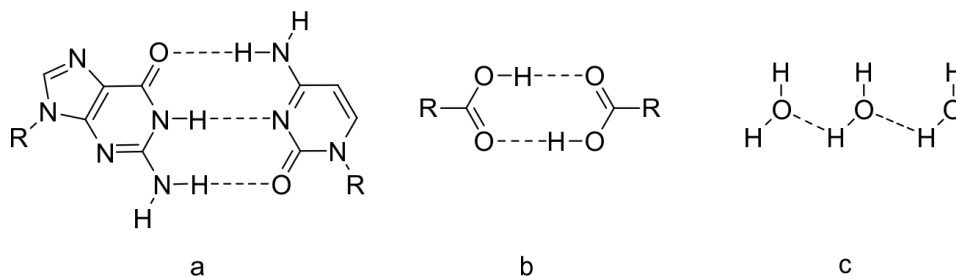
například H_5O_2^+ . Síla těchto vazeb je $60\text{--}163\text{ kJ mol}^{-1}$. Vazba $\text{H}\cdots\text{Y}$ má délku $1,2\text{--}1,5\text{ Å}$ a je téměř rovná ($175\text{--}180^\circ$). [10] Silné vodíkové vazby se tvoří, když jsou hodnoty pK_a vazebních partnerů dostatečně podobné. Pokud se velmi liší vzniká buď vazba iontová nebo středně silná. Částečně kovalentní vodíková vazba vzniká, když se ΔpK_a nachází v „kritickém“ rozmezí, jehož hodnota závisí na povaze látky a rozpouštědla. Silné vodíkové vazby se často vyskytují mezi kyselinami a jejich konjugovanými bázemi. [14]



Obrázek 13. Příklady silných vodíkových vazeb. (a,b,c,d) vodíkové vazby mezi konjugovanými páry. (e) Příklad silné intermolekulární vazby. (f) Příklad silné intermolekulární vodíkové vazby.

- **Střední** – tento typ vodíkové vazby se vyskytuje mezi dvěma molekulami bez náboje. Energie této vazby je nižší ($16\text{--}60\text{ kJ mol}^{-1}$) a vazba je tudíž delší, pohybuje se v rozmezí $1,5\text{--}2,2\text{ Å}$ což dovoluje, aby tato vazba nebyla nutně rovná, ale může být mírně zahnutá ($130\text{--}180^\circ$). [10]
- **Slabé** – slabé vodíkové vazby hrají roli ve stabilizaci struktur a jejich vliv může být signifikantní, když je jich mnoho, jsou velmi nelineární ($90\text{--}150^\circ$) a jako donory a akceptory slouží C–H skupiny, π -systémy aromatických jader nebo alkyny, popřípadě přechodné kovy. [10]

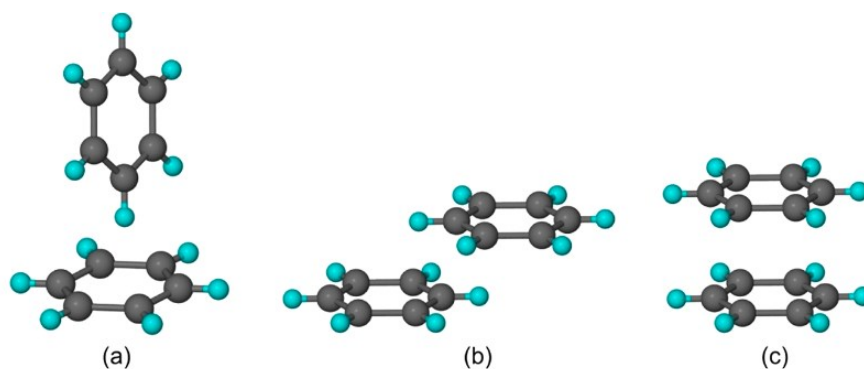
Atomy tvořící vodíkovou vazbu preferují co nejvíce lineární geometrii. Tento efekt umožňuje nasměrovat molekuly v biopolymerech a má vliv na geometrii α -šroubovic a β -skládaných listů, případně na geometrii dimerů 1,3-karboxylových kyselin. [15] Přídavek donoru a akceptoru protonu může umožnit kopolymerizaci nemísitelných polymerních směsí. [16] Tvorba vodíkových vazeb často zodpovídá za molekulární rozpoznávání a funkci enzymů a supramolekulárních katalyzátorů. [17]



Obrázek 14. Příklady vodíkových vazeb (1) vodíkové vazby mezi cytosinem a guaninem (2) formace dimeru karboxylových kyselin (3) vodíkové vazby mezi molekulami vody.

2.1.5 π - π interakce

π - π interakce mezi dvěma aromatickými jádry lze rozdělit do tří kategorií na základě geometrického uspořádání vzniklého systému. Ty mohou nabývat tvaru písmene T, mohou být rovnoběžně posunuté nebo sendvičové. Sendvičová geometrie se vyskytuje mezi aromatickými jádry bází nukleonových kyselin, čímž dochází ke stabilizaci struktury DNA (tzv. patrové interakce DNA) [10]. Rovnoběžně posunutá geometrie je svým charakterem podobná slabým vodíkovým vazbám, jelikož zde nedochází k interakci mezi dvěma π -systémy, ale mezi elektronově deficitním atomem vodíku a elektronově bohatým jádrem. [12] Geometrie ve tvaru písmene T je zodpovědná za typické uspořádání malých cyklických uhlovodíků jako je například benzen.



Obrázek 15. Geometrické uspořádání dvou aromatických jader (a) ve tvaru písmene T (b) rovnoběžně posunutá (c) sendvičová geometrie π - π interakcí v aromatických systémech. [18]

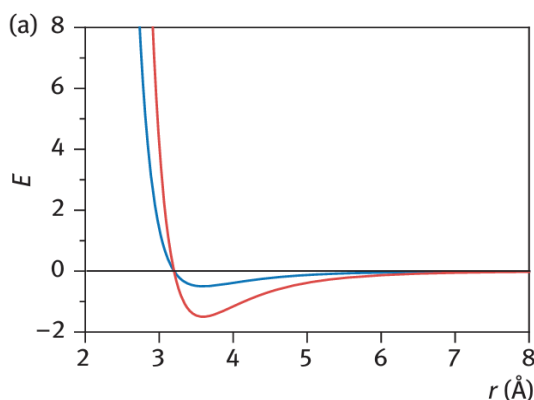
Malé nesubstituované aromatické sloučeniny preferují geometrii ve tvaru písmene T a naopak velké polycyklické aromatické sloučeniny preferují rovnoběžně posunutou geometrii. Sendvičová geometrie se vyskytuje velmi vzácně. [18] Podstata těchto interakcí spočívá ve vzájemné přitažlivosti mezi parciálním záporným elektrostatickým potenciálem

nad jádrem aromatického jádra a parciálním kladným elektrostatickým potenciálem na hranách kruhu. Dvě takové molekuly budou preferovat geometrii ve tvaru písmene T. Na toto má vliv přítomnost skupin odtahující elektrony (např. u hexafluorbenzenu), což vede k otočení polarizace a dochází k přesunutí kladného parciálního náboje do středu, a naopak negativního na hrany jádra. Toto vede ke změně geometrie tak, že pokud tento systém přijde do kontaktu s aromatickou sloučeninou se záporným potenciálem ve středu jádra, budou se navzájem přitahovat a tento systém bude zaujímat geometrii sendvičovou. Různorodost těchto geometrií je zapříčiněna rovnováhou mezi soupeřícími elektrostatickými a van der Waalovými silami. [12,18]

π - π interakce hrají důležitou roli při vzniku supramolekulárních komplexů (např. katenany a rotaxany) obsahující alespoň jedno aromatické jádro, jelikož vznik těchto komplexů je řízen především těmito interakcemi. [19]

2.1.6 Van der Waalovy síly

Disperzní neboli van der Waalovy interakce jsou nejslabší z nekovalentních interakcí. Tyto interakce vysvětlují, proč dvě stejné nepolární sloučeniny jako alkany nebo vzácné plyny navzájem interagují a proč mohou být například zkapalněny. Když se dvě molekuly přiblíží dostatečně blízko k sobě, dojde k překrytí orbitalů a elektrony v těchto orbitalech musí přecházet na vyšší energetickou hladinu, aby zajistily, že každý obsazuje individuální kvantový stav a dochází k Pauliho odpuzivé interakci (tzv. „Pauli repulsion“). S růstem vzdálenosti mezi atomy tato síla rapidně klesá (r^{-6}) [12]. V určité vzdálenosti síla začíná být přitažlivá kvůli pohybu elektronů, což vede k oscilujícím dipólům na jedné molekule, který vyvolá vznik dipólu na druhé a vyústí v krátkodobou přitažlivou interakci. Tento efekt vede ke stabilizaci molekulární struktury. [20]



Obrázek 16. Graf závislosti energie na vzdálenosti. [12]

Jelikož supramolekulární systémy jsou často strukturně komplexní, mají tyto síly, přestože jsou velmi slabé, signifikantní vliv na stabilizaci supramolekulárních komplexů. Optimalizace van der Waalsových interakcí se využívá při vývoji uhlíkových nanotrubic, [21] nebo při vývoji optoelektroniky jako jsou například fotodetektory, lasery nebo fotovoltaiické články. [22]

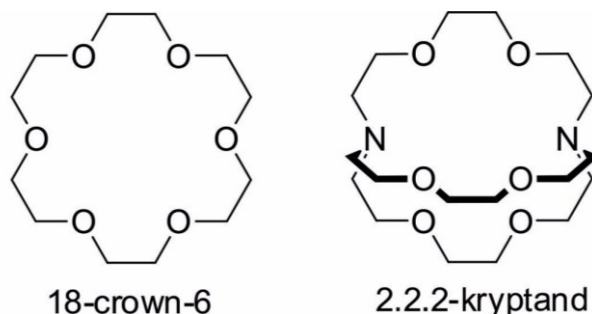
2.2 Chemie typu hostitel–host

Chemie typu hostitel–host spočívá ve studiu interakcí mezi molekulami zvanými hostitel a host. Hostitelem je zde molekula, která disponuje vnitřní kavitou. Do této kavity se pomocí nekovalentních interakcí může vázat menší molekula neboli host. Navázáním hosta do kavity hostitele vzniká supramolekulární komplex. Host je v kavitě poután pouze pomocí dynamických nekovalentních interakcí a supramolekulární systémy tudíž pohotově reagují na externí podněty jako je například změna pH, teplota, světelné záření, elektrický signál nebo chemické prostředí což z nich dělá velmi zajímavé systémy pro využití v různých odvětvích. Jsou využívány jako molekulární senzory a biosenzory, katalyzátory nebo systémy pro přípravu funkčních materiálů. Další uplatnění nachází v medicíně, kde slouží jako systémy pro transport léčiv nebo při vývoji nanostruktur sloužící například jako molekulární elektronická zařízení. [23,24]

Hostitelské molekuly disponující kavitou se nazývají makrocyclické sloučeniny, mezi ty patří například cyklodextriny, cucurbit[*n*]urily, pillareny nebo crown ethery. Do kavity se může vázat celá molekula hosta nebo pouze jeho část, [24] a tudíž je k tvorbě komplexů hostitel–host důležitá kompatibilita velikosti a tvaru hosta a kavity makrocyclické sloučeniny. Vzájemná prostorová orientace obou molekul je určena nekovalentními interakcemi mezi rozpoznávacími místy makrocyclů a funkčními skupinami hostů. [23]

Makrocyclické sloučeniny disponující nepříliš objemnou kavitou upřednostňují tvorbu komplexů ve stechiometrickém poměru 1:1, avšak sloučeniny s větší kavitou jsou schopny tvořit složitější typy komplexů. Komplexy, které mají značný amfolytický charakter mohou tvořit složitější systémy jako například rotaxany, pseudorotaxany, supramolekulární polymery, micely nebo nanotrubic. [26] Hostitelské molekuly jsou nejčastěji tvořeny cyklickým řetězcem pravidelně opakujících se podjednotek. První popsanou hostitelskou molekulou byly cyklické ethery, zvané crown ethery, které poprvé izoloval Charles Pedersen při syntéze polyethylen glykolu [24] v roce 1967.[25] Později bylo zjištěno, že tyto cyklické molekuly jsou schopné tvořit komplexy s draselnými ionty v organických rozpouštědlech.

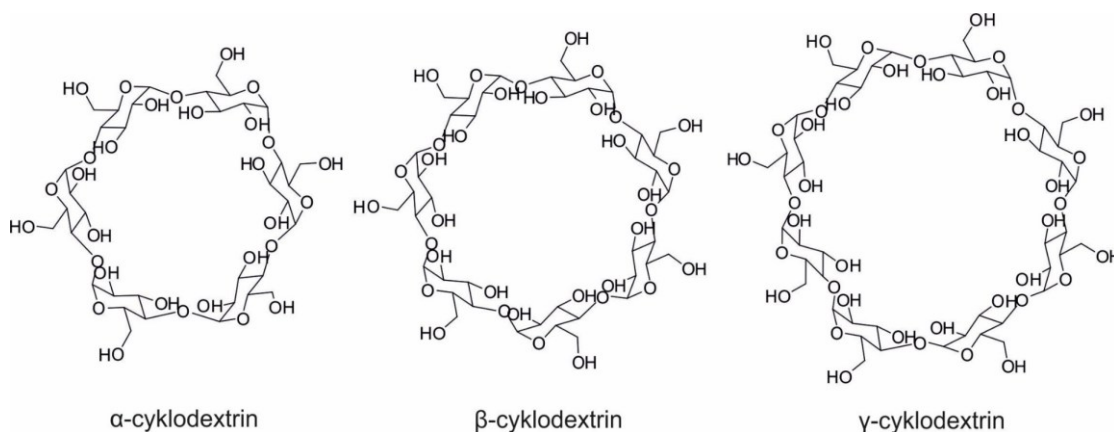
Jean-Marie Lehn byl poté schopen vytvořit můstky posilující struktury crown etherů, které byl nazvány kryptandy. Za tyto objevy oba získali v roce 1987 Nobelovu cenu za chemii. [23,25,26]



Obrázek 17. Příklad crown-etheru (vlevo) a kryptandu (vpravo).

2.3 Cyklodextriny

Po objevu unikátních vlastností crown etherů a kryptandů se zvýšil zájem o studium podobných molekul s vnitřní kavitou. Jedním z možných kandidátů byla skupina molekul zvaných cyklodextriny, které byly objeveny již v roce 1891.[26] Za tento objev je zodpovědný Antoine Villers, který studoval schopnost bakterií provádět enzymatickou degradaci bramborového škrobu pomocí cyklodextrin glukosyltransferasy (CGTasa). [27] Ačkoliv tento objev proběhl před poměrně dlouhou dobou, byl do roku 1975 zájem o tyto molekuly minimální, až s objevy průkopníků v oblasti supramolekulární chemie začal zájem o studium této molekuly postupně růst. Od objevu cyklodextrinů až ke konci roku 1975 bylo o cyklodextrinech napsáno pouze 422 publikací, v roce 2020 již jejich počet dosahoval 85 tisíc. [26]



Obrázek 18. Struktura α -, β -, γ - cyklodextrinu.

