

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE

Přírodovědecká fakulta

---

Studijní program: Chemie

Studijní obor: Chemie



Jiří Špánek

Kontrastní látky pro  $^{19}\text{F}$ -MRI

Contrast Agents for  $^{19}\text{F}$ -MRI

Bakalářská práce

Vedoucí bakalářské práce: doc. RNDr. Jan Kotek, Ph.D.

Praha 2016

„Zeptáš-li se, stydíš se za svou nevědomost teď, nezeptáš-li se, stydíš se celý život.“

-Japonské přísloví

## Prohlášení

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

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

V Praze dne 1.9.2016

Podpis

**Abstrakt:** Neinvazivní zobrazovací metody, jako je např. MRI, jsou v dnešní době jednou z nejpoužívanějších diagnostických metod v medicíně. V současné době jsou vyvíjeny i speciální techniky MRI, které využívají měření jader  $^{19}\text{F}$  a nebo přenosu saturace signálu  $^1\text{H}$  z kontrastní látky na molekulu vody. Pro tyto účely je vhodné používat komplexy paramagnetických kovů, jejichž magnetické vlastnosti zkracují relaxační časy některých signálů a tím podstatně zkracují i dobu měření.

V této práci byly vytvořeny dva nové ligandy **L1** a **L2**, jejichž komplexy s kovovými ionty jako  $\text{Cu}^{2+}$  a  $\text{Ni}^{2+}$  by mohly nalézt potenciální využití jako kontrastní látky pro výše zmíněné metody.

Klíčová slova: MRI, CEST, makrocikly, koordinační chemie

**Abstract:** Noninvasive imaging methods, such as MRI, are one of the most used methods in today's medicine. New MRI techniques that are being developed focus on measuring  $^{19}\text{F}$  nuclei or saturation transfer between  $^1\text{H}$  nuclei signals of contrast agent (CA) and water molecule. For these purposes, it is advantageous to use complexes of paramagnetic metal ions, whose magnetic properties cause increased rate of relaxation and thus reducing acquisition time.

In this bachelor thesis two new ligands **L1** and **L2** are prepared, whose complexes with metal ions, such as  $\text{Cu}^{2+}$  and  $\text{Ni}^{2+}$ , could find a potential use as CAs in methods mentioned above.

Keywords: MRI, CEST, macrocycles, coordination chemistry

## Poděkování

Nejprve chci poděkovat rodičům za jejich podporu ve všem, co dělám. Díky nim jsem našel cestu k chemii, která mě baví. Děkuju.

Dále bych chtěl poděkovat všem profesorům, docentům, doktorům, magistrům a bakalářům z našeho skvělého laboratorního kolektivu, kteří mi vždy poradili, když jsem si nevěděl rady. Jmenovitě pak Honzovi Blahutovi za měření spekter a poučení, že se vyplatí ho poslouchat, Terce, Monče a Peterovi za sdílení jejich zkušeností, Sandrovi za to, že si na mě našel čas a ukázal mi nový přístup k práci v laborce, Vojtovi za dodání čerstvých chemikálií, Martinovi za pevné nervy s mými neustálými dotazy a samozřejmě taky mému školiteli Honzovi Kotkovi, který věnoval tolik času opravování chyb v mé práci.

Díky patří i mým přátelům, kteří mě na mé cestě doprovázeli a pomohli mi odreagovat se od stresu. Filipovi děkuji za pravidelnou „jednu“, byla to bomba! Adamovi děkuji za doslova božskou zábavu (doufám, že to pochopíš), Kasymu za četná vítězství, Zdendovi za hromádky soli, Soně a Dominice za ukázání nesrozumitelných zákoutí slovenského jazyka. Díky patří i Kátě, která mi ukázala, že jsem na tom se stresem ještě dobře, ale taky za všechny šílenosti, E.T.! Díky celému A Teamu za to, že jste, vaše přátelství pro mě hodně znamená, ありがとう (arigato) Vision!!!

Bez vás všech by to nebylo ono, takže ještě jednou děkuji, d'akujem, thank you, merci, danke, спасибо, ありがとう.

# Obsah

<b>1 Teoretický úvod</b> .....	<b>7</b>
1.1 NMR.....	7
1.1.1 Fyzikální princip .....	7
1.1.2 Relaxace .....	9
1.2 MRI .....	10
1.2.1 Začátky MRI .....	10
1.2.2 Kontrastní látky pro MRI .....	10
1.2.3 <sup>19</sup> F-MRI .....	11
1.3 CEST efekt .....	12
1.3.1 Mechanismus CEST .....	13
1.3.2 PARACEST .....	13
1.4 Cíle práce .....	14
<b>2 Experimentální část</b> .....	<b>16</b>
2.1 Metody charakterizace .....	16
2.1.1 NMR spektroskopie.....	16
2.1.2 Tenkovrstvá chromatografie (TLC) .....	16
2.1.3 Hmotnostní spektrometrie (MS).....	16
2.1.4 Rentgenostrukturní analýza.....	16
2.2 Syntéza ligandů .....	17
2.2.1 Syntéza 1,8-dibenzyl cyklamů (1).....	17
2.2.2 Příprava <i>N</i> -(2-bromethyl)ftalimidu .....	19
2.2.3 Příprava 1,8-dibenzyl-4,11-bis(2-ftalimidoethyl)cyklamů (2a) .....	19
2.2.4 Příprava 1,8-dibenzyl-4,11-bis(2-aminoethyl)cyklamů (3a).....	20
2.2.5 Příprava 1,8-dibenzyl-4,11-bis( <i>N</i> -trifluoracetyl-2-aminoethyl)cyklamů (4a).....	21
2.2.6 Příprava 1,8-dibenzyl-4,11-bis( <i>N</i> -trifluoroethyl-2-aminoethyl)cyklamů (5a) .....	22
2.2.7 Příprava ligandu L1 .....	23
2.2.8 Příprava <i>N</i> -(3-brompropyl)ftalimidu.....	24
2.2.9 Příprava 1,8-dibenzyl-4,11-bis(3-ftalimidopropyl)cyklamů (2b).....	24
2.2.10 Příprava 1,8-dibenzyl-4,11-bis(3-aminopropyl)cyklamů (3b) .....	25
2.2.11 Příprava 1,8-dibenzyl-4,11-bis( <i>N</i> -trifluoracetyl-3-aminopropyl)cyklamů (4b) .....	26
2.2.12 Příprava 1,8-dibenzyl-4,11-bis( <i>N</i> -trifluoroethyl-3-aminopropyl)cyklamů (5b).....	27
2.2.13 Příprava ligandu L2.....	28
<b>3 Výsledky a diskuze</b> .....	<b>30</b>
3.1 Příprava látek 2a a 2b .....	30
3.2 Příprava látek 3a a 3b .....	31
3.3 Příprava látek 4a a 4b .....	32

3.4 Příprava látek 5a a 5b .....	32
3.5 Příprava ligandů L1 a L2.....	33
<b>4 Závěr.....</b>	<b>34</b>
<b>Seznam zkratek .....</b>	<b>35</b>
<b>Seznam zdrojů .....</b>	<b>36</b>

# 1 Teoretický úvod

## 1.1 NMR

Nukleární magnetická rezonance (NMR) je spektroskopická metoda využívající magnetické vlastnosti atomových jader a jejich izotopů. První signál vodíkového atomu  $^1\text{H}$  pozorovali E. M. Purcell, H. C. Torrey a R. V. Pound v roce 1945 ve vzorku parafinu, v roce 1946 pak F. Bloch, W. W. Hansen a M. Packard pozorovali signál vodíku v molekule vody (obě skupiny za svou práci později získaly Nobelovu cenu za fyziku).[1,2] Během padesátých let se začaly objevovat první sériově vyráběné NMR spektrometry, které byly velmi užitečné při určování struktury molekul (především organických) i přesto, že bylo možné měřit pouze signál vodíku  $^1\text{H}$ . [2]

V současnosti je metoda NMR jednou z nejpoužívanějších analytických metod k určování struktury a čistoty látek. Je možné měřit mnoho různých jader, např.  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{19}\text{F}$ ,  $^{31}\text{P}$  a další. Nalézají také obrovské využití v medicíně jako metoda MRI, která slouží například k diagnostice onemocnění měkkých tkání.

### 1.1.1 Fyzikální princip

Tato kapitola je zpracována dle literatury.[2] Základem pro nukleární magnetickou rezonanci je interakce radiofrekvenčního záření a atomového jádra ve vnějším magnetickém poli.

Jádra se dají dozdělit do tří základních skupin:

1. Jádra se spinovým kvantovým číslem  $I = 0$ . Patří sem jádra se sudým počtem neutronů a protonů, např.  $^{12}\text{C}$ ,  $^{16}\text{O}$ . Tato jádra nemají vlastní magnetický moment  $\mu$  a nejsou pomocí NMR spektroskopie měřitelná.
2. Jádra se spinovým kvantovým číslem  $I = \frac{1}{2}$ . Mezi tato jádra patří např.  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{19}\text{F}$  a  $^{31}\text{P}$ .
3. Poslední jsou jádra se spinovým kvantovým číslem  $I > \frac{1}{2}$ . U těchto jader se kromě magnetického momentu  $\mu$  vyskytuje také moment kvadrupólový, který často měření komplikuje.

Atomová jádra s nenulovým jaderným spinem mají vlastní magnetický moment  $\mu$ , který je dán rovnicí

$$\mu = \gamma \cdot \sqrt{I(I + 1)} \cdot \hbar, \quad (1)$$

kde  $\gamma$  je gyromagnetický poměr (konstanta charakteristická pro každé jádro) a  $\hbar$  je

redukovaná Planckova konstanta. Pokud je však vzorek vystaven vnějšímu magnetickému poli o intenzitě  $B_0$ , dojde k orientaci vektoru magnetického momentu, typicky podle osy  $z$ . Zajímá nás tedy především  $z$ -ová složka magnetického momentu, která je určena vztahem

$$\mu_z = \gamma m_I \hbar, \quad (2)$$

kde  $m_I$  je magnetické kvantové číslo jádra ( $I, I-1, \dots, -I$ ). Silové působení magnetického pole také způsobuje precesní pohyb vektoru magnetického momentu jádra kolem směru pole  $B_0$ . Tento pohyb se nazývá Larmorova precese o frekvenci

$$\nu_L = \frac{\gamma B_0}{2\pi}, \quad (3)$$

kde  $\nu_L$  je frekvence Larmorovy precese.[3] U NMR spektrometrů se často mluví o frekvenci, např: 500 MHz; tato frekvence je rovna Larmorově precesi jádra  $^1\text{H}$  v poli daného spektrometru.

Intenzita magnetického pole  $B_0$  však není pro všechna jádra stejného prvku v molekule stejná. Vnější pole totiž vyvolává zároveň pohyb elektronů v elektronovém obalu atomu, který generuje vlastní magnetické pole působící proti poli vnějšímu. Efektivní magnetické pole  $B_{\text{ef}}$  tedy můžeme zapsat jako

$$B_{\text{ef}} = (1 - \sigma)B_0, \quad (4)$$

kde  $\sigma$  je stínící konstanta jádra.

