

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE

Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Anorganická chemie



Diplomová práce

Bc. Lucie Kuncová

Ternární makrocyclické komplexy kovů s fluoridovými anionty

Ternary macrocyclic complexes of metals with fluoride anions

Vedoucí práce:

doc. RNDr. Vojtěch Kubíček, Ph.D.

Praha, 2022

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem tuto diplomovou práci zpracovala samostatně a uvedla veškeré použité zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, dne 1. srpna 2022

Podpis: _____

Abstrakt

Cílem této práce bylo syntetizovat tři ligandy odvozené od makrocyklu TACN, které byly v naší laboratorní skupině již dříve zkoumány, a následně připravit řadu gallitých a hlinitých komplexů s těmito ligandy pro studium jejich koordinačních vlastností. Komplexy byly charakterizovány pomocí NMR, HPLC-MS a EA. U komplexů, které se podařilo připravit byla naměřena data vypovídající o schopnosti vázat fluoridové anionty (tj. tvorby ternárních makrocyklických komplexů) pomocí fluoridové iontově-selektivní elektrody. U komplexu [Ga(L1)] s procentuálně nejvíce navázanými fluoridovými anionty (~95 %) byly rovněž studovány disociační rovnováhy při pH = 8–10.

Klíčová slova

makrocyklické komplexy, fluoridové anionty, tvrdé ionty kovů, stabilita komplexů, kinetika komplexace

Abstract

The aim of this thesis was to synthesize three ligands derived from macrocycle TACN, which were previously investigated in our laboratory group, and subsequently prepare gallium and aluminum complexes with these ligands for the study of coordination properties. The complexes were characterized by NMR, HPLC-MS and EA. For the complexes that were prepared, data on the ability to bind fluoride anions (i.e. the formation of ternary macrocyclic complexes) were measured using fluoride ion-selective electrode. Dissociation equilibria at pH = 8–10 were also studied for the complex [Ga(L1)] that had the highest percentage of bound fluoride anions (~ 95%).

Keywords

macrocyclic complexes, fluoride anions, hard metal ions, complex stability, complexation kinetics

Poděkování

Nejprve chci poděkovat každému, kdo mi byl ochotný během vzniku této práce pomoci kdykoliv bylo potřeba. Tím spíš chci zdůraznit celý tým Labu 19. Myslím, že tak jedinečný kolektiv lidí lze v životě najít jen výjimečně. Zároveň nám dává během naší studentské etapy tak pestré a různorodé zážitky, na které patrně nikdy nezapomeneme.

Zvláštní poděkování patří mému školiteli doc. RNDr. Vojtěchu Kubíčkovi, Ph.D., za vedení mé práce a přínosné rady po celou dobu studia.

Dále děkuji Lukášovi za veškerou podporu a pochopení, které mi byl schopný dát. Jeho výjimečností, ať už z hlediska charakteru, životního postoje či samotného humoru, jsem mohla získat pocit, že vše se dá v životě nějak zvládnout.

Pokud bych měla vyzdvihnout jednoho člověka z laborky, tak by si to byl stoprocentně ty, Roberte! Víím, jak sis přál být někde napsaný, a navíc tady je to na správném místě. Byl jsi skutečně nejlepší kámoš a opora během celého magisterského studia.

Byla to vážně jízda. Ještě jednou tak děkuji všem jmenovaným i nejmenovaným, že na této cestě mohli být se mnou.

Obsah

1	Úvod	7
1.1	Pozitronová emisní tomografie	7
1.2	Značení látek pomocí ^{18}F	10
1.3	Ligandy pro PET	13
1.4	Makrocyclické ligandy pro hliník a gallium	15
	Makrocyclické ligandy pro Al^{3+}	16
	Makrocyclické ligandy pro Ga^{3+}	18
2	Cíl práce.....	20
3	Experimentální část	21
3.1	Použité chemikálie	21
3.2	Metody charakterizace	21
3.2.1	Nukleární magnetická rezonance (NMR)	21
3.2.2	Hmotnostní spektrometrie (MS)	21
3.2.3	Chromatografie na tenké vrstvě (TLC).....	21
3.2.4	Elementární analýza (EA).....	21
3.2.5	Fluoridová iontově selektivní elektroda (F-ISE)	22
3.2.6	Vysokoučinná kapalinová chromatografie (HPLC)	23
3.3	Syntéza	24
3.3.1	1-benzyl-1,4,7-triazacyklononan (4).....	24
3.3.2	Kyselina 2,2'-(7-benzyl-1,4,7-triazacyklonan-1,4-diyl)diocetová (L1).....	25
3.3.3	Di- <i>t</i> butyl 2,2'-(7-benzyl-1,4,7-triazacyklonan-1,4-diyl)diacetát (5).....	26
3.3.4	Di- <i>t</i> butyl 2,2'-(1,4,7-triazacyklonan-1,4-diyl)diacetát (6)	27
3.3.5	2-chloro- <i>N</i> -ethylacetamid (7)	28
3.3.6	Di- <i>t</i> butyl 2,2'-(7-(2-(ethylamino)-2-oxoethyl)-1,4,7-triazacyklonan-1,4-diyl)diacetát (8).....	29

3.3.7	Kyselina 2,2'-(7-(2-(ethylamino)-2-oxoethyl)-1,4,7-triazacyklonan-1,4-diyl)diacetová (L2)	30
3.3.8	2-chloro- <i>N,N</i> -diethylacetamid (9).....	31
3.3.9	Di- <i>t</i> butyl 2,2'-(7-(2-(diethylamino)-2-oxoethyl)-1,4,7-triazacyklonan-1,4-diyl)diacetát (10).....	32
3.3.10	Kyselina 2,2'-(7-(2-(diethylamino)-2-oxoethyl)-1,4,7-triazacyklonan-1,4-diyl)diacetová (L3)	33
3.4	Příprava komplexů	34
4	Výsledky a diskuze.....	37
4.1	Syntéza ligandů	37
4.2	Příprava komplexů	39
4.3	Studium koordinačních vlastností	41
4.3.1	Termodynamika tvorby ternárního komplexu	41
4.3.2	Kinetické studie vázání F ⁻	44
4.3.3	Disociační rovnováhy	56
5	Závěr.....	58
6	Citace.....	59
7	Seznam zkratk.....	63
8	Přílohy	64

1 Úvod

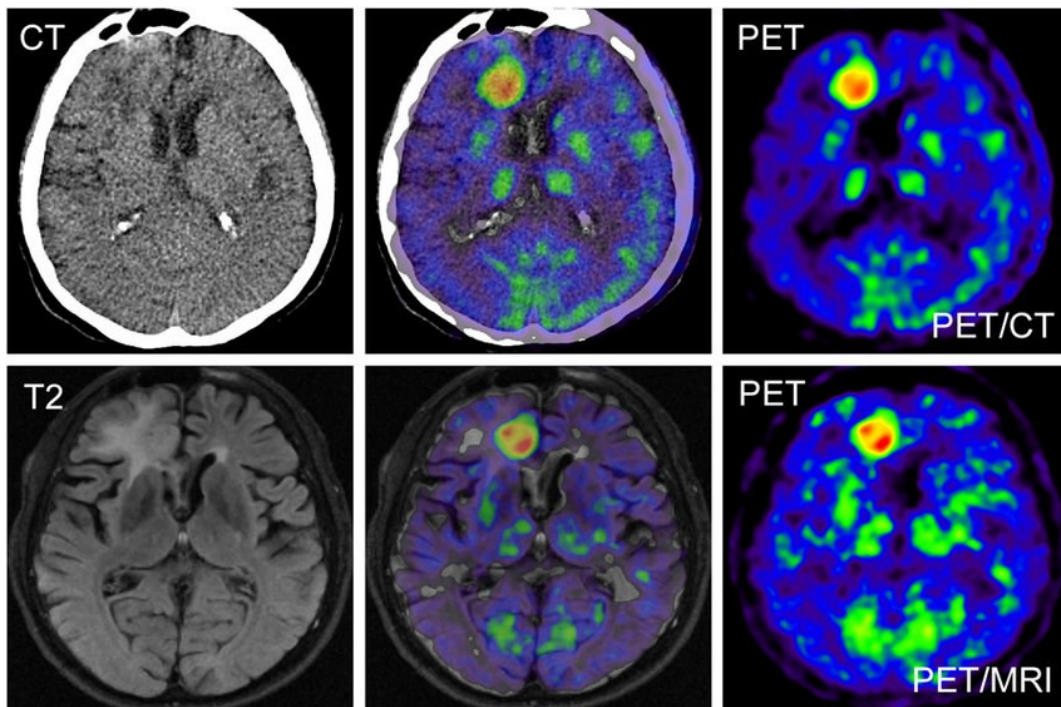
Látky obsahující ve své struktuře radioizotop ^{18}F se v radiodiagnostice, konkrétně pozitronové emisní tomografii (PET), využívají již desetiletí. Za tuto dobu bylo syntetizováno a studováno celé spektrum látek obsahující vazbu atomu fluoru na řadu nekovových atomů např. boru v BODIPY či uhlíku ve ^{18}F -FDG.^[1,2] Tyto látky poskytují s ^{18}F poměrně pevné vazby a proto mohou být využívány *in vivo*. Syntéza těchto látek je však mnohdy náročná a v těle je jejich kumulace poměrně málo selektivní. V dnešní době se proto studují nové struktury látek, aby bylo možné radiodiagnostické metody dále rozvíjet a plnohodnotně využívat pro studium tkání v lidském těle.

1.1 Pozitronová emisní tomografie

Mezi nejvíce využívané radiodiagnostické metody současné doby řadíme pozitronovou emisní tomografii poskytující zobrazení fyziologických dějů v tkáních živého organismu. Pro lepší čitelnost výsledků a získání úplného anatomického obrazu se využívá metoda společně s počítačovou tomografií (CT) či magnetickou rezonancí (MRI).^[3,4]

Samotná metoda PET je založená na aplikaci vhodného radiofarmaka obsahujícího patřičný β^+ zářič do těla pacienta, a to nejčastěji intravenózně.^[5] Radiofarmakum je dopraveno na dané místo v organismu (specifikované strukturou a vlastnostmi samotného radiofarmaka), kde následně dochází k β^+ rozpadu, při kterém se emituje pozitron. Ten se v krátkém čase srazí s elektronem z okolí a dochází tak k anihilaci a uvolnění dvou od sebe letících γ -fotonů o energii 511 keV. Tyto páry fotonů jsou detekovány scintilačními detektory, které jsou umístěny po obvodu studovaného objektu.

Výsledným obrazem je distribuce radiofarmaka v dané části lidského organismu. Na následujícím Obrázku 1 je znázorněn snímek mozku získaný pomocí CT, MRI (levá část) a PET (pravá část). Snímky uprostřed jsou získány kombinací technik PET/CT a PET/MRI.^[6] Z obrázku je patrné, že kombinací metod je možné získat samotný obraz tkáně mozku překrývající se společně s místy, kde se radiofarmakum kumulovalo nejvíce, což je umožněno právě díky navázanému PET zářiči v radiofarmaku. Tyto metody nám tak ve výsledku umožňují diagnostikovat abnormality (nejčastěji nádory) v živém organismu.



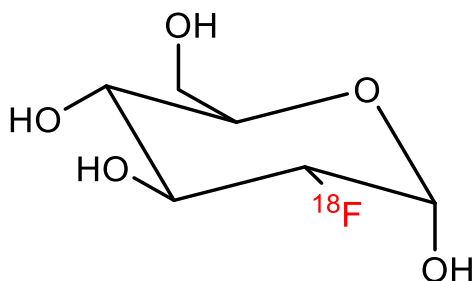
Obrázek 1. Porovnání metod PET/CT a PET/MRI. V levé části jsou zobrazené výsledky CT a MRI, napravo výsledky PET a uprostřed je překryv výsledků těchto metod.^[6]

Pro PET se využívají různé typy β^+ -zářičů. Využívají se radioizotopy jak kovové, tak nekovové a přehled některých z nich znázorňuje Tabulka 1. Jednotlivé radionuklidy se liší poločasem rozpadu, energií emitovaného pozitronu a dalšími aspekty, jako jsou nároky na jejich přípravu. Z tabulky lze vyčíst tyto značné rozdíly, které mohou být specifickou výhodou pro určité typy měření. Konkrétně radioizotop ^{18}F emituje svým rozpadem pozitron o nejnižší energii ze všech uvedených nuklidů a tím urazí nejkratší vzdálenost než dojde k samotné anihilaci. ^{18}F proto poskytuje lepší rozlišení snímků, než v případě nuklidů emitujících pozitron s vyšší energií. Nejvíce využívané radiofarmakum značené pomocí radioizotopu ^{18}F je Fluorodeoxyglukosa (FDG), která umožňuje zobrazit tkáň spotřebovávající velké množství glukosy, jako je srdce či mozek a zároveň se po vyšetření snadno metabolizuje jako analog glukosy.^[7,8]

Tabulka 1. Příklady β^+ zářičů studovaných pro PET^[9,10,11,12]

Nuklid	Poločas rozpadu [min]	Energie pozitronu [MeV]
⁶² Cu	9,7	2,93
⁶⁸ Ga	67,7	1,90
¹³⁴ La	6,5	2,69
¹¹ C	20,4	0,96
¹⁵ O	2,0	1,73
¹⁸ F	109,8	0,64

Aby se mohla radiofarmaka obsahující radionuklid bezpečně využívat pro vyšetření pacientů, je nutné tyto prvky, které jsou běžně pro organismus toxické, navázat. U zářiče ¹⁸F může po disociaci docházet k jeho vyměňování za hydroxy skupinu v hydroxyapatitu a kumulovat se tímto způsobem v kostech.^[13] Fluor tvoří jako nejvíce elektronegativní prvek tabulky s řadou prvků silné vazby, a proto může být stabilně umístěn a aplikován jako v již zmíněné FDG, kde je navázán na atom uhlíku glukosy a nahrazuje tak v jedné poloze hydroxy skupinu (Obrázek 2).^[14]



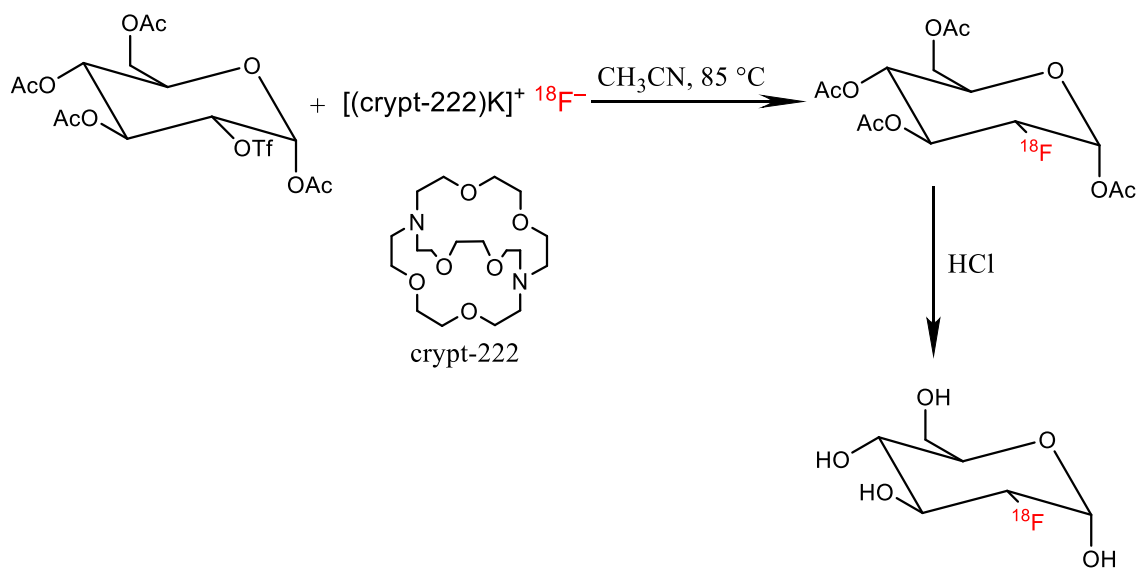
Obrázek 2. ¹⁸F-Fluorodeoxyglukosa

U kovových radioizotopů může po jejich uvolňování docházet k nescifickému kumulování či narušení biochemických drah, které jsou v těle katalyzovány příslušnými kovy. Tomu lze zabránit využitím vhodných lineárních, častěji však makrocyclických ligandů, které umožňují vhodnou volbou donorových atomů a velikostí kruhu vytvořit stabilní komplex i za fyziologických podmínek. Těchto komplexů, avšak s neradioaktivními ionty kovů, se využívá zároveň pro navázání („radiolabeling“) radioizotopu ¹⁸F v PET.^[15]

1.2 Značení látek pomocí ^{18}F

Radioizotop ^{18}F se nejčastěji získává ostřelováním H_2^{18}O protony (^1H). Tímto způsobem se získávají fluoridové anionty $^{18}\text{F}^-$ v roztoku. Další možností je molekulu $^{18}\text{O}_2$ ostřelovat protony a získat tak $^{18}\text{F}_2$ v plynné formě. Méně využívaným způsobem je ostřelování ^{20}Ne deuterony (^2H), kdy je získán opět ^{18}F a emitovaná α částice. Takto získané radioizotopy ^{18}F mohou být dále využity pro značení látek v PET.^[16, 17]

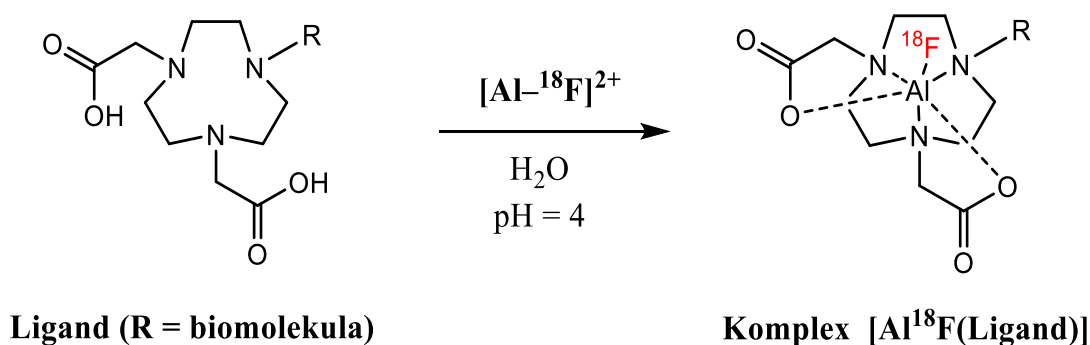
Jak již bylo zmíněno, fluoridy ^{18}F musí být pevně navázány na strukturu radiofarmaka, aby se volné fluoridy nekumulovaly v kostech a následně se mohly správně metabolizovat a vyloučit z organismu. Uhlíkaté látky se nejčastěji značí nukleofilní fluorací využívající roztok fluoridových aniontů. Z tohoto roztoku se fluoridy $^{18}\text{F}^-$ získávají s využitím iontoměničů. Reakce poté probíhá nukleofilní substitucí jako na následujícím schématu pro ^{18}F -FDG (Obrázek 3).^[18] Další možností značení je elektrofilní fluorace, která mnohdy poskytuje směs produktů, a proto se používá spíše zřídka.^[19] Podobnými mechanismy je možné značit i sloučeniny s borem či křemíkem. Ty však nemají uplatnění v PET pro své nevhodné chemické vlastnosti (stabilita vazeb s $^{18}\text{F}^-$, toxicita, ...).