Cyklodextriny jsou cyklické oligosacharidy skládající se z glukopyranosových podjednotek spojených α -1,4 glykosidickými vazbami. Existují tři základná typy takzvaných „přírodních“ cyklodextrinů, těmi jsou α -cyklodextrin (α -CD), β -cyklodextrin (β -CD) a γ -cyklodextrin (γ -CD). Tyto tři se od sebe liší různým počtem D-glukosových podjednotek, kde α -CD je složen z šesti, β -CD ze sedmi a γ -CD z osmi glukosových jednotek. Toto uspořádání glukosových podjednotek vede ke vzniku „prstence“ se vnitřní dutinou. Glukosové podjednotky v cyklodextrinech zauímají židličkovou konformaci, což vede k stabilizaci molekuly ve tvaru komolého kužele, kde primární hydroxylové skupiny směřují ven a vyskytují se při užším otvoru a sekundární jsou orientovány k širšímu otvoru. [25,26] Toto uspořádání způsobuje, že vnější část molekuly disponuje atomy vodíku, které jsou schopné tvořit vodíkové vazby s molekulami vody a způsobuje, že cyklodextriny jsou rozpustné ve vodě. [26] Toto neplatí u β -CD, kde se tvoří vodíkové vazby mezi sousedními sekundárními hydroxylovými skupinami a tento makrocyclus je tak méně rozpustný. [27] Na rozdíl od vnějšku molekuly, je vnitřní kavita cyklodextrinů hydrofobní, protože do kavity jsou orientovány méně polární části molekul. Objem kavity nativních cyklodextrinů roste s počtem glukosových podjednotek, kde větší prstence tvoří větší kavity (**Tabulka 1**). [26]

Tabulka 1. Vybrané rozměry cyklodextrinů. [26]

CD	Počet glukosových jednotek	Molární hmotnost (g·mol ⁻¹)	Vnitřní průměr kavity (Å)	Vnější průměr kavity (Å)	Výška kavity (Å)	Objem kavity (Å ³)
α	6	972	4,7–5,2	14,6	7,8	174
β	7	1135	6,0–6,4	15,4	7,8	262
γ	8	1297	7,5–8,3	17,5	7,8	427

Vlastnosti cyklodextrinů jako jejich schopnost vázat molekuly do své kavity se spolu s dalšími vlastnostmi jako je například nízká toxicita nebo vhodná velikost kavity se osvědčily v medicíně a jiných oblastech. [28] Zde však vývoj narazil na překážku, kterou byla nedostatečná rozpustnost β -CD ve vodě. Tento problém byl vyřešen modifikací β -CD, kde byly hydroxylové skupiny vyměněny za skupiny 2-hydroxypropylové, což vedlo ke zvýšení rozpustnosti z 18,5mg/ml na >1200mg/ml. [26] Nyní existuje celá řada dalších popsaných modifikací cyklodextrinů, které nachází využití ve farmaceutickém průmyslu, potravinářském nebo jako katalyzátory.

V potravinářském průmyslu, jsou používány k odstranění hořkých sloučenin, stabilizují rybí tuky nebo maskují nežádoucí pachy chutě a barvy, dále jsou schopné odstraňovat nežádoucí

látky jako cholesterol z mléka nebo vajec. V kosmetickém průmyslu jsou využívány ke zlepšení stability a maskování pachů, nalézají tak využití v krémech, zubních pastách nebo aviváži. [26] Dále jsou využívány ke zvýšení biologické dostupnosti léčiv tím, že zvyšují rozpustnost léčiv a pomáhají jim prostupovat biologickými membránami.[29] V chemickém průmyslu jsou využívány k separaci enantiomerů a isomerů, katalýze reakcí nebo k detoxikaci odpadů. [26]

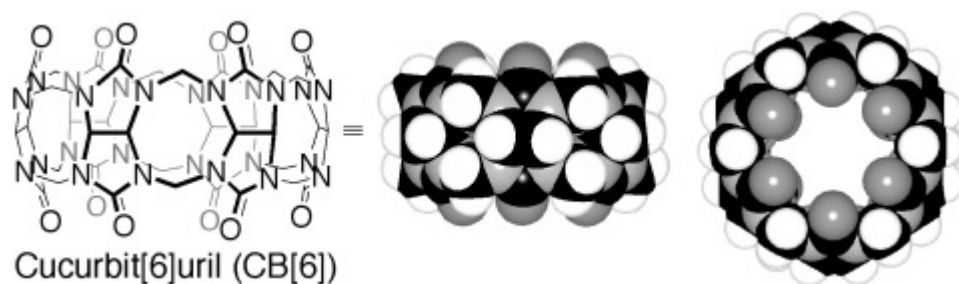
2.4 Cucurbit[n]urily

Další skupinou makrocyclických sloučenin s významným využitím v supramolekulární chemii jsou cucurbit[n]urily (CB n). Prvním objeveným CB byl CB6. Tuto látku poprvé získal Robert Behrend v roce 1905 při kondenzaci glykolurilu s formaldehydem v koncentrované HCl. [32] Struktura této látky byla popsána až v roce 1981, kdy bylo zjištěno, že se jedná o makrocyclickou sloučeninu složenou z šesti glykolurilových podjednotek spojených dvanácti methylenovými můstky. Tato látka byla nazvána „cucurbituril“ podle jejího tvaru připomínající tykev obecnou, která je nejvýznačnější zástupce rodu *Cucurbitaceae*. Stejně jako v případě cyklodextrinů, se zájem o tyto látky začal zvyšovat s pokrokem supramolekulární chemie a vedl k objevu čtyř nových homologů CB n , kterými jsou CB[5], CB[7] CB[8] a CB[10]. [33] CB n , stejně jako cyklodextriny, disponují nepolární kavitou, do které jsou schopny vázat nepolární, neutrální nebo kladně nabitě sloučeniny.

Tabulka 2. Vybrané rozměry cucurbit[n]urilů. [30]

CB[n]	Molární hmotnost (g·mol ⁻¹)	Vnitřní průměr kavity (Å)	Vnější průměr kavity (Å)	Výška kavity (Å)	Objem kavity (Å ³)	Rozpustnost (mmol·l ⁻¹)
CB[5]	830	2,4	4,4	9,1	82	20–30
CB[6]	996	3,9	5,8	9,1	164	0,018
CB[7]	1163	5,4	7,3	9,1	279	20
CB[8]	1329	6,9	8,8	9,1	479	0,01
CB[10]	1661	9,0–11,0	10,7–12,6	9,1	870	0

Atomy kyslíku glykolurilových podjednotek směřují do kavity CB n , čímž dochází k tomu, že portály CB n mají o 2 Å menší průměr než kavita samotná. Rozpustnost v porovnání s cyklodextriny je značně nižší, CB[5] a CB[7] jsou ve vodě málo rozpustné, kdežto CB[6], CB[8] a CB[10] jsou téměř nerozpustné. [30,32]



Obrázek 19. Struktura CB[6] a pohled ze strany a shora. [32]

Cucurbit[n]urily podobně jako cyklodextriny nalézají využití jako hostitelé malých molekul. Využití v textilním průmyslu, kde jsou využívány pro odstranění chromanů a dichromanů, těžkých kovů a barviv z odpadních vod. [31] V chemickém průmyslu jsou využívány jako katalyzátory nebo pro separaci látek.[32] V současné době probíhá výzkum potenciálního využití CB[n] v řadě odvětví, v nichž by mohly najít využití, jako jsou nanotechnologie, supramolekulární stroje, fotochemie, nanoterapeutika a další. [33]

3 HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIE

Hmotnostní spektrometrie (MS) je instrumentální analytická metoda nalézající využití v rozmanitém spektru odvětví. Široká škála možných konstrukčních řešení umožňuje detekci, látek které se mezi sebou výrazně liší svou hmotností i povahou. V závislosti na technickém zpracování lze detekovat jak jednotlivé izotopy, tak i velké biomakromolekuly. Základním principem všech metod však zůstává separace iontů podle poměru jejich hmotnosti ku náboji interakcí s elektrickým nebo magnetickým polem. [34]

3.1 Historie

První využití hmotnostní spektrometrie se datuje k začátku 20. století, kdy tato metoda byla použita fyzikem J.J. Thomsonem, který studoval elektrické napětí v plynech. Hledal odpověď na otázku: „Jaká je povaha katodových paprsků?“ Přestože se v té době touto otázkou vědci zabývali již přibližně padesát let, nebyla dosud známá odpověď. Thomsonův asistent E. Everett podle Thomsonova návrhu sestavil zařízení schopné měřit poměr náboje ku hmotnosti, označované e/m (dříve bylo používáno e/m oproti dnešnímu standardu m/z) a publikoval poměr e/m elektronů. Později s Everettem sestavili zařízení schopné zároveň měřit e/m a e , což umožnilo nepřímé měření hmotnosti elektronů. Za jeho objevy v oblasti vodivosti plynů získal v roce 1906 Nobelovu cenu. Vývoj spektrometrů pokračuje s F. W. Astonem, který přepracoval design tohoto zařízení a docílil tak vyššího rozlišení. [35] V roce 1912 popsal F. W. Aston pomocí hmotnostního spektrometru hmotnost nabitých atomů a objevil tak izotopy. Následně popsal většinu stabilních izotopů a jejich odchylky od celistvých čísel. Za tuto práci získal v roce 1922 Nobelovu cenu. [34] Do čtyřicátých let 20. století byla hmotnostní spektrometrie považována za obor výhradně fyzikální, to však změnil Alfred Niel, sestavil přístroj s nižšími energetickými nároky a vyšší přesností, čímž se z hmotnostní spektrometrie stala nejcitlivější a nejpřesnější komerčně dostupná analytická metoda té doby. A. Neil pomáhal biologům připravit ^{13}C obohacenou směs uhlíku, která je využívána při studiu metabolismu. Dále také spolupracoval při stanovení stáří země stanovením poměru $^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$ v zemské kůře. Dále na žádost Enrica Fermiho separoval izotopy uranu ^{238}U a ^{235}U . [35]

Komerční dostupnosti MS využívali chemici v průmyslu ke kontrole výrobních procesů kvantitativním stanovením směsí o známém složení, avšak u akademických chemiků se setkala převážně se skepticismem. Tento nezáměr měli za cíl změnit tři vědci: Fred McLafferty, Klaus Biemann a Carl Djerassi, kteří společně v průběhu 50. let 20. století popularizovali

MS na poli chemie. McLafferty vyvinul standardy interpretace spekter a popsal mechanismy fragmentace. Biemann začal využívat MS pro popis struktury neznámých látek s využitím databází známých látek a současně objasnil fragmentace peptidů a alkaloidů. Djerassi aplikoval MS pro analýzu steroidů a současně se zasloužil o vzdělání velkého množství odborníků v oboru MS. V 80. letech 20. století se MS již hojně využívala pro analýzu malých organických molekul, ale pro větší látky, jako jsou bílkoviny, DNA nebo RNA byly tehdejší ionizační techniky nevhodné kvůli vysoké fragmentaci a nízké míře ionizace. Vývoj ionizačních metod vedl k objevu elektrosprejové ionizace (ESI) a hmotnostní spektrometrie s laserovou desorpcí a ionizací za účasti matrice (MALDI) v roce 1988, které umožnily analyzovat pomocí MS i velké biomakromolekuly [35] V současné době nacházejí tyto techniky krom organické chemie uplatnění i při analýze povrchů pomocí tzv. SIMS (Secondary Ion Mass Spectrometry), prvkové analýze pomocí techniky hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-MS) nebo jako mikroanalýzátory ve vesmírných sondách. [36]

Jednotlivé metody se od sebe razantně liší svým technickým zpracováním a také charakterem látek, které analyzují, přesto lze říct, že hmotnostní spektrometrie zahrnuje tři po sobě jdoucí kroky. Těmi jsou ionizace v iontovém zdroji, separace v analyzátoru a detekce v detektoru.

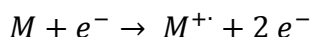
3.2 Iontové zdroje

Jelikož je pro měření m/z nutné, aby hodnota náboje nabývala nenulových hodnot, je třeba generovat nabitě částice. Do iontového zdroje vstupují molekuly nebo atomy v plynné fázi a odchází ve formě iontů. Ionty vznikající v iontovém zdroji se liší svým charakterem v závislosti na metodě pomocí, které k ionizaci došlo. Techniky, které se označují jako „tvrdé“ generují molekulové ionty ve formě kation radikálů za současného vzniku značného množství produktových iontů, což jsou fragmenty vznikající z původní molekuly.

„Měkké“ ionizační techniky k ionizaci využívají procesy, kde není předaná energie tak vysoká jako u technik „tvrdých“ a tudíž dochází k menší míře fragmentace a většímu zastoupení iontů prekurzorových. Zásadní rozdíl mezi „tvrdými“ a „měkkými“ ionizačními metodami spočívá v tom, že zatímco „tvrdé“ techniky probíhají za vakua, „měkké“ za atmosférického tlaku. Ačkoliv je v dnešní době dostupná celá řada ionizačních technik mnoho z nich je nekompatibilní s analýzou supramolekulárních komplexů, jelikož vysoká ionizační energie vede k disociaci těchto komplexů. [37]

3.2.1 Elektronová ionizace

Elektronová ionizace (EI) je typická „tvrdá“ metoda využívající ostřelování neutrálních částic elektrony. Před provedením EI je nutno převést analyt do plynné fáze, kde se částice analytu vyskytují ve velmi nízké koncentraci. V praxi se za nízkou koncentraci považuje taková koncentrace, když se vzdálenost mezi molekulami dostatečně prodlouží tak, aby se bimolekulární interakce během životnosti těchto částic staly téměř nemožnými. Toho lze snadno dosáhnout při tlacích v rozsahu 10^{-4} Pa, které jsou obvykle nastaveny v ionizačních zdrojích pro elektronovou ionizaci.[39] Když do neutrální částice narazí letící elektron nesoucí desítky elektron voltů kinetické energie část této energie je přenesena na neutrální částici. Toto vede k odstranění jednoho elektronu z neutrální částice za vzniku kladně nabitého molekulárního radikálu.



Ionizační energie většiny molekul se pohybuje v rozmezí 7–70 eV. [39] Zřídka je možno pozorovat dvakrát nebo i třikrát nabité ionty, avšak tyto se vyskytují vzácně. Nižší hodnota ionizační energie vede k nižší míře fragmentace v získaných spektrech. Zpravidla se používá hodnota ionizační energie 70 eV. Důvodem je následná možnost porovnávat naměřená hmotnostní spektra se spektry, která jsou součástí databáze, tzv. knihovny spekter

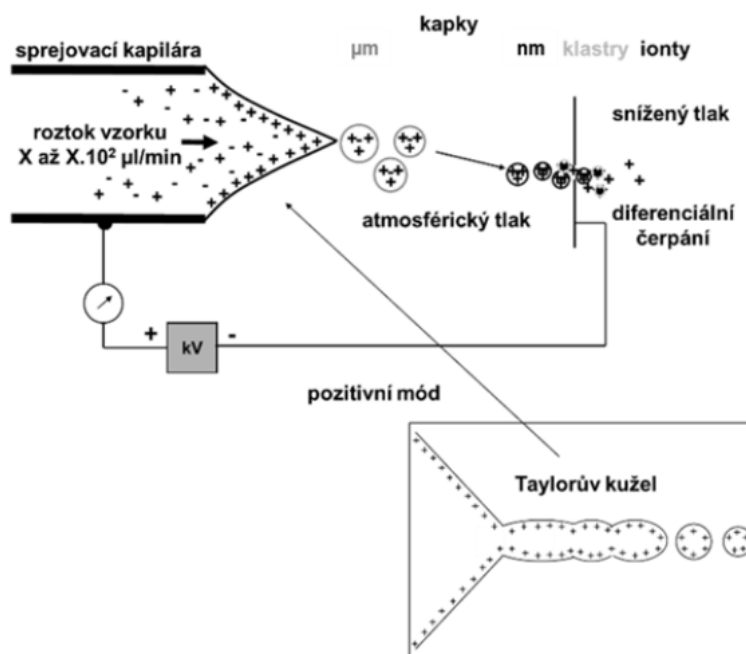
3.2.2 Měkké ionizační techniky

Problémy s vysokou mírou fragmentace „tvrdých“ ionizačních technik se podařilo vyřešit vývojem „měkkých“ technik jako je chemická ionizace, kde není energie předávána elektronem s vysokou energie, ale jiným chemickým individuem. Pro tento účel je často volen methan nebo vodík, který se prvně ionizuje a následně předá energii analytu. Jelikož ionizovaný plyn nedisponuje tak vysokou energií jako letící, dochází během chemické ionizace k menší míře fragmentace. [40,41]

Při analýze supramolekulárních komplexů je využíváno takových metod, které jsou schopné analyzovat látky s vysokou molekulární hmotností a zároveň zajistit nízkou vnitřní energii iontu, aby byla zajištěna nízká míra fragmentace. Těmito metodami jsou: ESI (Electrospray Ionization) nebo MALDI (Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization) případně REMPI (Resonance-Enhanced Multiphoton Ionization). [37]