Pokud vzorek obsahující jádra se spinovým číslem  $I = \frac{1}{2}$  vložíme do magnetického pole, dochází k rozštěpení degenerovaných hladin odpovídajících stavům  $m_I = \frac{1}{2}$  a  $m_I = -\frac{1}{2}$ . Obsazení jednotlivých hladin se řídí Boltzmanovým rozdělením

$$\frac{N_\beta}{N_\alpha} = e^{-\frac{\Delta E}{kT}}, \quad (5)$$

kde  $N_\beta$  je obsazení vyšší energetické hladiny;  $N_\alpha$  je obsazení nižší energetické hladiny;  $e$  je Eulerovo číslo;  $\Delta E$  je rozdíl v energii hladin;  $k$  je Boltzmannova konstanta a  $T$  je termodynamická teplota. Energetický rozdíl hladin  $\Delta E$  je závislý na intenzitě vnějšího magnetického pole a v případě, kdy  $I = \frac{1}{2}$ , se dá zapsat jako

$$\Delta E = \gamma \hbar B_0. \quad (6)$$

Tato energie přechodu mezi stavy odpovídá frekvenci

$$\nu = \frac{\gamma B_0}{2\pi} \quad (7)$$

Rovnost vztahů (3) a (7) se označuje jako tzv. rezonanční podmínka. Radiofrekvenční pulzy o frekvenci vyhovující této podmínce způsobují rezonanci vzorku vloženého do

vnějšího pole a umožňují nám měřit NMR spektra.[3] Při aplikaci vhodně dlouhého pulzu lze otočit vektor magnetizace vzorku o libovolný úhel podle libovolné osy. Pokud je vektor takto otočen, můžeme snímat jeho relaxaci do rovnovážné polohy v magnetickém poli přístroje, která se projeví na snímací cívce jako indukce napětí. Takto získáme tzv. FID (Free Induction Decay), což je exponenciálně klesající periodická funkce vzniklá součtem sinusoid indukovaného střídavého napětí odpovídajících jednotlivým jádrům v molekule. FID představuje závislost intenzity indukovaného napětí na čase. Tento záznam se pak pomocí Fourierovy transformace převede na NMR spektrum, které představuje závislost intenzity signálu jádra na frekvenci.

Pro snazší interpretaci NMR spekter byla zavedena relativní stupnice chemického posunu  $\delta$  (ppm), na které má každý atom dané molekuly svou charakteristickou pozici nezávisle na síle magnetického pole přístroje

$$\delta = \frac{\nu - \nu_{st}}{\nu_{st}} 10^6, \quad (8)$$

kde  $\nu$  je rezonanční frekvence měřeného jádra;  $\nu_{st}$  je rezonanční frekvence jader standardu (např: TMS – tetramethylsilan).[3]

Jádra  $^1\text{H}$  jsou v běžné praxi nejčastěji měřená jádra a to především díky svému vysokému přírodnímu zastoupení a vysokému gyromagnetickému poměru  $\gamma$ . Tabulka 1 ukazuje vlastnosti vybraných NMR aktivních jader.

Tabulka 1: Vlastnosti vybraných NMR aktivních jader [2]

Jádro	Jaderný spin	Přirozený výskyt / %	$\gamma$ [ $10^7 \text{radT}^{-1}\text{s}^{-1}$ ]	Frekvence (11,74 T) / MHz	Citlivost
$^1\text{H}$	$\frac{1}{2}$	99,99	26,75	500,0	100
$^2\text{H}$	1	0,01	4,11	76,8	0,0001
$^{13}\text{C}$	$\frac{1}{2}$	1,07	6,73	125,7	0,02
$^{15}\text{N}$	$\frac{1}{2}$	0,37	-2,71	50,7	0,0004
$^{19}\text{F}$	$\frac{1}{2}$	100	25,18	470,4	83
$^{31}\text{P}$	$\frac{1}{2}$	100	10,84	202,4	6,6

### 1.1.2 Relaxace

Otočením vektoru magnetizace došlo k odchylení od rovnovážného stavu, kdy vektor

magnetizace směřuje podél osy  $z$ . Proces návratu do této rovnováhy se nazývá relaxace a rozlišují se dva typy:

1. Podélná (longitudinální) relaxace, která souvisí s nárůstem  $z$ -ové složky vektoru magnetizace. Je charakterizována relaxačním časem  $T_1$  a pohybuje se většinou v řádu sekund, v některých případech však může být i mnohem kratší nebo delší (ms – h).
2. Příčná (transverzální) relaxace, která souvisí s úbytkem  $x$ -ové a  $y$ -ové složky vektoru magnetizace a je charakterizována časem  $T_2$ .

Pro relaxace zároveň platí  $T_1 \geq T_2$ . [12]

## 1.2 MRI

Nukleární magnetická rezonance našla široké uplatnění nejen v laboratorní praxi, ale také v medicíně jako zobrazovací metoda pro studium a diagnostiku vnitřních tkání. Jelikož je lidské tělo tvořeno ze 70 % vodou, je nejčastěji měřeným jádrem právě  $^1\text{H}$ .

### 1.2.1 Začátky MRI

Prvním, kdo ukázal užitečnost NMR v medicíně, byl v roce 1971 Dr. R. Damadian, který demonstroval rozdílnou relaxaci ( $T_1$  a  $T_2$ ) u tkání rakovinných oproti zdravým. Bylo tedy možné takto diagnostikovat rakovinu. Dalšími přínosy se zasloužili P. C. Lauterbur (1972) a W. Hinshaw (1974), kteří přišli s různými metodami měření. Jejich metody byly však založené na skládání obrazu z několika



Obrázek 1: Příklad MRI obrazu hlavy (mediální řez)

pulzních měření, což vyžadovalo dlouhou dobu měření, a proto se postupem času přešlo na měřicí metody využívající širokospektrální pulzy a Fourierovu transformaci (FT). Metoda FT zvýšila poměr signál/šum (až 100x) a zároveň umožňovala získat obraz řezu tkáně celý najednou, čímž se výrazně zkrátil čas měření. [4]

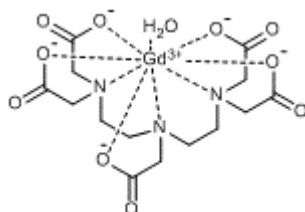
### 1.2.2 Kontrastní látky pro MRI

Rozdílné chování molekul vody v těle závisí na jejich koncentraci, pH, teplotě a přítomnosti jiných látek. [5] Pokud jsou v těle přítomny paramagnetické látky (nejčastěji

komplexy kovů), dochází k výraznému ovlivnění molekul vody a zkrácení relaxačních časů  $T_1$  a  $T_2$ . Látky zkracující čas  $T_1$  zvyšují při vhodné pulzní sekvenci intenzitu  $^1\text{H}$  signálu a vytváří pozitivní kontrast (zesvětlení) ve výsledném obrazu. Na druhou stranu látky ovlivňující čas  $T_2$  poskytují kontrast negativní (ztmavnutí) ve výsledném obrazu.[5,12]

Jako  $T_1$  kontrastní látky se používají nejčastěji komplexy  $\text{Gd}^{3+}$ . Ion gadolinia má 7 nespárovaných elektronů a díky symetrickému rozložení elektronů v f-orbitalech vytváří velký efektivní magnetický moment a má i vhodně dlouhý relaxační čas. Ionty  $\text{Gd}^{3+}$  jsou ve své “volné” podobě silně jedovaté, proto se v medicíně mohou používat pouze extrémně stálé komplexy, kde nedojde k uvolnění iontu kovu do organismu.[5]

Jako první kontrastní látka byl používán Magnevist, gadolinový komplex s kyselinou diethylenetriaminpentaoctovou (Gd-DTPA).



Obrázek 2: Magnevist (Gd-DTPA)

Jako  $T_2$  se používají nanočástice oxidů železa o velikosti jednotek až desítek nanometrů, pokryté vrstvičkou např: siloxanu, aby nedocházelo k jejich shlukování.[5]

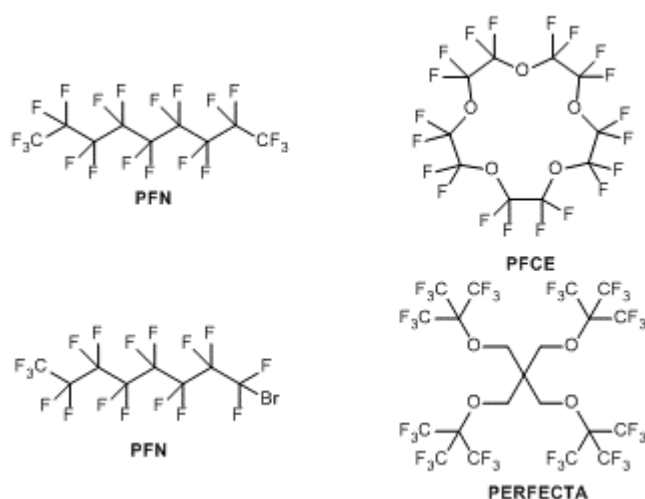
### 1.2.3 $^{19}\text{F}$ -MRI

Přestože kontrastní látky výrazně zvýšily kvalitu měření pomocí MRI technik, mají stále určité nevýhody. Patří mezi ně především velmi výrazný šum způsobený okolní tkání a dlouhý měřicí čas, jelikož je často potřeba změřit obraz před a po podání kontrastní látky pacientovi. Dalším problémem je nutnost použití relativně vysoké koncentrace kontrastní látky, což může vést k problémům s toxicitou.[6]

Proto jsou studovány i další metody měření. Jednou z nich je tzv. „hot spot imaging” využívající MRI aktivních heteroatomů, jako například  $^{31}\text{P}$  a  $^{19}\text{F}$ , které se měří zároveň s jádry vodíkovými. Takto můžeme ze změřeného obrazu získat další informace.[6]

Velmi výhodné je použití právě jádra  $^{19}\text{F}$ , které má 100% izotové zastoupení a jeho rezonanční frekvence je velmi blízká jádru  $^1\text{H}$ ,[2] a s jeho 83% citlivostí oproti vodíku je tedy relativně jednoduché je měřit i na standardních MRI přístrojích.[6] V těle je navíc fluor přítomný jen ve stopovém množství v kostech, kde je vázaný v pevné fázi, což vede ke krátkému času  $T_2$  a není v běžném MRI přístroji vidět. Vidíme tedy jen signál použité

látky.[6] Příklady používaných fluorovaných látek jsou ukázány na obrázku 3.



Obrázek 3: Příklady fluorovaných kontrastních látek [6]

Kontrastní látky obsahující jádra  $^{19}\text{F}$  mají relativně dlouhé relaxační časy  $T_1$  a potřebovaly by tedy delší měřicí čas. Proto mají i zde potenciál komplexy s paramagnetickými kovy, které pomocí intramolekulárních interakcí snižují relaxační čas fluorových jader. Ideální vzdálenost fluoru od paramagnetického jádra je mezi 4,5 a 7,5 Å.[8] V případě  $\text{CF}_3$  skupiny je možné v tomto rozsahu vzdáleností od paramagnetických iontů lanthanoidů dosáhnout 25ti násobného zlepšení citlivosti.[6] U některých komplexů s paramagnetickými ionty lanthanoidů klesá detekovatelná koncentrace až na desítky  $\mu\text{M}$ . [21] Pokud je vzdálenost od paramagnetického jádra příliš velká, je snížení času  $T_1$  téměř zanedbatelné a v případě nízké vzdálenosti začíná být problémem rozšiřování signálů.[6,8] Kromě vzdálenosti hraje roli i přesná geometrie  $\text{CF}_3$  skupin vůči paramagnetickému jádru. V případě vzniku stereoisomerů dochází ve spektru buď k rozšiřování  $^{19}\text{F}$  signálu, nebo ke vzniku dalších samostatných signálů.[22]

Dalším faktorem je molekulová hmotnost. Kontrastní látky s nízkou molekulovou hmotností bývají rychleji vylučovány z těla, čímž klesá koncentrace látky a tedy i intenzita signálu. Cílem je vytvořit fluorované látky se střední molekulovou hmotností a krátkými relaxačními časy.[6]

### 1.3 CEST efekt

Chemical Exchange Saturation Transfer (CEST) efekt je způsoben přenosem saturace pomocí chemické výměny. V tomto případě se jedná o výměnu protonů vody za vyměnitelné protony z kontrastní diamagnetické nebo paramagnetické látky (jde především o funkční skupiny  $-\text{OH}$ ,  $-\text{NH}-$ ,  $-\text{NH}_2$ ).