Obrázek 3. Syntéza ^{18}F -FDG nukleofilní substitucí (Ac = CH_3CO , Tf = CF_3SO_2)^[19]

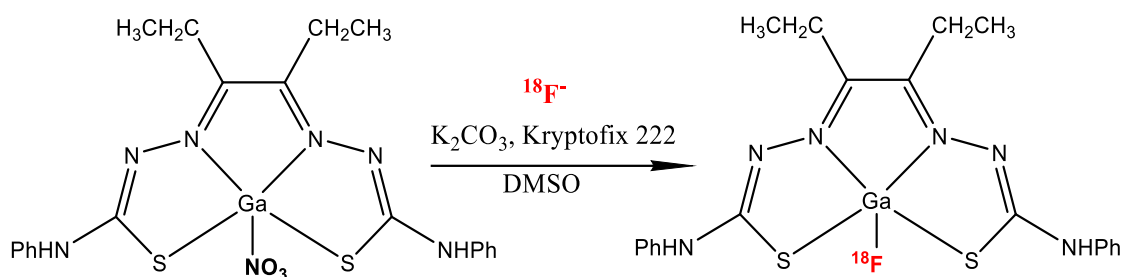
Tyto způsoby značení jsou využitelné pro umístění radioizotopů na nekovové prvky. Pokud chceme značit radiofarmaka navázáním izotopu ^{18}F na kovové ionty, jako jsou hliník, gallium a mnohé další, zavádějí se radionuklidy do struktury radiofarmaka ve zcela jiné formě než v předchozím případě. Aby se kovové ionty volně nepohybovaly v organismu a nezpůsobily tak toxickou odezvu a narušení enzymatických drah (které mnohdy obsahují řadu přechodných kovů), využívají se ve formě koordinačních sloučenin. Pro daný kov je možné využít různých strategií, jak získat stabilní značené komplexy pro *in vitro/in vivo* využití.

U hlinitých komplexů je ve velké míře využíváno strategie, kdy se nejdříve připraví fluoro-hlinitý kation $[\text{Al}-^{18}\text{F}]^{2+}$ smícháním hlinité soli a roztoku $^{18}\text{F}^-$.^[20] Následně se na tento kation koordinuje ligand a vzniká výsledný komplex, jak naznačuje následující schéma:



Obrázek 4. Značení hlinitých makrocyclický komplexů prostřednictvím $[\text{Al}-^{18}\text{F}]^{2+}$

U gallitých komplexů se využívá převážně jiného způsobu, kdy se značení radioizotopem ^{18}F nejčastěji provádí výměnou ligandových skupin.^[21] Nejdříve se připraví halogenidový komplex (nejběžněji chloridový) ve formě $[\text{GaX}(\text{ligand})]$, ke kterému se následně přidají fluoridy $^{18}\text{F}^-$ v H_2^{18}O . Aby mohlo docházet k rychlé výměně, reakce musí být zahřívána alespoň na $80\text{ }^\circ\text{C}$. Tyto podmínky nejsou však vhodné pro řadu bioaktivních látek, které mohou být na skelet makrocycly navázány pro specifitější kumulaci v organismu. Alternativou k tomuto přístupu je výměna dusičnanového aniontu, který je lépe odstupující skupinou než chlorid. Této metody bylo využito např. u komplexů gallitých iontů s thiosemikarbazony jak znázorňuje schéma níže (Obrázek 5).^[22]

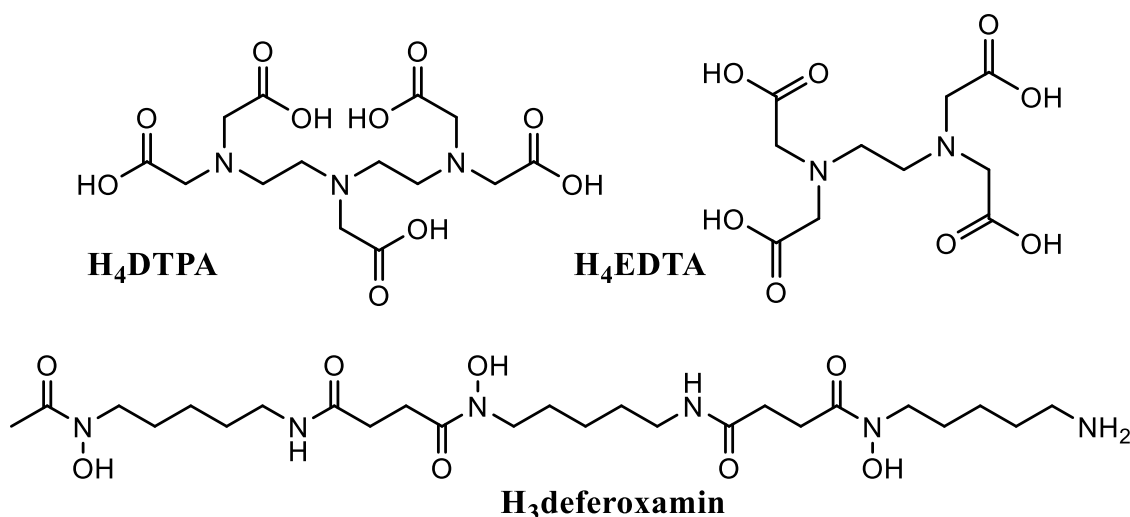


Obrázek 5. Značení gallitých komplexů prostřednictvím výměny skupin (konkrétně NO₃⁻)^[22]

Každý kovový ion preferuje tvorbu komplexu (včetně značení ¹⁸F) jiným způsobem, protože je definovaný odlišnými chemickými vlastnostmi. Tyto vlastnosti rovněž ovlivňují výběr makrocyclických ligandů, které pro daný ion mohou být vhodné, aby mohly tvořit stabilní a inertní komplexy. Pro studium těchto vlastností byla připravena celá řada ligandů a jim náležejících komplexů, které budou nyní zmíněny.

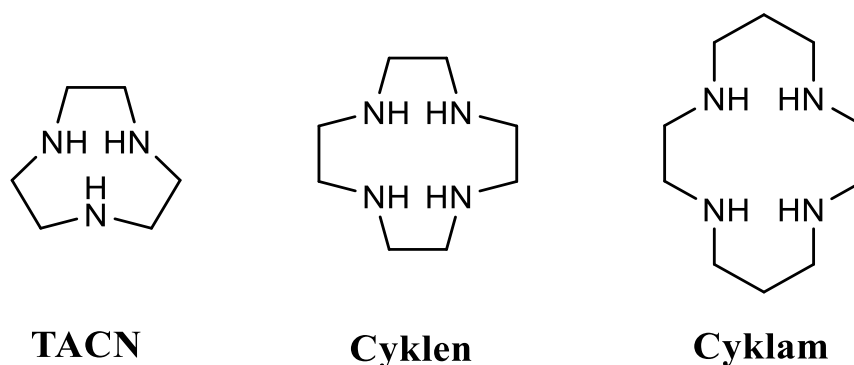
1.3 Ligandy pro PET

Pro konkrétní kovové nuklidy lze připravit ligandy o specifické struktuře, která je daná počtem a typem donorových atomů v řetězci. Tomu odpovídají příklady ligandů zobrazených na Obrázku 6, které jsou lineární a obsahují šest (EDTA), osm (DTPA) a více koordinačních míst. Vzhledem k donorovým atomům (kyslík, dusík) jsou tyto ligandy vhodné podle HSAB spíše pro tvrdé kovové ionty (Ga^{3+} , Al^{3+} , Co^{3+} , Fe^{3+} a další). S těmito kationty tvoří níže uvedené ligandy poměrně termodynamicky stabilní komplexy, avšak kinetická inertnost není dostatečná na to, aby se tyto látky mohly plošně využívat v radiomedicíně. Svá využití i přesto mají a např. deferoxamin se využívá při přesycení organismu železem.



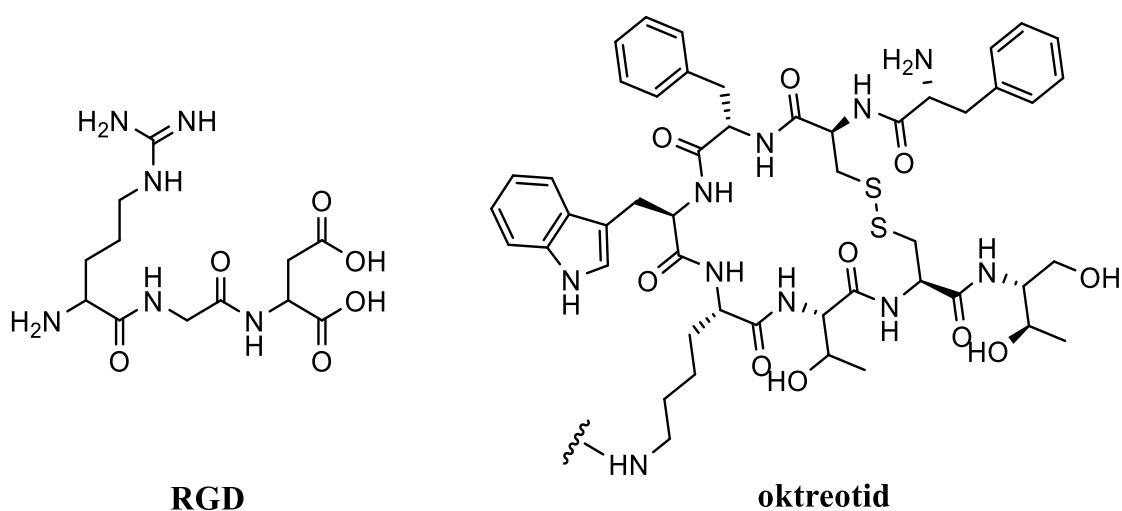
Obrázek 6. Lineární ligandy pro komplexaci kovových iontů (DTPA – kyselina diethylentriaminpentaoctová, EDTA – kyselina ethylendiamintetraoctová)

Naopak u makrocyclických ligandů (Obrázek 7) a jejich derivátů se ukázalo, že s kovovými ionty o vhodném poloměru mohou tvořit jak termodynamicky stabilní, tak kineticky inertní komplexy.^[20] Rigiditu komplexu zajišťují pendantní ramena navázaná na skeletu makrocyklu. Pendantními rameny nejčastěji rozumíme řetězce obsahující ve své struktuře další donorové atomy schopné koordinace. V tomto případě je díky nim omezen vliv chemického prostředí v živých organismech na daný komplex a nedochází tak k dekomplexaci či transchelataci jinou molekulou.



Obrázek 7. Základní makrocyclické ligandy (**TACN** – 1,4,7-triazacyklononan, **Cyklen** – 1,4,7,10-tetraazacyklododekan, **Cyklam** – 1,4,8,11-tetraazacyclotetradekan)

Jinou funkcí pendantních ramen může být navázání dalších řetězců plnicích různé funkce při možných aplikacích. Mohou sloužit jak ke zvýšení stability komplexu, tak k navázání bioaktivních molekul sloužících ke specifickému nakumulování radiofarmaka v organismu. Tímto způsobem se využívají např. RGD peptidy (Obrázek 8), které umožňují lokalizovat integriny (membránové receptory), jejichž zvýšená exprese se potvrdila u některých typů nádorových buněk.^[23,24] Jinou bioaktivní látkou, vázanou na derivátu TACN, byl analog somatostatinu – oktreotid (Obrázek 8), umožňující zobrazovat nádory exprimující právě somatostatinové receptory.^[24] I tato molekula byla navázána přes polyethylenglykolové můstky na skelet makrocyklu TACN tvořící komplex s hlinitým kationtem.^[26]



Obrázek 8. Příklady bioaktivních molekul studovaných pro PET

Z těchto příkladů je zřejmé, že komplexům obsahujícím ve své struktuře hlinitý ion byl věnován zvláštní zřetel. Důvodů je několik. Především se jednalo o to, že samotný hlinitý ion vytváří s fluoridem nejsilnější vazbu v porovnání s kovy ve III.A skupině.^[21,27] Zároveň se předpokládalo, že velikost hlinitého iontu by mohla být vhodná pro makrocyclus TACN. Proto byla následně připravena celá řada ligandů preorganizovaných pro hlinitý ion. Dále byly s některými připravenými komplexy studovány možnosti navázání fluoridových aniontů na daný komplex (tj. tvorba ternárního makrocyclického komplexu). K podobným studiím došlo i u gallitého iontu, který tvoří s fluoridem rovněž poměrně silné vazby. O těchto studiích bude zmíněno v kapitole 1.4.

1.4 Makrocyclické ligandy pro hliník a gallium

Jak již bylo řečeno, pro daný makrocyclus, o určité velikosti kavity, je vhodný kovový kation, který svou velikostí odpovídá kavitě daného makrocyclu. Pro deriváty TACN je nejvíce vhodný gallitý ion, jehož iontový poloměr činí 62 pm.^[29] Hlinitý ion je o něco menší (53 pm), a proto lze odhadovat, že komplexy s tímto iontem budou o něco méně termodynamicky či kineticky stabilní, než u komplexů s Ga^{3+} . Stabilita komplexů je však dále ovlivněna pendantními rameny umístěnými na makrocyclu.

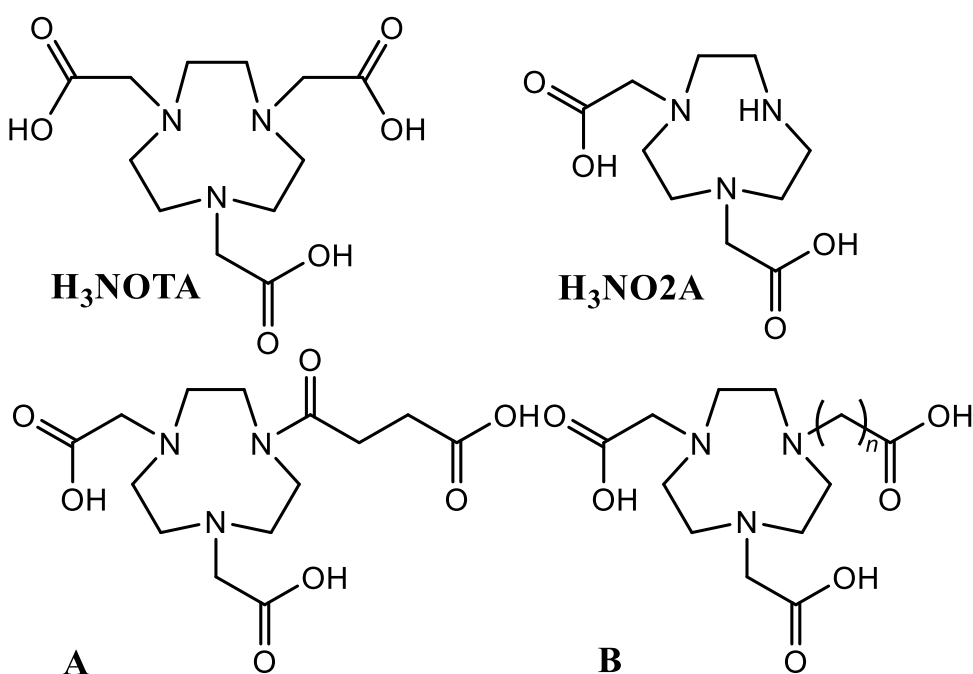
Gallitý i hlinitý ion patří mezi tvrdé Lewisovské kyseliny, a proto upřednostňují podle HSAB tvrdé Lewisovské báze. Donorovými atomy bývají nejčastěji dusík (např. v aminech) nebo kyslík (např. v karboxylových kyselinách či alkoholech). Koordinační okolí upřednostňují oba tyto ionty oktaedrické. Pro značení v PET se však nechává jedno koordinační místo volné právě pro anion $^{18}\text{F}^-$.

Pro samotnou komplexaci je velmi důležitým faktorem pH. Při příliš nízkém pH (<3) dochází k protonizaci bazických donorových atomů ligandu, která neumožňuje jejich koordinaci na hlinitý iont. Pokud je pH příliš bazické (>5), tak dochází k vylučování hlinitých iontů ve formě hydroxidu a koordinace je opět znemožněna. Pro komplexaci se proto nejčastěji využívá pH kolem 4. I přesto hlinitý ion ve vodném prostředí velmi pomalu vyměňuje navázané molekuly vody za jiné donorové skupiny, a proto komplexace probíhají velice pomalu. Gallitý ion je méně kineticky inertní, a proto komplexace probíhají značně rychleji. Pro koordinaci jsou proto velmi důležité podmínky, při kterých k ní dochází (vodné/nevodné za zvýšené/laboratorní teploty).

Makrocyclic ligands for Al^{3+}

Pro prvotní výzkum a porovnání vlastností daného kovového iontu (Al^{3+} , Ga^{3+} , In^{3+} , Zr^{4+}) byla navržena řada polydentálních ligandů, obsahujících ve struktuře především dusíkaté a kyslíkaté donorové atomy.^[20] Z těchto experimentů vycházel pro Al^{3+} nejlépe ligand NOTA (Obrázek 9), se kterým byl schopný vytvářet stabilní komplex i ve vodném prostředí. Tento ligand však neumožňuje koordinaci fluoridového aniontu pro PET, jelikož už sám ve své struktuře obsahuje šest donorových atomů schopných koordinace. Dále se proto zkoumaly deriváty vycházející z ligandu NOTA, které jsou buď pentadentální nebo hexadentální a ve své struktuře obsahují jeden slabě koordinující donorový atom.

Jednou z těchto možností je ligand NO₂A, obsahující ve své struktuře pouze dvě acetátová ramena, a od něj odvozené deriváty (Obrázek 9), u kterých byl mimo jiné zkoumán vliv třetího slabě koordinujícího ramena na stabilitu komplexu s $[\text{Al}-^{18}\text{F}]^{2+}$. Třetí rameno se nejčastěji v radiomedicině využívá pro navázání bioaktivní molekuly jako tzv. „linker“, který umožňuje propojit vlastnosti β^+ -zářiče, ukotveného v makrocyklu, se selektivní kumulací v organismu díky biomolekule (tj. targetující skupině).^[23,24,25]

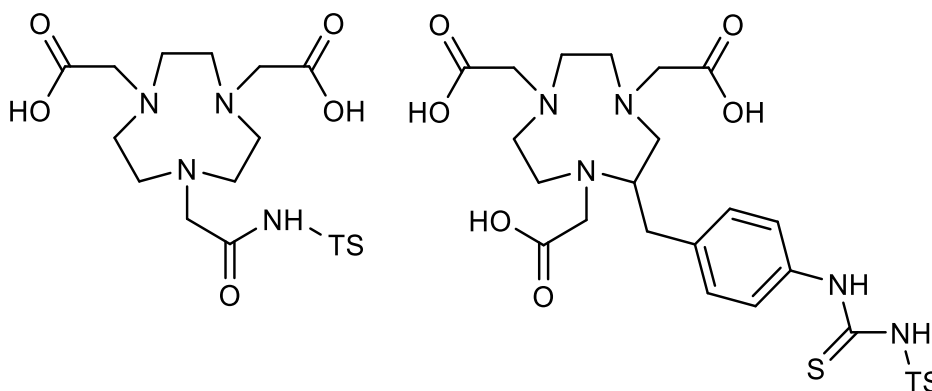


Obrázek 9. Ligandy odvozené od derivátu H₃NOTA

(n = počet methylenových jednotek)

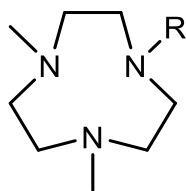
V této souvislosti byla syntetizována řada ligandů s různě dlouhým třetím pendantním ramenem, u kterých bylo sledováno, kdy je schopna se donorová skupina ještě koordinovat a kdy již nikoliv.^[30] V případě komplexu s ligandem **A** je možné hlinitý ion koordinovat v menší míře i tímto třetím ramenem. Pokud má však ion v řetězci pendantního ramene více než tři methylenové skupiny ($n = 3$), tak již nikoliv (viz **B**). Výsledek studie je v tomto případě velmi důležitý, protože pokud bude třetí pendantní rameno konkurovat navázanému fluoridovému aniontu, může docházet k jeho disociaci v organismu.