3.2.3 Ionizace elektrosprejem

Ionizace elektrosprejem (ESI) je uplatňována při analýze středně polárních až polárních látek. ESI je pravděpodobně nejhojněji využívanou ionizační technikou, od rutinní analýzy středně velkých molekul, přes studium biomakromolekul nebo supramolekulárních komplexů. Roztok analytu je pumpován sprejovací kapilárou, jejíž hrot se nachází v elektrickém poli o intenzitě v řádu $10^5 - 10^6 \text{ Vm}^{-1}$. [43]. Toto pole způsobuje polarizaci rozpouštědla a hromadění iontů se stejným nábojem ve špičce sprejovací kapiláry. Při dostatečné intenzitě elektrického pole je meniskus kapaliny deformován a vzniká „Taylorův kužel“ ze, kterého tryská jemný proud kapaliny, který se rozpadá na primární kapky důsledkem Coulombických interakcí. [42]



Obrázek 20. Tvorba nabitých kapek v elektrospreji v pozitivním módu. [42]

Kapky, které opouští sprejovací kapiláru obsahují nabitě částice, které se navzájem odpuzují. Při letu dochází k odpařování rozpouštědla, čehož tohoto lze dosáhnout aplikací zahřátého inertního plynu, který proudí proti směru pohybu iontů. Odpařováním rozpouštědla dochází ke zmenšení kapek a zvýšení hustoty náboje. Zvýšení hustoty náboje znamená vyšší hodnotu odpuzivých sil, která v průběhu odpařování neustále roste. Jakmile odpuzivé síly začnou nabývat hodnot vyšších než Rayleighův limit (bod, kdy se odpuzivé síly rovnají povrchovému napětí) dochází ke Coulombickému štěpení kapek za vzniku sekundárních

kapek. Tento proces se následně opakuje až do doby, kdy se z malých kapek začnou uvolňovat ionty do plynné fáze. [43]

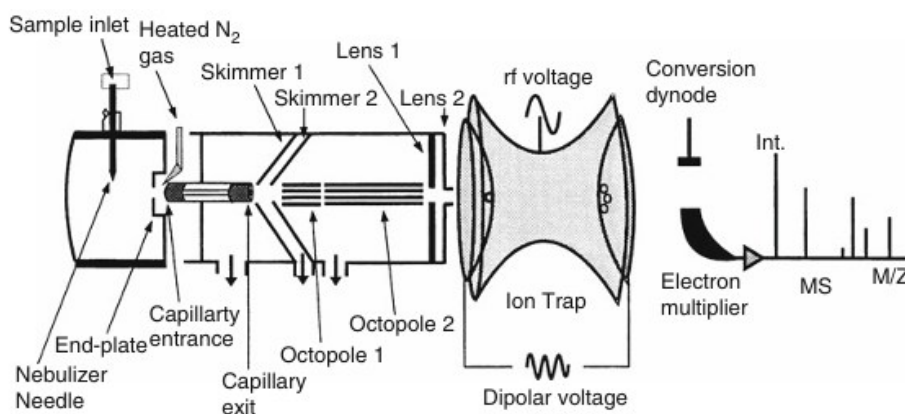
Adukty vznikají interakcí prekurzorového iontu s atomem nebo molekulou za vzniku iontu obsahující obě složky. [38] Aduktové ionty se vyskytují ve formě $[M+H]^+$, $[M-H]^+$, $[M+K]^+$, $[M+Na]^+$, $[M+Cl]^-$ a nebo dvojnásobně nabitých jako $[M+2\cdot H]^{2+}$, $[M+H+K]^{2+}$ a dalších. [39,40]

3.3 Hmotnostní analyzátor

Další důležitou částí hmotnostního spektrometru je analyzátor, ve kterém dochází za vakua k separaci iontů na základě poměru hmotnosti ku náboji (m/z). Při analýze supramolekulárních komplexů se je nejčastěji využívá iontová pastí nebo analyzátor doby letu (TOF, Time of Flight) v kombinaci s ESI. [37]

3.3.1 Iontová past

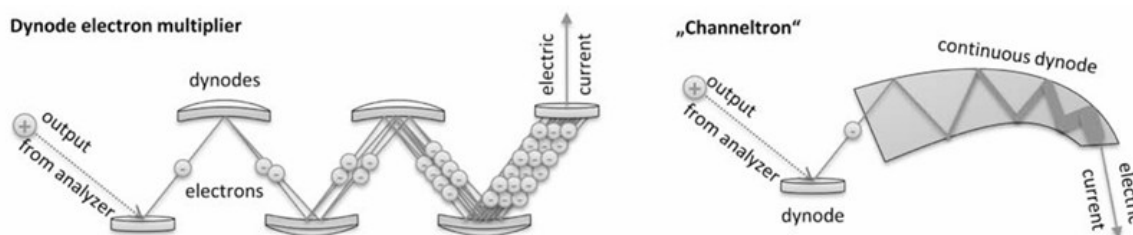
Iontová past může být považována za trojrozměrnou variantu lineárních kvadrupólů. Skládá se z kruhové středové elektrody a dvou elektrod kruhového průřezu při vstupu a výstupu. Na tyto elektrody je přiváděno střídavé napětí, což způsobuje, že se ionty v kavitě mezi elektrodami pohybují ve stabilních trajektoriích. Toto umožňuje akumulaci iontů. [37] Doba akumulace iontů se pohybuje v rozmezí 10 μ s až 200 ms. [44] Velkou výhodou iontových pastí je možnost provádět MS^n experimenty, kde se po výběru iont o dané hodnotě m/z vypudí všechny ostatní ionty z pasti. Tyto vybrané ionty jsou následně akcelerovány a podrobeny kolizí s kolizním plynem, čímž dochází k fragmentaci. V tomto okamžiku je možno prekurzorový iont a produktové ionty uvolnit zpět do analyzátoru nebo vybrat další hodnotu m/z a tento proces opakovat. [37]



Obrázek 21. Schématické znázornění iontové pasti. [39]

3.4 Detektor

Poslední částí hmotnostního spektrometru je detektor, který zaznamenává buď indukovaný náboj nebo elektrický proud generovaný průchodem iontu. Nejjednodušší formou detektoru je Faradayův detektor, na který ionty přenesou svůj náboj, který je následně odveden skrze rezistor za vzniku elektrického proudu. Tento detektoru je často užíván při analýze izotopů. V dnešní době jsou nejvíce využívány dynodové elektronové násobiče. Když nabitá částice narazí na povrch kovu nebo polovodiče dochází k emisi elektronů, kdy počet elektronů závisí na hmotnosti částice. Elektrony jsou následně usměrněny směrem k další elektrodě a proces se opakuje. Počet elektrod se pohybuje mezi 12–18, kde každá má přibližně o 100 V vyšší elektrický potenciál než předchozí. Další často využívaným typem je „channeltron.“ Tyto detektory jsou kompaktnější a ekonomicky dostupnější. Fungují na stejném principu, avšak místo kaskády dynod se používá skleněná nebo keramická trubice pokrytá vrstvou kovu. Na stěny je přiváděno vysoké napětí, které urychluje elektrony k výstupu. Elektrony opakovaně narážejí do stěn trubice a dochází tak k emisi elektronů. [37,39]



Obrázek 22. Schéma detektorů typu elektronový násobič (vlevo) a channeltron (vpravo). [40]

3.5 Využití hmotnostní spektrometrie

Hmotnostní spektrometrie je všestranná a vysoce citlivá metoda nalézající využití v širokém spektru oborů. Časté využití nalézá ve farmaciích, kde využití MS metod umožňuje analýzy léčiv a jejich metabolitů nebo monitorování koncentrací léčiv v krvi. [40] Stanovit lze také koncentraci hormonů a vitamínů jako např. testosteronu [45] a hydroxylované formy vitamínu D nebo karotenoidů [46]. V biochemii využití měkkých ionizačních metod umožňuje analýzu biomakromolekul jako je např. DNA a RNA [47], sekvenování peptidů nebo studium struktury proteinových komplexů a jejich stechiometrií nebo vazebných interakcí s ligandy. [48] V mikrobiologii je analýzou biomarkerů možno identifikovat viry [49] a bakterie. [50] Vývoj malých osobních spektrometrů umožnil provádět rychlé

monitorování kvality vody a půdy, ale i identifikaci neznámých látek od toxických látek po výbušniny. [51]

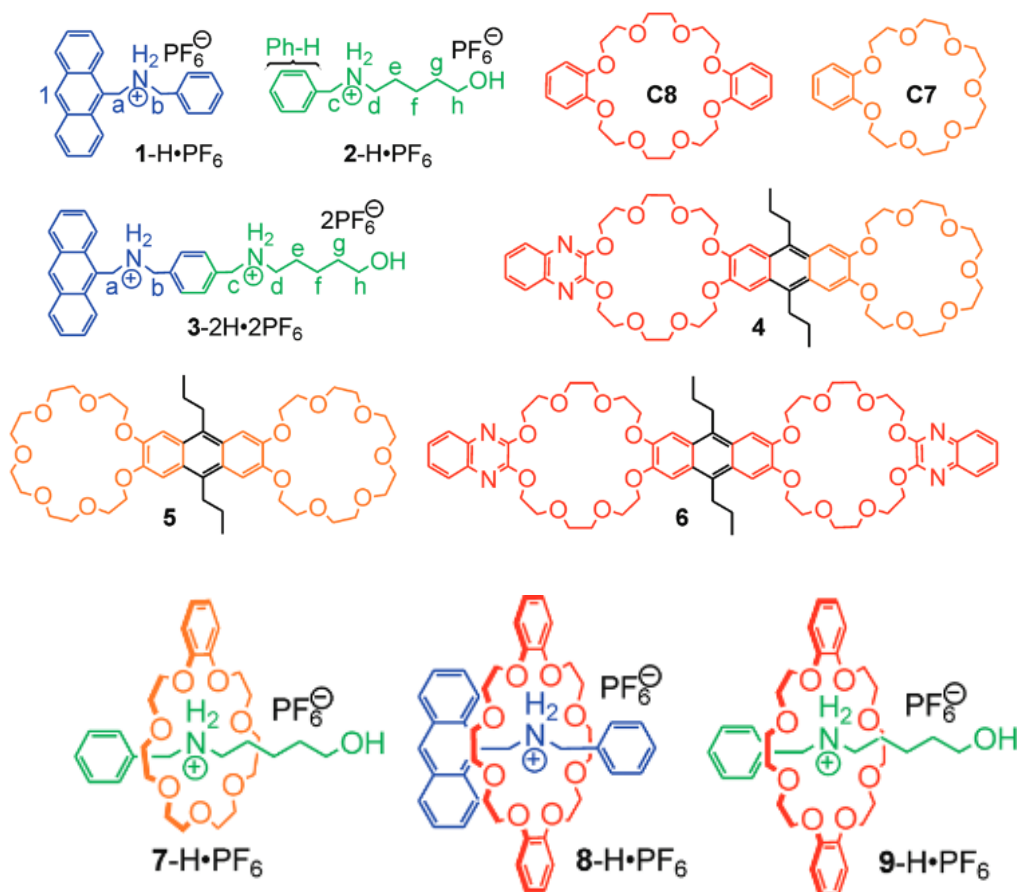
V supramolekulární chemii nachází hmotnostní spektrometrie značné využití při studiu komplexů typu hostitel–host v plynné fázi. Při analýze supramolekulárních systémů umožňuje MS nejen pozorovat tvorbu komplexů s hosty ale i studovat jejich fragmentační chování v plynné fázi. Externě vázané komplexy (tzv. nespecifické agregáty) disociují snadněji, zatímco u inkluzních komplexů je energie potřebná k disociaci komplexu zpravidla vyšší. [52] Hmotnostní spektrometrie je dále využívána při stanovení stechiometrie a vazebné selektivity komplexů, čehož bylo využito při vývoji systému cíleného dodání některých léčiv např. lorazepamu (člen skupiny benzodiazepinů) a kyseliny olenalovou, látku disponující protizánětlivými vlastnostmi. [53] Studium tvorby komplexů s léčivem je důležité i pro porozumění jejich chování v těle. Mechanismus účinku byl pomocí MS odhalen u látky flokalinu, disponující kardioprotektivním efektem, který tvoří komplexy s lysinem a threoninem [54]. Další využití našla MS při identifikaci enantiomerů. Jelikož prostorová orientace má vliv na vazebnou afinitu hosta k hostiteli, lze po izolaci a reakci s makrocylem porovnat poměr vzniklých komplexů mezi sebou a určit o jaký enantiomer se jedná. [55] Vysoká citlivost MS umožňuje odhalit přítomnost vedlejších produktů při syntéze dendrimerů a pomáhá tak určit dendritickou čistotu (poměr dendrimerů bez „defektu“). [56]

3.6 Aplikace hmotnostní spektrometrie v supramolekulární chemii

V této části bakalářské práce je popsáno několik vybraných publikací zaměřujících se na studium supramolekulárních komplexů v plynné fázi pomocí hmotnostní spektrometrie.

Cílem práce, publikované autory Wei Jiang, Andreas Schäfer a Parveen Choudhary Mohr v časopise *Journal of the American Chemical Society* v roce 2010 [57] bylo prozkoumat chování tří pseudorotaxanů v plynné fázi. Tyto látky se skládají ze dvou crown etherů, které vážou ligandy za vzniku supramolekulárních komplexů. Právě vznik těchto komplexů byl předmětem zkoumání v této práci, jejíž cílem bylo popsat kinetiku a termodynamiku těchto vznikajících komplexů. V multikomponentních systémech se vyskytuje početná řada chemických individuů, těmi jsou volné komponenty, reakční mezi produkty, termodynamicky nevýhodně uspořádané komplexy a žádané termodynamicky stabilní struktury v různých koncentracích. Pro analýzu takto složitých směsí autoři využili hmotnostní spektrometrii s elektrosprejovou ionizací (ESI–MS), jelikož tato metoda dokáže

analyzovat velké množství látek současně a zároveň monitorovat dynamické procesy při samovolné komplexaci systému. Před vstupem do spektrometru byl umístěn mikro reaktor s nastavitelnou výškou a šířkou což umožnilo studovat průběh reakcí v různém časovém rozmezí od jednotek minut do pěti desetin sekundy.



Obrázek 23. Crown ethery, hřídele a pseudorotaxany použité v publikaci. [57]

Pomocí ESI–MS byly provedeny dvě série experimentů. V první sérii reagovaly „hřídele“ **1-H•PF₆** a **2-H•PF₆** s crown ethery **C7** a **C8** v ekvimolárním množství. Vznikaly pouze tři pseudorotaxany (**Obrázek 23**), jelikož kavita látky **C7** nebyla dostatečně objemná pro vazbu látky **1-H•PF₆**. Pseudorotaxany **8-H•PF₆** a **9-H•PF₆** byly detekovány již po 22 s, pseudorotaxan **7-H•PF₆** se ve spektru objevil až po 40 min. Po 15 h signál pseudorotaxanu **9-H•PF₆** mizí a ustanovuje se rovnováha mezi **7-H•PF₆** a **8-H•PF₆**. Po přidání látky **3-2H•2PF₆** do směsi dochází k rychlému vyvlékání **1-H•PF₆** z **C8** a rychlému navlékání **C8** na aminoskupinu látky **3-2H•2PF₆** označenou zeleně a následuje pomalý posun na aminoskupinu označenou modře. Rychlost následného navlékání sekundárního crown etheru závisí na stabilitě komplexu, kde navlékání stabilnějších probíhá rychleji. Ve druhém experimentu byly sledovány složitější dráhy dimerů crown etherů s hřídelem navlečenými

na dva crown ethery zároveň. Výsledkem bylo zjištění, že reakční cesty vedoucí k nejstabilnějšímu produktu probíhají pomalu, zatímco reakce vedoucí k méně stabilním probíhají rychle. Zároveň byla pozorována rychlost výměny hřidelí, která byla nepřímo úměrná stabilitě komplexu.