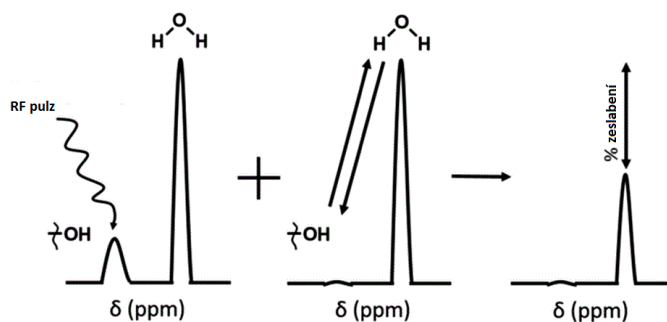
### 1.3.1 Mechanismus CEST

Vyměnitelné protony kontrastních látek mají rozdílnou rezonanční frekvenci než protony vody. Tento fakt nám umožňuje selektivně saturovat jejich signály pomocí RF pulzů o dané frekvenci. Takto „saturované“ protony se pak vyměňují za „nesaturované“ protony vody, čímž se signál vody oslabuje a vzniká tak negativní kontrast.[9] Velkou výhodou CEST kontrastních látek je, že kontrast lze podle potřeby „vypnout“ a „zapnout“. Je také možné měřit více kontrastních látek nezávisle na sobě pouhou změnou frekvence používaného RF pulzu.[7]

Vzhledem k relativně velmi nízkým koncentracím kontrastní látky ( $\mu\text{M}$ – $\text{mM}$ ) vůči vodě by jediný přenos saturace byl naprosto zanedbatelný. Z tohoto důvodu se jako kontrastní látky pro CEST používají látky, které splňují podmínky:

- rychlost relaxace  $T_1$  saturovaného signálu musí být menší než rychlost chemické výměny
- rychlost chemické výměny musí být pomalejší než rozdíl rezonančních frekvencí vody a CEST kontrastní látky.

Pokud jsou tyto podmínky splněny, pak je možné při dostatečné době měření ( $\sim$ s) dosáhnout výrazného CEST efektu i s malou koncentrací kontrastní látky. Saturovaný proton se vymění za nesaturovaný proton vody, který se opět saturuje a vyměňuje. V případě nesplnění podmínek by buď vyměnitelné protony kontrastní látky zrelaxovaly dřív než by došlo chemické výměně, nebo by došlo ke koalescenci signálu vody se signálem kontrastní látky.[7,9,10] Mechanismus CEST efektu je znázorněn na obrázku 4.



Obrázek 4: Znázornění CEST efektu

### 1.3.2 PARACEST

Přestože diamagnetické kontrastní látky mohou mít rozdílný chemický posun oproti signálu vody až okolo 6 ppm, většina má posun v rozmezí 1–4 ppm. Selektivní saturace je

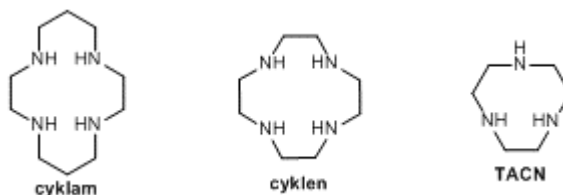
pak mnohem obtížnější, protože RF pulz může přímo ovlivňovat i signál vody. Vzhledem k podmínkám uvedeným v kapitole 1.3.1 jsou možnosti designu nových látek limitovány na pomalu se vyměňující funkční skupiny.[10]

Z tohoto důvodu jsou v poslední době studovány kontrastní látky paramagnetické, které obsahují ionty lanthanoidů (např.:  $Dy^{3+}$ ,  $Eu^{3+}$ )[7] nebo vybraných přechodných kovů (např.:  $Ni^{2+}$ ,  $Co^{2+}$ ,  $Fe^{2+}$ ).[11]

Paramagnetický ion způsobí posun signálu kontrastní látky řádově o desítky ppm, čímž je výrazně usnadněna selektivní saturace, a je možné používat látky s několikanásobně vyšší rychlostí chemické výměny.[10] Například u vody koordinované k některým komplexům byly pozorovány i posuny vyšší než 500 ppm, což dále rozšiřuje možnosti vývoje nových látek.[10]

Kontrastní látky PARACEST jsou díky tomu mnohem lépe detekovatelné a je tedy možné je použít ve výrazně nižších koncentracích než látky CEST.[7]

Často se jako ligandy používají deriváty makrocyklů 1,4,7-triazacyklononanu (TACN), 1,4,7,10-tetraazacyklododekanu (cyklen) a 1,4,8,11-tetraazacyklotetradekanu (cyklam), viz Obrázek 5. Důvodem je vysoká termodynamická stabilita a kinetická inertnost vzniklých komplexů i v přítomnosti jiných konkurenčních ligandů a kovových iontů.[11]

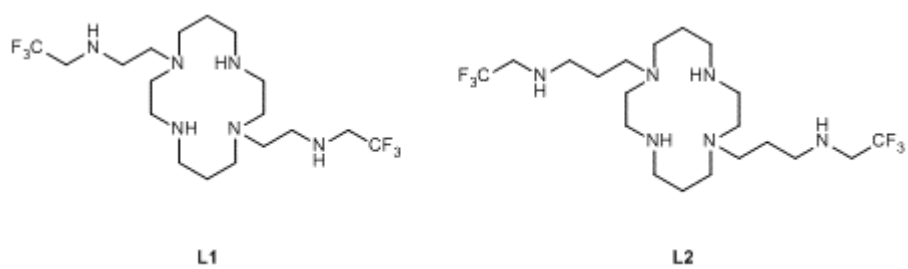


Obrázek 5: Základní makrocyklické skelety

## 1.4 Cíle práce

Cílem této bakalářské práce je vytvořit dva nové ligandy **L1** a **L2** (Obrázek 6), vycházející z cyklamového skeletu, pro komplexaci kovových iontů (např.:  $Cu^{2+}$ ,  $Ni^{2+}$ ) s potenciálním využitím jako kontrastní látky pro  $^{19}F$ -MRI, ev. CEST.

Předpokladem je vysoká kinetická inertnost a termodynamická stabilita jejich komplexů díky makrocyklickému efektu. U fluorových kontrastních látek nás zajímá mj. relaxační čas, který závisí na přesné geometrii fluorových atomů vůči paramagnetickému iontu, proto byla navržena dvě různá pendantní ramena. Konkrétně se jedná o *N*-trifluorethyl-2-aminoethyl (použitý v **L1**) a *N*-trifluorethyl-3-aminopropyl (použitý v **L2**). Obě látky mohou také potenciálně nalézt využití jako kontrastní látky typu CEST díky přítomné NH-skupině.



Obrázek 6: Navržené ligandy

## 2 Experimentální část

### 2.1 Metody charakterizace

#### 2.1.1 NMR spektroskopie

Spektra jader  $^1\text{H}$ ,  $^{19}\text{F}$  a  $^{13}\text{C}$  byla měřena na spektrometrech VNMR300, Varian<sup>UNITY</sup> INOVA 400 a Bruker Avance (III) 600. Použitá rozpouštědla a rezonanční frekvence jsou uvedena u jednotlivých látek. Chemické posuny jsou uváděny v jednotkách ppm zaokrouhlených na dvě desetinná místa. Interakční konstanty  $J$  jsou v jednotkách Hz zaokrouhlených na jedno desetinné místo. Charakterizační spektra byla naměřena Mgr. Janem Blahutem a Mgr. Terezou Krchovou.

#### 2.1.2 Tenkovrstvá chromatografie (TLC)

K detekci pomocí metody TLC byly použity destičky Silufol® (Kavalier) se stacionární fází  $\text{SiO}_2$  na hliníkové fólii se škrobem jako pojivem a destičky Merck TLC se stacionární fází silica gel 60 F<sub>254</sub>. Použitá mobilní fáze a detekční metoda je uvedena u jednotlivých připravených látek.

#### 2.1.3 Hmotnostní spektrometrie (MS)

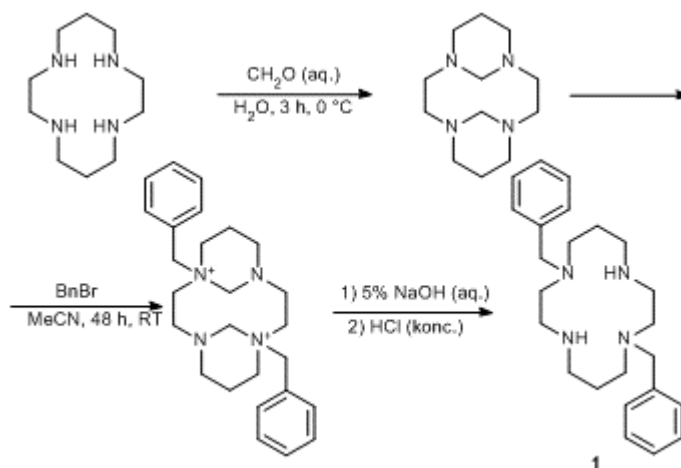
Hmotnostní spektra byla měřena na spektrometru Bruker ESQUIRE 3000 ES-iontrap v pozitivním a negativním módu. Spektra byla měřena Bc. Markem Belišem a Mgr. Ondřejem Zemkem.

#### 2.1.4 Rentgenostrukturní analýza

Rentgenostrukturní analýza byla provedena na přístroji ApexII. Zdrojem RTG zařízení byla molybdenová anoda s grafitovým monochromátorem. Řešení struktur bylo provedeno v programu SHELXS97, vypřesňování struktur bylo provedeno v programu SHELXL97.[18] Struktury byly vizualizovány pomocí programu Platon. Měření prováděla RNDr. Ivana Císařová, CSc. a závěrečné vypřesnění struktury provedl doc. RNDr. Jan Kotek, Ph.D.