Poté, co se ukázalo, že pro hlinité ionty budou vhodné pentadentátní deriváty ligandu NOTA, byla vyvinuta řada pentadentátních i hexadentátních bifunkčních ligandů (Obrázek 10), které byly studovány v souvislosti s [¹⁸F]-AlF. Zatímco pentadentátní ligandy umožnily ponechat jedno volné místo fluoridovému aniontu, tak ty hexadentátní naopak dokázaly pomocí pendantních ramen pevně uchytit hlinitý ion ve struktuře komplexu. Zároveň všechny tyto deriváty umožnily tvorbu vazby s targetující skupinou (TS) pro selektivnější kumulaci v organismu.



Obrázek 10. Příklady bifunkčního pentadentátního a hexadentátního ligandu studovaného s [¹⁸F]-AlF (TS = targetující skupina)

Jiným studovaným typem ligandu, který byl rovněž odvozen od makrocyklu TACN, je RMe₂-TACN (Obrázek 11), který tvoří s hlinitými, ale i gallitými ionty poměrně stabilní trihalogenidové komplexy v širokém spektru pH.^[31] V tomto případě může probíhat značení výměnou skupin (konkrétně halogenidů) na kovovém iontu, jak bylo zmíněno výše, avšak samotné komplexy s tímto typem ligandu neměly v radiochemii velká využití, jelikož kovový ion není v této struktuře natolik ukotven jako je tomu v přechozích případech. Proto se zejména pro Al³⁺ studovaly ligandy předešlého typu.

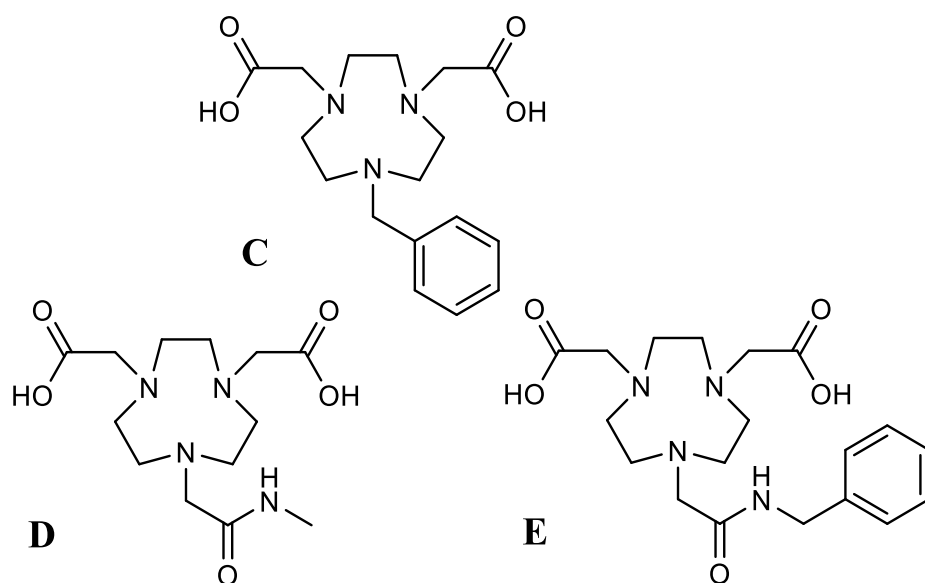


Obrázek 11. Strukturální typ RMe₂-TACN (R = Me, Bn)^[31]

Makrocyclické ligandy pro Ga³⁺

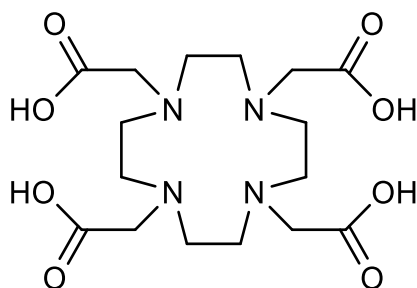
U gallitých iontů se kromě již popsaných ligandů pro Al³⁺ (RMe₂-TACN) studovaly deriváty NOTA mající na jednom z ramen navázanou amidickou skupinu CONH-R (Obrázek 12). U komplexů těchto ligandů byla zjištěna stabilita a rigidita za fyziologického pH i při teplotách do 85 °C. U ligandů však dochází při určitém pH (~5) k deprotonizaci a koordinaci amidického dusíku, což může znemožnit následnou tvorbu vazby s fluoridovým aniontem. Tento strukturální typ by se i přesto mohl potenciálně využívat pro tvorbu komplexů s β⁺-zářičem ⁶⁸Ga v radiodiagnostice.

Kromě toho byl v souvislosti s gallitými ionty (rovněž hlinitými) studován ligand C (Obrázek 12).^[21] Komplexy s tímto ligandem byly poměrně stabilní při mírně kyselém pH (okolo 4) a jejich značení výměnou skupin bylo prováděno v poměrně vysokých výtěžcích za krátký časový interval (cca 70 % za 30 minut). Za fyziologického pH (fosfátový pufr) však dochází k postupnému rozkladu komplexu, a proto jej nelze využívat v dalším výzkumu.



Obrázek 12. Deriváty odvozené od NOTA obsahující ve struktuře benzyl (**C**) nebo monoamid (**D, E**)

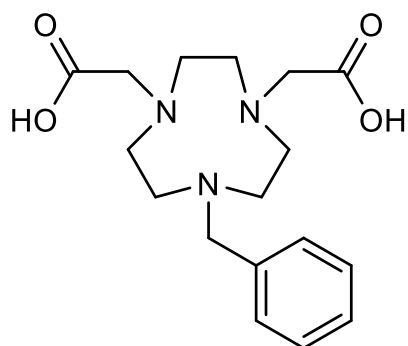
Kromě ligandů odvozených od makrocyklu TACN se pro gallium, konkrétně radioizotop $^{68}\text{Ga}^{3+}$, studují a využívají ligandy odvozené od cyklenu (Obrázek 7) Nejčastěji se jedná o různé deriváty ligandu DOTA (Obrázek 13), který však poskytuje osm donorových skupin, i když jich Ga^{3+} vyžaduje pouze šest. Zbývající koordinační místa mohou být využita pro navázání jedné či dvou bioaktivních molekul (tzv. bifunkční ligandy). Nejznámější a nejvíce využívané radiofarmakum odvozené od ligandu DOTA je ^{68}Ga -DOTA-TOC vhodné nejen jako zobrazovací činidlo, ale v kombinaci s jinými radionuklidy také pro teranostiku především neuroendokrinních nádorů.^[31] V tomto případě gallium plní funkci pozitronového zářiče namísto ^{18}F jako v předešlých případech. Jedná se tedy o strategii, kdy komplex nemusí být jen nosičem pozitronového zářiče, ale může tuto funkci plnit sám o sobě. Tato možnost se využívá také u dalších radioizotopů, jakými jsou např. ^{111}In či ^{90}Y .



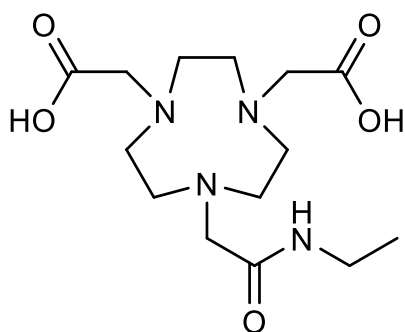
Obrázek 13. Ligand DOTA (1,4,7,10-tetraazacyklododekan-1,4,7,10-tetrayl)tetraoctová kyselina)

2 Cíl práce

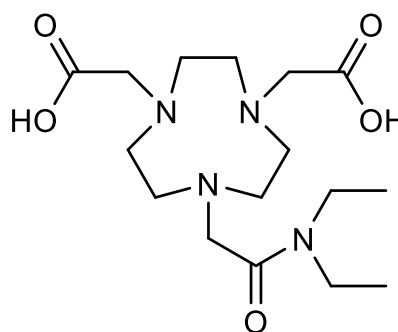
Jak bylo již dříve zmíněno, v dnešní době se ve větší míře studují ternární makrocyclické komplexy obsahující ve své struktuře fluoridový anion ^{18}F , který plní funkci pozitronového zářiče v radiodiagnostických metodách PET. V mnoha případech bývá v těchto komplexech radioizotop ^{18}F navázán mnohem dříve než před samotnou aplikací, což je z hlediska poločasu rozpadu radionuklidu nevýhodné. V této práci se proto věnuji studiu tvorby ternárních makrocyclických komplexů, kde se fluoridový anion váže až v posledním kroku. Tento děj je sledován kinetickými a termodynamickými měřeními pomocí fluoridové iontově-selektivní elektrody. Pro tato měření bylo cílem připravit hlinité a gallité komplexy obsahující ve struktuře ligandy L1, L2 a L3 (Obrázek 14), které se liší koordinační schopností třetího pendantního ramene (benzyl, ethyl-acetamid, diethyl-acetamid). Charakterizace připravených komplexů byla provedena pomocí NMR, HPLC-MS a EA.



L1



L2



L3

Obrázek 14. Struktury studovaných ligandů odvozených od makrocyclu TACN

3 Experimentální část

3.1 Použité chemikálie

Chemikálie využívané při syntéze byly získány z komerčních zdrojů (Aldrich, Fluka, Lach-ner).

3.2 Metody charakterizace

3.2.1 Nukleární magnetická rezonance (NMR)

Spektra (^1H , ^{13}C) byla měřena ve standardních 5 mm NMR kyvetách na přístroji Varian VNMRS 300 (rezonanční frekvence: ^1H 299,4 MHz a ^{13}C 75,4 MHz), Bruker Ascend 400 (rezonanční frekvence: ^1H 400,1 MHz a ^{13}C 100,6 MHz) nebo Bruker Avance 600 s kryosondou (rezonanční frekvence: ^1H 600,2 MHz a ^{13}C 150,9 MHz). Pro měření byla využita deuterovaná rozpouštědla: D_2O (standard *t*BuOH, $\delta_{\text{H}} = 1,25$ ppm, $\delta_{\text{C}} = 32,0$ ppm), CD_3Cl ($\delta_{\text{H}} = 7,24$ ppm, $\delta_{\text{C}} = 77,2$ ppm), $\text{DMSO}-d_6$ ($\delta_{\text{H}} = 2,50$ ppm, $\delta_{\text{C}} = 39,5$ ppm). Měření byla prováděna při 25 °C.

3.2.2 Hmotnostní spektrometrie (MS)

Hmotnostní spektra byla měřena na spektrometru Waters ACQUITY QDa s ionizací elektrosprejem (ESI).

3.2.3 Chromatografie na tenké vrstvě (TLC)

K chromatografii byly použité tenkovrstevné hliníkové folie (VWR, 20×20 cm, 200 μm , F₂₅₄) pokryté vrstvou silikagelu nebo aluminy. Pro detekci bylo využito Dragendorffovo činidlo:

Roztok A: 1,7 g $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ve 100 ml směsi $\text{H}_2\text{O}:\text{AcOH}$ (80:20)

Roztok B: 40,0 g KI ve 100 ml H_2O

Bylo smíseno 5 ml roztoku A, 5 ml roztoku B, dále přidáno 20 ml koncentrované AcOH a 70 ml H_2O .

3.2.4 Elementární analýza (EA)

Elementární analýza byla provedena na Ústavu organické chemie a biochemie v Praze. Data byla získána na automatickém analyzátoru PERKIN ELMER 2400 II.

3.2.5 Fluoridová iontově selektivní elektroda (F-ISE)

Koordinace fluoridových aniontů byla studována měřením koncentrace volných fluoridových iontů v roztoku pomocí fluoridové iontově selektivní elektrody. Jako referentní elektroda byla využita argentchloridová elektroda naplněna 3M KCl s můstkovým 1M elektrolytem NH_4NO_3 . Byla použita titrační soustava Titrand 808 a data byla měřena a zpracovávána pomocí programu Tiamo (Metrohm). Pufry byly míchány podle Tabulky 2 a roztoky temperovány na požadovanou teplotu termostatem. Roztok 0,1M a 0,01M NaF byl připravován z navážky NaF, která byla získána rekrystalizací výchozí chemikálie ve směsi vody a acetonu a jejím následným sušením ve vakuové píce při 110 °C.

Tabulka 2. Pufry využívané pro měření na ISE

pH	Pufř
3,5–4,5	1,4-dimethylpiperazin
5,0–6,0	Piperazin
6,5–7,5	Imidazol
7,0–8,0	MOPS
9,5–11,0	CAPS

Závislost potenciálu elektrody na koncentraci volných fluoridových aniontů lze popsat následující rovnicí

$$U = U_0 - S \log c_{\text{F}^-}, \quad (1)$$

kde S je směrnici přímky, která odpovídá Nernstově koeficientu RT/zF (59,16 mV), U je měřený potenciál, U_0 je parametr elektrody a c_{F^-} je koncentrace volných fluoridových aniontů v roztoku. Parametry S a U_0 byly určeny kalibrací před každým měřením.

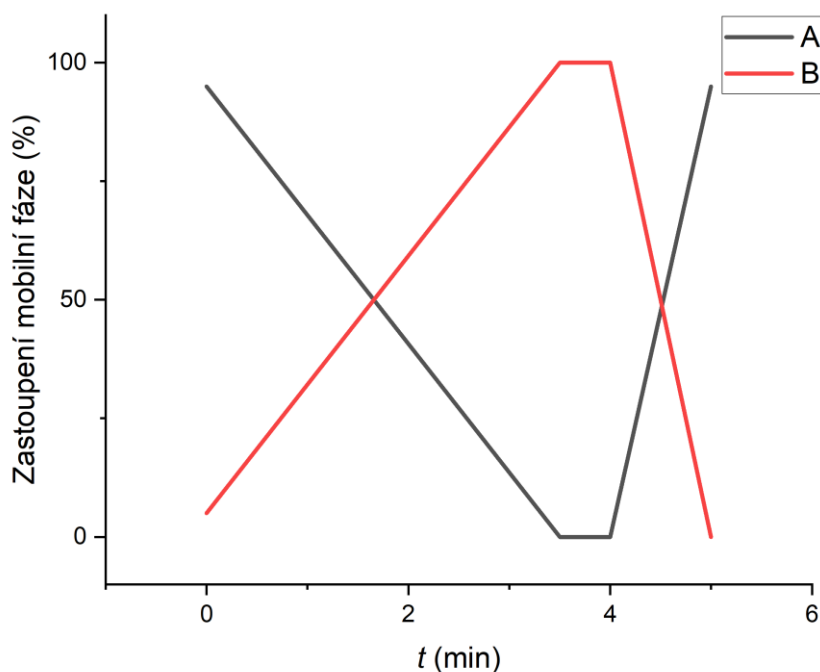
3.2.6 Vysokoučinná kapalinová chromatografie (HPLC)

Chromatografická analýza byla prováděna na přístroji Waters Arc HPLC System s UV/VIS detektorem a jejich zpracování bylo provedeno v programu Empower 3. Pro měření dat na HPLC byla využita kolona C18 CORTECS (2,7 μm , 4,6 \times 50 mm) s průtokem 1,2 ml/min. Mobilní fáze a jejich složení popisuje následující tabulka:

Tabulka 3. Složení mobilních fází pro měření dat na HPLC metodou M1

Mobilní fáze	Složení
A	H ₂ O + 0,1 % TFA
B	MeCN + 0,1 % TFA

Pro veškerá měření byl využíván gradient popsáný následujícím grafem:



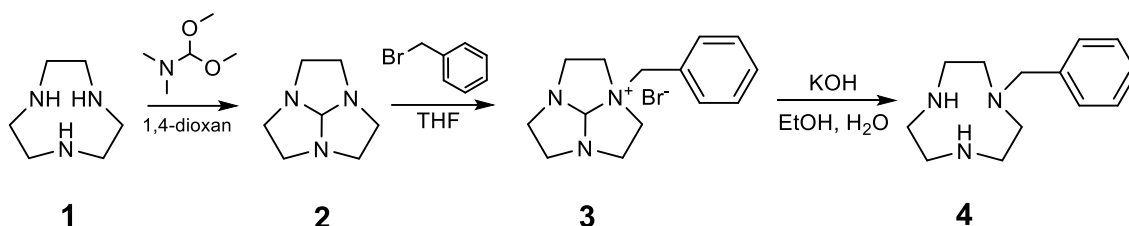
Graf 1. Gradient metody M1 pro měření na HPLC

Zpracování dat

Veškerá data byla zpracována v programech Excel 365 a Origin 2022.

3.3 Syntéza

3.3.1 1-benzyl-1,4,7-triazacyklononan (4)



Syntéza probíhala podle výše uvedeného schématu. Do 100ml baňky bylo odváženo 2,00 g (15,5 mmol) 1,4,7-triazacyklononanu (**1**). Následně bylo přidáno 20,0 ml dioxanu a 2,7 ml (20 mmol, 1,3 ekv.) 97% *N,N*-dimethylacetaldimethylformamidu a tato směs byla zahřívána k varu po dobu tří hodin. Poté byl vzniklý roztok obsahující (**2**) odpařen na RVO (50 °C) za vzniku žlutého oleje, který byl následně rozpuštěn ve 20,0 ml THF. K roztoku bylo přikapáno 2,40 ml benzylbromidu (20,2 mmol, 1,3 ekv.) ve 20,0 ml THF. Směs byla míchána přes noc. Druhý den byla na fritě S4 odfiltrována kvartérní amoniová sůl (**3**) ve formě světlé žluté sraženiny. Ta byla následně promyta THF a vysušena proudem vzduchu. Sraženina byla převedena do 100ml baňky a rozpuštěna v 10 ml destilované vody a 20 ml ethanolu. Do směsi bylo přidáno 5,40 g KOH a směs byla zahřívána k varu tři dny. Poté byla rozpouštědla odpařena na RVO (50 °C) a k odparku bylo přidáno 40 ml destilované vody. Produkt byl extrahován do chloroformu (3×80 ml). Organické fáze byly spojeny a sušeny pomocí Na₂SO₄. Po odfiltrování sušidla byl chloroform odpařen na RVO a výsledný produkt (**4**) byl získán ve formě světle žlutého oleje (3,11 g, 92 %). Ten byl následně okyselen 50 ml 6M HCl a odpařen pro získání stálejšího hydrochloridu (**4**)·2HCl·H₂O ve formě bílých krystalů.