Další zajímavou publikací z této oblasti je práce, publikovaná Shin Jung C. Lee a kolegy publikovaná časopise *The Journal of Physical Chemistry B* v roce 2013 [58], jejímž cílem bylo objasnit vliv vody jako rozpouštědla při komplexaci CB[6] a CB[7] s alkyldiaminy obecné struktury $[H_2N-(CH_2)_xNH_2]$, $x = 4, 6, 8, 10, 12$. Autoři očekávali, že hydrofobní a ion–dipólové interakce komplexu s vodou mají vliv na stabilitu komplexu. Porovnáním stability komplexu v plynné a kapalné fázi by mohlo odhalit vliv těchto efektů. Pro zjištění vazebných konstant v kapalné fázi byla využita izotermální titrační mikrokolorimetrie. Touto metodou bylo zjištěno, že vazebná konstanta se snižuje s rostoucí délkou alifatického řetězce alkyldiaminu. Pro posouzení korelace s trendem v kapalné fázi bylo využito ESI–MS pro stanovení relativní četnosti komplexů v plynné fázi. Tohoto bylo dosaženo analýzou směsi dvou ligandů a makrocyclu v molárním poměru 1:1:1. Výsledná relativní četnost odpovídá hodnotám v kapalné fázi. Dalším krokem bylo určení stability komplexu v plynné fázi pomocí kolizně indukované disociace (CID, z angl. Collision induced dissociation) v iontové pasti. Stabilita komplexů se opět snižovala s rostoucí délkou alifatického řetězce. Vliv vody byl vypočítán pomocí simulací molekulární dynamiky. Výsledky této práce ukazují, že s rostoucí délkou alifatického řetězce dochází k snižování počtu vodíkových vazeb a síly ion–dipólových interakcí mezi hostem a hostitelem. Dalším zjištěním bylo, že snížení počtu vodíkových vazeb u delších řetězců je kompenzováno vodíkovými vazbami s vodou a dochází ke snížení se interakce s hostitelem. V plynné fázi dochází k „ohybu“ molekul hosta, za účelem maximalizace tvorby nekovalentních interakcí, kde se molekuly s delším řetězcem deformují více molekuly s řetězcem kratšími. Vysoká míra deformace molekuly hosta tak vede k nižší stabilitě komplexu. [58]

V další práci, kterou publikoval Dominik P. Weimann a kolegové v časopise *Nature Chemistry* v roce 2009 [59] se autoři pokusili objasnit mechanismus pohybu 18–crown–6 etheru mezi NH_2 skupinami oligolysinového řetězce. Cílem práce bylo prozkoumat, zda k pohybu mezi aminoskupinami dochází pomocí disociace a následné asociace na jiném místě, nebo zda se makrocyclus přesouvá z jedné polohy do druhé bez disociace. V kapalné fázi by byly oba mechanismy vzájemně nerozlišitelné, a proto bylo využito ESI–MS, což

umožnilo izolovat komplexy a zabránit tak jejich vzájemné interakci, jelikož se tyto komplexy díky stejnému náboji budou v plynné fázi odpuzovat.

Ionty generované pomocí ESI–MS byly akumulovány v iontové pasti a podrobeny reakci s deuterovaným methanolem (CH_3OD) v FTICR hmotnostním spektrometru. Když byl této reakci podroben pouze Lys_{15} všechny vyměnitelné atomy vodíku byly vyměněny za atomy deuteria. Pokud byl této reakci podrobena směs Lys_{15} a 18–crown–6 etheru v molárním poměru 1:2 je vyměněno víc atomů vodíku, než autoři předpokládali. Za 5 ms se všechny atomy vodíku, které nejsou chráněny makrocylem vymění za atomy deuteria, avšak reakce pokračuje a v řádu sekund dochází k výměně dalších atomů vodíku. Toto pozorování slouží jako důkaz pohybu makrocylů po amino skupinách bez nutnosti disociace, jelikož zmíněné atomy vodíku měly být chráněny makrocylem. Autoři popisují mechanismus pohybu následovně: crown ether společně s H^+ přistoupí k $-\text{ND}_2$ místu, kde se následně naváže a je zde poután na $-\text{ND}_2\text{H}^+$ skupině. Výměna atomu vodíku je tedy možná, až v době, kdy se makrocylus společně s D^+ naváže na další skupinu a odhalí tak zbývající atom vodíku.

Autoři poslední v této kapitole popsané práce, publikované v časopise *Journal of the American Chemical Society* v roce 2015 byli Min Hyeon Shin a kolegové [60]. V této práci autoři vyřešili problém vznikající při použití MS při sekvenování proteinů. Enzymatická degradace proteinů vede ke vzniku velkého množství peptidů. Tento jev však vede k tomu, že peptidy s vyšší protonovou afinitou budou ionizovat dříve než ty s protonovou afinitou menší, což vyústí v potlačení signálu peptidů s nízkou protonovou afinitou, a tudíž nižší míru ionizace těchto peptidů. Přidáním $\text{CB}[7]$ do reakční směsi dochází k tvorbě komplexů mezi $\text{CB}[7]$ a terminálním fenylalaninem a intenzita signálu těchto komplexů v hmotnostním spektru se zvýšila 3–7krát v závislosti na typu peptidu. Dalším benefitem této metody je, že zvýšením ionizační efektivity je umožněno provádět experimenty pomocí kolizně indukované disociace. Před reakcí s $\text{CB}[7]$ CID experimenty byly buďto neproveditelné nebo docházelo k velmi nízké míře fragmentace, avšak po reakci bylo touto metodou možné fragmentovat a charakterizovat 61–75 % aminokyselin tvořící vázaný peptid.

II PRAKTICKÁ ČÁST

4 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

4.1 Vybavení a přístroje

Analýzy byly provedeny na hmotnostním spektrometru značky amaZon X (Bruker Daltonics, Brémy, Německo) vybaveným elektrosprejovou ionizací. Jako hmotnostní analyzátor byla použita iontová past. Sušicím plynem byl dusík. K měření fragmentace byla využita kolizně indukovaná disociace, kde kolizním plynem bylo helium. Software využitý k ovládání hmotnostního spektrometru byl Trap Control a k vyhodnocení spekter bylo využito softwaru Data Analysis.

Analyzovanými makrocyclickými sloučeninami byly α -, β -, γ -cyklodextrin a cucurbit[7]uril. Použitá rozpouštědla (voda, methanol) byla v kvalitě LC–MS zakoupena z komerčních zdrojů. Ligandy byly připraveny Filipem Zatloukalem v rámci jeho diplomové práce

4.2 Charakteristika analyzovaných ligandů

V této bakalářské práci byly analyzovány celkem čtyři ligandy. Jednotlivé ligandy se od sebe lišily přítomnými funkčními skupinami a/nebo polohou substituce benzenového jádra. Konkrétně se jednalo o dva „alkoholy“ a dva „ketony“. Benzenové jádro bylo substituováno v poloze *para* nebo *meta*. Všechny čtyři ligandy disponují pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidinovým motivem disubstituovaným v polohách 7 a 4. V poloze 7 se vyskytuje isopropyl a v poloze 4 sekundární aromatický amin, na který je v poloze *para* nebo *meta* navázána karbonylová skupina s adamantanovým skeletem nebo hydroxylová skupina se adamantanovým skeletem. Tento skelet se díky svým rozměrům může vázat do kavity makrocyclických sloučenin za vzniku supramolekulárních komplexů. Použité ligandy byly pro lepší orientaci čtenáře v předložené práci označeny jako **L1–L4**.

(1-adamantyl)(4-[(7-isopropyl-7*H*-pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidin-4yl)amino]fenyl) methanol

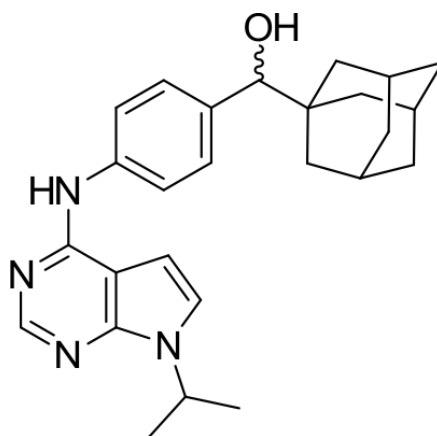
Označení: L1

Sumární vzorec: C₂₆H₃₂N₄O

Exaktní hmotnost: 416,258 u

Vzhled: bezbarvý krystalický prášek

Bod tání: 208–211 °



**(1-adamantyl)(3-[(7-isopropyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-4-yl)amino]fenyl)
methanol**

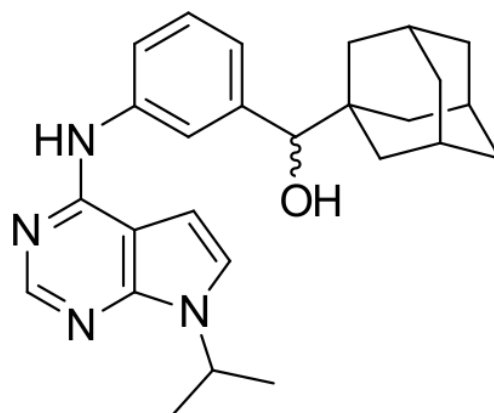
Označení: L2

Sumární vzorec: $C_{26}H_{32}N_4O$

Exaktní hmotnost: 416,258

Charakter: bezbarvý krystalický prášek

Bod tání: 254 – 259 °C



**(1-adamantyl)(3-[(7-isopropyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-4-yl)amino]fenyl)
methanon**

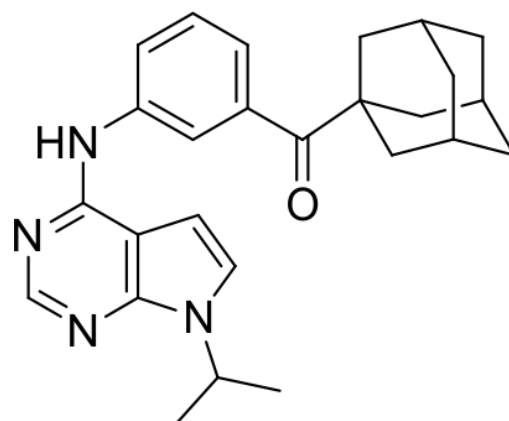
Označení: L3

Sumární vzorec: $C_{26}H_{30}N_4O$

Exaktní hmotnost: 414,242

Charakter: bezbarvý krystalický prášek

Bod tání: 161 – 165 °C



**(1-adamantyl)(4-[(7-isopropyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-4-yl)amino]fenyl)
methanon**

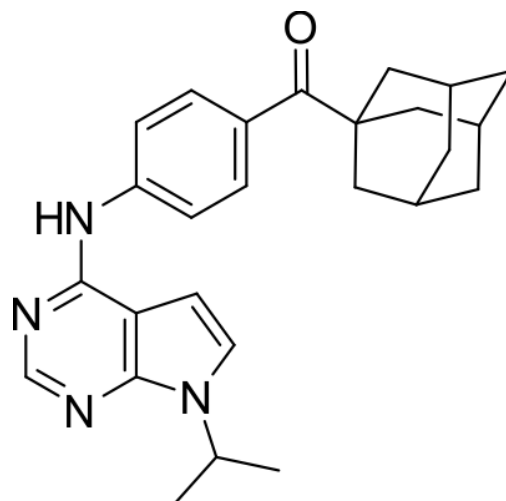
Označení: L4

Sumární vzorec: $C_{26}H_{30}N_4O$

Exaktní hmotnost: 414,242

Charakter: bezbarvý krystalický prášek

Bod tání: 237 – 242 °C



4.3 Analýza samotných ligandů

Prvním krokem byla příprava vzorků samotných ligandů. Vzorky byly připraveny navážením 1 mg ligandu do vialky Eppendorf™ o objemu 1,5 ml. Vzorky byly následně rozpuštěny v 1 ml methanolu. Z tohoto roztoku bylo odpipetováno 3 μ l vzorku do vialky Eppendorf™ o objemu 1,5 ml obsahující 0,5 ml methanolu a 0,5 ml vody. Všechny ligandy byly podrobeny analýze v kladném a záporném skenovacím módu a rovněž byla provedena izolace a následná fragmentace vybraných iontů pomocí kolizně indukované disociace (CID).

4.3.1 Parametry ESI–MS analýzy

Napětí na kapiláře:	± 4200 V
Napětí na konci kapiláry:	± 140 V
Průtok vzorku:	3 μ l / min
Průtok sušícího plynu:	6 l / min
Tlak rozprašovacího plynu:	8 psi
Teplota sušícího plynu:	220 °C
Skenovací mód:	kladný, záporný
Maximální počet iontů v pasti (ICC):	200 000
Maximální akumulací čas:	20 ms
Rozsah měřeného m/z :	50–2000 m/z
Target mass:	500 m/z

4.3.2 Parametry CID

Rozpětí amplitudy použité během fragmentace se lišilo v závislosti na daném vzorku a pro potřeby stanovení iontového výtěžku bylo následující:

Ligand 1:	0,20–0,65
Ligand 2:	0,20–0,50
Ligand 3:	0,05–0,70
Ligand 4:	0,10–0,60

4.4 Analýza supramolekulárních komplexů

Vzorky byly připraveny odpipetováním 5,2 μl roztoku připraveného rozpuštěním 1 mg ligandu v 1 ml methanolu (viz kapitola 4.3) a přeneseny do vialky Eppendorf™ 1,5 ml obsahující předem vypočítané množství vody. Koncentrace ligandu činila 12,5 μM . Do vodného roztoku ligandu bylo dále přidáno odpovídající množství daného makrocyklu tak, aby vzorek obsahoval makrocyklus a ligand v molárním poměru 3:1 (**Tabulka 3**). Analogicky byly připraveny roztoky ligandů se všemi použitými makrocycly. Parametry provedených analýz jsou uvedeny v kap. 4.4.1.

Tabulka 3. Množství ligandu, makrocyklu a vody použité k přípravě studovaných roztoků.

Ligand	Makrocyklus	Objem Ligandu [μl]	Objem Makrocyklu [μl]	Objem vody [μl]
L1	α -CD	5,2	36,5	958,3
	β -CD	5,2	42,6	952,2
	γ -CD	5,2	48,6	946,2
	CB[7]	5,2	43,6	951,2
L2	α -CD	5,2	36,5	958,3
	β -CD	5,2	42,6	952,2
	γ -CD	5,2	48,6	946,2
	CB[7]	5,2	43,6	951,2
L3	α -CD	5,2	36,5	958,3
	β -CD	5,2	42,6	952,2
	γ -CD	5,2	48,6	946,2
	CB[7]	5,2	43,6	951,2
L4	α -CD	5,2	36,5	958,3
	β -CD	5,2	42,6	952,2
	γ -CD	5,2	48,6	946,2
	CB[7]	5,178	43,61	951,18

4.4.1 Parametry ESI–MS analýz supramolekulárních komplexů

Napětí na kapiláře:	± 4000 V
Napětí na konci kapiláry:	–70 až 140 V
Průtok vzorku:	3 μ l / min
Průtok sušícího plynu:	8 l / min
Tlak rozprašovacího plynu:	30 psi
Teplota sušícího plynu:	300 °C
Skenovací mód:	kladný, záporný
Maximální počet iontů v pasti (ICC):	200 000
Maximální akumulací čas:	20 ms
Rozsah měřeného m/z :	50–3000 m/z
Target mass:	1000–1500 m/z

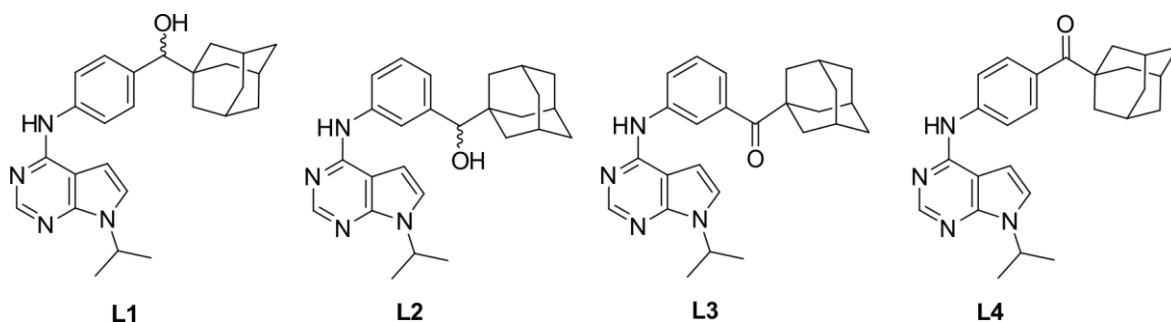
5 VÝSLEDKY A DISKUZE

Hlavní úlohou této kapitoly bude popsat výsledky měření jak samotných ligandů, tak jejich komplexů s makrocikly, popsat tvorbu komplexů těchto látek a částečně popsat jejich chování v plynné fázi. První část této kapitoly bude věnována popisu analýz ligandů (**L1**–**L4**). V druhé části bude popsáno měření celkem 16 vzorků získaných kombinací všech ligandů a makrocyklů jejíž součástí bude diskuze o jejich schopnosti tvořit supramolekulární komplexy v plynné fázi.