## 2.2 Syntéza ligandů

### 2.2.1 Syntéza 1,8-dibenzyl cyklamu (1)

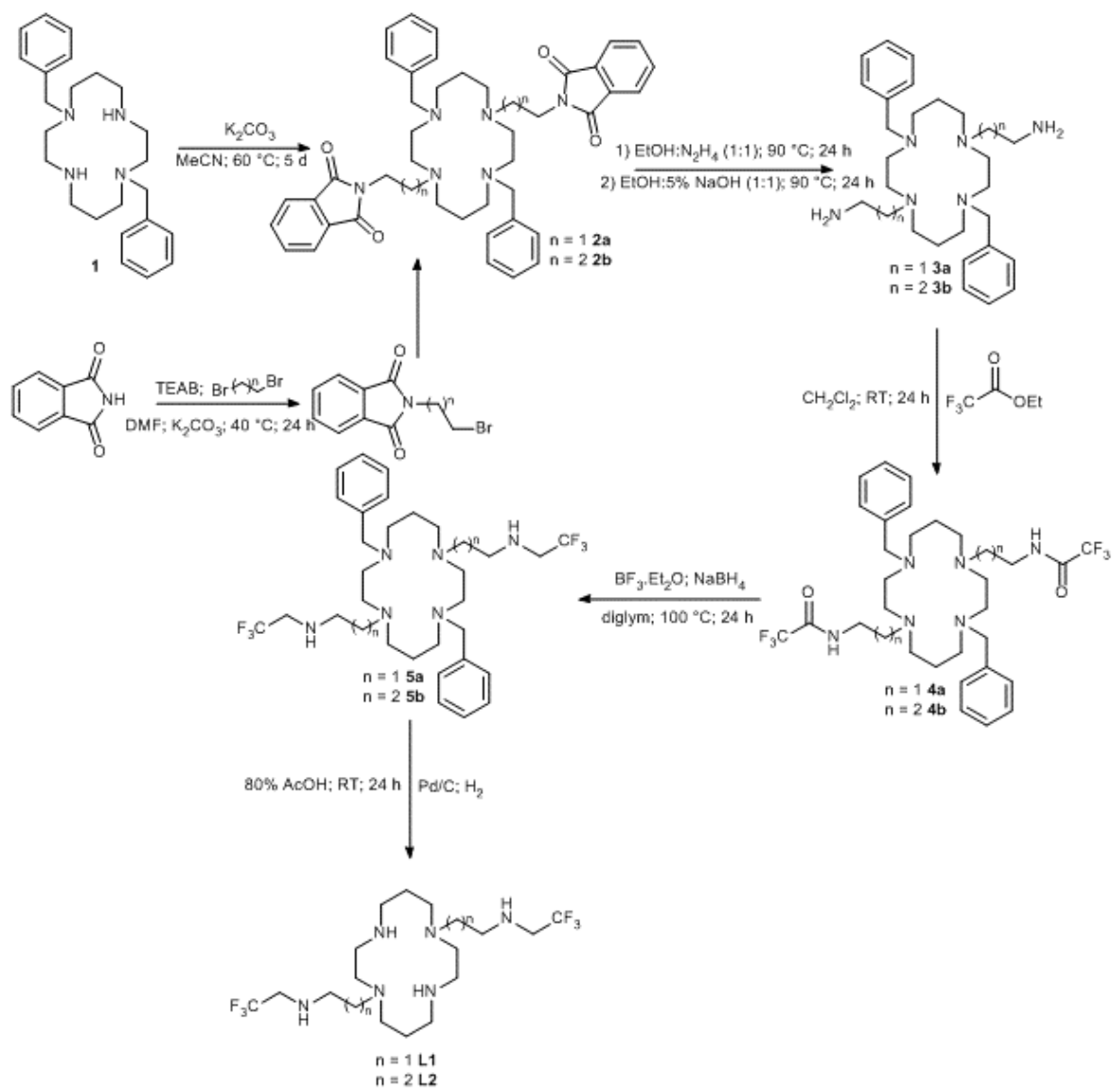


Reakce byla provedena dle literatury.[13,19] Do 500ml baňky bylo naváženo 5,06 g cyklamu. Následně bylo přidáno 300 ml destilované vody a baňka byla vložena do ledové lázně (voda, led, NaCl). Do roztoku bylo přidáno 5 ml 35% roztoku formaldehydu. Reakční směs byla míchána po dobu 3 hodin. Vzniklá bílá sraženina bis(aminalu) byla odsáta na fritě S4, promyta vodou a vložena do exsikátoru na 48 hodin.

Takto bylo získáno 5,98 g bis(aminalu), který byl rozpuštěn ve 100 ml suchého MeCN. Poté bylo přidáno 8,3 ml benzylbromidu (BnBr) a reakční směs byla míchána za laboratorní teploty po dobu 2 dní.

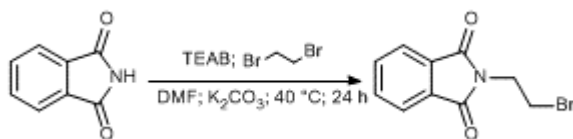
Vzniklá sraženina byla odsáta na fritě S4, promyta acetonem a následně rozptýlena v 300 ml 5% NaOH. Emulze byla extrahována CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (5x100 ml). Organická fáze byla odpařena na rotační vakuové odparce (RVO) do oleje, který byl vysrážen koncentrovanou HCl.

Bylo připraveno 10,46 g produktu ve formě tetrahydrochloridu tetrahydrátu, což byl 69% výtěžek vzhledem k teoretickému výtěžku reakce. Charakterizační data odpovídala publikovaným datům.[13]



Obrázek 7: Schéma přípravy ligandů L1 a L2

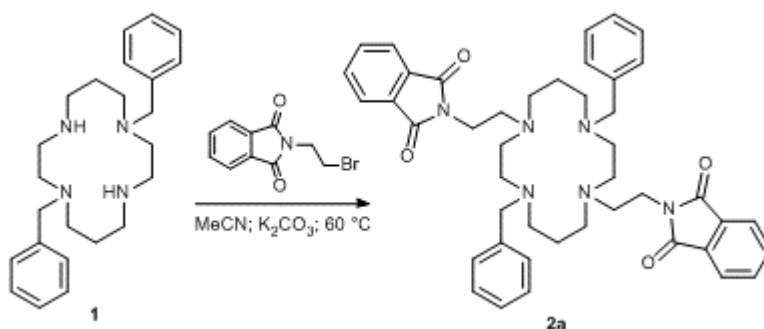
## 2.2.2 Příprava *N*-(2-bromethyl)ftalimidu



Reakce byla provedena dle literatury.[15] Do 100ml baňky bylo naváženo 0,75 g TEAB a 9,36 g  $K_2CO_3$ . Dále bylo přidáno 20 ml suchého DMF a 11,6 ml (4 ekv.) 1,2-dibromethanu. Za míchání reakční směsi bylo pomalu přisypáno 5,12 g ftalimidu. Směs byla míchána při 40 °C po dobu 24 hodin.

Poté byla reakční směs odsáta na fritě S3, filtrát byl zalit přibližně 120 ml vody a extrahován  $CH_2Cl_2$  (4x25 ml). Organická fáze byla odpařena. K olejovitému odparku bylo přidáno několik ml EtOH (96%) pro vyvolání krystalizace produktu. Bylo získáno 4,97 g produktu, což byl 67% výtěžek vzhledem k teoretickému výtěžku reakce. Charakterizační data odpovídala publikovaným datům.[15]

## 2.2.3 Příprava 1,8-dibenzyl-4,11-bis(2-ftalimidoethyl)cyclamu (2a)



Reakce byla provedena podle nepublikovaného postupu vytvořeného staršími kolegy.[16] Ve 250ml kádince bylo rozpuštěno 2,49 g  $1 \cdot 4HCl \cdot 4H_2O$  ve 120 ml 5% NaOH. Roztok byl převeden do 250ml dělicí nálevky a extrahován  $CHCl_3$  (6x15 ml). Organická fáze byla vysušena bezvodým  $Na_2SO_4$ , přefiltrována a odpařena na RVO. Odparek byl poté rozpuštěn ve 40 ml suchého MeCN. K roztoku bylo naváženo 4,68 g  $K_2CO_3$  (8 ekv.). Reakční směs byla zahřívána na olejové lázni na 60 °C. Následně bylo do baňky přidáno 3,72 g *N*-bromethylftalimidu (1,1 ekv.). Baňka byla opatřena chlorkalciovou trubičkou a směs byla ponechána míchat po dobu dvou dní. Poté bylo k reakční směsi opět přidáno 0,2 g  $K_2CO_3$  a 0,5 g *N*-bromethylftalimidu. Tento přírůstek byl opakován celkem 3x vždy po 24 hodinách. V reakční směsi poté začal vznikat nahnědlý prášek. Směs byla odsáta na fritě S4.

Směs anorganických solí a produktu na fritě byla promyta  $\text{CHCl}_3$  (3x20 ml). Jímaný filtrát byl odpařen na RVO. Bylo získáno 1,40 g produktu ve formě hnědého oleje. Produkt byl čištěn rekrystalizací z horkého EtOH. Bylo připraveno 1,19 g produktu ve formě nahnědlého prášku, což byl 39% výtěžek vzhledem k teoretickému výtěžku reakce.

#### Charakterizace:

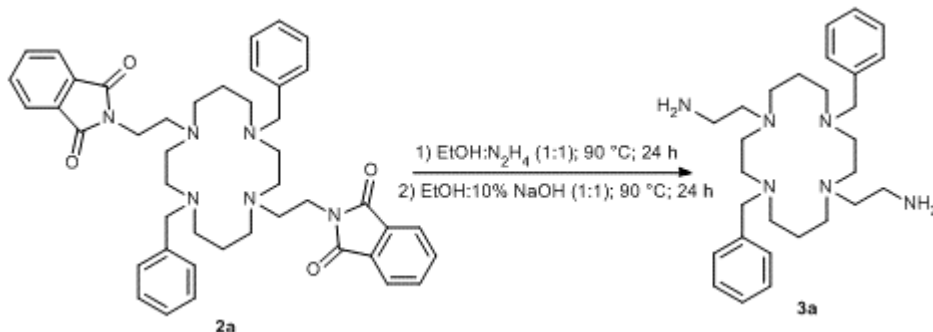
TLC: Merck, EtOH: $\text{NH}_3$ -20:1, detekce  $\text{CuSO}_4$ ,  $R_f = 0,85$ .

$^1\text{H}$  NMR (299,9 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  1,54 (4H, p,  $^3J = 6,7$   $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ); 2,38 (4H, t,  $^3J = 6,6$   $\text{CH}_2$ ); 2,49-2,63 (16H, m,  $\text{CH}_2$ ); 3,48 (4H, s,  $\text{PhCH}_2$ ); 3,66 (4H, t,  $^3J = 6,9$ ,  $\text{CH}_2\text{NCO}$ ); 7,17–7,30 (10H, m, Ph-arom.); 7,66–7,68 (4H, m, arom.); 7,77–7,80 (4H, m, arom.).

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$  NMR (150,9 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  23,73 (2C,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ); 36,05 (2C,  $\text{CH}_2\text{NCO}$ ); 50,90; 50,99; 51,19; 51,50; 52,40 (10C,  $\text{CH}_2$ ); 59,57 (2C,  $\text{PhCH}_2$ ); 123,10; 126,68; 128,02; 128,95; 132,20; 136,77; 139,83 (24C, arom.); 168,31 (4C, CO).

MS-ESI: (+): 727,4 ( $[\text{M}+\text{H}^+]$ ).

#### 2.2.4 Příprava 1,8-dibenzyl-4,11-bis(2-aminoethyl)cyclamu (3a)



Reakce byla provedena podle nepublikovaného postupu vytvořeného staršími kolegy.[16] Ve 100ml baňce bylo 0,55 g látky **2a** rozpuštěno v 18 ml horkého EtOH. Poté bylo přidáno 18 ml  $\text{N}_2\text{H}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ . Baňka byla opatřena zpětným chladičem, zahřata na olejové lázni na 90 °C a míchána po dobu 24 hodin. Poté byla reakční směs odpařena na RVO. Odparek byl rozpuštěn ve 40 ml EtOH:10% NaOH (1:1). Směs byla opět zahřívána na 90 °C po dobu 24 hodin. Následně byla směs odpařena na RVO a rozpuštěna v 50 ml 5% NaOH a extrahována  $\text{CHCl}_3$  (4x15 ml). Organická fáze byla vysušena bezvodým  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , přefiltrována a odpařena na RVO. Bylo získáno 0,24 g produktu ve formě nažloutlého oleje.

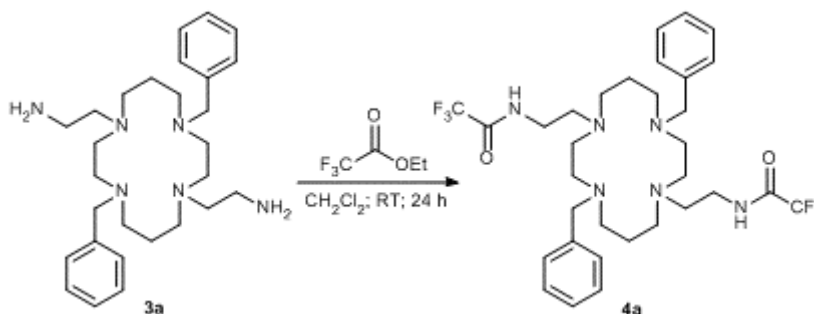
### Charakterizace:

TLC: Merck, IPAV-5:1:1, detekce ninhydrinem,  $R_f = 0,70$ .