Charakterizace

¹H NMR (300 MHz, D₂O): δ = 2,92 (m, cyklus, 4H), 3,09 (m, cyklus, 4H) 3,47 (s, cyklus, 4H), 3,78 (s, CH₂Ph, 2H), 7,29 (m, Ph, 5H) ppm

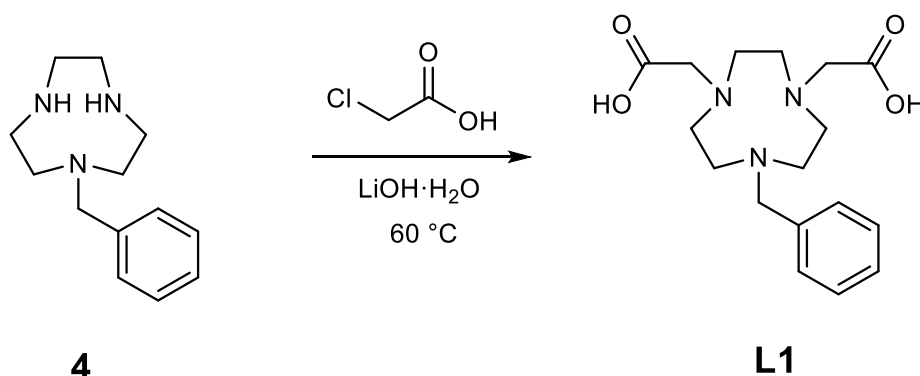
¹³C NMR (75 MHz, D₂O): δ = 42,0 + 43,2 + 47,7 (cyklus, s), 59,0 (CH₂Ph, s), 128,4 + 128,8 + 130,3 + 134,8 (Ph, s) ppm

TLC (EtOH:NH₃ konc. aqua = 5:1): R_f = 0,41 (UV)

EA: C 50,7 (50,4), H 7,8 (8,1), N 13,3 (13,5), Cl 20,9 (21,3)

MS: (+) 220,3 ([M+H]⁺)

3.3.2 Kyselina 2,2'-(7-benzyl-1,4,7-triazacyklonan-1,4-diyl)diocetová (L1)



Do 100ml baňky bylo převedeno 2,05 g (6,6 mmol) **(4)** · 2HCl · H₂O a 4,38 g (46,4 mmol, 7 ekv.) kyseliny chloroocetové. Tato směs byla rozpuštěna v 50 ml destilované vody a následně bylo přidáno 3,32 g LiOH·H₂O (79,2 mmol, 12 ekv.). Směs byla zahřívána na 60 °C za stálého míchání do druhého dne. Vzniklý produkt byl nanesen na aniontový iontoměnič DOWEX 1 v OH⁻ cyklu a po promytí destilovanou vodou byl eluován produkt 50% vodným roztokem kyseliny octové. Frakce obsahující kyselinu octovou byly odpařeny na RVO. Odparek byl několikrát rozpuštěn v destilované vodě a odpařen do sucha, aby byla odpařena veškerá přítomná kyselina octová. Následně byl odparek rozpuštěn v destilované vodě a nanesen na kationtový iontoměnič DOWEX 50 v H⁺ cyklu. Produkt byl eluován 10% roztokem pyridinu, který byl následně odpařen na RVO. Po několikanásobném odpaření s destilovanou vodou byl získán produkt **L1·H₂O** ve formě bílého prášku (1,92 g, 82 %).

Charakterizace

¹H NMR (400 MHz, D₂O): δ = 2,69–3,61 (m, cyklus + 2 CH₂COO, 16H), 4,35 (s, CH₂Ph 2H), 7,35–7,55 (m, Ph, 5H) ppm

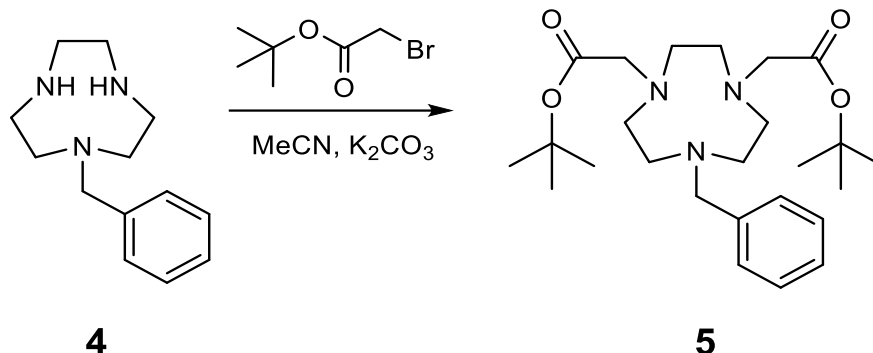
¹³C NMR (101 MHz, D₂O): δ = 50,0 + 50,1 + 50,2, (cyklus, s), 58,7 (CH₂CO, s), 60,7 (CH₂Ph, s), 129,4 + 129,6 + 130,1 + 131,2 (Ph, s), 175,3 (CO, s) ppm

EA: C 57,0 (57,3), H 7,7 (7,7), N 11,5 (11,8)

MS: (+) 336,3 ([M+H]⁺)

3.3.3 Di-*t*butyl 2,2'-(7-benzyl-1,4,7-triazacyklonan-1,4-diyl)diacetát

(5)



Do 500ml baňky bylo převedeno 2,06 g (**4**)·2HCl·H₂O (6,7 mmol) a 100,0 ml bezvodého MeCN. Dále bylo přidáno 3,7 g K₂CO₃ (26,7 mmol, 4 ekv.). Do směsi bylo postupně přidáno 2,61 g (13,4 mmol, 2 ekv.) *t*butylbromoacetátu ve 150,0 ml bezvodého MeCN. Směs byla za laboratorní teploty míchána po dobu tří dní. Následně byl pevný podíl odfiltrován a filtrát odpařen na RVO. Produkt byl čištěn sloupcovou chromatografií (silikagel, EtOH:NH₃; 20:1). Frakce obsahující produkt (**5**) byly spojeny a odpařeny na RVO do formy bezbarvého oleje (2,61 g, 87 %).

Charakterizace

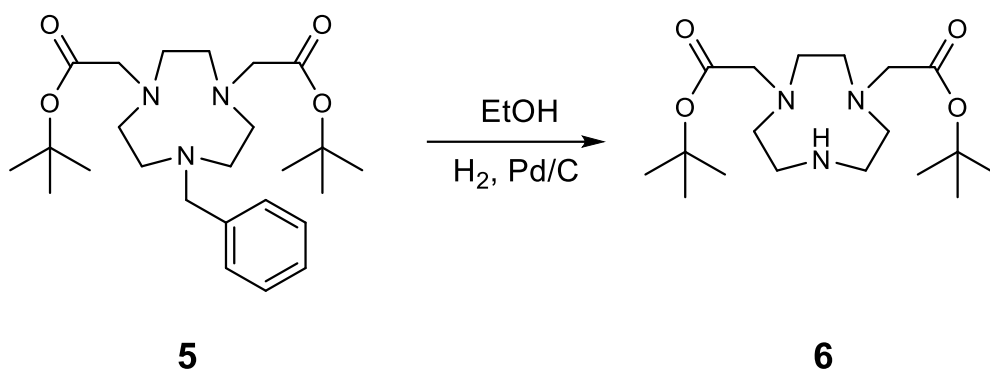
¹H NMR (300 MHz, CD₃Cl): δ = 1,4 (s, C(CH₃)₃, 18H), 2,73 (s, cyklus, 8H), 2,78 (s, cyklus, 4H), 3,24 (s, CH₂COO, 4H), 3,62 (s, CH₂Ph, 2H), 7,08–7,48 (m, Ph, 5H) ppm

¹³C NMR (75 MHz, CD₃Cl): δ = 28,3 (CH₃)₃, s), 54,9 + 55,8 + 56,5 (cyklus, s), 60,0 (CH₂COO, s), 62,1 (CH₂Ph, s), 80,2 (C(CH₃)₃, s), 127,0 + 127,8 + 128,5 + 129,0 (Ph, s), 171,2 (COO, s) ppm

MS: (+) 448,1 ([M+H⁺]⁺), 392,2 ([M-*t*Bu+2H⁺]⁺), 335,9 ([M-2*t*Bu+3H⁺]⁺)

TLC: (silika, EtOH:NH₃, 20:1) R_f = 0,6

3.3.4 Di-*t*butyl 2,2'-(1,4,7-triazacyklonan-1,4-diyl)diacetát (6)



Do 50ml baňky bylo rozpuštěno 1,03 g produktu (**5**) (2,30 mmol) v suchém EtOH a dále bylo přidáno 0,11 g Pd/C katalyzátoru. Směs byla míchána a zahřívána na 50 °C po dobu dvou dní pod vodíkovou atmosférou (balónek s H₂). Poté byl pevný podíl odfiltrován a filtrát odpařen na RVO do bezbarvého oleje. (0,61 g, 74 %).

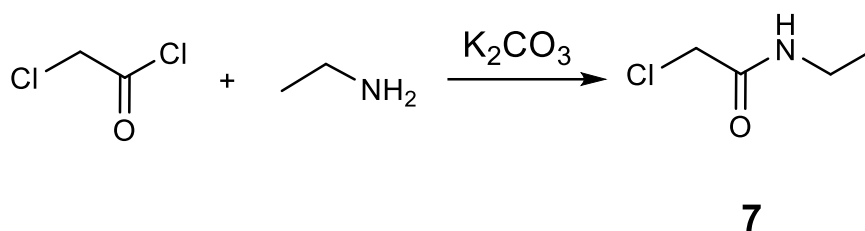
Charakterizace

¹H NMR (300 MHz, CD₃Cl): δ = 1,29 (s, C(CH₃)₃, 18H), 2,61 (m, cyklus, 12H), 3,16 (s, CH₂COO, 4H) ppm

¹³C NMR (75 MHz, CD₃Cl): δ = 28,1 (C(CH₃)₃, s), 46,2 + 51,9 + 52,4 (cyklus, s), 57,6 (CH₂COO, s), 80,7 (C(CH₃)₃, s) 171,3 (COO, s) ppm

MS: (+) 358,0 ([M+H]⁺), 302,2 ([M-*t*Bu+2H]⁺), 246,9 ([M-2*t*Bu+3H]⁺)

3.3.5 2-chloro-*N*-ethylacetamid (7)



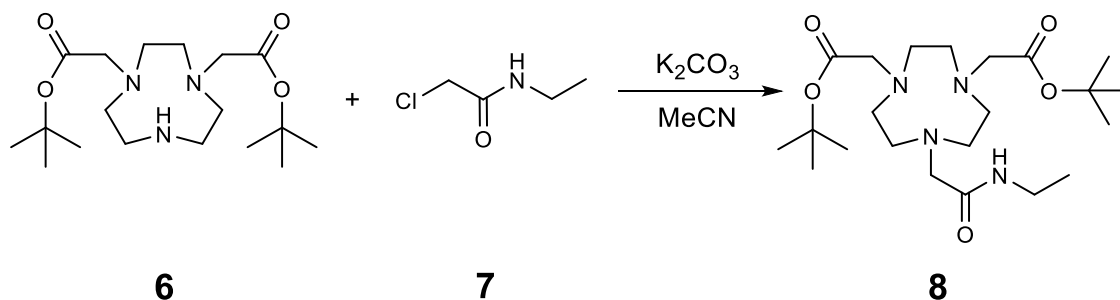
Do 250ml baňky bylo převedeno 3,2 ml (40 mmol) chloracetylchloridu ve 150 ml bezvodého MeCN. Dále bylo přisypáno 7,10 g (50 mmol) K_2CO_3 a směs byla chlazená ledem s ethanolem na teplotu 0–5 °C. Do ochlazené směsi bylo po částech přidáno 1,34 g ethylamin hydrochloridu (30 mmol, 98%). Reakční směs byla míchána při pokojové teplotě do druhého dne. Následně byla směs zfiltrována a výsledný filtrát odpařen na RVO. Odparek byl rozpuštěn v 60 ml nasyceného roztoku $NaHCO_3$ a byla provedena extrakce do CH_2Cl_2 (3x60 ml). Organické fáze byly spojeny a sušeny pomocí Na_2SO_4 . Po odfiltrování sušidla byl produkt (**7**) odpařen na RVO do formy nažloutlého oleje (1,95 g, 97 %).

Charakterizace

1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ = 1,04 (t, $^3J_{HH} = 7,3$ Hz, CH_3 , 3H), 3,20 (m, NH- CH_2 , 2H), 3,89 (s, Cl- CH_2 , 2H), 6,89 (s, CO-NH, 1H)

^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$): δ = 14,4 (CH_3 , s), 34,7 (NH- CH_2 , s), 42,6 (Cl- CH_2 , s) 166,0 (s, CO) ppm

3.3.6 Di-*t*butyl 2,2'-(7-(2-(ethylamino)-2-oxoethyl)-1,4,7-triazacyklonan-1,4-diyl)diacetát (8)



Do baňky bylo rozpuštěno 2,01 g látky (**6**) (5,6 mmol) v 60,0 ml MeCN a dále bylo přisypáno 0,70 g K_2CO_3 (5,07 mmol). Do směsi bylo přikapáno 0,75 g alkylačního činidla (**7**) (6,2 mmol, 1,1 ekv.) v 60 ml MeCN. Směs byla míchána dva dny při laboratorní teplotě a následně zfiltrována přes fritu S4 a filtrát odpařen do žlutého oleje. Ten byla dále rozpuštěn v malém množství CH_2Cl_2 a dělen sloupcovou chromatografií (Al_2O_3 , CH_2Cl_2 :MeOH v poměru 50:1). Frakce s produktem (**8**) byla odpařena na RVO do formy nažloutlého oleje (2,12 g, 85,6 %).

Charakterizace

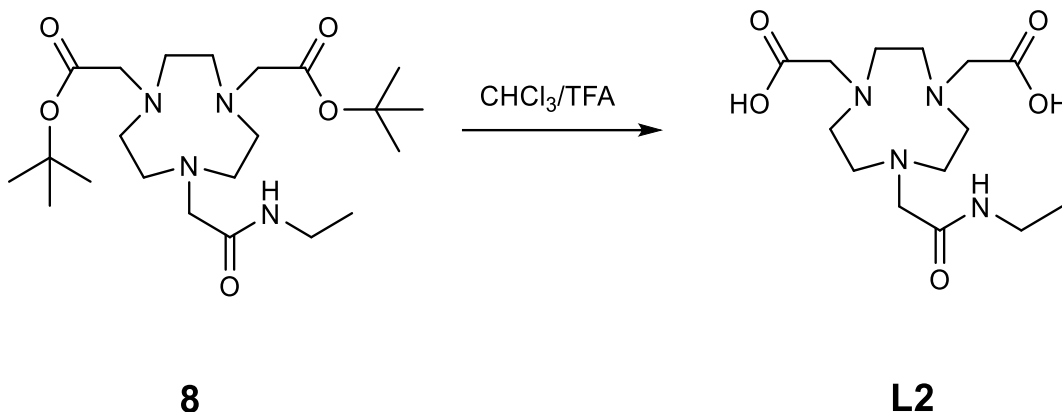
1H NMR (300 MHz, DMSO): δ = 1,02 (t, $^3J_{HH}$ = 7,2 Hz, $NHCH_2CH_3$, 3H), 1,41 (s, $C(CH_3)_3$, 18H), 2,61 (m, cyklus, 4H), 2,77 (m, cyklus, 8H), 3,14 (m, $NHCH_2CH_3$, 2H), 3,29 (s, CH_2COO , 4H), 3,34 (s, CH_2CONH , 2H), 8,66 (s, $CONH$, 1H) ppm

^{13}C NMR (75 MHz, DMSO): δ = 15,2 ($NHCH_2CH_3$, s), 28,3 ($C(CH_3)_3$, s), 33,9 ($NHCH_2$, s), 54,9 + 55,9 + 56,0 (cyklus, s), 59,1 (CH_2COO , s), 61,2 (CH_2CONH , s), 80,4 ($C(CH_3)_3$, s), 171,2 (COO , s), 171,5 ($CONH$, s) ppm

MS: (+) 443,1 ($[M+H]^+$), 388,1 ($[M-tBu+2H]^+$), 330,3 ($[M-2tBu+3H]^+$)

TLC: (Al_2O_3 , CH_2Cl_2 :MeOH, 50:1) R_f = 0,6

3.3.7 Kyselina 2,2'-(7-(2-(ethylamino)-2-oxoethyl)-1,4,7-triazacyklonan-1,4-diyl)dioctová (L2)



2,12 g (4,79 mmol) látky (**8**) bylo rozpuštěno ve 100,0 ml CHCl_3/TFA (1:1) a směs byla míchána přes noc při LT. Poté byla reakční směs odpařena do žlutého oleje a následně několikrát odpařena s destilovanou vodou pro odstranění veškeré TFA. Následně byl produkt rozpuštěn v destilované vodě a nanesen na silný kationtový iontoměnič Dowex 50 v H^+ cyklu. Po promytí sloupce destilovanou vodou byl produkt eluován 10% pyridinem. Poté byl pyridin odpařen na RVO a odparek byl ještě několikrát odpařen s destilovanou vodou, aby byl odstraněn veškerý pyridin. Následně byl produkt rozpuštěn v destilované vodě a zahříván s aktivním uhlím. Po filtraci byl produkt **L2** odpařen do formy bílého prášku (1,23 g, 77,7 %).

Charakterizace

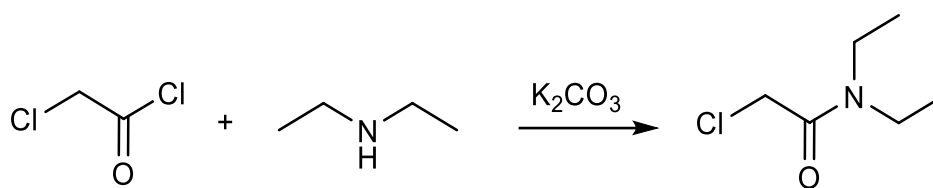
^1H NMR (400 MHz, D_2O): $\delta = 1,01$ (t, $^3J_{\text{HH}} = 7,3$ Hz, NHCH_2CH_3 , 3H), 2,82 (t, $^3J_{\text{HH}} = 5,7$ Hz, cyklus, 4H), 3,12 (m, NHCH_2CH_3 + cyklus, 6H), 3,22 (s, cyklus, 4H), 3,42 (s, CH_2CONH , 2H), 3,71 (s, CH_2COO , 4H) ppm

^{13}C NMR (101 MHz, D_2O): $\delta = 13,5$ (NHCH_2CH_3 , s), 34,5 (NHCH_2 , s), 48,5 + 49,3 + 50,9 (cyklus, s), 56,9 (CH_2CONH , s), 59,3 (CH_2COO , s), 172,7 (COO , s), 172,9 (CONH , s) ppm

EA: C 50,0 (49,7), H 7,7 (7,4), N 16,5 (16,7)

MS: (+) 331,2 ($[\text{M}+\text{H}]^+$)

3.3.8 2-chloro-*N,N*-diethylacetamid (9)



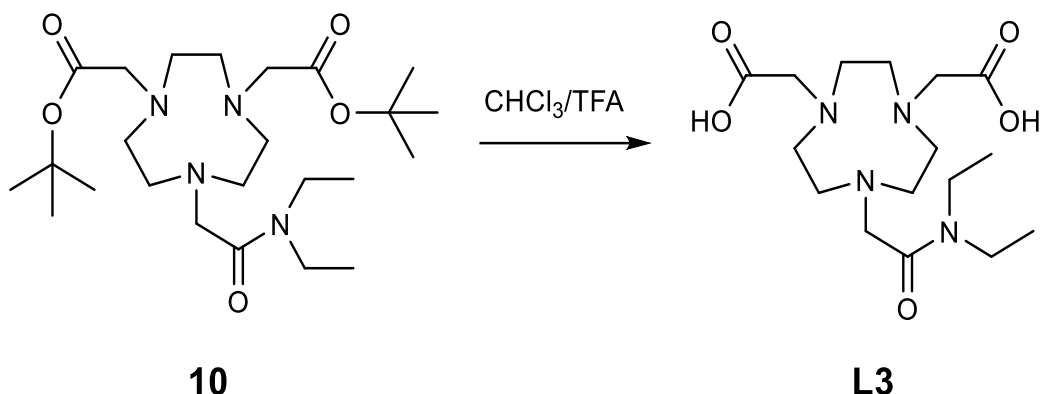
Do 500ml baňky bylo převedeno 3,2 ml (40 mmol) chloracetylchloridu ve 150,0 ml bezvodého MeCN. Dále bylo přisypáno 7,10 g (50 mmol) K_2CO_3 a vzniklá směs byla chlazená ledem a ethanolem na teplotu 0–5 °C. Do směsi bylo následně přikapáno 3,1 ml (30 mmol) diethylaminu ve 150 ml bezvodého MeCN. Tato směs byla míchána přes noc při LT. Následně byla zfiltrována a odpařena na RVO. Odparek byl rozpuštěn ve 100,0 ml nasyceného roztoku $NaHCO_3$ a byla provedena extrakce do CH_2Cl_2 (3x100 ml). Organické fáze byly spojeny a sušeny Na_2SO_4 . Po odfiltrování sušidla byl roztok odpařen do lehce nažloutlého oleje (3,98 g, 88,7 %).