5.1 ESI–MS analýza samotných ligandů

Jelikož byly ligandy použité v rámci této práce (Obrázek 24) již dříve strukturně popsány [61], nebylo měření prováděno za účelem získat informace o struktuře těchto látek, nýbrž k potvrzení, že se skutečně jedná o konkrétní látku. Zároveň bylo cílem seznámit se s používáním daného přístroje a nastavováním základním parametrů, jelikož se jedná o relativně sofistikovanou instrumentaci, s níž jsem v rámci bakalářského studia doposud neměl možnost pracovat. Pro každý ligand byly rovněž provedeny CID experimenty za účelem získání informací o fragmentaci a stabilitě vybraných iontů. Měření byla provedena v pozitivním i negativním skenovacím módu.

Jelikož látky s hydroxylovou skupinou (**L1** a **L2**) a látky s karbonylovou skupinou (**L3** a **L4**) disponují stejnou hmotností, a tudíž by v jejich spektrech měly být pozorovány signály se stejnými hodnotami m/z , budou v následujících odstavcích popsány tyto páry společně.



Obrázek 24. Strukturní vzorce analyzovaných ligandů.

Ve spektrech prvního řádu analyzovaných ligandů **L1** a **L2**, tedy *para* a *meta* alkoholů byly detekovány dva významné signály v pozitivním i negativním skenovacím módu. Tyto jedenkrát nabitě signály byly identifikovány jako protonovaná molekula ligandu **L1** a **L2** $[M+H]^+$ (m/z 417) a sodný $[M+Na]^+$ (m/z 439) adukt ligandu. Další signál v tomto spektru

se nacházel při hodnotě m/z 833 a odpovídal jedenkrát protonovanému dimeru $[2\cdot M+H^+]^+$. V negativním skenovacím módu byl pozorován jedenkrát nabitý ion o hodnotě 415 m/z , což odpovídá deprotonované molekule ligandu $[M-H^+]^-$. Druhý signál se v tomto spektru vyskytoval při hodnotě 867 m/z . Jednalo se tedy o jedenkrát nabitý chloridový adukt dimeru ligandu $[2\cdot M+Cl^-]^-$.

Podobné výsledky byly pozorovány také při analýze ligandů **L3** a **L4**, které disponují karbonylovou skupinou spojující adamantanový skelet s aromatickým jádrem. Ve spektrech prvního řádu měřeného v pozitivním skenovacím módu bylo pozorováno pět signálů. Opět se vyskytoval ion protonované molekuly ligandu při m/z 415 $[M+H^+]^+$, který dosahoval ze všech iontů nejvyšší intenzity. Dále se ve spektru vyskytovaly ionty o hodnotě m/z 437, který byl identifikován jako sodný adukt $[M+Na^+]^+$ a draselný adukt $([M+K^+]^+)$ při hodnotě 453 m/z . Zároveň byly ve spektru pozorovány dva dimery, a to jedenkrát protonovaný dimer $[2M+H^+]^+$ při hodnotě m/z 829 a sodný adukt dimeru $[2\cdot M+Na^+]^+$ při hodnotě m/z 851. V negativním skenovacím módu byly pozorovány ionty deprotonované molekuly ligandu při hodnotě 413 m/z $[M-H^+]^-$ a chloridový adukt při hodnotě 449 $[M+Cl^-]^-$. Posledním pozorovaným iontem byl chloridový adukt dvou molekul ligandu při hodnotě m/z 863 $[2\cdot M+Cl^-]^-$.

V **Tabulce 4** je uvedeno shrnutí naměřených dat a porovnání pozorovaných hodnot m/z s vypočítanými hodnotami m/z jednotlivých iontů. V tabulce jsou vedle sebe teoretické hodnoty získané součtem exaktní hmotnosti analytu a iontu (případně odečtením hmotnosti) a hodnoty získané experimentálně.

Tabulka 4. Výsledky ESI–MS analýzy látek **L1–L4**.

+MS									−MS						
[M+H ⁺] ⁺			[M+K ⁺] ⁺		[M+Na ⁺] ⁺		[2·M+H ⁺] ⁺		[M−H ⁺] [−]		[M+Cl [−]] [−]		[2·M+Cl [−]] [−]		
LIG.	VYP.	EXP.	VYP.	EXP.	VYP.	EXP.	VYP.	EXP.	VYP.	EXP.	VYP.	EXP.	VYP.	EXP.	
L1	417,3	417,3	455,2	ND	439,2	439,2	833,5	833,4	415,3	415,4	451,3	ND	867,1	867,1	
L2	417,3	417,3	455,2	ND	439,2	439,2	833,5	833,4	415,3	415,4	451,3	ND	867,1	867,1	
L3	415,2	415,2	453,2	453,2	437,2	437,2	829,5	829,4	413,3	413,3	449,3	449,3	863,1	863,1	
L4	415,2	415,2	453,2	453,2	437,2	437,2	829,5	829,4	413,3	413,3	449,3	449,3	863,1	863,1	

ND= nedetekováno

Pro zjištění stability jednotlivých ligandů byla provedena řada měření při, kterých byl ion $[M+H]^+$ izolován a následně fragmentován za podmínek kolizně indukované disociace. Izolovaný ion byl následně vystaven zvyšující se hodnotě amplitudy v rozsahu 0,10 V až 0,70 V, kde v každém kroku došlo k navýšení amplitudy o 0,05 V. Při zvyšování kolizní energie došlo k fragmentaci izolovaného (prekurzorového) iontu a snížení jeho intenzity, jež doprovázel vznik iontů produktových. Tato data byla využita pro vypočtení tzv. iontového výtěžku (IV) dle následujícího vztahu:

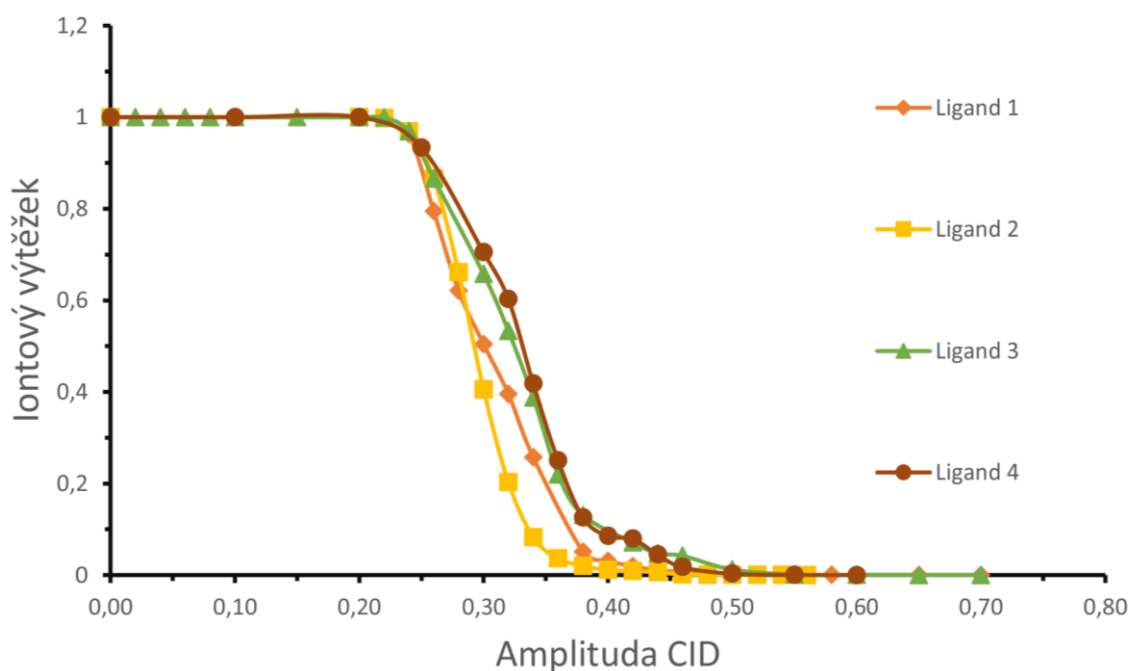
$$\text{Iontový výtěžek} = \frac{I_P}{I_P + \sum I_F} \quad (1)$$

kde:

I_P intenzita precursorového iontu

$\sum I_F$ intenzita všech produktových iontů (vznikajících fragmentů)

Data získaná touto metodou byla přenesena do grafu, který je znázorněn na **Obrázku 25**. Na obrázku je možno vidět, že energie potřebná k fragmentaci molekuly byla v případě všech látek značně podobná. Všechny čtyři látky začínají fragmentovat při hodnotách amplitudy 0,20–0,22 a k úplnému vymizení precursorových iontů docházelo při hodnotě 0,50–0,55. Nejstabilnějším ligandem byl tedy ligand **L4**. Iontových výtěžků je dále využíváno ke stanovení charakteristické kolizní energie. Tento parametr je definován jako taková kolizní energie, při které intenzita fragmentovaného iontu nabývá stejných hodnot jako součet všech intenzit fragmentů molekuly. Charakteristická kolizní energie těchto sloučenin se pohybovala mezi hodnotami amplitudy 0,29 až 0,33. Charakteristická kolizní energie sloučenin **L1** a **L2** byla stanovena jako 0,30 a 0,29, sloučenin **L3** a **L4** jako 0,32 a 0,33.



Obrázek 25. Výsledky fragmentace ligandů pomocí CID.

5.2 Studium komplexace ligandů s použitými makrocikly

Všechny použité ligandy disponují adamantanovým skeletem, o kterém je známo, že se díky svým rozměrům dokáže vázat do kavity různých makrocyclických sloučenin.

Následující část představuje hlavní cíl této bakalářské práce, tedy prozkoumat vznik supramolekulárních komplexů látek představených v kapitole 4.2 s makrocikly, kterými byly α -, β -, γ -cyklodextrin a cucurbit[7]uril. Stejně jako v předchozí kapitole budou látky **L1–L4** rozděleny do dvou skupin, a to na *para* a *meta* alkoholy (**L1** a **L2**), které disponují hydroxylovou skupinou mezi adamantanovým skeletem a aromatickým jádrem. Druhou skupinou budou *para* a *meta* ketony (**L3** a **L4**), jejímž společným znakem je přítomnost karbonylové skupiny.

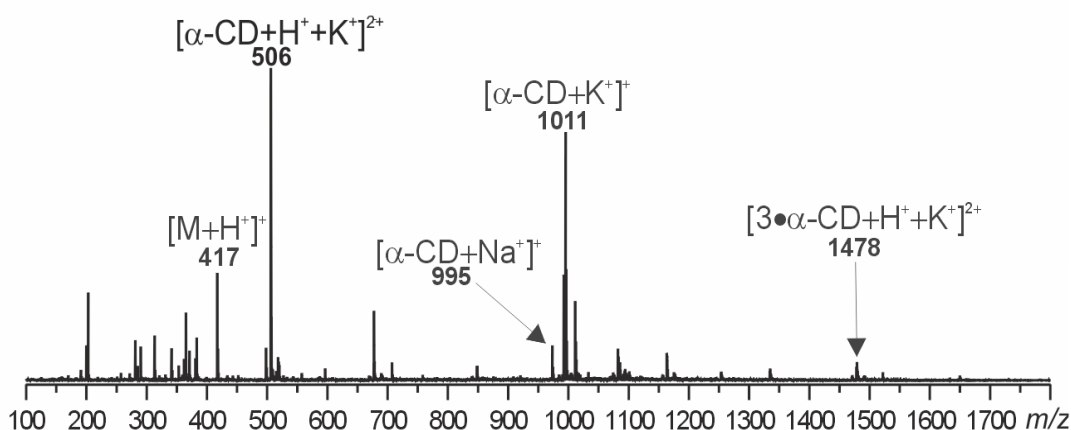
5.2.1 Supramolekulární komplexy L1 a L2 s α -cyklodextrinem

Ve spektru prvního řádu analyzované směsi **L1** a α -CD byl pozorován již známý signál při hodnotě 417 m/z , tedy $[M+H]^+$. Dalším signálem, který v tomto spektru dosahoval nejvyšší intenzity, byl signál při hodnotě 995 m/z . Tento signál byl identifikován jako jedenkrát nabitý sodný adukt α -CD $[\alpha\text{-CD}+\text{Na}^+]^+$. Posledním identifikovaným signálem v tomto spektru byl

draselný adukt α -CD $[\alpha\text{-CD}+\text{K}^+]^+$ o m/z 1011. Signál odpovídající komplexu ligandu **L1** a α -CD nebyl, dle původního předpokladu, ve spektru pozorován.

Analýza směsi **L2** s α -CD vedla k pozorování většího počtu signálů, z nichž se podařilo navrhnout strukturu pěti iontů ve spektru se vyskytujících. První signál se nacházel při hodnotě 417 m/z , a tudíž byl identifikován jako protonovaná forma **L2** $[\text{M}+\text{H}^+]^+$. Dalšími signály identifikovanými ve spektru byly dva adukty α -CD. Jednalo se o sodný adukt při hodnotě 995 m/z $[\alpha\text{-CD}+\text{Na}^+]^+$ a draselný adukt při hodnotě 1011 m/z $[\alpha\text{-CD}+\text{K}^+]^+$. Tyto signály jsou stejné jako signály identifikované při předchozím měření, avšak ve spektru této směsi byly pozorovány ještě dva další signály. Těmi byly dvakrát nabitě ionty o m/z 506 a 1478. První signál byl identifikován jako adukt makrocyclu obsahující proton a draselný kation $[\alpha\text{-CD}+\text{H}^++\text{K}^+]^{2+}$. Druhý zmíněný by pak mohl odpovídat nespecifickému agregátu sestávajícímu ze tří jednotek α -CD, protonu a draselného kationtu $[3\cdot\alpha\text{-CD}+\text{H}^++\text{K}^+]^{2+}$. Tyto vyšší agregáty (či asociáty) mohou být ve spektrech pozorovány v případě, že se makrocyclická sloučenina ve směsi nachází ve vyšší koncentraci a vykazuje schopnost taková uskupení vytvářet, např. prostřednictvím vodíkových vazeb mezi makrocycly.

Ve spektru nebyl identifikován žádný signál odpovídající komplexu ligandu **L2** s α -CD. Důvodem je pravděpodobně malý rozměr kavity α -CD, která není dostatečně objemná pro tvorbu inkluzního komplexu s adamantanovým motivem. ESI–MS spektrum směsi ligandu **L2** s α -CD v molárním poměru 1:3 (ve vodě) je znázorněno na **Obrázku 26**.



Obrázek 26. ESI–MS spektrum látky **L2** s α -CD (**L2** = **M**).

5.2.2 Supramolekulární komplexy L3 a L4 s α -cyklodextrinem

Ve spektrech analyzované směsi **L3** s α -CD bylo identifikováno celkem pět iontů. Prvním identifikovaným byl signál protonovaného ligandu **L3** $[M+H]^+$ s hodnotou 415 m/z . Ostatní signály náležely α -CD. První ze čtyř signálů α -CD se nacházel při 506 m/z a jednalo se tedy o dvakrát nabitý ion určený jako $[\alpha\text{-CD}+H^++K^+]^{2+}$. Dalšími dvěma signály byly již výše popsane signály sodného aduktu $[\alpha\text{-CD}+Na^+]^+$ při 995 m/z , respektive draselného aduktu při 1011 m/z $[\alpha\text{-CD}+K^+]^+$.

Ve spektrech prvního řádu směsi **L4** a α -CD v molárním poměru 1:3 byl pozorován signál iontu, který svou hmotností odpovídal sodnému aduktu látky **L4** $[M+Na^+]^+$ při hodnotě m/z 437. Dalšími pozorovanými signály byly signály pocházející z α -CD. Konkrétně se jednalo o signál protonované formy α -CD $[\alpha\text{-CD}+H^+]^+$ při 973 m/z a sodný adukt α -CD $[\alpha\text{-CD}+Na^+]^+$, který se vyskytoval při 995 m/z . Posledním identifikovaným signálem byl draselný adukt α -CD $[\alpha\text{-CD}+K^+]^+$ při hodnotě 1011 m/z .