$^1\text{H}$  (299,9 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  1,68 (4H, p,  $^3J = 6,9 \text{ NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ); 2,35 (4H, t,  $^3J = 6,4 \text{ CH}_2$ ); 2,46-2,53 (8H, m,  $\text{CH}_2$ ); 2,56 (8H, s,  $\text{CH}_2$ ); 2,64 (4H, t,  $^3J = 5,7 \text{ CH}_2$ ); 3,54 (4H, s,  $\text{PhCH}_2$ ); 7,22-7,33 (10H, m, arom.).

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$  (150,9 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  24,04 (2C,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ); 39,67; 514,10; 51,48; 51,64; 51,88; 57,76 (24C,  $\text{CH}_2$ ); 59,72 (2C,  $\text{PhCH}_2$ ); 126,82; 128,13; 128,96 (10C, arom.); 139,71 (2C, arom., kvartérní).

### 2.2.5 Příprava 1,8-dibenzyl-4,11-bis(*N*-trifluoracetyl-2-aminoethyl)cyklamů (4a)



Ve 100ml baňce bylo 0,35 g látky **3a** rozpuštěno ve 25 ml suchého  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . Poté bylo přidáno 0,54 ml  $\text{CF}_3\text{COOEt}$  (3 ekv.). Baňka byla opatřena chlorkalciovou trubičkou a míchána za laboratorní teploty do druhého dne. Poté byla reakční směs odpařena, bylo získáno 0,46 g žlutohnědého oleje. Produkt byl čištěn rekrystalizací z horkého EtOH. Bylo získáno 0,40 g krystalické látky **4a**.

### Charakterizace:

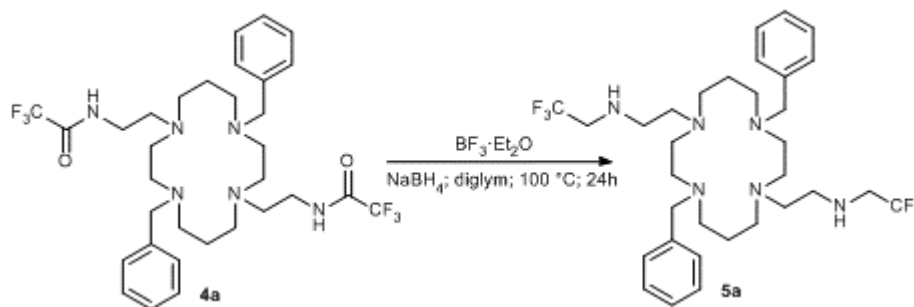
TLC, Merck, MeOH, detekce  $\text{CuSO}_4$ ,  $R_f = 0,65$

$^1\text{H}$  (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  1,68–1,92 (4H, s,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ); 2,14–2,31 (8H, s,  $\text{CH}_2$ ); 2,34–2,60 (12H, m,  $\text{CH}_2$ ); 3,15–3,35 (4H, s,  $\text{CH}_2\text{NH}$ ), 3,57 (4H, s,  $\text{NCH}_2\text{Ph}$ ); 7,12–7,47 (10H, m, arom.); 7,90–8,06 (2H, s,  $\text{NH}$ )

$^{13}\text{C}$  (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  24,17 (2C,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ); 38,14 (2C,  $\text{CH}_2\text{NH}$ ); 48,06; 48,90; 49,63; 50,24; 52,01 (10C;  $\text{CH}_2$ ); 59,42 (2C,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ); 116,08 (2C,  $\text{CF}_3$ ); 127,22; 128,32; 129,66 (10C, arom.); 137,57 (2C, arom., kvartérní); 157,52 (2C, CO)

$^{19}\text{F}$  (282 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  -74,72 (6F,  $\text{CF}_3$ )

### 2.2.6 Příprava 1,8-dibenzyl-4,11-bis(*N*-trifluoroethyl-2-aminoethyl)cyklamu (5a)



Reakce byla provedena reprodukcí postupu provedeným starším kolegou na podobné látce.[17,20] Do 3-hrdlé baňky bylo naváženo 0,69 g  $\text{NaBH}_4$  (15 ekv.). Baňka byla opatřena zpětným chladičem s bublačkou, přikapávačkou se septem a míchadlem. Aparatura byla 3x sekurována argonem. V suchém diglymu bylo rozpuštěno 0,40 g látky **4a**. Směs byla přes septum převedena do aparatury. Do přikapávačky byla připravena směs tvořená 10 ml suchého diglymu a 0,67 ml  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  (4,5 ekv.). Za bublačku byla připojena promývačka s 200 ml 5%  $\text{NaOH}$ :35%  $\text{H}_2\text{O}_2$  (1:1). Pod stálým proudem argonu byla do reakční směsi pomalu přikapána směs z přikapávačky (přibližně 1 kapka/s). Po přikapání byla přikapávačka vyměněna za septum a celá aparatura vložena do olejové lázně, kde byla zahřívána na  $100\text{ }^\circ\text{C}$ . Reakční směs byla míchána po dobu 24 hodin. Poté byla směs ponechána vychladnout na laboratorní teplotu. Přes septum bylo opatrně přikapáno 2,5 ml směsi  $\text{HCl}:\text{H}_2\text{O}$  (1:1). Vyloučená sůl byla odfiltrována a filtrát byl odpařen pod vysokým vakuem vytvořeným dvěma sériově zapojenými membránovými pumpami na RVO při  $80\text{ }^\circ\text{C}$ . Odparek byl rozpuštěn ve 100 ml 5%  $\text{NaOH}$  a extrahován  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (6x10 ml). Organická fáze byla vysušena bezvodým  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , odfiltrována a odpařena. Bylo získáno 0,1 g produktu ve formě oleje. Následně byla dříve odfiltrovaná sůl rozpustěna v 50 ml 5%  $\text{NaOH}$  a extrahována  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (4x10 ml). Po odpaření organické fáze bylo dalších 0,1 g produktu ve formě bílého prášku.

#### Charakterizace:

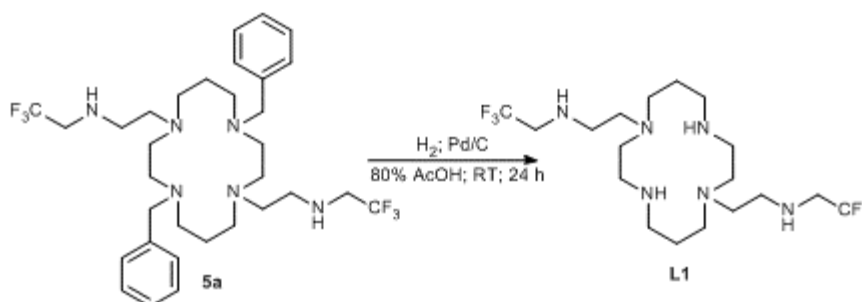
TLC, Merck,  $\text{EtOH}:\text{NH}_3$ -10:1, detekce:  $\text{CuSO}_4$ ,  $R_f = 0,90$

$^1\text{H}$  (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  1,24 (4H, m,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ); 2,12–3,03 (24H; m;  $\text{CH}_2$ ); 3,09–3,25 (4H, m,  $\text{CH}_2$ ) 3,64 (4H, s,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ); 7,12–7,60 (10H, m, arom.)

$^{13}\text{C}$  (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  29,63 (2C,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ); 41,80; 42,17; 42,76; 43,86; 46,12; 50,43; 55,90; 59,14 (14C,  $\text{CH}_2$ ); 61,80 (2C,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ); 128,72 (2C,  $\text{CF}_3$ ); 127,08; 129,00; 129,87; (10C, arom.); 138,82 (2C, arom., kvartérní)

$^{19}\text{F}$  (282 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  -71,53 (6F, t,  $^3J = 11,3$ ,  $\text{CF}_3$ )

## 2.2.7 Příprava ligandu L1



Do 100ml baňky se zaobleným dnem bylo naváženo 70 mg látky **5a**, která byla následně rozpuštěna v 25 ml 80% AcOH. Poté bylo do baňky přidáno 21 mg Pd/C jako katalyzátoru. Baňka byla opatřena zábrusovým ventilem a 3x sekurována  $\text{H}_2$ . Poté byl ventil napojen balónek s plynným  $\text{H}_2$ . Reakční směs byla míchána za laboratorní teploty po dobu 24 hodin. Poté byl katalyzátor odfiltrována přes filtrační papír a 2x promyt  $\text{H}_2\text{O}$ . Jímaný filtrát byl odpařen na RVO do sucha, a poté ještě 2x s  $\text{HCl}:\text{H}_2\text{O}$  (1:1). Bylo získáno 60 mg bílého prášku produktu ve formě hydrochloridu.

### Charakterizace:

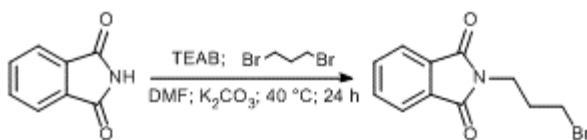
TLC, Merck, EtOH: $\text{NH}_3$ -10:1, detekce:  $\text{CuSO}_4$ ,  $R_f = 0,30$

$^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ , pD = 1,4):  $\delta$  1,90 (4H, m,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ); 2,70; 2,85; 2,91; 3,12; 3,24; 3,32 (28H, m,  $\text{CH}_2$ ); 3,93 (4H, q,  $^3J = 8,0$ ,  $\text{CH}_2\text{CF}_3$ )

$^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ , pD = 1,4):  $\delta$  22,68 (2C,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ); 43,10; 43,96; 46,33; 46,72; 47,74; 49,69 (14C,  $\text{CH}_2$ ); 122,12 (2C,  $\text{CF}_3$ )

$^{19}\text{F}$  (376 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ , pD = 1,4):  $\delta$  -68,54 (6F, t,  $^3J = 7,5$ ,  $\text{CF}_3$ )

## 2.2.8 Příprava N-(3-brompropyl)ftalimidu



Do 100ml baňky bylo naváženo 0,71 g TEAB a 9,49 g  $K_2CO_3$ . Dále bylo přidáno 20 ml suchého DMF a 13,8 ml (4 ekv.) 1,3-dibromopropanu. Za míchání reakční směsi bylo pomalu přisypáno 5,00 g ftalimidu. Směs byla míchána při 40 °C po dobu 24 hodin.

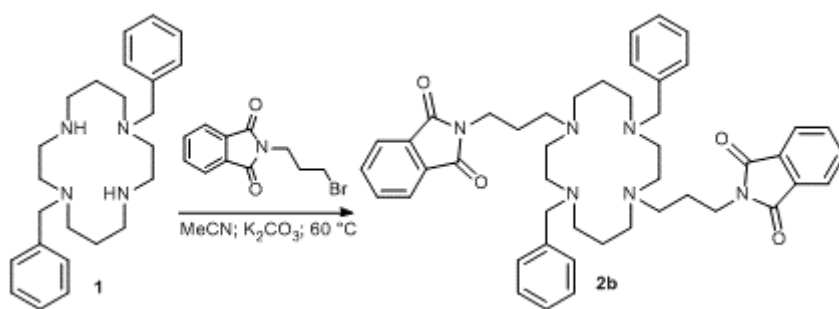
Poté byla reakční směs odsáta na fritě S3, filtrát byl zalit přibližně 120 ml vody a extrahován  $CH_2Cl_2$  (4x25 ml). Organická fáze byla odpařena. K olejovitému odparku bylo přidáno několik ml EtOH (96%) pro vyvolání krystalizace produktu. Bylo získáno 8,66 g produktu, což byl 95% výtěžek vzhledem k teoretickému výtěžku reakce.

### Charakterizace:

$^1H$  (600 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  2,30 (2H, m,  $CH_2CH_2CH_2$ ); 3,44 (2H, m,  $CH_2Br$ ); 3,87 (2H, m,  $NCH_2$ ); 7,75; 7,88 (4H, m, arom.)