Charakterizace

1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ = 0,93 (t, $^3J_{HH} = 7,2$ Hz, CH_3 , 3H), 1,05 (t, $^3J_{HH} = 7,2$ Hz, CH_3 , 3H), 3,15 (q, $J = 7,2$ Hz, CH_2CH_3 , 4H), 3,86 (s, CH_2Cl , 2H) ppm

^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$): δ = 12,5 (CH_3 , s), 14,2 (CH_3 , s), 40,4 (NCH_2CH_3 , s), 41,3 (NCH_2CH_3 , s), 42,3 (CH_2Cl , s), 165,4 (CO, s) ppm

3.3.10 Kyselina 2,2'-(7-(2-(diethylamino)-2-oxoethyl)-1,4,7-triazacyklonan-1,4-diyl)diocetová (L3)



3,03 g (6,44 mmol) látky (**10**) bylo rozpuštěno ve 140,0 ml CHCl_3/TFA (1:1) a směs byla míchána přes noc při LT. Poté byla reakční směs odpařena do žlutého oleje a následně několikrát odpařena s destilovanou vodou, aby bylo odstraněno veškeré TFA. Následně byl produkt rozpuštěn v destilované vodě a nanesen na silný kationtový iontoměnič Dowex 50 v H^+ cyklu. Produkt byl po promytí destilovanou vodou eluován 10% pyridinem a odpařen na RVO. Odparek byl několikrát odpařen s destilovanou vodou, aby byl odstraněn veškerý pyridin. Poté byl produkt rozpuštěn v destilované vodě a zahříván s aktivním uhlím. Po filtraci uhlí byla destilovaná voda odpařena na RVO a produkt **L3**·0,5H₂O byl získán ve formě bílého prášku (2,09 g, 90,5 %).

Charakterizace

¹H NMR (400 MHz, D₂O): δ = 1,03 (t, $^3J_{\text{HH}} = 7,2$ Hz, NCH₂CH₃, 3H), 1,11 (t, $^3J_{\text{HH}} = 7,2$ Hz, NCH₂CH₃, 3H), 3,29 (m, NCH₂CH₃ + cyklus, 4H + 8H), 3,55 (s, cyklus, 4H), 3,79 (s, CH₂COO, 4H), 3,84 (s, CH₂CON, 2H) ppm

¹³C NMR (101 MHz, D₂O): δ = 11,9 (NCH₂CH₃, s), 12,8 (NCH₂CH₃, s), 41,5 (NCH₂CH₃, s), 41,9 (NCH₂CH₃, s), 50,1 + 50,3 + 51,9 (cyklus, s), 55,8 (CH₂CON,s), 58,8 (CH₂COO, s), 171,0 (CO, s), 171,4 (COO, s) ppm

EA: C 52,6 (52,3), H 8,4 (8,5), N 15,1 (15,2)

MS: (+) 359,3 ([M+H]⁺)

3.4 Příprava komplexů

Gallité komplexy

Do 50ml baňky bylo převedeno 200 mg daného ligandu, který byl následně rozpuštěn v 15,0 ml destilované vody. Dále byl přidán $\text{Ga}(\text{NO}_3)_3 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ (2 ekv.) a pH bylo upraveno 0,01M LiOH na hodnotu 3,0. Baňka s reaktanty byla zahřívána na 80 °C po dobu 30 minut. Následně bylo pH upraveno na hodnotu 8, aby došlo k vysrážení přebytečného Ga^{3+} ve formě hydroxidu. Roztok byl následně zfiltrován přes fritu S4 a jeho pH bylo sníženo vodným roztokem HCl na hodnotu 6. Poté byl roztok odpařen a odparek byl dále rozpuštěn v 0,5M LiClO_4 . Po pozvolném převrstvení isopropanolem došlo k vyloučení bílých krystalů.

Charakterizace

1. $[\text{Ga}(\text{L1})(\text{ClO}_4)] \cdot 5\text{H}_2\text{O}$

^1H NMR (600,2 MHz, D_2O): $\delta = 3,27$ (m, makrocyklus + CH_2COO , 16H), 3,96 (d, CH^1Ph , 1H), 4,31 (d, CH^2Ph , 1H), 7,43 (s, Ph, 5H) ppm (viz přílohy A)

^{13}C NMR (150,9 MHz, D_2O): $\delta = 45,7 + 51,2 + 51,8 + 52,2 + 52,3 + 53,6$ (makrocyklus, s), 60,6 (CH_2Ph , s), 62,3 (CH_2COO , s), 128,7 + 129,2 + 131,4 + 132,1 (Ph, s), 176,0 + 176,1 (COO, s) ppm

EA: C 38,2 (38,6), H 6,3 (6,2), N 8,6 (8,3), Cl 6,0 (6,3), Ga 13,1 (13,2)

MS (+): 402,3 ($[\text{M}^+(\text{L1})]$), 655,0 (adukt $[\text{M}^+(\text{L1})] + 2\text{TFA}^- + \text{Na}^+$), 823,4 ($[\text{M}(\text{L1})]_2\text{O}$)

HPLC (M1, příloha B1): $t_R = 1,2$ min.

2. [Ga(L2)(ClO₄)_{1,5}]·5H₂O

¹H NMR (400 MHz, D₂O): 1,14 (t, ³J_{HH} = 7,4 Hz, NCH₂CH₃, 3H), 3,12 (m, NCH₂CH₃ + 2CH₂ cyklus, 6H), 3,43 (m, cyklus, 8H), 3,80 (s, CH₂COO, 4H), 4,11 (s, CH₂CON, 2H) ppm

¹³C NMR (101 MHz, D₂O): δ = 12,4 (NCH₂CH₃, s), 29,6 (NCH₂CH₃, s), 37,1 + 53,3 + 53,2 (cyklus, s), 59,9 (CH₂CON, s), 61,9 (CH₂COO, s), 171,8 (CON, s), 174,6 (COO, s) ppm

EA: C 30,9 (31,1), H 4,4 (4,6), N 11,0 (10,8), Cl 9,4 (9,7), Ga 12,6 (12,9)

MS (+): 397,3 ([M(L2)]⁺), 795,4 (2[M(L2)]⁺)

HPLC (M1, příloha B2): t_R = 0,6 min.

3. [Ga(L3)(ClO₄)] · 5H₂O

¹H NMR (400 MHz, D₂O): 1,09 (t, ³J_{HH} = 7,1 Hz, NCH₂CH₃, 3H), 1,15 (t, ³J_{HH} = 7,1 Hz, NCH₂CH₃, 3H), 3,05–3,35 (m, NCH₂CH₃ + 2CH₂ cyklus, 8H), 3,44 (m, cyklus, 8H), 3,74 (s, CH₂COO, 4H), 4,29 (s, CH₂CON, 2H) ppm

¹³C NMR (101 MHz, D₂O): 11,3 (NCH₂CH₃, s), 12,2 (NCH₂CH₃, s), 29,5 (CH₂CON, s), 43,6 (NCH₂CH₃, s), 44,2 (NCH₂CH₃, s), 53,2 + 53,5 + 59,2 (cyklus, s), 61,9 (CH₂COO, s), 170,5 (CON, s), 174,5 (COO, s) ppm

EA: C 35,0 (34,8), H 7,0 (7,0), N 10,5 (10,2), Cl 6,7 (6,5), Ga 13,7 (13,6)

MS (+): 425,3 ([M(L3)]⁺), 965,5 (adukt 2[M(L3)]⁺ + TFA⁻)

HPLC (M1, příloha B3): t_R = 0,8 min.

Hlinité komplexy

Pro tvorbu hlinitých komplexů byly využité dva způsoby přípravy:

- 1) Do vialky bylo naváženo 50 mg daného ligandu. Navážka byla rozpuštěna ve 2 ml destilované vody a následně byl přisypán $\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ (5 ekv.). Směs byla míchána a zahřívána 2 hodiny. Průběžně bylo měřeno pH a upravováno na hodnotu 4. Poté bylo zvýšeno pH na hodnotu 8, aby došlo k vysrážení přebytečného Al^{3+} z roztoku ve formě hydroxidu. Při měření HPLC-MS bylo potvrzeno, že se změnou rovnováhy iontů v roztoku komplex rozkládá zpět na volný ligand.
- 2) Do 25ml baňky bylo naváženo 50 mg daného ligandu společně s $[\text{Al}(\text{acac})_3]$ (1,5 ekv.). Pod argonovou atmosférou bylo přidáno 10 ml suchého MeOH a tento roztok byl následně refluxován do druhého dne pod zpětným chladičem. Podle HPLC-MS bylo potvrzeno, že dochází k minimální tvorbě komplexu.

HPLC (metoda M1): $t_R = 1,2$ min (komplex $[\text{Al}(\text{L1})]$), $t_R = 1,5$ min (ligand L1)

MS (+): 360, 24 ($[(\text{Al}(\text{L1})+\text{H}^+)]^+$), 336, 19 ($[\text{L1}+\text{H}^+]$)

4 Výsledky a diskuze

4.1 Syntéza ligandů

Syntéza ligandu (**L1**) byla provedena podle následujícího Schématu 1 a byla reprodukována z diplomové práce pojednávající o makrocyclických komplexech s neuzavřenou koordinační sférou.^[32] Protonizované stavy jsou pro tuto práci zanedbatelné, a proto v zápisu nejsou uvedeny.

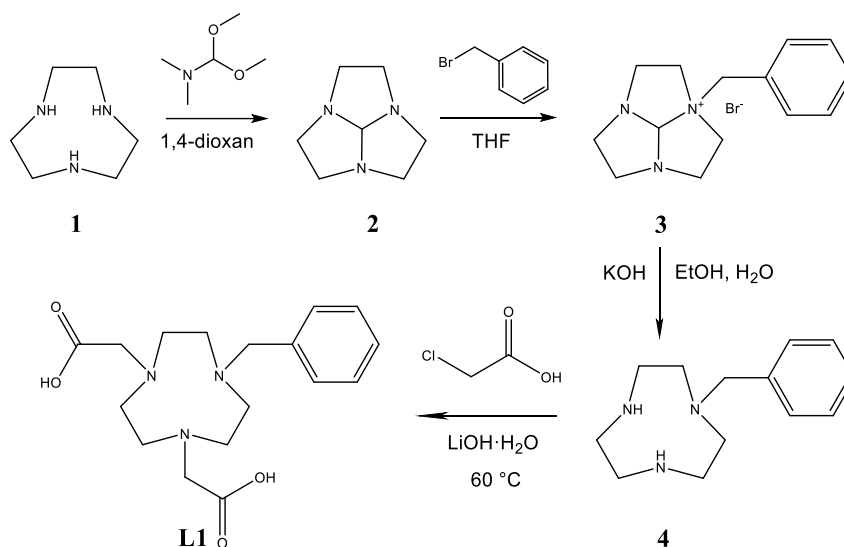


Schéma 1. Syntéza ligandu (**L1**)

Nejdříve byl syntetizován chráněný makrocyklus (**2**) reakcí s *N,N*-dimethylformamid-dimethylacetalem v dioxanu, který umožňuje selektivní alkylationi benzylobromidem pouze do jedné polohy. Hydrolyza kvarterní amoniové soli byla provedena refluxem ve směsi rozpouštědel H₂O/EtOH (1:2) společně s KOH. Produkt (**4**) byl po přidání 6M HCl a opakovaném odpaření na RVO rekrystalizován z EtOH ve formě stálejšího hydrochloridu.

Chráněný makrocyklus (**4**) byl rozpuštěn v destilované vodě a do roztoku byla přidána kyselina chloroctová s LiOH. Po odstranění přebytečných iontů na aneksu a zbylé kyseliny octové na katexu byl získán po odpaření z roztoku produkt (**L1**) ve formě bílého prášku.

Monoamidy derivátu TACN (**L2**) a (**L3**) byly syntetizovány podle níže uvedeného Schématu 2 a postup přípravy byl dříve publikován v bakalářské a diplomové práci kolegy z laboratoře.^[33,34] V obou případech byl využit chráněný makrocyklus (**4**), který byl rozpuštěn v MeCN společně s uhličitanem draselným ve funkci slabé báze. Následně bylo

postupně přidáno alkylační činidlo *t*Bu-bromoacetát v MeCN, aby došlo k navázání do příslušných poloh makrocyklu (**5**). Směs byla čištěna sloupcovou chromatografií na silikagelu. Po katalytické redukci benzylového chránění pomocí 10% Pd/C byl získán *t*Bu-NO₂A (**6**), který byl využit pro další alkylaci.

Produkt (**6**) byl rozpuštěn v MeCN a do roztoku byla následně přidána slabá báze K₂CO₃. Poté bylo postupně přidáno příslušné alkylační činidlo (s monoethyl- nebo diethyl-acetamidem) v MeCN. Po zpracování reakcí a vyčištění s využitím sloupcové chromatografie na oxidu hlinitém byly získány meziprodukty (**8**) a (**10**), u kterých byly dále odstraněny *t*butyly rozpuštěním ve směsi TFA:CHCl₃ v poměru 1:1. Následně byl produkt nanesen na katex v H⁺ cyklu pro odstranění přebytečné TFA a jiných nemakrocyclických nečistot. Po odpaření pyridinové frakce byl získán lehce nažloutlý olej. Po krátkém zahřátí s aktivním uhlím a filtraci byly získány produkty (**L2**) a (**L3**) ve formě bílého prášku. Rozpuštěním ve vodě a pomalým přidáváním acetonu byl produkt v menším množství rekrystalizován.

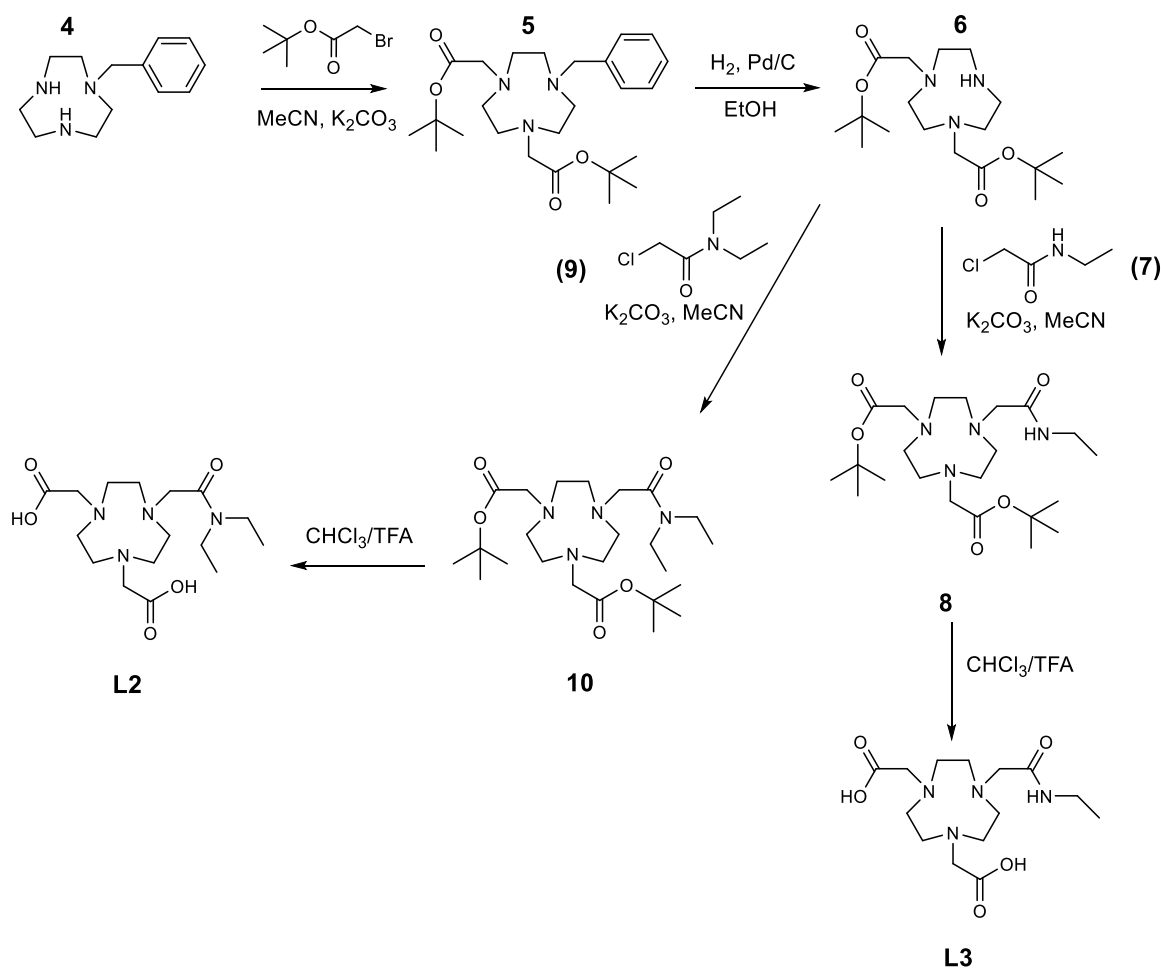
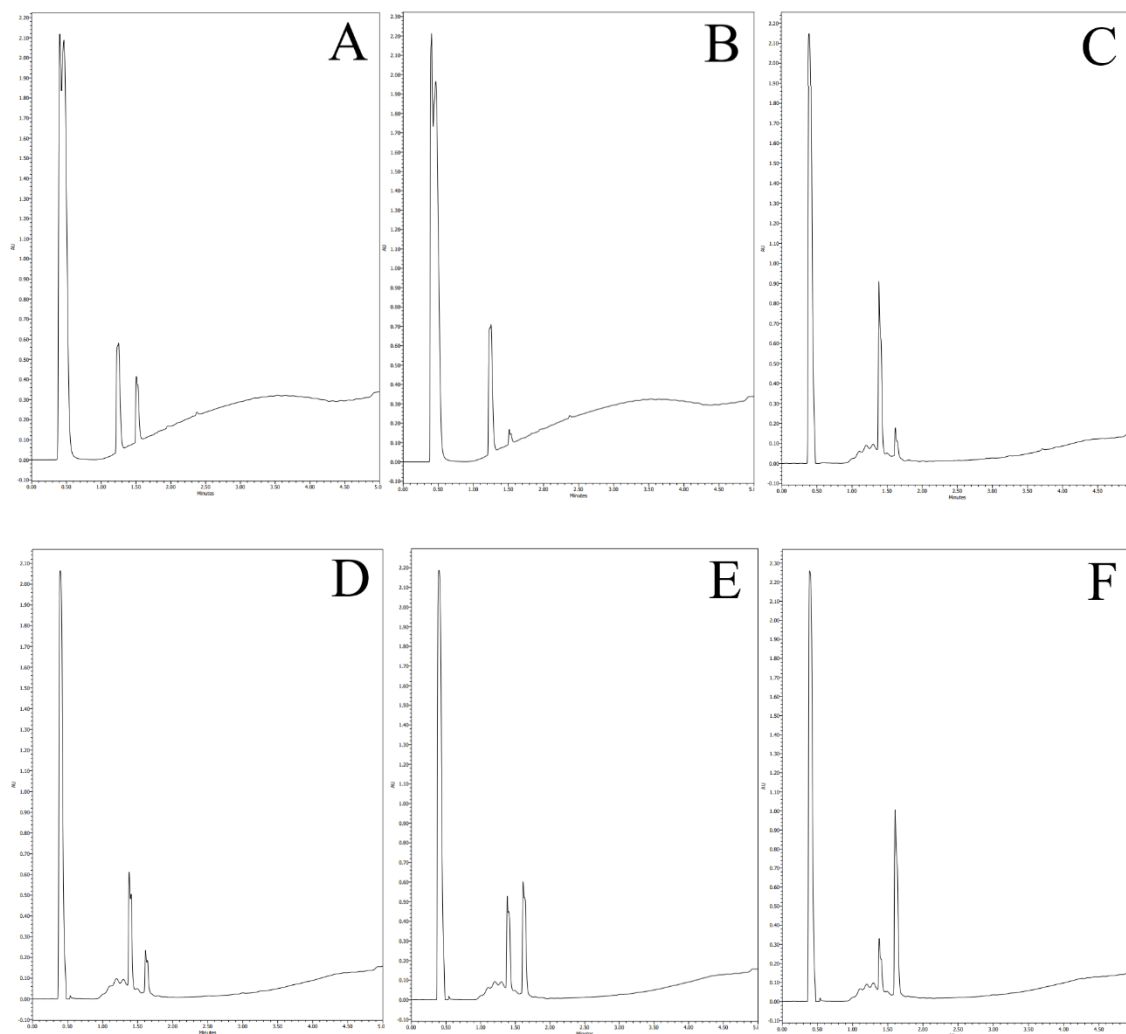


Schéma 2. Syntéza ligandu (**L2**) a (**L3**)

4.2 Příprava komplexů

Příprava komplexů všech tří ligandů s gallitými ionty probíhala totožně. Navážka ligandu byla rozpuštěna v destilované vodě a do roztoku byl přidán $\text{Ga}(\text{NO}_3)_3$ v nadbytku. Směs byla zahřívána po dobu jedné hodiny na $80\text{ }^\circ\text{C}$. Po ochlazení na LT bylo zvýšením pH na hodnotu 8 vysráženo přebytečné gallium ve formě hydroxidu $\text{Ga}(\text{OH})_3$. Ten byl následně zfiltrován a pH roztoku bylo dále sníženo zředěnou HCl na hodnotu okolo 6. Rozpouštědla byla odpařena a odparek byl poté rozpuštěn v $0,5\text{M LiClO}_4$. Převrstvením isopropanolem byly vyloučeny krystaly komplexu jejichž charakterizace byla provedena pomocí HPLC, NMR a EA.