Ani v jedné směsi studovaných ligandů s α -CD nebyl pozorován signál, který by svým poměrem hmotnosti ku náboji odpovídal jakékoliv formě supramolekulárnímu komplexu typu hostitel–host (tedy komplexu inkluzního). Toto odpovídá našemu předpokladu, že kavita α -CD není dostatečně objemná, aby dokázala pojmout některý ze studovaných ligandů.

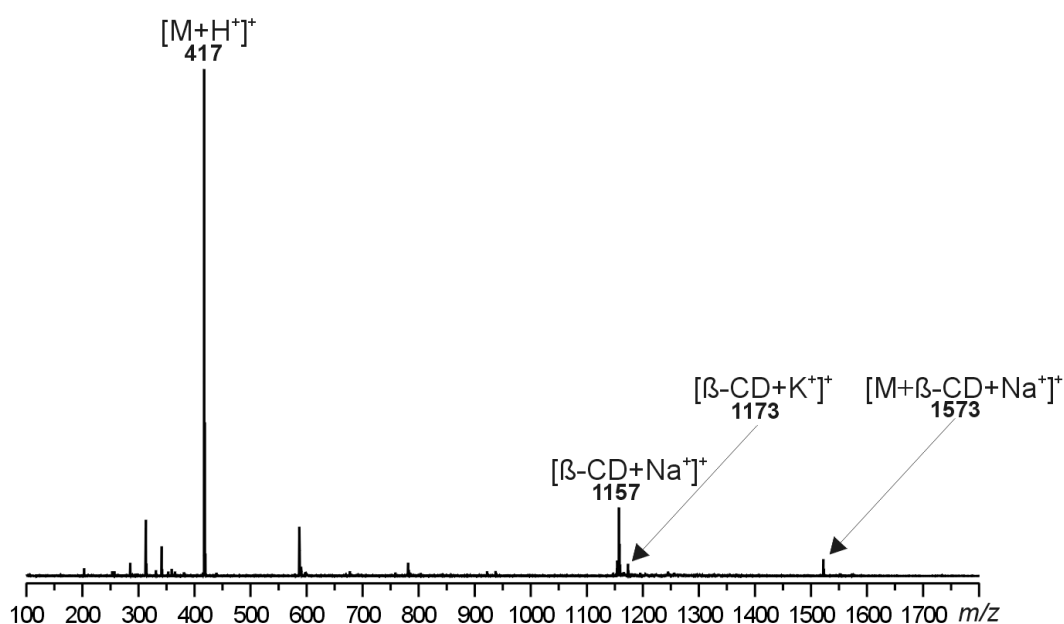
5.2.3 Supramolekulární komplexy L1 a L2 s β -cyklodextrinem

Po potvrzení našich předpokladů ohledně absence vzniku komplexů studovaných ligandů s α -CD následovaly experimenty větším homologem z rodiny cyklodextrinů, a sice s β -CD. V tomto případě se očekávalo, že ačkoliv je tento makrocyklus větší pouze o jednu glukosovou jednotku, jeho kavita bude dostatečně objemná pro vznik supramolekulárního komplexu typu hostitel–host.

Po provedení měření byly identifikovány signály již výše popsane, tedy signál jedenkrát protonované molekuly hosta **L1** a **L2** $[M+H]^+$ při 417 m/z a sodný a draselný adukt β -CD $[\beta\text{-CD}+Na^+/K^+]^+$ s hodnotou 1157 a 1173 m/z .

Kromě těchto signálů byl ve spektru směsi **L1** s β -CD (1:3) pozorován další signál, vyskytující se při hodnotě 1573 m/z odpovídající sodnému aduktu komplexu **L1** a β -CD $[M+\beta\text{-CD}+Na^+]^+$. Ve spektru směsi **L2**· β -CD byly navíc pozorovány další dva signály s hodnotou 1551 m/z a 1589 m/z . Také tyto dva ionty byly identifikovány jako signály

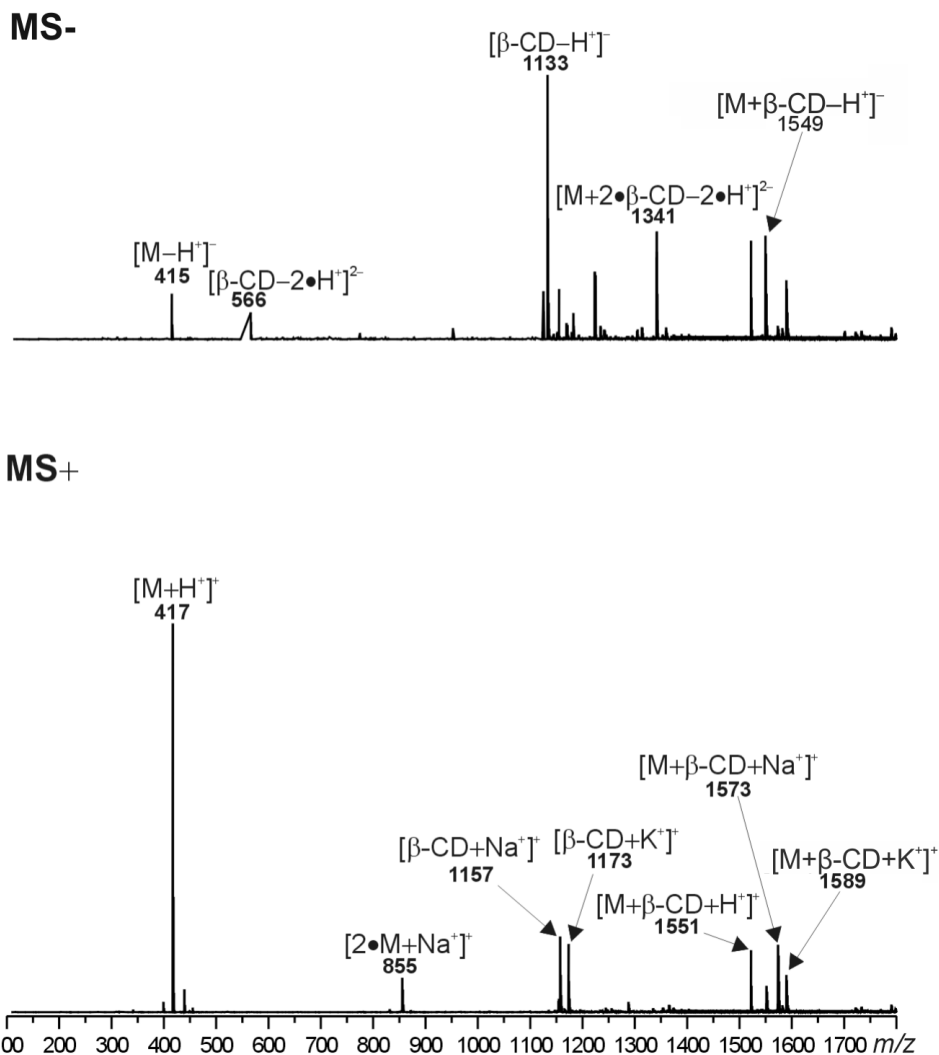
supramolekulárních komplexů. Signál u $1551\ m/z$ byl identifikován jako protonovaná forma komplexu $[M+\beta\text{-CD}+\text{H}^+]^+$ a signál s hodnotou $1589\ m/z$ jako draselný adukt $\beta\text{-CD}$ $[M+\beta\text{-CD}+\text{K}^+]^+$. Bohužel se ani v jednom případě nepodařilo jakýkoliv ion odpovídající vznikajícímu hostitel–host komplexu typu **L1/L2**@ $\beta\text{-CD}$ podrobit izolaci a následné CID fragmentaci, pravděpodobně z důvodu malé stability vznikajících komplexů, a nemohlo tak být detailněji prozkoumáno chování těchto iontů v plynné fázi. Ukázalo se však, že objemnější kavita hostitele, byť jen o jednu glukosovou jednotku, nabývala dostatečných rozměrů pro tvorbu komplexů s ligandy **L1** a **L2**.



Obrázek 27. ESI–MS spektrum látky **L1** s $\beta\text{-CD}$ (**L1** = **M**)

Nabízela se však otázka, zda nebude možné pozorovat vznikající komplexy v negativním skenovacím módu a zda-li nebude případně stabilita vznikajících komplexů v negativním skenovacím módu dostatečná pro provedení MS/MS experimentů. Spektra získaná v negativním skenovacího módu obsahovala signály deprotonovaného ligandu **L1** nebo **L2** ($415\ m/z$) $[M-\text{H}^+]^-$, deprotonovaného makrocyclu při $1133\ m/z$ $[\beta\text{-CD}-\text{H}^+]^-$ a dvakrát deprotonovaného makrocyclu $[\beta\text{-CD}-2\cdot\text{H}^+]^{-2}$ při $566\ m/z$. Signál komplexu byl identifikován jako jedenkrát nabitý ion o m/z 1549 odpovídající deprotonované formě komplexu, tedy $[M+\beta\text{-CD}-\text{H}^+]^-$. Tento signál, avšak také nebylo možné izolovat. Poslední identifikovaný signál v tomto spektru se nacházel při $1341\ m/z$ a byl dvakrát záporně nabitý. Tato hodnota m/z odpovídá dvakrát deprotonovanému komplexu dvou jednotek $\beta\text{-CD}$ a jednoho ligandu $[M+\beta\text{-CD}-2\cdot\text{H}^+]^{-2}$. Toto uskupení je však pouhým návrhem vycházejícím

z dostupných dat, tedy pozorované hodnoty m/z a nábojového čísla daného iontu. Domnívám se, že by se mohlo jednat o uskupení, ve kterém by byl k systému $[M+\beta\text{-CD}-\text{H}^+]^-$ externě navázána deprotonovaná jednotka $\beta\text{-CD}$. Nicméně, navrhnout přesnější geometrii tohoto asociátu si v danou chvíli netroufám.

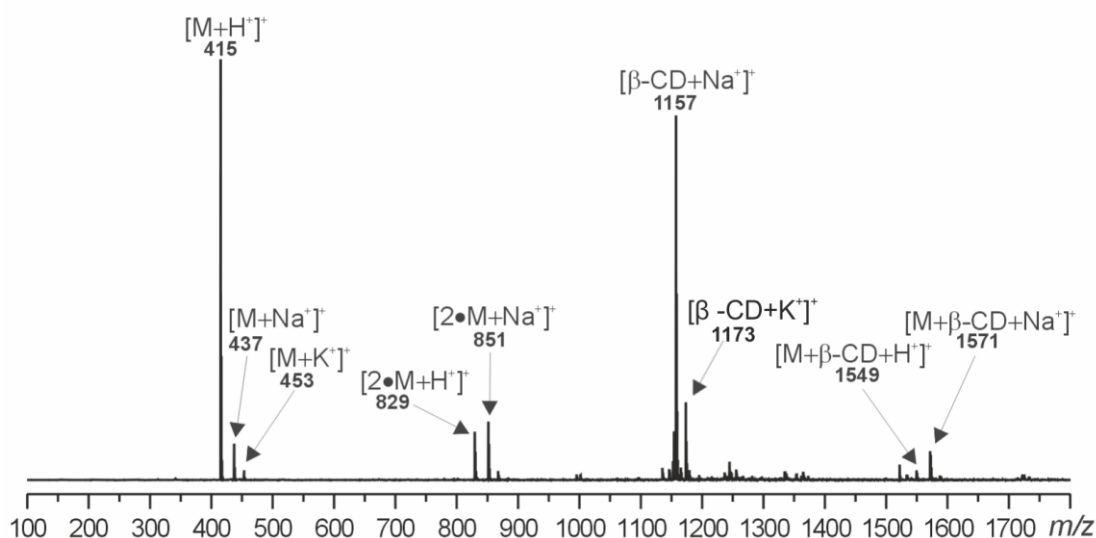


Obrázek 28. ESI-MS spektrum směsi **L2** a $\beta\text{-CD}$ (1:3) v negativním (nahore) a v pozitivním skenovacím módu (dole), (**L2** = **M**).

5.2.4 Supramolekulární komplexy **L3** a **L4** s β -cyklodextrinem

Při analýze směsi **L3** s $\beta\text{-CD}$ (1:3) v pozitivním skenovacím módu byly identifikovány tyto signály: signál protonované látky **L3** $[M+\text{H}]^+$ při $415\ m/z$. Signál sodného aduktu $[M+\text{Na}]^+$ při $437\ m/z$ a draselného aduktu $[M+\text{K}]^+$ při $453\ m/z$. Další dva signály náležely dimerům látky **L3**. První signál, při $829\ m/z$ byl určen jako jedenkrát nabitá protonovaná forma dimeru

$[2\cdot M+H^+]^+$ a druhý signál byl identifikován jako sodný adukt téhož dimeru $[2\cdot M+Na^+]^+$ při 851 m/z . Ve spektru se dále vyskytovaly dva signály aduktů β -CD. Konkrétně sodného aduktu $[\beta\text{-CD}+Na^+]^+$ při 1157 m/z a draselného aduktu β -CD $[\beta\text{-CD}+K^+]^+$ při 1173 m/z . Poslední dva signály odpovídaly svou hodnotou m/z komplexu **L3** a β -CD. První z těchto signálů se objevil při hodnotě 1549 m/z a byl poté identifikován jako protonovaná forma tohoto komplexu $[M+\beta\text{-CD}+H^+]^+$. Druhým signálem byl signál sodného aduktu komplexu **L3** a β -CD, který se vyskytoval při hodnotě 1571 m/z $[M+\beta\text{-CD}+Na^+]^+$.

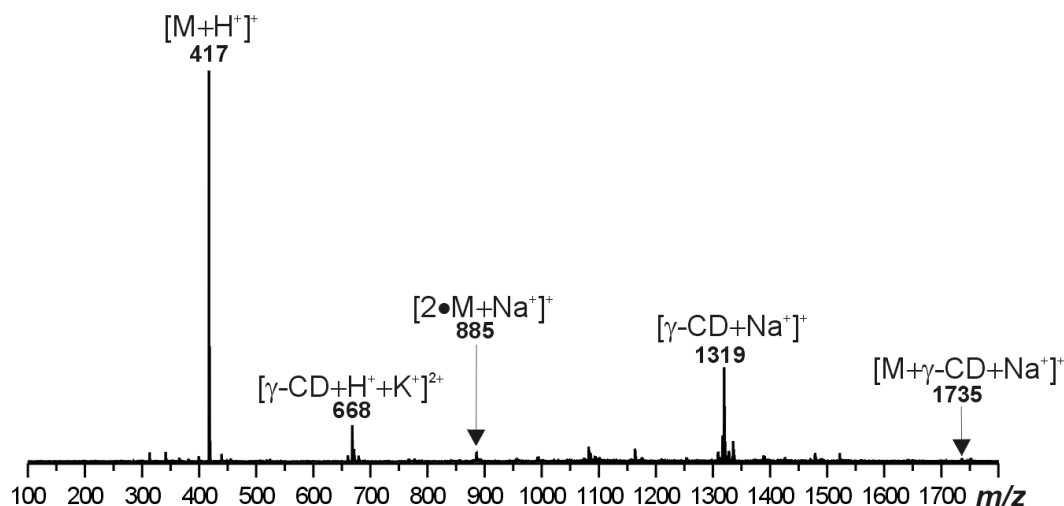


Obrázek 29. ESI–MS spektrum prvního řádu směsi **L3** a β -CD (**L3** = **M**).

Analýza směsi **L4** s β -CD poskytla následující signály: signál protonované molekuly **L3** $[M+H^+]^+$ při hodnotě m/z 415, sodného aduktu $[M+Na^+]^+$ při 437 m/z a aduktu draselného $[M+K^+]^+$ při 453 m/z . Dále se ve spektru vyskytoval signál protonovaného dimeru této molekuly $[2\cdot M+H^+]^+$ při 829 m/z a současně i sodného aduktu tohoto dimeru $[2\cdot M+Na^+]^+$. Znovu se objevily signály β -CD, které byly totožné s předchozími spektry, tedy sodný adukt β -CD $[\beta\text{-CD}+Na^+]^+$ při 1157 m/z a draselný adukt $[\beta\text{-CD}+K^+]^+$ při 1173 m/z . Signál při 1571 m/z byl identifikován jako komplex $[M+\beta\text{-CD}+Na^+]^+$, současně byl také pozorován signál $[M+\beta\text{-CD}+H^+]^+$ při 1549 m/z . Bohužel, ani v tomto případě se nepodařilo jakýkoliv ion odpovídající vznikajícímu hostitel–host komplexu typu **L3/L4**@ β -CD podrobit izolaci a následné CID fragmentaci, opět pravděpodobně z důvodu malé stability vznikajících komplexů.