$^{13}C$  (125 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  29,75 (1C,  $CH_2Br$ ); 31,66 (1C,  $CH_2CH_2CH_2$ ); 36,74 (1C,  $NCH_2$ ); 123,35; 134,08 (4C, arom.); 132,03 (2C, arom., kvartérní); 168,27 (2C, CO)

## 2.2.9 Příprava 1,8-dibenzyl-4,11-bis(3-ftalimidopropyl)cyklamu (2b)



Ve 100ml kádince bylo rozpuštěno 3,02 g  $1 \cdot 4HCl \cdot 4H_2O$  ve 150 ml 5% NaOH. Roztok byl převeden do 250ml dělicí nálevky a extrahován  $CHCl_3$  (5x30 ml). Organická fáze byla vysušena bezvodým  $Na_2SO_4$ , přefiltrována a odpařena na RVO. Odparek byl poté rozpuštěn v 60 ml suchého MeCN. K roztoku bylo naváženo 5,00 g  $K_2CO_3$  (~8 ekv.). Reakční směs byla zahřívána na olejové lázni na 60 °C. Následně bylo do baňky přidáno

3,25 g *N*-brompropylftalimidu (1,1 ekv.). Baňka byla opatřena chlorkalciovou trubičkou a směs byla ponechána míchat po dobu 6 dní. Směs byla odsáta na fritě S4. Směs anorganických solí a produktu na fritě byla promyta přibližně 10 ml MeCN. Jímaný filtrát byl spojen s matečným roztokem a odpařen na RVO. Produktu byl čištěn rekrystalizací z horkého EtOH. Bylo připraveno 3,57 g produktu ve formě bílého prášku, což byl 94% výtěžek vzhledem k teoretickému výtěžku reakce.

### Charakterizace:

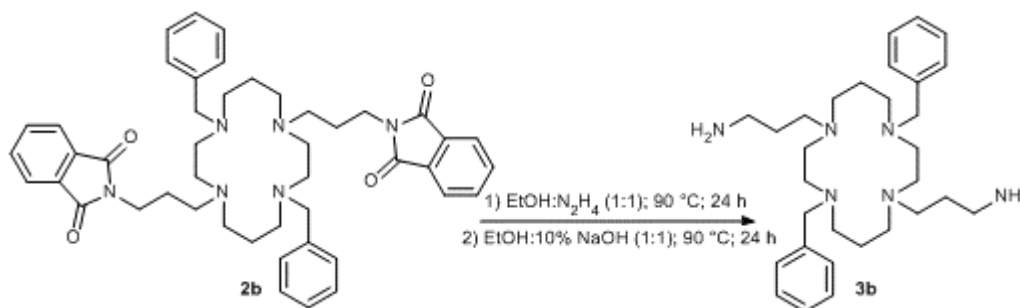
TLC: Merck, EtOH:NH<sub>3</sub>-20:1, detekce CuSO<sub>4</sub>,  $R_f = 0,75$

<sup>1</sup>H (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  1,55–1,89 (8H, m, CH<sub>2</sub>); 2,42 (4H, m, CH<sub>2</sub>); 2,57 (12H, m, CH<sub>2</sub>); 3,59 (4H, s, CH<sub>2</sub>Ph); 3,65 (4H, m, CH<sub>2</sub>); 3,79 (4H, t, CH<sub>2</sub>NCO); 7,16–7,44 (10H, m, Ph-arom.); 7,73; 7,84 (8H, m, Ft-arom.)

<sup>13</sup>C (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  23,60 (2C, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N); 26,30 (2C, CH<sub>2</sub>); 35,85 (2C, CH<sub>2</sub>NCO); 36,42; 49,61; 50,47; 51,49; 52,36 (14C, CH<sub>2</sub>); 59,78 (2C, CH<sub>2</sub>Ph); 122,58; 133,94 (8C, ftalimid-arom.); 127,66; 128,36; 129,66 (10C, Ph-arom.); 132,17 (4C, arom., kvartérní); 168,29 (2C, CO)

RTG: Monokrystal vhodný pro stanovení krystalové struktury pomocí RTG difrakce byl vybrán z materiálu po rekrystalizaci z EtOH. Parametry: triklinická soustava, P-1,  $a = 9.7722(6)$  Å,  $b = 10.0836(6)$  Å,  $c = 10.9788(7)$  Å,  $\alpha = 74.714(3)^\circ$ ,  $\beta = 82.564(3)^\circ$ ,  $\gamma = 88.502(3)^\circ$ ,  $U = 1034.75(11)$  Å<sup>3</sup>,  $z = 1$ , počet difrakcí celkem 4050, z toho 3035 intenzivních,  $R_1 = 0.0400$ ,  $wR_2 = 0.0987$ .

### 2.2.10 Příprava 1,8-dibenzyl-4,11-bis(3-aminopropyl)cyklamu (3b)



Ve 250ml baňce bylo 2,54 g látky **2b** rozpuštěno v 75 ml horkého EtOH. Poté bylo přidáno 75 ml N<sub>2</sub>H<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O. Baňka byla opatřena zpětným chladičem, zahřata na olejové lázni

na 90 °C a míchána po dobu 24 hodin. Poté byla reakční směs odpařena na RVO. Odparek byl rozpuštěn ve 150 ml EtOH:10% NaOH (1:1). Směs byla opět zahřívána na 90 °C po dobu 24 hodin. Následně byla směs odpařena na RVO a rozpuštěna v 85 ml 5% NaOH a extrahována CHCl<sub>3</sub> (5x20 ml). Organická fáze byla vysušena bezvodým Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, přefiltrována a odpařena na RVO. Bylo získáno 1,4 g produktu ve formě nažloutlého oleje, což byl 84% výtěžek vzhledem k teoretickému výtěžku reakce.

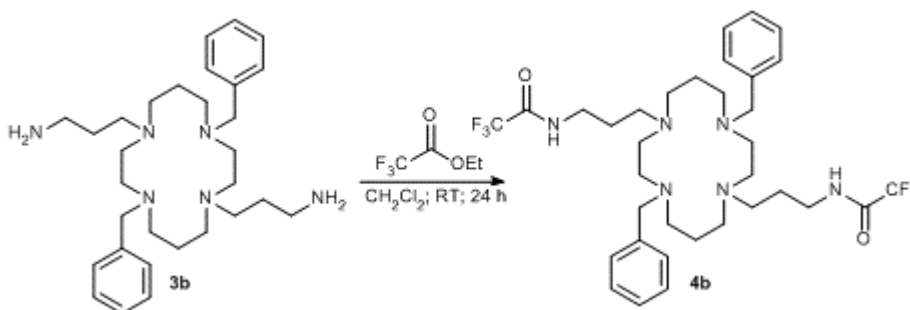
#### Charakterizace:

TLC: Merck, EtOH:NH<sub>3</sub>:20:1, detekce CuSO<sub>4</sub>, *R<sub>f</sub>* = 0,15

<sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 1,48 (4H, m, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N); 1,65–1,76 (4H, m, CH<sub>2</sub>); 2,25–2,73 (24H, m, CH<sub>2</sub>); 3,54 (4H, s, CH<sub>2</sub>Ph); 7,17–7,48 (10H, m, arom.)

<sup>13</sup>C (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 13,71 (2C, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N); 19,83; 24,29; 28,13; 29,65; 49,37–53,49 (14C, CH<sub>2</sub>); 59,34 (2C, CH<sub>2</sub>Ph); 129,07–130,14 (12C, arom.)

#### 2.2.11 Příprava 1,8-dibenzyl-4,11-bis(*N*-trifluoracetyl-3-aminopropyl)cyklamu (4b)



Ve 100ml baňce bylo 0,36 g látky **3b** rozpuštěno ve 25 ml suchého CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Poté bylo přidáno 0,6 ml CF<sub>3</sub>COOEt (3 ekv.). Baňka byla opatřena chlorkalciovou trubičkou a míchána za laboratorní teploty do druhého dne. Poté byla reakční směs odpařena. Bylo získáno 0,48 g látky ve formě žlutohnědého oleje, což byl 96% výtěžek vzhledem k teoretickému výtěžku reakce.

#### Charakterizace:

TLC: Merck, MeOH, detekce CuSO<sub>4</sub>, *R<sub>f</sub>* = 0,40

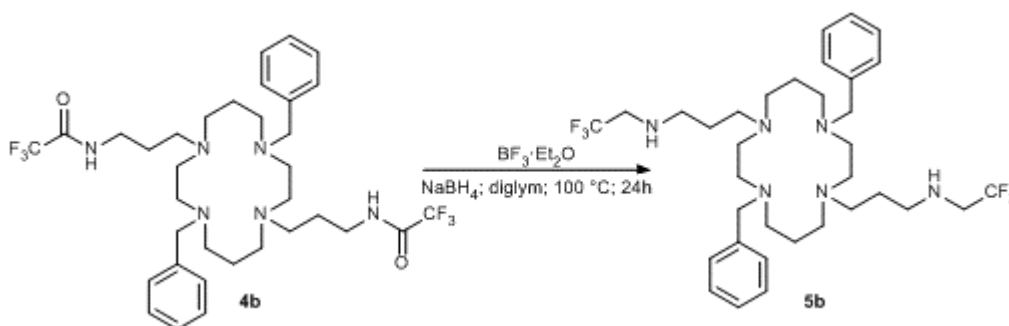
<sup>1</sup>H (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 1,28 (4H, m, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N); 1,52–1,96; 2,33–2,96 (22H, m,

$CH_2$ ); 3,39 (4H, m,  $CH_2NH$ ); 3,58 (4H, s,  $CH_2Ph$ ); 7,06-7,64 (10H, m, arom.); 8,95 (4H, s, NH)

$^{13}C$  (150 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  22,65; 23,78 (6C,  $CH_2$ ); 22,69 (2C,  $NCH_2CH_2CH_2N$ ); 37,86 (2C,  $CH_2NH$ ); 49,51; 50,32; 51,31 (6C,  $CH_2$ ); 59,63 (2C,  $CH_2Ph$ ); 116,08 (2C,  $CF_3$ ); 127,73; 128,33; 128,58 (10C, arom.); 138,19 (2C, arom., kvartérní); 157,68 (2C, CO)

$^{19}F$  (282 MHz,  $CDCl_3$ ): -75,76 (6F, s,  $CF_3$ )

### 2.2.12 Příprava 1,8-dibenzyl-4,11-bis(*N*-trifluoroethyl-3-aminopropyl)cyklamu (5b)



Do 3-hrdlé baňky bylo naváženo 0,74 g  $NaBH_4$  (15 ekv.). Baňka byla opatřena zpětným chladičem s bublačkou, přikapávačkou se septem a míchadlem. Aparatura byla 3x sekurována argonem. Ve 20 ml suchého diglymu bylo rozpuštěno 0,45 g látky **4b**. Směs byla přes septum převedena do aparatury. Do přikapávačky byla připravena směs tvořená 10 ml suchého diglymu a 0,73 ml  $BF_3 \cdot Et_2O$  (4,5 ekv.). Za bublačku byla připojena promývačka s 200 ml 5%  $NaOH$ :35%  $H_2O_2$  (1:1). Pod stálým proudem argonu byla do reakční směsi pomalu přikapána směs z přikapávačky (přibližně 1 kapka/s). Po přikapání byla přikapávačka vyměněna za septum a celá aparatura vložena do olejové lázně, kde byla zahřívána na  $100\text{ }^\circ C$ . Reakční směs byla míchána po dobu 24 hodin. Poté byla směs ponechána vychladnout na laboratorní teplotu. Přes septum bylo opatrně přikapáno 2,0 ml směsi  $HCl:H_2O$  (1:1). Vyloučená sůl byla odfiltrována a filtrát byl odpařen pod vysokým vakuem vytvořeným dvěma sériově zapojenými membránovými pumpami na RVO při  $80\text{ }^\circ C$ . Odparek byl rozpuštěn ve 100 ml 5%  $NaOH$  a extrahován  $CH_2Cl_2$  (5x10 ml). Organická fáze byla vysušena bezvodým  $Na_2SO_4$ , odfiltrována a odpařena. Bylo získáno 0,25 g oleje. Produkt byl dále dočištěn pomocí flashové chromatografie na koloně typu C18 s gradientovou elucí mobilní fází  $H_2O:MeCN$  s 0,1% TFA jako modifikátorem (95:5 →

0:100) po dobu 20 minut, ze které bylo získáno 0,35 g trifluoroacetátové soli produktu ve formě čirého oleje.