Hlinité komplexy bylo možné připravit a jejich přítomnost potvrdit pouze v roztoku. Při jednom ze způsobu příprav byl využit daný ligand společně s navážkou $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$, které byly následně rozpuštěny ve vodě a zahřívány jako v předešlé přípravě s gallitými ionty. Přítomnost komplexu byla potvrzena metodou HPLC-MS, ale v žádném z experimentů (různá pH a ekv. Al^{3+}) nedošlo k úplné konverzi komplexu a nebylo možné jej rozumným způsobem izolovat. Důvodem bude patrně ustálení rovnováhy mezi komplexem a hydratovanými hlinitými ionty v roztoku. Na následujících chromatogramech (Obrázek 15) jsou znázorněny výsledky analýzy komplexů na HPLC metodou M1, kde po mrtvém čase (0,5 min.) vytéká komplex a za ním volný ligand. Měření byla prováděna i v mobilních fázích bez TFA, aby byla jistota, že kyselost rozpouštědel v tomto případě neovlivňuje tvorbu komplexu.



Obrázek 15. HPLC chromatogramy (UV) získané metodou M1 pro komplex $[Al(L1)]$ a $pH = 4,0$ (A), $5,0$ (B), $6,0$ (C), $7,0$ (D), $8,0$ (E), $10,0$ (F). Směs obsahovala $L1:Al^{3+}$ v poměru 1:5.

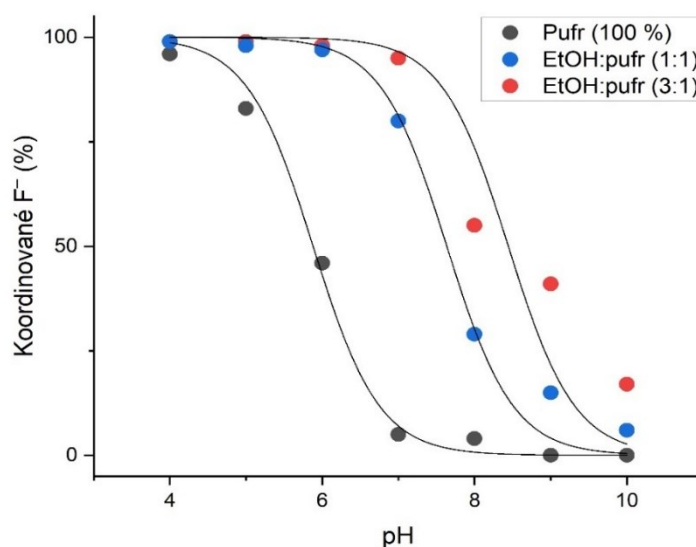
Druhou možností přípravy komplexu se nabízel způsob s využitím acetylacetonátu hlinitého za bezvodých podmínek (bezv. MeOH). Směs reaktantů byla refluxována při $75\text{ }^{\circ}C$ přes noc. Ani tímto způsobem se nepodařilo komplexy připravit v takovém množství, aby je bylo možné následně izolovat. Důvodem může být nedostatečný počet silně koordinujících pendantních ramen, která by byla schopná udržet hlinitý ion v makrocyclu a to zejména u ligandu, obsahujícího ve své struktuře zcela nekoordinující benzyl. Tento předpoklad byl potvrzen rovněž tím, že se stejným způsobem se podařilo připravit a izolovat malé množství komplexu s ligandem NOTA, který má ve své struktuře šest pevněji koordinujících donorových skupin.

4.3 Studium koordinačních vlastností

4.3.1 Termodynamika tvorby ternárního komplexu

Pro radiodiagnostická využití radiofarmak obsahující ve své struktuře radionuklid je velmi důležitá termodynamická a kinetická stabilita komplexu v prostředí živého organismu. V následujících měřeních byla pro tyto účely použita fluoridová iontově selektivní elektroda (dále jen F-ISE), která je schopna měřit závislost měnicího se potenciálu na čase. Tyto hodnoty potenciálu je možné následně přepočítat na koncentraci volných nebo vázaných fluoridových aniontů na komplex vůči měnicím se podmínkám jako je pH, složení roztoku, popř. teplota.

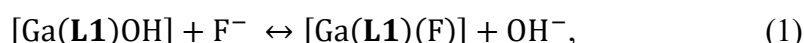
Studie, týkající se celkového množství navázaných F^- na komplex, byly prováděny při různých pH roztoku a ustálením rovnováhy byly zjištěny jejich procentuální množství, což znázorňuje následující Graf 2. Zde můžeme vidět výsledky měření, která byla prováděna pro komplex $[Ga(L1)]$ v rozmezí $pH = 4-10$. Rovněž byla měření prováděna pro různá složení roztoku, což je v grafu rozlišeno barvami. Konkrétně se využívalo různých poměrů EtOH vůči pufru (1:1 a 3:1). Nadbytek komplexu (2,0 mM) oproti množství fluoridových aniontů (0,2 mM) je běžně využíván i v radiomedicině, a proto byla tato množství využita i pro následující měření.



Graf 2. Koordínované frakce fluoridových aniontů na komplex $[Ga(L1)]$ po ustálení rovnováhy v roztoku v závislosti na pH ($35\text{ }^{\circ}\text{C}$, $c_{F^-} = 0,2\text{ mM}$, $c_{Ga^{3+}} = 2,0\text{ mM}$). Černé linie odpovídají proložení dle vztahu 2.

Z výnosu dat je zřejmé, že ke koordinaci F^- docházelo mnohem více v kyselejší oblasti pH a to nejvíce při $pH = 4,0$ bez ohledu na složení roztoku. Při $pH = 10,0$ ke koordinaci docházelo již minimálně. Důvodem je zvyšování koncentrace aniontů OH^- v roztoku s rostoucím pH, které následně konkurují koordinaci F^- na komplex. Tento děj ovlivňuje právě složení roztoku a s přibývajícím koncentrací EtOH dochází ke zvyšování procentuálního množství navázaných fluoridových aniontů (Graf 2).

Rovnováhu v roztoku lze popsat následující rovnicí



ze které lze vyjádřit termodynamickou konstantu jako

$$K = \frac{[Ga(L1)(F)][OH^-]}{[Ga(L1)OH][F^-]}. \quad (2)$$

Získané termodynamické konstanty a jejich logaritmy jsou zaznamenány v Tabulce 4. Záporné hodnoty logaritmů termodynamických konstant značí, že má daný komplex v roztoku menší afinitu k fluoridovým aniontům než k hydroxidovým. I přesto si lze všimnout trendu zvyšujících se konstant s rostoucím množstvím EtOH v měřící cele. To potvrzuje fakt, že přítomnost EtOH zvyšuje množství koordinovaných fluoridových aniontů a snižuje tak vliv hydroxidových aniontů při měření. Rovněž je potřeba zmínit, že s rostoucím množstvím organického rozpouštědla při měření se zvyšuje chyba výsledného fitu.

Tabulka 4. Termodynamické konstanty získané pro rovnováhu popsanou rovnicí (1) proložením křivek vztahem vycházejícím z rovnice 2. Pro úplnost jsou hodnoty převedeny na logaritmus této konstanty.

	K	R²	logK
100% pufr	$3,80 \cdot 10^{-6}$	0,994	-5,42
EtOH:pufr (1:1)	$2,16 \cdot 10^{-4}$	0,985	-3,67
EtOH:pufr (3:1)	$1,39 \cdot 10^{-3}$	0,867	-2,86

Pro porovnání vlivu EtOH na tvorbu komplexu $[Ga(L1)F]$ v roztoku je zde uvedena Tabulka 5, ve které jsou zaznamenány veškerá procentuální množství navázaných fluoridových aniontů pro $pH = 4,0-10,0$ při $35\text{ }^\circ\text{C}$.

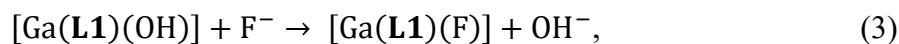
Tabulka 5. Porovnání procentuálního množství koordinovaných fluoridových aniontů na komplex [Ga(L1)] ve 100% pufru, směsi EtOH:pufr 1:1 a 3:1 v rozmezí pH = 4,0–7,0 (35 °C, $c_{F^-} = 0,2 \text{ mM}$, $c_{Ga^{3+}} = 2,0 \text{ mM}$)

Koordinované F⁻ (%) / pH	100 % pufr	50 % pufr + 50 % EtOH	25 % pufr + 75 % EtOH
4,0	95	99	99
5,0	83	98	99
6,0	46	97	98
7,0	5	80	94
8,0	3	29	65
9,0	0	15	38
10,0	0	8	17

4.3.2 Kinetické studie vázání F^-

Komplex $[Ga(L1)F]$

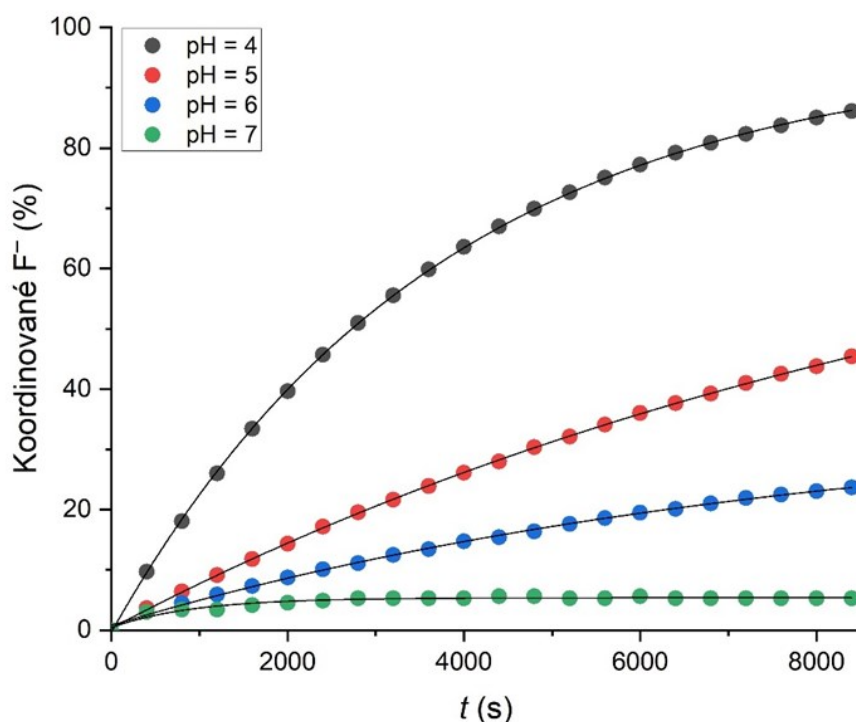
Kinetiku popisující koordinaci fluoridových aniontů na komplex $[Ga(L1)]$ lze vyjádřit následující rovnicí



pro kterou lze díky nadbytku komplexu využít rovnici vyjadřující kinetiku pseudo-prvního řádu

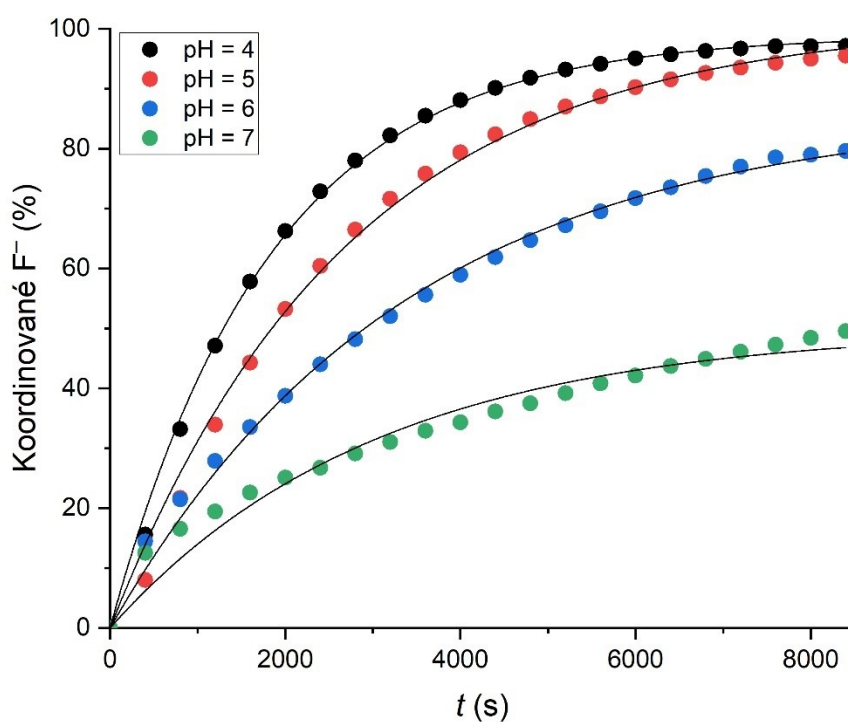
$$[F^-] = [F_0^-](1 - e^{-kt}), \quad (4)$$

kde $[F^-]$ je koncentrace navázaných fluoridových aniontů, $[F_0^-]$ je počáteční koncentrace fluoridových aniontů, k je rychlostní konstanta a t čas. Měření byla prováděna v rozmezí $pH = 4,0-7,0$ při $35\text{ }^\circ\text{C}$ a výsledky, které byly získány přepočítáním naměřeného potenciálu na procentuální množství navázaných fluoridových aniontů znázorňuje Graf 3.



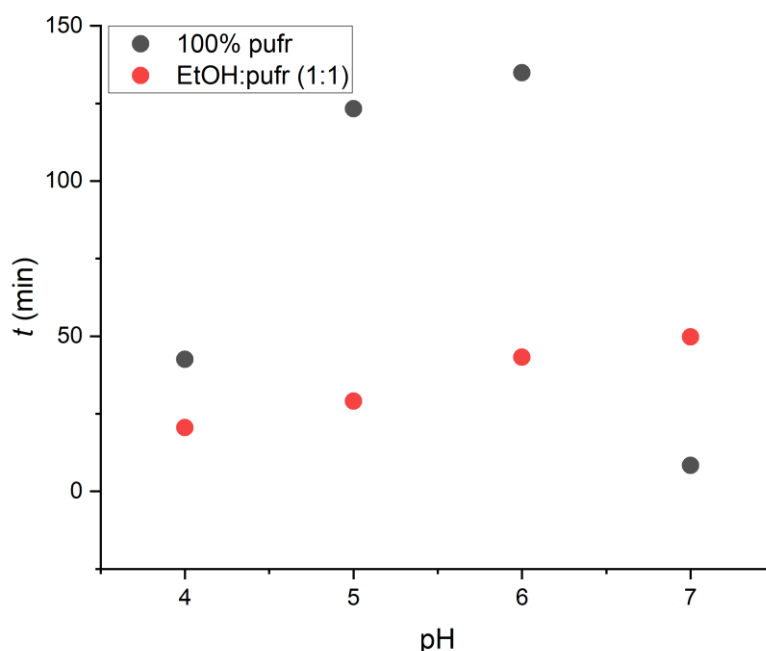
Graf 3. Výsledky kinetického měření pro koordinaci fluoridových aniontů na komplex $[Ga(L1)]$ ($35\text{ }^\circ\text{C}$, $c_{F^-} = 0,2\text{ mM}$, $c_{Ga^{3+}} = 2,0\text{ mM}$). Černé linie znázorňují proložení dat rovnicí 4

Z grafu lze usoudit, že koordinace fluoridových iontů probíhá nejrychleji při $\text{pH} = 4$. Právě při tomto pH je zaznamenán nejmenší vliv hydroxidových iontů v roztoku, které konkurují s nárůstem pH fluoridovým aniontům v roztoku. Rovněž lze z dat říci, že tvorba vazby Ga-F probíhá poměrně pomalu, jelikož při žádném z pH nebylo dosaženo rovnováhy po uplynutí dvou hodin. Proto byla kinetická měření významně ovlivněna přidáním organického rozpouštědla (EtOH), jehož přítomnost podstatně usnadňuje koordinaci fluoridovým aniontům v roztoku. Tento fakt potvrzují i provedená měření, jejichž výsledky pro komplex $[\text{Ga}(\text{L1})]$ jsou zobrazeny v Grafu 4.