5.2.5 Supramolekulární komplexy L1 a L2 s γ -cyklodextrinem

Ve spektrech prvního řádu získaných v pozitivním skenovacím módu ligandů **L1** a **L2** s γ -cyklodextrinu bylo identifikováno celkově pět iontů. Signál s nejvyšší intenzitou náležel právě γ -CD, respektive jeho sodnému aduktu $[\gamma\text{-CD}+\text{Na}^+]^+$, který se nacházel při hodnotě 1319 m/z . Dalším signálem v tomto spektru byl ion o 417 m/z , který byl již popsán jako signál protonovaného ligandu **L1** nebo **L2**. Další tři signály, již o nižší relativní intenzitě, náležely sodnému aduktu dimeru ligandů $[2\cdot\text{M}+\text{Na}^+]^+$ při 885 m/z a dvakrát nabitý protonovaný draselný adukt γ -CD $[\gamma\text{-CD}+\text{H}^++\text{K}^+]^{2+}$ při 668 m/z . Posledním signálem, který byl ovšem pozorován pouze ve směsi **L2**· γ -CD (nikoliv ve směsi **L1**· γ -CD), a který měl ze všech pěti pozorovaných nejnižší intenzitu, byl jedenkrát nabitý ion s hodnotou m/z 1735. Tento ion byl identifikován jako sodný adukt komplexu sloučeniny **L2** s γ -CD $[\text{M}+\gamma\text{-CD}+\text{Na}^+]^+$. Izolace tohoto iontu, zřejmě z důvodu jeho nízké intenzity, opět nebyla možná. Důvodem pro takto nízkou intenzitu může být velikost kavity makrocyklu, jelikož host nedokáže efektivně vyplnit její prostor, což může mít zásadní vliv na stabilitu komplexu. Toto pozorování odpovídá původním předpokladům ohledně chování studovaných ligandů s γ -CD.



Obrázek 30. ESI–MS spektrum látky L2 s γ -CD (**L2** = M).

5.2.6 Supramolekulární komplexy L3 a L4 s γ -cyklodextrinem

Analýza směsi **L3** s γ -CD poskytovala signál protonované molekuly **L3** $[\text{M}+\text{H}^+]^+$ při 415 m/z a dva signály pocházející z γ -CD, kterými byly jedenkrát nabitý sodný adukt $[\gamma\text{-CD} + \text{Na}^+]^+$

při 1157 m/z a dvakrát nabitý ion při hodnotě 587 m/z , jemuž byla přiřazena struktura $[\gamma\text{-CD} + \text{H}^+ + \text{K}^+]^{2+}$. Další dva signály náležely komplexu **L3** s $\gamma\text{-CD}$. První signál se vyskytoval při 1549 m/z a byl určen jako $[\text{M} + \gamma\text{-CD} + \text{H}^+]^+$, druhý nabýval hodnoty m/z 1571 a odpovídal sodnému aduktu komplexu $[\text{M} + \gamma\text{-CD} + \text{Na}^+]^+$.

Ve spektru látky **L4** byly pozorovány čtyři signály, těmi byly ion odpovídající protonované formě ligandu **L4** $[\text{M} + \text{H}^+]^+$ při 415 m/z . Druhým signálem byla protonovaná forma draselného aduktu $\gamma\text{-CD}$ $[\gamma\text{-CD} + \text{H}^+ + \text{K}^+]^{2+}$ při 668 m/z . Další signál se nacházel při 885 m/z , nesl nábojové číslo 3+ a byl identifikován jako $[\gamma\text{-CD} + \text{H}^+ + \text{Na}^+ + \text{K}^+]^{3+}$. Posledním identifikovaným signálem byl signál sodného aduktu $\gamma\text{-CD}$ $[\gamma\text{-CD} + \text{Na}^+]^+$ při 1319 m/z .

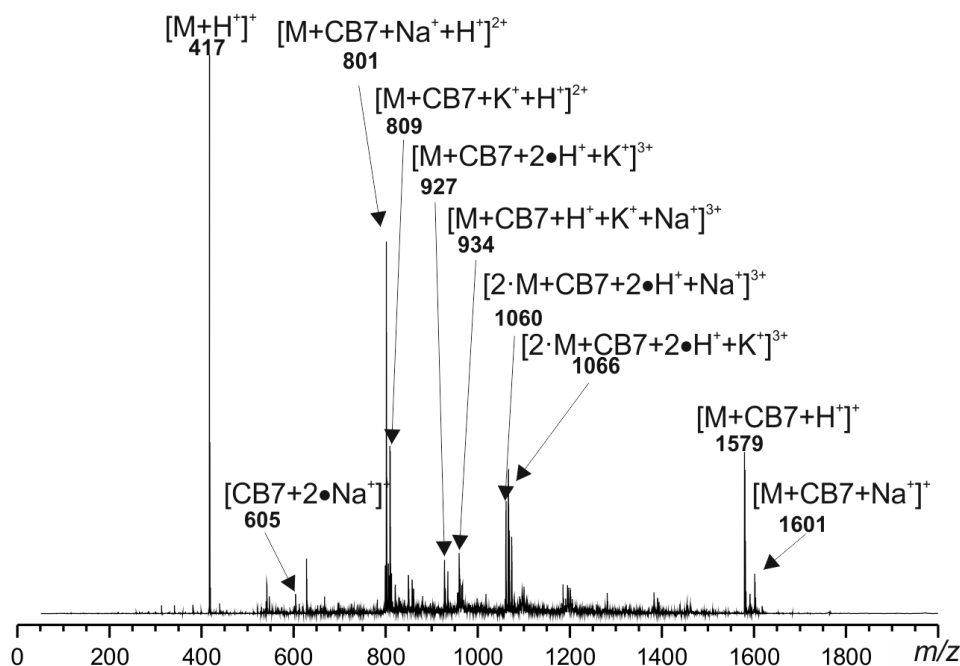
5.2.7 Supramolekulární komplexy **L1** a **L2** s cucurbit[7]urilem

Ve spektru analyzované směsi **L1** a CB7 (1:3) byl pozorován signál protonované molekuly **L1** $[\text{M} + \text{H}^+]^+$ při 417 m/z , dále byly pozorovány dva signály odpovídající dvakrát nabitému iontu $[\text{CB7} + \text{H}^+ + \text{K}^+]^{2+}$ při 1182 m/z a dvakrát nabitému sodnému aduktu $[\text{CB7} + 2 \cdot \text{Na}^+]^{2+}$ při 605 m/z . Signál jednou nabitého sodného aduktu $[\text{CB7} + \text{Na}^+]^+$ byl identifikován jako jedenkrát nabitý ion s hodnotou 1185 m/z . Dále se ve spektru vyskytovaly dva signály o m/z odpovídající možnému vzniku supramolekulárního komplexu. Těmi byly: dvakrát nabitý ion o 801 m/z a jedenkrát nabitý ion s hodnotou 1579 m/z . Struktura prvního byla navržena jako komplex ligandu **L1** a CB7 doprovázený jedním protonem a sodným kationtem $[\text{M} + \text{CB7} + \text{H}^+ + \text{Na}^+]^{2+}$, druhý jako protonovaná forma komplexu $[\text{M} + \text{CB7} + \text{H}^+]^+$. Dále se ve spektru objevily tři vícenásobně nabité ionty, kterými by mohly být následující nespecifické agregáty: $[\text{M} + 2 \cdot \text{CB7} + \text{H}^+ + \text{Na}^+]^{2+}$ při 1382 m/z , $[\text{M} + 2 \cdot \text{CB7} + 2 \cdot \text{H}^+ + \text{K}^+]^{3+}$ při 927 m/z , $[\text{L1} + 2 \cdot \text{CB7} + \text{H}^+ + 2 \cdot \text{Na}^+]^{3+}$ při 929 m/z .

Spektrum směsi **L2** a CB7 poskytovalo několik signálů, shodujících se s výše komentovanou směsí (**L1** a CB7), těmi byly: protonovaná molekula ligandu $[\text{M} + \text{H}^+]^+$ při 417 m/z , dvakrát nabitý sodný adukt CB7 $[\text{CB7} + 2 \cdot \text{Na}^+]^{2+}$ při 605 m/z , signál protonovaného komplexu $[\text{M} + \text{CB7} + \text{H}^+]^+$ při 1579 m/z a sodného aduktu protonovaného komplexu $[\text{M} + \text{CB7} + \text{H}^+ + \text{Na}^+]^{2+}$ při 801 m/z . Další signály, které se neobjevovaly v předchozím spektru, byly: dvakrát nabitý signál komplexu $[\text{M} + \text{CB7} + \text{H}^+ + \text{K}^+]^{2+}$ při 809 m/z a sodný adukt komplexu $[\text{M} + \text{CB7} + \text{Na}^+]^+$ při 1601 m/z . Pozorováno bylo současně pět dalších nespecifických agregátů, jejichž struktura byla navržena jako: $[\text{M} + 2 \cdot \text{CB7} + 2 \cdot \text{H}^+ + \text{K}^+]^{3+}$ při

927 m/z , $[M+2\cdot CB7+H^++2\cdot Na^+]^{3+}$ při 929 m/z , $[2\cdot M+2\cdot CB7+2\cdot H^++Na^+]^{3+}$ při 1060 m/z , $[2\cdot M+2\cdot CB7+2\cdot H^++K^+]^{3+}$ při 1066 m/z a $[2\cdot M+2\cdot CB7+H^++Na^++K^+]^{3+}$ při 1073 m/z .

Signál protonovaného komplexu $[M+CB7+H^+]^+$ při 1579 m/z bylo dále možné izolovat a provést jeho fragmentaci. Prekursorový ion začal fragmentovat až při velmi vysoké hodnotě amplitudy, která činila 1,60. V MS/MS spektru byly pozorovány dva produktové ionty, a sice signál o 1561 m/z , který byl identifikován jako $[M+CB7+H^+-H_2O]^+$ vznikající neutrální ztrátou molekuly vody a signál o m/z 1163 odpovídající protonované formě CB7 $[CB7+H^+]^+$. Nutno podotknout, že vzhledem ke značné stabilitě prekursorového iontu a hodnotě použité amplitudy, byla intenzita MS/MS spektra velmi nízká a v něm vznikající produktové ionty se jevily jako nestabilní. Z tohoto důvodu se nepodařilo získat dostatečně kvalitní záznam MS/MS spektra, z něhož by mohl být připraven výstup v podobě obrázku.



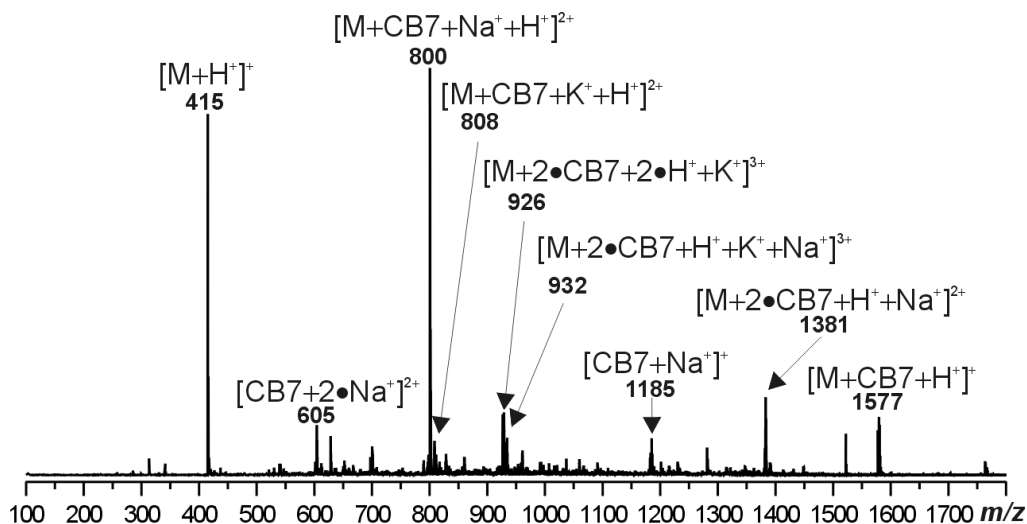
Obrázek 31. ESI-MS spektrum látky L2 s CB7 (L2 = M).

5.2.8 Supramolekulární komplexy L3 a L4 s cucurbit[7]urilem

Ve spektru L3 s CB7 byl opět pozorován signál protonované molekuly L3 $[M+H^+]^+$ při 415 m/z , protonovaného komplexu $[M+CB7+H^+]^+$ při 1577 m/z a při hodnotě 605 m/z se nacházel signál dvakrát nabitého sodného aduktu CB7 $[CB7+2\cdot Na^+]^{2+}$. Dále byl pozorován signály dvakrát nabitého komplexu $[M+CB7+H^++Na^+]^{2+}$ při 800 m/z a $[M+CB7+H^++K^+]^{2+}$ při 808 m/z . Dále se ve spektru nacházely tři nespecifické agregáty: $[M+2\cdot CB7+2\cdot H^++K^+]^{3+}$ při

926 m/z , $[M+2\cdot CB7+H^++Na^++K^+]^{3+}$ při 932 m/z a posledním identifikovaným agregátem byl $[M+2\cdot CB7+H^++Na^+]^{2+}$ při 1381 m/z .

Totožné signály byly pozorovány i ve spektru **L4** s CB7.



Obrázek 32. ESI–MS spektrum prvního řádu směsi ligandu **L3** s CB7 měřeno v pozitivní módu (**L3** = **M**).

Signál $[M+CB7+H^+]^+$ při 1577 m/z bylo možné izolovat a provést fragmentaci. V MS/MS spektru bylo možné pozorovat ion protonované formy CB7 při 1163 m/z $[CB7+H^+]^+$, posledním identifikovaným signálem byla protonovaná forma ligandu **3** $[M+H^+]^+$.

5.3 Shrnutí výsledků analýzy

Výsledky popsané v kapitole 5.2 jsou pro vyšší přehlednost sumarizovány v **Tabulce 5**. Informace v této tabulce popisují vznik supramolekulárních komplexů ligandů **L1–L4** s vybranými makrocikly. Výsledky měření ukazují, že s α -CD nebyl pozorován vznik komplexu ani s jedním z ligandů, zato s β -CD bylo možno pozorovat vznik komplexu s každým jednotlivým ligandem. V případě γ -CD byl vznik komplexu potvrzen pouze u ligandů **L2** a **L3**. Všechny tyto signály, však disponovaly velmi nízkou intenzitou. S CB7 byl taktéž pozorován vznik komplexu se všemi použitými ligandy. CB7 a β -CD se při této analýze projeví jako vhodné makrocykly pro tvorbu supramolekulárních komplexů s ligandy **L1–L4**. Výsledky dále naznačují, že zbývající dva makrocykly nejsou pro tyto látky vhodnými hostiteli. V případě α -CD komplex nevznikal vůbec, pravděpodobně vlivem malého objemu kavity makrocyklu. V případě γ -CD, přestože komplex vznikal, jeho signál disponoval značně nízkou mírou intenzity, což může naznačovat nízkou míru komplexace.

Tabulka 5. Shrnutí výsledků ESI–MS analýzy komplexace.

Makrocyclus

Ligand	α -CD	β -CD	γ -CD	CB7
L1	X	✓	X	✓
L2	X	✓	✓	✓
L3	X	✓	✓	✓
L4	X	✓	X	✓

ZÁVĚR

Tato bakalářská práce se věnovala studiu vzniku supramolekulárních komplexů látek **L1–L4** s vybranými makrocycly v plynné fázi. Látkami, které v této bakalářské práci figurovaly jako hosté, byly čtyři deazapuriny (pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidiny), o jejichž syntézu se postaral Ing. Filip Zatloukal v rámci jeho diplomové práce. Tato bakalářská práce tudíž navazuje na již zmíněnou diplomovou práci a jejím cílem bylo rozšířit znalosti o charakteru těchto látek z pohledu supramolekulární chemie. Cílem bylo ověřit schopnost studovaných látek tvořit supramolekulární komplexy typu hostitel–host s vybranými makrocycly v plynné fázi.