#### Charakterizace:

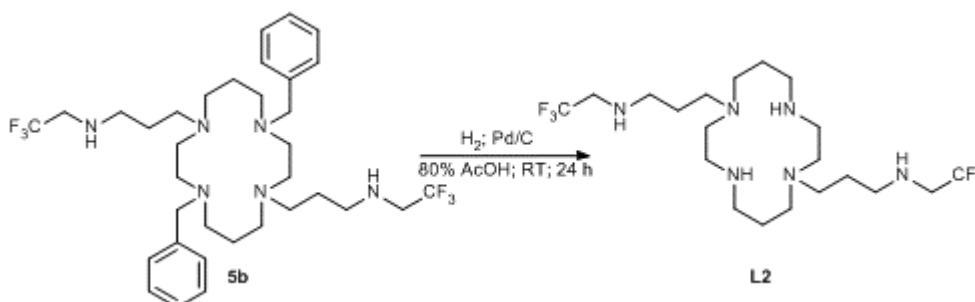
TLC: Merck, EtOH:NH<sub>3</sub>-50:1, detekce CuSO<sub>4</sub>, *R<sub>f</sub>* = 0,45

<sup>1</sup>H (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 1,87 (4H, m, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N); 1,97–2,08 (2H, m, CH<sub>2</sub>); 2,20; 2,34; 2,47; 2,83; 2,93; 3,07; 3,17; 3,25; 3,64; 3,74 (26H, m, CH<sub>2</sub>); 3,80 (4H, s, CH<sub>2</sub>Ph); 4,55 (2H, d, <sup>3</sup>*J* = 18 Hz, CH<sub>2</sub>); 4,88 (2H, m, CH<sub>2</sub>); 7,42–7,56 (10H, m, arom.)

<sup>13</sup>C (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 22,39 (2C, CH<sub>2</sub>); 23,63 (2C, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N); 46,69; 48,37; 49,83; 50,34; 51,69; 54,55; 58,66 (16C, CH<sub>2</sub>); 116,97 (2C, CF<sub>3</sub>); 129,11; 129,73; 131,45 (10C, arom.); 139,66 (2C, arom., kvartérní)

<sup>19</sup>F (282 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ -68,09 (6F, t, <sup>3</sup>*J* = 8,5, CF<sub>3</sub>)

### 2.2.13 Příprava ligandu L2



Do 100ml baňky se zaobleným dnem bylo naváženo 207 mg látky **5b**, která byla následně rozpuštěna v 25 ml 80% AcOH. Poté bylo do baňky přidáno 23 mg Pd/C jako katalyzátoru. Baňka byla opatřena zábrusovým ventilem a 3x sekurována H<sub>2</sub>. Poté byl na ventil napojen balónek s plynným H<sub>2</sub>. Reakční směs byla míchána za laboratorní teploty po dobu 24 hodin. Poté byl katalyzátor odfiltrována přes filtrační papír a 2x promyt H<sub>2</sub>O. Jímaný filtrát byl odpařen na RVO do sucha, a poté ještě 2x s HCl:H<sub>2</sub>O (1:1). Bylo získáno 150 mg bílého prášku produktu ve formě hydrochloridu.

#### Charakterizace:

TLC, Merck, EtOH:NH<sub>3</sub>-10:1, detekce: CuSO<sub>4</sub>, *R<sub>f</sub>* = 0,25

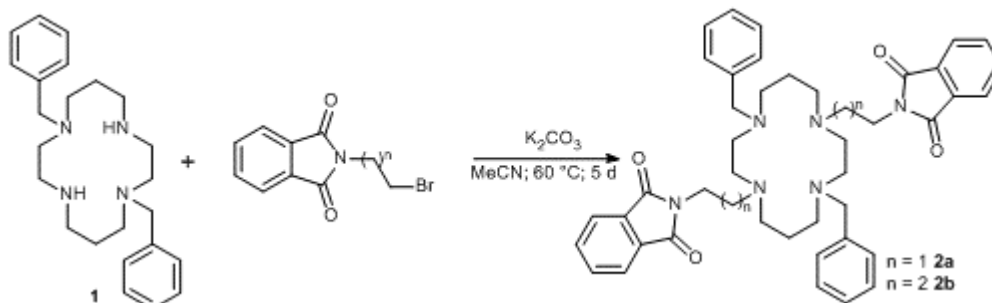
$^1\text{H}$  (600 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ , pD = 1,0):  $\delta$  2,19 (4H, m,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ); 2,27; 3,32; 3,42; 3,52;  
3,63; 3,68; 3,74 (28H, m,  $\text{CH}_2$ ); 4,03 (4H, q,  $^3J = 12$ ,  $\text{CH}_2\text{CF}_3$ )

$^{13}\text{C}$  (150 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ , pD = 1,0):  $\delta$  17,94 (2C,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ); 20,94; 36,75; 41,11; 44,72;  
45,05; 47,26; 47,85; 51,92 (16C,  $\text{CH}_2$ ); 123,03 (2C,  $\text{CF}_3$ )

$^{19}\text{F}$  (282 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ , pD = 1,0): -66,02 (6F, t,  $^3J = 9,9$ ,  $\text{CF}_3$ )

### 3 Výsledky a diskuze

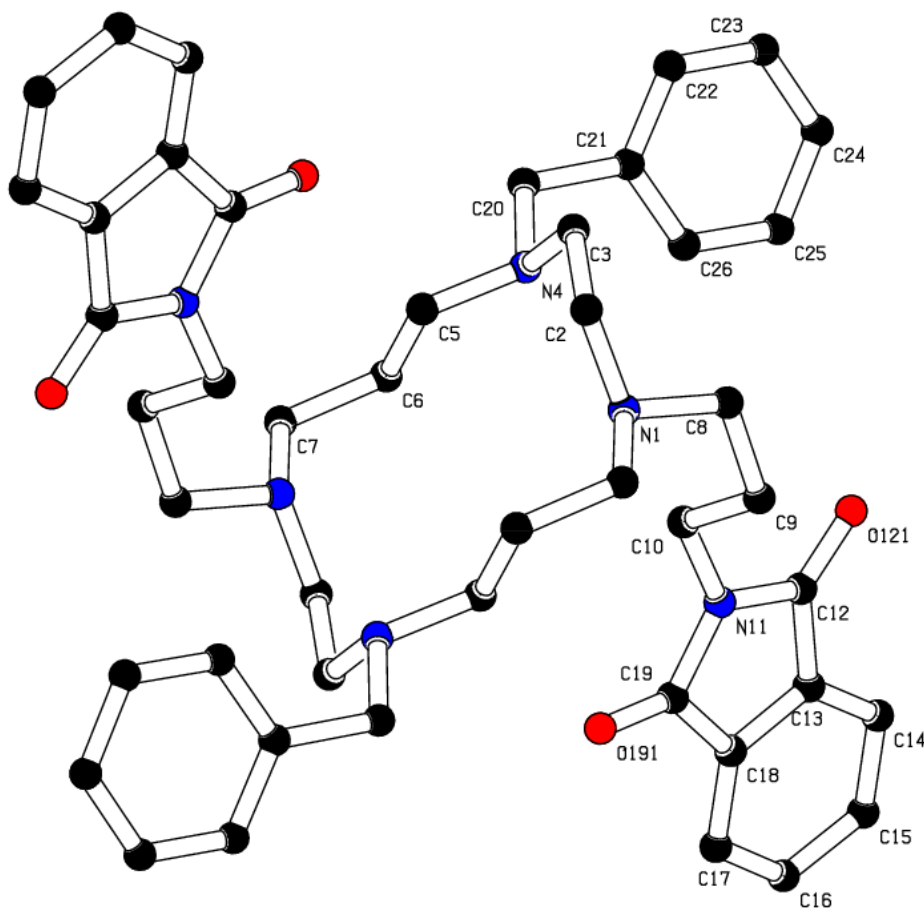
#### 3.1 Příprava látek 2a a 2b



Příprava látky **2a** byla provedena dle nepublikovaného postupu vytvořeného staršími kolegy.[16] Reakce probíhá bez větších komplikací, je však potřeba průběžně přidávat větší nadbytek alkylačního činidla, protože v prostředí reakce dochází k jeho eliminaci na vinylftalimid, který je nežádoucím vedlejším produktem. Nejvhodnější je přidání alkylačního činidla jednou za 24 hodin, lze však tuto dobu prodloužit až na 48 hodin bez větší újmy na výtěžku.

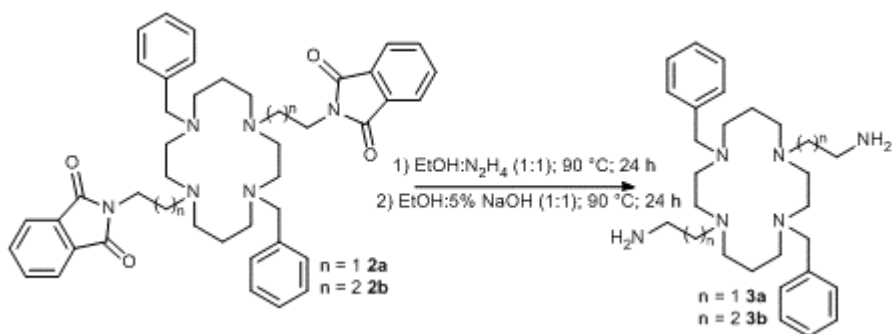
K přípravě látky **2b** byl použit stejný postup, který byl později upraven. U této reakce nedochází k eliminaci a není tedy nutné průběžně přidávat velký nadbytek alkylačního činidla. Také byla pozorována vyšší rozpustnost produktu v MeCN a na rozdíl od látky **2a** není nutné důkladně promývat směs produktu a anorganických solí chloroformem. Dostačující je promýt několika ml MeCN a společně s matečným roztokem odpařit na RVO a přečistit rekrystalizací z horkého EtOH.

U látky **2b** byl připraven monokrystal vhodný pro stanovení krystalové struktury RTG difrakcí. Struktura centrosymetrické molekuly je ukázána na obrázku 8.



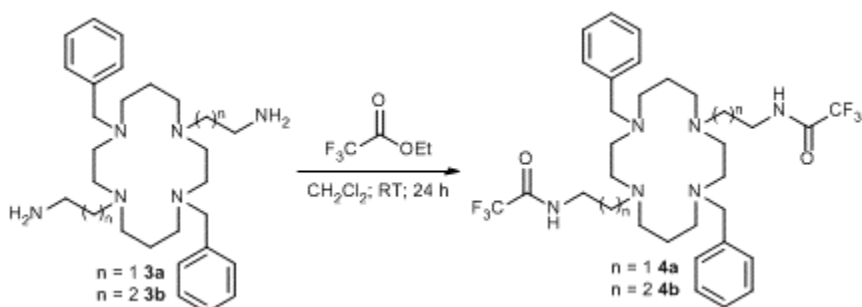
Obrázek 8: Centrosymetrická molekula látky **2b** z její krystalové struktury

### 3.2 Příprava látek **3a** a **3b**



Reakce byla v případě obou látek provedena stejným postupem. Odchránění ftalimidové skupiny je dokončené již v prvním kroku reakce. V reakční směsi je však přítomný ftalhydrazid, který je v druhém kroku přeměněn na kyselinu ftalovou. Ta je pak snadno oddělena extrakcí mezi 5% NaOH a  $\text{CHCl}_3$  (popř.  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ).