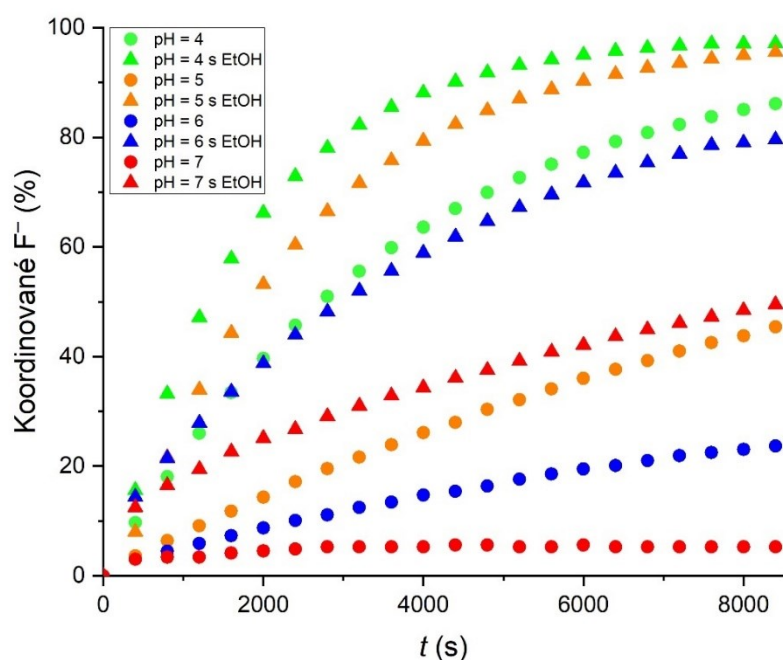


Graf 4. Výsledky kinetického měření koordinace fluoridových aniontů na komplex $[\text{Ga}(\text{L1})]$ ($35\text{ }^\circ\text{C}$, EtOH : pufr 1:1, $c_{\text{F}^-} = 0,2\text{ mM}$, $c_{\text{Ga}^{3+}} = 2,0\text{ mM}$). Černé linie znázorňují proložení dat rovnicí 4

Proložením vynesných dat rovnicí vyjadřující výše zmíněnou kinetiku pseudo-prvního řádu byly získány rychlostní konstanty a z nich byly dále vypočítány poločasy reakcí, které jsou znázorněny v Grafu 5. Přidáním daného množství EtOH do roztoku pufru byly poločasy reakcí výrazně zkráceny a s rostoucím pH se postupně zvyšovaly (červené body). Výjimkou bylo měření při pH = 7, kdy se koordinací pouhých 5ti procent fluoridových aniontů ustálila rovnováha velmi rychle a tím se výrazně zkrátil i poločas dané reakce. Výsledky kinetik přepočítané na procentuální množství koordinovaných fluoridových aniontů jsou srovnány v Grafu 6. Odpovídající rychlostní konstanty i s poločasy reakcí jsou zaznamenány v Tabulce 6.



Graf 5. Poločasy tvorby komplexu $[Ga(L1)F]$ ($35\text{ }^{\circ}C$, EtOH: pufr 1:1, $c_{F^-} = 0,2\text{ mM}$,
 $c_{Ga^{3+}} = 2,0\text{ mM}$)



Graf 6. Porovnání výsledků měření kinetik komplexace fluoridů pro komplex [Ga(L1)] a různá složení roztoku (35 °C, 100% pufr, EtOH: pufr 1:1, $c_{F^-} = 0,2$ mM, $c_{Ga^{3+}} = 2,0$ mM).

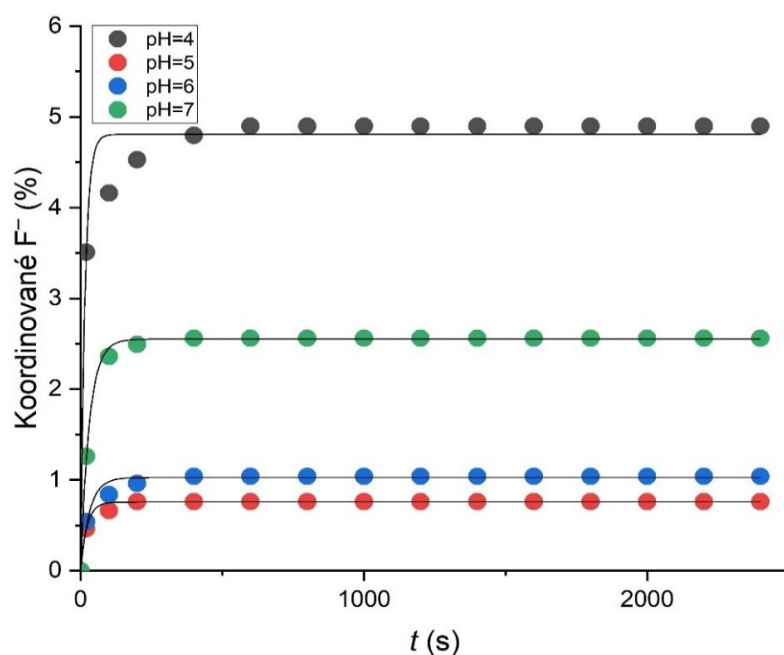
Tabulka 6. Porovnání rychlostních konstant a poločasů reakcí pro koordinaci fluoridových aniontů na komplex [Ga(L1)] ve 100% pufru a ve směsi pufru:EtOH (1:1) v rozmezí pH = 4,0–7,0 (35 °C, $c_{F^-} = 0,2$ mM, $c_{Ga^{3+}} = 2,0$ mM)

pH	100 % pufr			50 % pufr + 50 % EtOH		
	k (s ⁻¹)	R^2	$t_{1/2}$ (min)	k (s ⁻¹)	R^2	$t_{1/2}$ (min)
4,0	$2,70 \cdot 10^{-4}$	0,9999	42,8	$5,61 \cdot 10^{-4}$	0,9992	20,6
5,0	$9,36 \cdot 10^{-5}$	0,9999	123,4	$3,97 \cdot 10^{-4}$	0,9978	29,1
6,0	$8,57 \cdot 10^{-5}$	0,9967	134,8	$2,67 \cdot 10^{-4}$	0,9978	43,3
7,0	$1,38 \cdot 10^{-3}$	0,9355	8,4	$2,32 \cdot 10^{-4}$	0,9822	49,8

Komplex [Ga(L2)F]

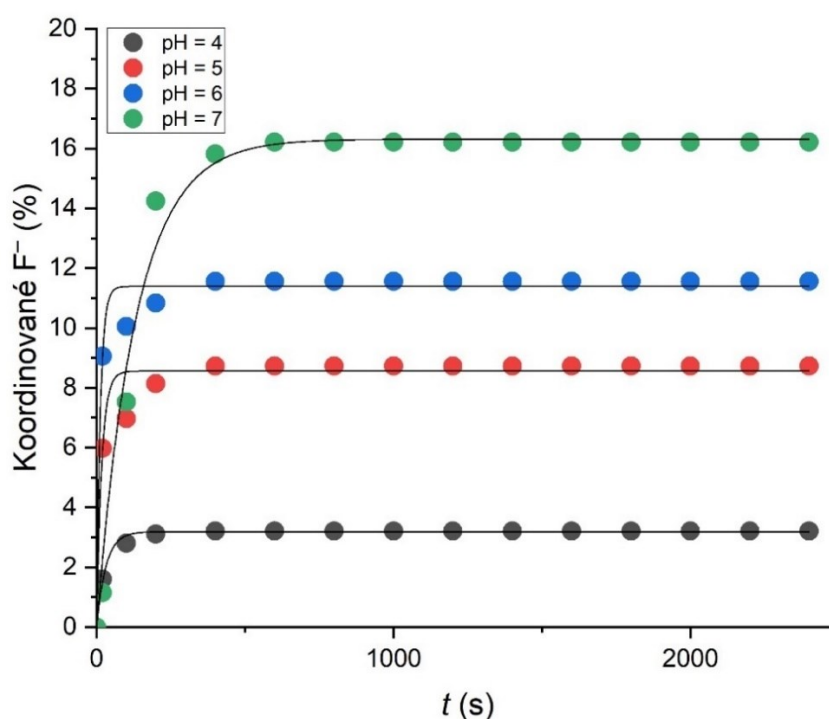
Stejně jako pro komplex obsahující ve své struktuře benzyl byly naměřeny kinetiky pro koordinaci fluoridových aniontů na komplexy obsahující ve své struktuře jedno acetamidové pendantní rameno. Důvodem proč tyto komplexy zkoumat byl zejména možný vliv dusíkového atomu amidové vazby jako potenciální donorové skupiny pro koordinaci na kovový ion. Tímto způsobem by mohlo docházet ke značnému zpomalení kinetiky nebo úplnému zamezení tvorby vazby Ga–F. Zároveň se amidická vazba v mnohých případech využívá jak můstek (linker) pro navázání targetujících skupin, což byl další důvod proč tyto komplexy studovat.

Komplex [Ga(L2)] obsahuje ve struktuře monoethyl-acetamidové pendantní rameno, jehož amidický dusíkový atom má možnost koordinovat gallitý kation a bránit tak možné vazbě fluoridovému aniontu. Data byla měřena opět v rozmezí pH = 4,0–7,0 při teplotě 35 °C. Procentuální množství navázaných fluoridových aniontů při daném pH je znázorněno v Grafu 7.



Graf 7. Výsledky kinetického měření koordinace fluoridových aniontů na komplex [Ga(L2)] (35 °C, $c_{F^-} = 0,2$ mM, $c_{Ga^{3+}} = 2,0$ mM). Černé linie znázorňují proložení dat rovnicí 4

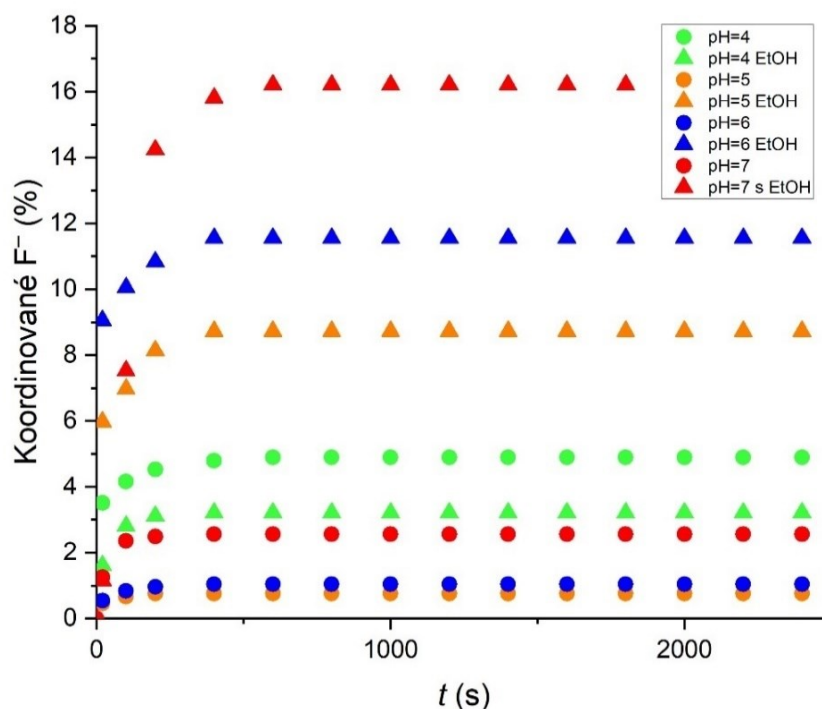
Z Grafu 7 lze vidět, že množství navázaných fluoridových atomů je velmi nízké. K maximální konverzi došlo opět jako u přechodného komplexu při $\text{pH} = 4,0$ a činila pouhých 5 %. K nejnižšímu množství navázaných F^- došlo při $\text{pH} = 5$ a při vyšších pH došlo k mírnému zvýšení. Tyto výsledky mohou být dány vlivem $\text{p}K_{\text{A}}$ donorových skupin, a to zejména dusíkového atomu amidické vazby. Tyto hodnoty však neposkytují dobré výsledky pro jakákoliv možná praktická využití. I přesto byla pro porovnání opět naměřena data, kdy se do pufru přidalo definované množství EtOH, konkrétně pufr:EtOH 1:1 (Graf 8).



Graf 8. Výsledky kinetického měření koordinace fluoridových aniontů na komplex $[\text{Ga}(\text{L}2)]$ ($35\text{ }^\circ\text{C}$, EtOH:pufr 1:1 $c_{\text{F}^-} = 0,2\text{ mM}$, $c_{\text{Ga}^{3+}} = 2,0\text{ mM}$). Černé linie znázorňují proložení dat rovnicí 4

Stejně jako u komplexu s benzylovým chráněným došlo ke zvýšení procentuálního množství navázaných fluoridových aniontů, nejvíce však při $\text{pH} = 7,0$ (16 %). Naopak při $\text{pH} = 4,0$ prakticky k žádné velké změně nedošlo. Kromě toho, že EtOH výrazně ovlivňuje samotnou kinetiku v roztoku, tak je velmi pravděpodobné, že dochází i k ovlivnění $\text{p}K_{\text{A}}$ donorových skupin, které mohou pozměnit samotný výsledek měření. Následným porovnáním se mohou zdát výsledky měření bez/v přítomnosti EtOH

jako poměrně nepředvídatelné (Graf 9). Veškerá procentuální množství a poločasy reakcí pro tvorbu komplexu $[\text{Ga}(\text{L}2)\text{F}]$ jsou zaznamenány v Tabulce 7. Získané rychlostní konstanty proložení dat a z nich vycházející poločasy jsou zaznamenány v Tabulce 8.



Graf 9. Porovnání výsledků měření kinetik komplexace fluoridů na komplex $[\text{Ga}(\text{L}2)]$ pro různá složení roztoků ($35\text{ }^\circ\text{C}$, 100% pufr, EtOH: pufr 1:1, $c_{\text{F}^-} = 0,2\text{ mM}$, $c_{\text{Ga}^{3+}} = 2,0\text{ mM}$).

Tabulka 7. Porovnání procentuálního množství koordinovaných fluoridových aniontů v rovnováze na komplex $[\text{Ga}(\text{L}2)]$ ve 100% pufru a ve směsi pufr:EtOH (1:1) v rozmezí $\text{pH} = 4,0\text{--}7,0$ ($35\text{ }^\circ\text{C}$, $c_{\text{F}^-} = 0,2\text{ mM}$, $c_{\text{Ga}^{3+}} = 2,0\text{ mM}$)

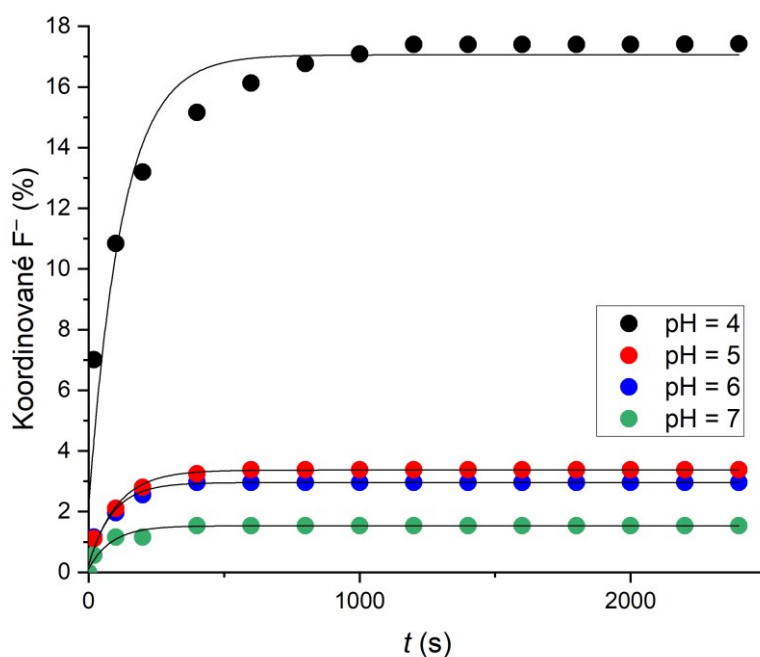
pH	100 % pufr		50 % pufr + 50 % EtOH	
	Koordinované F^- (%)	$t_{1/2}$ (s)	Koordinované F^- (%)	$t_{1/2}$ (s)
4,0	5	10,7	3	21,5
5,0	~1	15,3	9	11,8
6,0	1	21,8	12	8,8
7,0	3	21,1	16	91,4

Tabulka 8. Porovnání poločasů a rychlostních konstant pro koordinaci fluoridových aniontů na komplex [Ga(L2)] ve 100% pufru a ve směsi pufr:EtOH (1:1) v rozmezí pH = 4,0–7,0 (35 °C, $c_{F^-} = 0,2$ mM, $c_{Ga^{3+}} = 2,0$ mM)

pH	100 % pufr		50 % pufr + 50 % EtOH	
	<i>k</i> (s⁻¹)	<i>R</i>²	<i>k</i> (s⁻¹)	<i>R</i>²
4,0	0,0648	0,9751	0,0322	0,9926
5,0	0,0454	0,9866	0,0586	0,9607
6,0	0,0318	0,9740	0,0790	0,9810
7,0	0,0328	0,9980	0,00758	0,9888

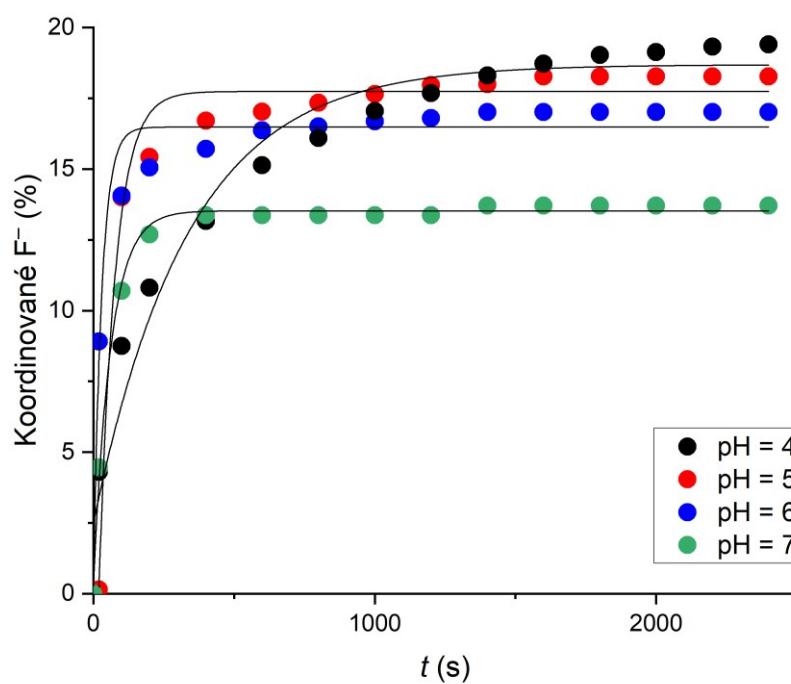
Komplex [Ga(L3)F]

Ve třetím případě byla změřena data pro komplex, jehož strukturní součástí je pendantní rameno s dvakrát substituovaným amidickým dusíkovým atomem. To znamená, že se donorová schopnost této skupiny snížila a tudíž by neměla ovlivňovat kinetiku tvorby komplexu [Ga(L3)F] tolik jako v přechodném případě pro komplex [Ga(L2)F]. Tento fakt potvrzuje i následující Graf 10, kde při pH = 4,0 došlo po ustálení rovnováhy ke konverzi 17 %. Zároveň s rostoucím pH dochází k výraznému snížení procentuálních množství navázaných fluoridových aniontů.