Všechny čtyři ligandy obsahovaly 4,7-disubstituovaný deazapurinový motiv, který byl v poloze 4 substituován aromatickým aminem. Tento amin pomocí „linkeru“ spojuje adamantanový skelet s touto molekulou. Právě tímto „linkerem“ se všechny čtyři zkoumané molekuly liší, a to buď polohou „linkeru“ (*meta* nebo *para*) anebo skupinou jež jej tvoří (hydroxylová nebo karbonylová). Schopnost tvořit supramolekulární komplexy těchto látek s makrocycly byla prozkoumána a popsána v experimentální části této práce.

Analýzy byly provedeny na hmotnostním spektrometru s iontovou pastí vybaveným elektrosprejovou ionizací. Samotné ligandy byly podrobeny analýze na hmotnostním spektrometru, přičemž byla nejprve potvrzena jejich struktura. Následně byly provedeny CID experimenty a určena charakteristická kolizní energie těchto látek. Výsledkem této analýzy bylo zjištění, že charakteristická kolizní energie ligandů disponujících karbonylovou skupinou nabývala hodnot amplitudy 0,32 (**L3**) a 0,33 (**L4**), kdežto u látek s hydroxylovou skupinou charakteristická kolizní energie nabývala hodnot amplitudy 0,29 (**L2**) a 0,30 (**L1**). Tyto rozdíly nelze považovat za významné a nenaznačují tak rozdílnou stabilitu předmětných sloučenin v plynné fázi.

Hlavním cílem této práce bylo studium komplexace ligandů **L1–L4** s makrocycly, kterými byly α -, β -, γ -cyklodextrin a cucurbit[7]uril. Výsledky provedených analýz poskytují informace o tvorbě komplexů s některými z použitých makrocyclů. Nejvhodnějším makrocyklem pro tvorbu komplexů se jeví β -cyklodextrin a cucurbit[7]uril, jelikož oba tyto makrocycly poskytovaly signály při hodnotě m/z odpovídající vzniku supramolekulárních komplexů. Toto pozorování potvrdilo náš předpoklad, jelikož velikost kavity těchto makrocyclů se jeví jako ideální ve vztahu k velikosti adamantanového skeletu, který je obsažen ve zkoumaných ligandech. Nejméně vhodným makrocyklem byl α -cyklodextrin, který netvořil komplex s žádným ze čtyř ligandů. Důvodem tohoto jevu je pravděpodobně

příliš malá velikost kavity tohoto makrocyklu. γ -cyklodextrin tvořil komplex ve dvou ze čtyř případů, avšak pokaždé byl signál tohoto komplexu pozorován s velmi nízkou intenzitou.

Izolovat pozorované ionty komplexu bylo možné pouze ve dvou analyzovaných směsích, kdy oba úspěšně izolované ionty byly charakterizovány jako jedenkrát nabitě protonované komplexy, konkrétně $[\mathbf{L2}+\text{CB7}+\text{H}^+]^+$ při 1579 m/z a $[\mathbf{L3}+\text{CB7}+\text{H}^+]^+$ 1577 m/z . Ačkoliv se MS/MS experimenty ukázaly jako „hraniční“ (zejména s ohledem na počet iontů nacházejících se během fragmentace v iontové pasti), dovolím si na základě povahy vznikajících produktových iontů tvrdit, že se jednalo o inkluzní komplexy.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] Fort, R. C., Schleyer, P. von R. Adamantane: Consequences of the Diamondoid Structure. *Chemical Reviews*, **1964**, 64(3), 277-300.
- [2] Vícha, R., Potáček, M. Kde roste adamantan. *Chem. Listy*, **2004**, 98, 68–74.
- [3] Miyazawa, K. and Noguchi, T. 'Distribution and Origin of Tetrodotoxin', *Journal of Toxicology -- Toxin Reviews*, **2001**, 20(1), p. 11.
- [4] Lamoureux, G., & Artavia, G. Use of the Adamantane Structure in Medicinal Chemistry. *Current Medicinal Chemistry*, **2010**, 17(26), 2967–2978
- [5] Moiseev, I. K., et al. Reactions of adamantanes in electrophilic media. *Russ. Chem. Rev.*, **1999**, 68, 1001.
- [6] Štimac, A.; Šekutor, M.; Mlinarić-Majerski, K.; Frkanec, L.; Frkanec, R. Adamantane in Drug Delivery Systems and Surface Recognition. *Molecules* **2017**, 22, 297.
- [7] Wanka, L., Iqbal, K., Schreiner, P. R. The Lipophilic Bullet Hits the Targets: Medicinal Chemistry of Adamantane Derivatives. *Chemical Reviews*, **2013**, (5), 3516-3604.
- [8] Chem. Listy 92, 998 - 1005 **1998**
- [9] M.S.P. Sansom, I.D. Kerr, G.R. Smith, H.S. Son, The Influenza A Virus M2 Channel: A Molecular Modeling and Simulation Study, *Virology*, 233, 1, **1997**, 163-173, ISSN 0042-6822
- [10] Steed, J. W., Atwood, J. L. Supramolecular Chemistry, 2nd ed.; Wiley: Chichester, UK, **2009**.
- [11] *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **2007**, 9, 5291-5303
- [12] Kubik, S.. Supramolecular Chemistry: From Concepts to Applications. Berlin, Boston: *De Gruyter*. **2021**
- [13] Bernstein, J., Davis, R.E., Shimon, L. and Chang, N.-L., Patterns in Hydrogen Bonding: Functionality and Graph Set Analysis in Crystals[†]. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 34: 1555-1573 **1995**
- [14] Steiner, T., The Hydrogen Bond in the Solid State. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2002** 41: 48-76.

- [15] Schuster, P., Wolschann, P. Hydrogen Bonding: From Small Clusters to Biopolymers. *Monatshefte fuer Chemie* 130, 947–960 (1999).
- [16] Yong He, Bo Zhu, Yoshio Inoue, Hydrogen bonds in polymer blends, *Progress in Polymer Science, Volume 29*, 10, 2004, 1021-1051
- [17] Frank Weinhold *Chem. Educ. Res. Pract.*, **2014**, 15, 276
- [18] Ranjit Thakuria, Naba K. Nath, and Binoy K. Saha, The Nature and Applications of π - π Interactions: A Perspective, *Crystal Growth & Design* **2019** 19 (2), 523-528
- [19] Claessens, C.G. and Stoddart, J.F., π - π INTERACTIONS IN SELF-ASSEMBLY. *J. Phys. Org. Chem.*, 10: 254-272. **1997**
- [20] S. Rösel, P. R. Schreiner, *Isr. J. Chem.* **2022**, 62, e202200002.
- [21] Rajter, Rick, Roger H.. Van der Waals-London dispersion interaction framework for experimentally realistic carbon nanotube systems *International Journal of Materials Research*, vol. 101, no. 1, **2010**, pp. 27-42.
- [22] Z. Liu, K. Shu, Y. Yang, H. Yu, Y. Huang, W. Gao, X. Zhang, F. Wu, J. Li, H. Dong, N. Huo, Integrating Graphene Enables Improved and Gate-Tunable Photovoltaic Effect in Van der Waals Heterojunction. *Adv. Optical Mater.* **2023**, 11, 2202646.
- [23] hang, X., Zeng, Q. & Wang, C. Host-guest supramolecular chemistry at solid-liquid interface: An important strategy for preparing two-dimensional functional nanostructures. *Sci. China Chem.* 57, 13–25 **2014**
- [24] Wenz, G. An Overview of Host-Guest Chemistry and its Application to Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs. *Clin. Drug Investig.* 19 (Suppl 2), 21–25 **2000**.
- [25] *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **2021**, 23, 26085-26107
- [26] Poulson, B.G. et al. 'Cyclodextrins: Structural, Chemical, and Physical Properties, and Applications', *Polysaccharides* (2673-4176), 3(1), pp. 1–31. **2022**
- [27] Viernstein H., Cyclodextrin inclusion complexation and pharmaceutical applications, **2020** *ScienceAsia* 46 254-262
- [28] Sarabia-Vallejo, Á.; Caja, M.d.M.; Olives, A.I.; Martín, M.A.; Menéndez, J.C. Cyclodextrin Inclusion Complexes for Improved Drug Bioavailability and Activity: Synthetic and Analytical Aspects. *Pharmaceutics* **2023**, 15, 2345

- [29] Ji, X.-Y.; Zou, Y.-X.; Lei, H.-F.; Bi, Y.; Yang, R.; Tang, J.-H.; Jin, Q.-R. Advances in Cyclodextrins and Their Derivatives in Nano-Delivery Systems. *Pharmaceutics* **2024**, *16*, 1054.
- [30] Xiran Yang, Fengbo Liu, Zhiyong Zhao, Feng Liang, Haijun Zhang, Simin Liu, Cucurbit[10]uril-based chemistry, Chinese Chemical Letters, Volume 29, Issue 11, **2018**, 1560-1566,
- [31] Muheyati, M., Wu, G., Li, Y. *et al.* Supramolecular nanotherapeutics based on cucurbiturils. *J Nanobiotechnol* **22**, 790 **2024**.
- [32] Lagona, J., Mukhopadhyay, P., Chakrabarti, S. and Isaacs, L, The Cucurbit[*n*]uril Family. *Angewandte Chemie International Edition*, . **2005** *44*: 4844-4870.
- [33] Ji Liu, Yang Lan, Ziyi Yu, Cindy S.Y. Tan, Richard M. Parker, Chris Abell, and Oren A., Cucurbit[*n*]uril-Based Microcapsules Self-Assembled within Microfluidic Droplets: A Versatile Approach for Supramolecular Architectures and Materials, Scherman, *Accounts of Chemical Research* **2017** *50* (2), 208-217
- [34] Hanuš, V., Herman, Z., Lemr, K. Vesmír, **2003**, *82*, 312
- [35] Griffiths J, A Brief History of Mass Spectrometry, *Analytical Chemistry*, **2008**, *80*, (15), 5678-5683
- [36] Volný M. *Chem. Listy* **105**, 230–236 **2011**
- [37] SCHALLEY, Christoph A. (ed.). *Analytical methods in supramolecular chemistry*. Weinheim: Wiley-VCH, **2007**. ISBN 978-3-527-31505-5.
- [38] Murray, K. K.; Boyd, R. K.; Eberlin, M. N.; Langley, G. J.; Li, L.; Maito, Y, Definition of terms relating to mass spectrometry (IUPAC Recommendations 2013), *Pure Appl. Chem.*, **2013**, Vol. 85, No. 7, 1515-1609.
- [39] Gross, J. H. *Mass Spectrometry, A Textbook*, Second Edition, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, Germany, **2011**, ISBN: 978-3-642-10709-2
- [40] Friedecký D., Lemr K. *Klin., Úvod do hmotnostní spektrometrie*, *Biochem. Metab.*, **20** (41), **2012**, *3*. 152–157
- [41] Tian-Yi Zhang, Sha Li, Derivatization for liquid chromatography-electrospray ionization-mass spectrometry analysis of small-molecular weight compounds, *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, Volume 119, **2019**, 115608

- [42] Lemr K., Ionizace elektrosprejem, Chem. Listy 114, 169–178 **2020**
- [43] Fenn, J.B., Man, M., Chin-Kai, M., Shek-Fu, W. and Whitehouse, C.M., 1989. Electrospray Ionization for Mass Spectrometry of Large Biomolecules. *Science*, **246**(4926). 64.
- [44] Štulík K. Analytické separační metody. Praha: Karolinum, **2005**. ISBN 80-246-0852-9.
- [45] Fitzgerald RL, Griffin TL, Herold DA. Analysis of testosterone in serum using mass spectrometry. *Methods Mol Biol*. **2010** 603:489-500
- [46] Rivera, S. M., Christou, P., & Canela-Garayoa, R.. Identification of carotenoids using mass spectrometry. *Mass Spectrometry Reviews*, **2013** 33(5), 353–372.
- [47] Koomen, J.M., Russell, W.K., Tichy, S.E. and Russell, D.H., Accurate mass measurement of DNA oligonucleotide ions using high-resolution time-of-flight mass spectrometry. *J. Mass Spectrom.*, **2002** 37: 357-371.
- [48] Lössl P., Snijder J, Boundaries of Mass Resolution in Native Mass Spectrometry . *Journal of the American Society for Mass Spectrometry* **2014** 25 (6), 906-917
- [49] Siuzdak, G.. Probing viruses with mass spectrometry. *Journal of Mass Spectrometry* **1998**, 33(3), 203–211
- [50] Krásný, L., Hynek, R., & Hochel, I.. Identification of bacteria using mass spectrometry techniques. *International Journal of Mass Spectrometry*, **2013** 353, 67–79.
- [51] Cooks, R. G., Ifa, D. R., Sharma, G., Tadjimukhamedov, F. K., & Ouyang, Z.. Perspectives and Retrospectives in Mass Spectrometry: One View. *European Journal of Mass Spectrometry*, 16(3), **2010** 283–300.
- [52] Yang, F. and Dearden, D.V., Gas Phase Cucurbit[*n*]uril Chemistry. *Isr. J. Chem.*, **201** 151: 551-558.
- [53] Di Tullio, A., Reale, S. and De Angelis, F., Molecular recognition by mass spectrometry. *J. Mass Spectrom.*, **2005** 40: 845-865.
- [54] Pashynska, V., Stepanian, S., Gömöry, Á., Vékey, K., & Adamowicz, L.. New cardioprotective agent flokalin and its supramolecular complexes with target amino acids: An integrated mass-spectrometry and quantum-chemical study. *Journal of Molecular Structure* **2017**, 1146, 441–449.
- [55] Chem. Soc. Rev., **2022**, 51, 8

- [56] *Chem. Rev.* **1999**, 99, 7, 1665–1688
- [57] Wei Jiang, Andreas Schäfer, Parveen Choudhary Monitoring Self-Sorting by Electrospray Ionization Mass Spectrometry: Formation Intermediates and Error-Correction during the Self-Assembly of Multiply Threaded Pseudorotaxanes
- [58] Shin Jung C. Lee, Jong Wha Lee, Host–Guest Chemistry from Solution to the Gas Phase: An Essential Role of Direct Interaction with Water for High-Affinity Binding of Cucurbit[n]urils, *The Journal of Physical Chemistry* **2013** 117 (29), 8855-8864,
- [59] Weimann, Dominik P., Henrik D. F. Winkler, Jessica A. Falenski, Beate Koksche, and Christoph A. Schalley.. “Highly Dynamic Motion of Crown Ethers along Oligolysine Peptide Chains.” *Nature Chemistry* **2009** 1 (7): 573–77.
- [60] JW, Shin MH, Mobley W, Urbach AR, Kim HI. Supramolecular Enhancement of Protein Analysis via the Recognition of Phenylalanine with Cucurbit[7]uril. *J Am Chem Soc.* **2015** 137(48):15322-9
- [61] ZATLOUKAL, Filip. Syntéza pyrrollo[2,3-d]pyrimidinů s adamantanovým skeletem. Vedoucí Rouchal, Michal. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně. Fakulta technologická, Ústav chemie, 2017. Dostupné také z: <http://hdl.handle.net/10563/40653>.

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

HIV	Lidský virus imunitní nedostatečnosti (Human Immunodeficiency Virus)
DNA	Deoxyribonukleová kyselina
RNA	Ribonukleová kyselina
MS	Hmotnostní spektrometrie
ESI	Elektrosprejová ionizace
CB	Cucurbit[n]uril
CD	Cyklodextrin
MALDI	Matricí asistovaná laserová desorpce/ionizace (Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization)
ICP–MS	Hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry)
SIMS	Hmotnostní spektrometrie sekundárních iontů (Secondary-ion mass spectrometry)
EI	Elektronová ionizace
TOF	Doba letu (Time Of Flight)
m/z	Poměr hmotnosti ku náboji
CID	Kolizí indukovaná disociace (Collision Induced dissociation)