### 3.3 Příprava látek 4a a 4b



U přípravy látek **4a** a **4b** byly navrženy dva reaktanty:  $\text{CF}_3\text{COOEt}$  a  $(\text{CF}_3\text{CO})_2\text{O}$ . Pro syntézu byl zvolen  $\text{CF}_3\text{COOEt}$  z důvodu menší citlivosti na vzdušnou vlhkost. Ethylester navíc jako vedlejší produkt poskytuje EtOH, který je snadněji odstranitelný než TFA, která by vznikala reakcí s anhydridem. U reakce je potřeba relativně velký nadbytek reaktantu, jinak reakce probíhá s velmi malými výtěžky (pouze 20 %). Rekrystalizací z horkého EtOH je možné produkt vyčistit od zbylého esteru.

### 3.4 Příprava látek 5a a 5b



Redukce amidu (**4a,b**) na amin (**5a,b**) byla prováděna několika různými postupy. Prvním byla redukce pomocí  $\text{BH}_3 \cdot \text{THF}$  v suchém THF pod proudem Ar. Reakce byla vyzkoušena 2x. V prvním případě byl na zpracování zbývajícího  $\text{BH}_3$  použit 5% NaOH. Produkt byl následně extrahován do organické fáze. Tento postup byl neúspěšný, jelikož v  $^{19}\text{F}$  NMR spektru nebyl pozorován žádný pík. V případě druhém byl použit MeOH, což vedlo ke vzniku sraženiny, kterou se nepodařilo úspěšně rozpustit a dále analyzovat. Rozpustnost byla vyzkoušena v  $\text{H}_2\text{O}$ , EtOH, MeOH, aceton,  $\text{CHCl}_3$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , MeCN,  $\text{H}_2\text{O}:\text{MeCN}$  (různé poměry), HCl konc., DMSO. TLC zbylého roztoku ukázalo na vznik mnoha různých produktů.

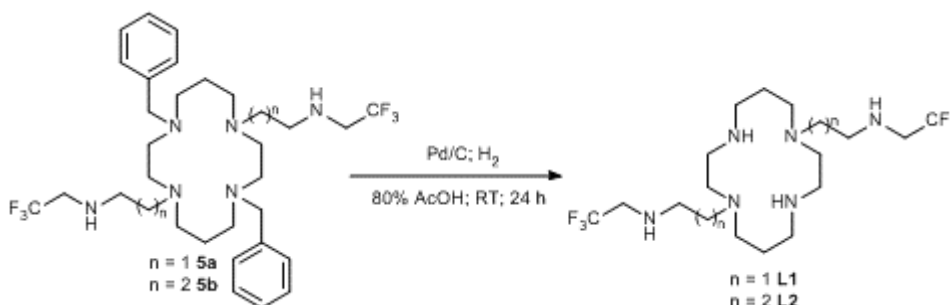
Dále byl použit postup redukce pomocí LAH v suchém THF při 40 °C, kde nedocházelo k reakci. Alternativní postup, kde byla výchozí látka nejdříve aktivována

reakcí s TMSCl také nevedla k žádanému aminu. Reakce pravděpodobně neprobíhaly kvůli přítomnosti  $\text{CF}_3$  skupiny, která odčerpávala elektronovou hustotu z  $\text{C}=\text{O}$  skupiny.

Po neúspěšných pokusech o redukci byla vyzkoušena přímá alkylace látky **3a** pomocí  $\text{CF}_3\text{CH}_2\text{I}$  v suchém MeCN za přítomnosti  $\text{K}_2\text{CO}_3$ . K reakci nedošlo ani po několika dnech míchání.

Nakonec se jako dobrý postup ukázala redukce pomocí diboranu generovaného reakcí  $\text{NaBH}_4$  s  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  v přítomnosti  $\text{NaBH}_4$  v suchém diglymu. Odstranění zbylého diboranu a borohydridu pomocí  $\text{HCl}:\text{H}_2\text{O}$  (1:1) ve k vysrážení směsi solí. Pokud je zředěné  $\text{HCl}$  použit velký nadbytek, pak dojde také k vysrážení části produktu, což vede ke zdánlivému snížení výtěžku reakce. Vzniklou směs solí lze odsát na fritě, rozpustit v 5%  $\text{NaOH}$  a extrahovat do  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . Vzniklý produkt lze vysrážet v podobě hydrochloridu přidáním několika ml  $\text{EtOH}$  (96%) a pomalým přikapáváním konc.  $\text{HCl}$ .

### 3.5 Příprava ligandů L1 a L2

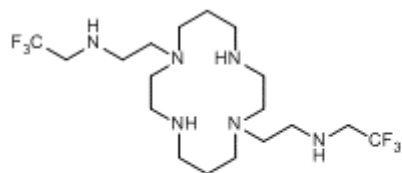


Ligandy byly připraveny hydrogenací plynným  $\text{H}_2$  za přítomnosti palladia na uhlí jako katalyzátoru. Jako rozpouštědlo byla použita 80%  $\text{AcOH}$ , která se ukázala být vhodná, jelikož reakce v ní probíhá i za laboratorní teploty. Pro reakci je dobré použít katalyzátor v množství odpovídající alespoň 10 % hmotnosti výchozí látky. V případě, kdy je relativně málo výchozí látky a navážka katalyzátoru by byla menší než 20 mg, je riziko, že dojde mezi vážením a zavedením do reakční směsi ke znehodnocení katalyzátoru vzdušnou vlhkostí. Pro zajištění reakce je dobré v takovém případě vždy navážít alespoň 20 mg katalyzátoru.

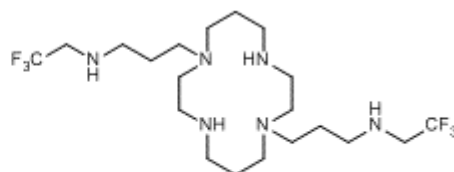
## 4 Závěr

V rámci této bakalářské práce byly připraveny dva nové ligandy **L1** a **L2** pro potenciální využití jako kontrastních látek pro  $^{19}\text{F}$ -MRI a CEST.

V budoucnu je záměrem studovat vlastnosti ligandů a jejich komplexů, jako jsou protonizační konstanty, konstanty stability a relaxační časy NMR signálů.



**L1**



**L2**

## Seznam zkratek

AcOH	– kyselina octová
BnBr	– benzylbromid
CEST	– Chemical Exchange Saturation Transfer (přenos saturace chemickou výměnou)
(CF <sub>3</sub> CO) <sub>2</sub> O	– trifluoracetanhydrid
CF <sub>3</sub> COOEt	– ethyltrifluoracetát
Cyklam	– 1,4,8,11-tetraazacyklotetradekan
Cyklen	– 1,4,7,10-tetraazacyklododekan
Diglym	– diethylenglykol dimethylether
DMF	– dimethylformamid
DTPA	– diethylenetriaminpentaoctová kyselina
EtOH	– ethanol
FID	– Free Induction Decay
FT	– Fourierova transformace
LAH	– tetrahydridohlinitan lithný
MeCN	– acetonitril
MRI	– magnetic resonance imaging (zobrazování magnetickou rezonancí)
MS	– mass spectrometry (hmotnostní spektrometrie)
NMR	– nukleární magnetická rezonance
PARACEST	– Paramagnetic Chemical Exchange Saturation Transfer (přenos saturace chemickou výměnou na paramagnetické sloučenině)
Pd/C	– palladium na uhlí
ppm	– parts per million
R <sub>f</sub>	– retenční faktor
RF	– radiofrekvenční
RVO	– rotační vakuová odparka
TACN	– 1,4,7-triazacyklononan
TEAB	– bromid tetraethylamonný
TFA	– kyselina trifluoroctová
THF	– tetrahydrofuran
TLC	– Thin Layer Chromatography (tenkovrstvá chromatografie)
TMS	– tetramethylsilan

## Seznam zdrojů

- [1] E. D. Becker, *High Resolution NMR: Theory and Chemical Applications (3rd Edition)*. Academic Press, **2000**
- [2] M. Dračínský, *Jaderná magnetická rezonance*, **2009**, Dostupné z:  
[http://www.uochb.cz/web/document/cms\\_library/747.pdf](http://www.uochb.cz/web/document/cms_library/747.pdf)
- [3] P. Atkins a J. de Paula, *Fyzikální chemie*. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, **2013**, ISBN 978-80-7080-830-6.
- [4] A. Kumar, *J. Ind. Ins. Sci.*, Bangalore, **2014**, *94*, 363-369
- [5] C. F. G. C. Geraldes, S. Laurent, *Contrast Media Mol. Imaging*, **2009**, *4*, 1-23
- [6] I. Tirota, V. Dichiarante, C. Pigliacelli, G. Cavallo, G. Terraneo, F. Baldelli Bombelli, P. Metrangolo a G. Resnati, *Chem. Rev.*, **2016**, *115*, 1106-1129
- [7] M. Woods, D. E. Woesner, *Chem. Soc. Rev.*, **2006**, *35*, 500-511
- [8] P. Harvey, I. Kuprov, D. Parker, *Eur. J. Inorg. Chem.*, **2012**, 20115-2022
- [9] P. C. M. van Zijl, N. N. Yadav. *Mag. Res. Med.*, **2011**, *65*, 927-945
- [10] M. Meser Ali, G. Liu, T. Shah, C. A. Flask, M. D. Pagel, *Acc. Chem. Res.*, **2009**, *42*, 915-923
- [11] S. J. Dorazio, A. O. Olatunde, P. B. Tsitovich, J. R. Morrow, *J. Biol. Inorg. Chem.*, **2013**, *19*, 191-205
- [12] W. R. Hendee, E. R. Ritenour, *Medical Imaging Physics (4th Edition)*, New York., Wiley-LISS. Inc., **2002**
- [13] J. Blahut, *Bifunkční chelatanty dvojmocné mědi*. Praha, **2011**.
- [14] T. Krchová, *MRI kontrastní látky využívající přenosu saturace*. Praha, **2012**.
- [15] T. Krchová, J. Kotek, D. Jiráček, J. Havlíčková, I. Císařová, P. Hermann, *Dalton Trans.*, **2012**, *42*, 15735-15747
- [16] T. Krchová: *ústní sdělení*
- [17] J. Blahut. *Regiospecifické deriváty cyklamů pro radiomedicínské a MRI aplikace*, Praha, **2013**
- [18] G. M. Sheldrick: *SHELX-97 – A Computer Program Package for Solution and Refinement of Crystal Structures*. University of Göttingen, Göttingen, Germany, **1997**.
- [19] G. Royal, V. Dahaoui-Gindrey, S. Dahaoui, A. Tabard, R. Guillard, P. Pullumbi, C. Lecomte, *Eur. J. Org. Chem.*, **1998**, 1971-1975
- [20] J. Blahut, P. Hermann, A. Gálisová, V. Herynek, I. Císařová, Z. Tošner, J. Kotek, *Dalton Trans.*, **2016**, *45*, 474-478
- [21] K. H. Chalmers, A. M. Kenwright, D. Parker, A. M. Blamire, *Mag. Res. Med.*, **2011**, *66*, 931-936
- [22] K. H. Chalmers, E. de Luca, N. H. M. Hogg, A. M. Kenwright, I. Kuprov, D. Parker, M. Botta, J. I. Wilson, A. M. Blamire, *Chem. Eur. J.*, **2010**, *16*, 134-148

[23] A. L. Spek: *PLATON – A Multipurpose Crystallographic Tool*. Utrecht University, Utrecht, The Netherlands, **2005**.