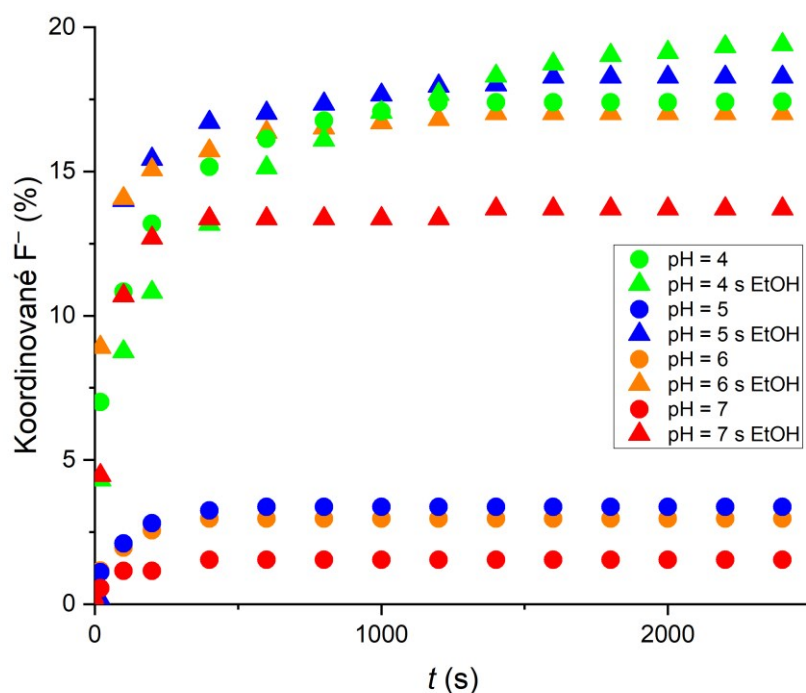


Graf 10. Výsledky kinetického měření koordinace fluoridových aniontů na komplex [Ga(L3)] ($35\text{ }^{\circ}\text{C}$, $c_{\text{F}^-} = 0,2\text{ mM}$, $c_{\text{Ga}^{3+}} = 2,0\text{ mM}$). Černé linie znázorňují proložení dat rovnicí 4

Po přidání EtOH do měřicí cely s pufrům v poměru 1:1 byl opět zaznamenán značný nárůst zastoupení komplexu [Ga(L3)F] a to zejména v rozmezí pH = 5,0–7,0 (Graf 11). Data bez/s využitím EtOH při měření jsou zobrazena a srovnána v Grafu 12. Výsledné konverze a získané poločasy reakcí jsou zaznamenány v Tabulce 9. Z těchto výsledků je zřejmé, že s rostoucí donorovou schopností třetího pendantního ramena výrazně klesá množství navázaných fluoridových aniontů. Rychlostní konstanty a poločasy kinetických měření jsou porovnány v Tabulce 10.



Graf 11. Výsledky kinetického měření koordinace fluoridových aniontů na komplex [Ga(L3)] (35 °C, EtOH:pufr 1:1 $c_{F^-} = 0,2$ mM, $c_{Ga^{3+}} = 2,0$ mM). Černé linie znázorňují proložení dat rovnicí 4



Graf 12. Porovnání výsledků měření kinetik komplexace fluoridů na $[\text{Ga}(\text{L3})]$ pro různá složení roztoků ($35\text{ }^\circ\text{C}$, 100% pufr, EtOH: pufr 1:1, $c_{\text{F}^-} = 0,2\text{ mM}$, $c_{\text{Ga}^{3+}} = 2,0\text{ mM}$).

Tabulka 9. Porovnání poločasů a procentuálních množství koordinovaných fluoridových aniontů na komplex $[\text{Ga}(\text{L3})]$ (v rovnováze) ve 100% pufru a ve směsi pufr:EtOH (1:1) v rozmezí $\text{pH} = 4,0\text{--}7,0$ ($35\text{ }^\circ\text{C}$, $c_{\text{F}^-} = 0,2\text{ mM}$, $c_{\text{Ga}^{3+}} = 2,0\text{ mM}$)

pH	100 % pufr		50 % pufr + 50 % EtOH	
	Koordinované F^- (%)	$t_{1/2}$ (s)	Koordinované F^- (%)	$t_{1/2}$ (s)
4,0	17	84,9	19	232,6
5,0	3	72,7	18	40,0
6,0	3	61,6	17	20,4
7,0	~2	59,4	14	11,0

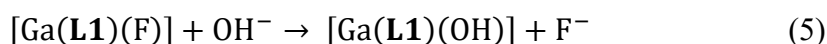
Tabulka 10. Porovnání rychlostních konstant pro koordinaci fluoridových aniontů na komplex [Ga(L3)] ve 100% pufru a ve směsi pufr:EtOH (1:1) v rozmezí pH = 4,0–7,0 (35 °C, $c_{F^-} = 0,2 \text{ mM}$, $c_{Ga^{3+}} = 2,0 \text{ mM}$)

pH	100 % pufr		50 % pufr + 50 % EtOH	
	$k \text{ (s}^{-1}\text{)}$	R^2	$k \text{ (s}^{-1}\text{)}$	R^2
4,0	0,00816	0,9554	0,00298	0,9661
5,0	0,00954	0,9877	0,0173	0,9795
6,0	0,0113	0,9791	0,0339	0,9716
7,0	0,0117	0,9669	0,0163	0,9965

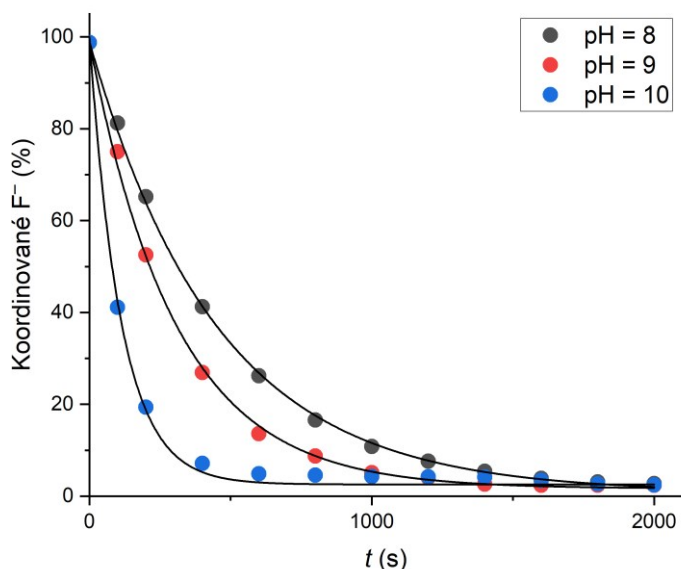
4.3.3 Disociační rovnováhy

Pro komplex $[\text{Ga}(\text{L1})\text{F}]$ byly měřeny rovněž disociační experimenty v prostředí vyšších pH, pro které je možné stanovit poločasy, za které fluoridový anion disociuje z komplexu zpět do roztoku. Tyto poznatky jsou důležité, pokud by se měl komplex ve formě radiofarmaka aplikovat pacientům. Za fyziologických podmínek je pH značně vyšší ($\sim 7,4$) než pH, při kterém dochází ke kvantitativní koordinaci F^- (jak naznačují předešlé experimenty). Tento poznatek může značně ovlivnit stabilitu komplexu a podpořit tak jeho postupný rozklad.

Důkazem tohoto tvrzení je Graf 13, na kterém jsou znázorněny výsledky disociačních měření. Pro tato měření byly využity tři roztoky o různých pH v bazické oblasti (8,0–10,0) a sledovala se změna množství koordinovaných fluoridových aniontů na čase od doby, kdy byl roztok s komplexem $[\text{Ga}(\text{L1})\text{F}]$ přidán do měřící cely. Na první pohled je zřejmé, že s rostoucím pH probíhá disociace značně rychleji. Kinetický děj je popsán rovnicí:



Rychlostní konstanty a z nich získané poločasy jsou zaznamenány v Tabulce 11.



Graf 13. Disociační rovnováhy pro komplex $[\text{Ga}(\text{L1})\text{F}]$ pro rozmezí $\text{pH} = 8,0\text{--}10,0$ ($35\text{ }^\circ\text{C}$, $c_{\text{F}^-} = 0,2\text{ mM}$, $c_{\text{Ga}^{3+}} = 2,0\text{ mM}$). Černé linie znázorňují proložení dat rovnicí určující pseudo-první řád.

Tabulka 11. Rychlostní konstanty a poločasy disociačních měření v rozsahu pH = 8,0–10,0 (35 °C, $c_{\text{F}^-} = 0,2 \text{ mM}$, $c_{\text{Ga}^{3+}} = 2,0 \text{ mM}$)

pH	$k (\cdot 10^{-3} \text{ s}^{-1})$	R^2	$t_{1/2} (\text{s})$
8,0	2,21	0,9994	313,6
9,0	3,27	0,9987	212,0
10,0	8,97	0,9974	77,3

Z těchto měření a výsledků je možné usoudit, že k úplné disociaci fluoridového aniontu v bazickém prostředí dochází v řádu několika minut. Tento poznatek značí, že za fyziologických podmínek by docházelo k poměrně rychlému uvolňování fluoridového aniontu z komplexu $[\text{Ga}(\mathbf{L1})\text{F}]$ do organismu a pro aplikace v PET není vhodný.

5 Závěr

V této diplomové práci byly syntetizovány tři deriváty makrocyklu TACN obsahující ve své struktuře dvě acetátová ramena a benzyl (**L1**), monoethyl-acetamid (**L2**) nebo diethyl-acetamid (**L3**). Následně byly připraveny gallité komplexy těchto ligandů, u kterých byla provedena řada měření sledující tvorbu vazby Ga–F při různých pH prostřednictvím fluoridové iontově-selektivní elektrody. Hlinité komplexy se připravit nepodařilo.

V této práci přinesl nejslibnější výsledek komplex $[Ga(\mathbf{L1})]$, na který bylo možné vázat fluoridový anion při $pH = 4,0$ téměř kvantitativně do 2 hodin. Po přidání EtOH do měřicí cely se tento děj ještě značně urychlil. Při disociačních měřeních byl však pozorován rychlý rozpad vazby Ga–F po zvýšení pH na hodnoty 8,0–10,0. Z těchto údajů je zřejmé, že by při přímé aplikaci tohoto komplexu docházelo za fyziologických podmínek k rychlému rozkladu ternárního makrocyclického komplexu. Důvodem je vyšší afinita gallitého kationtu k hydroxidovému aniontu než k fluoridovému.

V případě komplexů $[Ga(\mathbf{L2})]$ a $[Ga(\mathbf{L3})]$ měření ukázala, že tvorbě vazby Ga–F patrně konkuruje interakce s amidickým pendantním ramenem, což dokazují nízké výtěžky tvorby ternárních makrocyclických komplexů. V obou případech proto nebyly komplexy dále studovány.

6 Citace

1. Kwon, Y. D., Byun, Y., Kim H., ¹⁸F-labelled BODIPY dye as a dual imaging agent: Radiofluorination and applications in PET and optical imaging. *Nuclear Medicine and Biology*. 2021, (93): 22–36.
doi: <https://doi.org/10.1016/j.nucmedbio.2020.11.004>
2. Hildebrandt, M. G., Gerke, O., Baun, C., Falch, K., Hansen, J. A., Farahani, Z. A., Petersen, H., Larsen, L. B., Duvnjak, S., Buskevica, I., Bektas, S., S e, K., Jylling, A. M., Ewertz, M., Alavi, A., H ilund-Carlsen, P. F.. [¹⁸F]Fluorodeoxyglucose (FDG)-Positron Emission Tomography (PET)/Computed Tomography (CT) in Suspected Recurrent Breast Cancer: A Prospective Comparative Study of Dual-Time-Point FDG-PET/CT, Contrast-Enhanced CT, and Bone Scintigraphy. *Journal of Clinical Oncology*. 2016, 34(16): 1889–97.
doi: 10.1200/JCO.2015.63.5185.
3. Fleischmann, D., Boas, F.E., Computed tomography—old ideas and new technology. *European Radiology*. 2011, 21: 510–517.
doi: <https://doi.org/10.1007/s00330-011-2056-z>
4. Lord, S. J., Lei, W., Craft, P., Cawson, J.N., Morris, I., Walleser S., Griffiths. A., Praker, S., Houssami, N., A systematic review of the effectiveness of magnetic resonance imaging (MRI) as an addition to mammography and ultrasound in screening young women at high risk of breast cancer, *European Journal of Cancer*. 2007, 43 (13): 1905–1917.
doi: <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2007.06.007>.
5. Muehlllehner G., Karp, J. S., *Physics in Medicine & Biology*. 2006, 51 (13).
doi:10.1088/0031-9155/51/13/R08
6. Kunz, W. G., Jungblut, L. M., Kazmierczak Improved Detection of Transosseous Meningiomas Using ⁶⁸Ga-DOTATATE PET/CT Compared with Contrast-Enhanced MRI. *Journal of Nuclear Medicine*. October 2017, 58 (10): 1580–1587.
doi: <https://doi.org/10.2967/jnumed.117.191932>
7. Kelloff G. J., Hoffman J. M., Johnson B., et al. Progress and promise of FDG-PET imaging for cancer patient management and oncologic drug development. *Clinical Cancer Research*. 2005, 11(8): 2785–2808.
doi:10.1158/1078-0432.CCR-04-2626

8. S Yu. Review of ^{18}F -FDG Synthesis and Quality Control. *Biomedical Imaging and Intervention Journal*. 2006; 2(4).
doi: 10.2349/bijj.2.4.e57
9. Shukla A. K., Kumar U., "Positron emission tomography: An overview." *Journal of medical physics*. 2006, 31(1): 13–21.
doi:10.4103/0971-6203.25665
10. Kupka K., Kubinyi J., Šámal M., *Nukleární Medicína: [Učební Text]*. Praha: P3K, C2007. ISBN 978-80-903584-9-2.
11. Ullmann V., *Jaderná a radiační fyzika*. 1.4. Radionuklidy
web: <http://astronuklfyzika.cz/JadRadFyzika4.htm>.
12. Zweit J. Babich J. W., Ott R. J., Goodall R., Sharma H. L., Cerium-134/lanthanum-134, a new radionuclide generator system for positron emission tomography. *Journal of Labelled Compounds and Radiopharmaceuticals*. 1993, 32(1–12): 480–482.
13. Win A. Z., Aparici C. M., Factors Affecting Uptake of NaF-18 by the Normal Skeleton. *Journal of Clinical Medicine Research*. 2014; 6(6):435.
doi:10.14740/jocmr1901w
14. Kelloff G. J., Hoffman J. M., Johnson B., et al. Progress and promise of FDG-PET imaging for cancer patient management and oncologic drug development. *Clinical Cancer Research*. 2005; 11(8): 2785–2808.
doi:10.1158/1078-0432.CCR-04-2626
15. Sanchez-Crespo A., Comparison of Gallium-68 and Fluorine-18 imaging characteristics in positron emission tomography, *Applied Radiation and Isotopes*. 2013, 76: 55–62.
doi: <https://doi.org/10.1016/j.apradiso.2012.06.034>
16. Jacobson O., Chen X., PET Designated Fluoride-18 Production and Chemistry. *Current Topics of Medicinal Chemistry*. 2010, 10(11): 1048–1059.
doi:10.2174/156802610791384298
17. Yang L., Dong T., Revankar H. M., Zhang C. P., Recent progress on fluorination in aqueous media. *Green Chemistry*. 2017, 19(17): 3951–3992.
doi:10.1039/c7gc01566f
18. Coenen H. H., Fluorine-18 labeling methods: Features and possibilities of basic reactions. *Ernst Schering Research Foundation Workshop*. 2007, 62: 15–50.
doi:10.1007/978-3-540-49527-7_2

19. Thorp-Greenwood F. L., Coogan M. P.. Multimodal radio-(PET/SPECT) and fluorescence imaging agents based on metallo-radioisotopes: Current applications and prospects for development of new agents. *Journal Chemistry Society Dalton Transaction*. 2011, 40(23): 6129–6143.
doi:10.1039/c0dt01398f
20. Bhalla R., Levason W., Luthra S. K., McRobbie G., Sanderson G., Reid G., Radiofluorination of a pre-formed Gallium(III) aza-macrocyclic complex: Towards next-generation positron emission tomography (PET) imaging agents. *Chemistry - A European Journal*. 2015, 21(12): 4688–4694.
doi:10.1002/chem.201405812
21. Venkatachalam T. K., Bernhardt P. V., Stimson D. H. R., Pierens G. K., Bhalla R., Reutens D. C., A Novel Strategy to Introduce ^{18}F , a Positron Emitting Radionuclide, into a Gallium Nitrate Complex: Synthesis, NMR, X-Ray Crystal Structure, and Preliminary Studies on Radiolabelling with ^{18}F . *Australian Journal of Chemistry*. 2018, 71(2–3): 81–86.
doi:10.1071/CH17334
22. Chen H., Niu G., Wu H., Chen X., Clinical application of radiolabeled RGD peptides for PET imaging of integrin $\alpha\text{v}\beta\text{3}$. *Theranostics*. 2016, 6(1): 78–92.
doi:10.7150/thno.13242
23. Zhang X., Xiong Z., Wu Y., et al. Quantitative PET imaging of tumor integrin $\alpha\text{v}\beta\text{3}$ expression with ^{18}F -FRGD2. *Journal of Nuclear Medicine*. 2006, 47(1): 113–121.
web: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16391195>
24. Laverman P., McBride W. J., Sharkey R. M., et al. A novel facile method of labeling octreotide with ^{18}F -fluorine. *Journal of Nuclear Medicine*. 2010, 51(3): 454–461.
doi:10.2967/jnumed.109.066902
25. Burke B., Clemente G., Archibald S.. Boron- ^{18}F containing positron emission tomography radiotracers: advances and opportunities : Boron ^{18}F containing PET radiotracers: Advances and opportunities. *Contrast Media Molecular Imaging*. 2015, 10(2): 96–110.
doi:10.1002/cmimi.v10.2

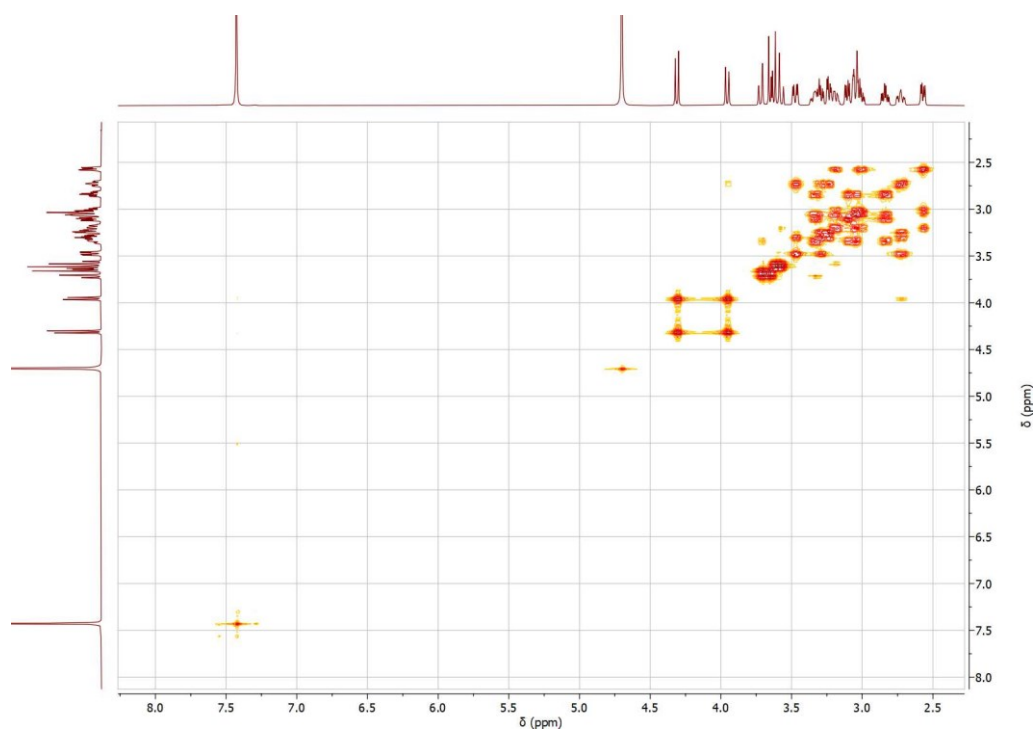
26. Yu C., Pan D., Mi B., et al. ^{18}F -Alfatide II PET/CT in healthy human volunteers and patients with brain metastases. *European Journal of Nuclear Medicine*. 2015, 42(13): 2021–2028.
doi:10.1007/s00259-015-3118-2
27. Jacobson O., Kiesewetter D. O., Chen X., Fluorine-18 radiochemistry, labeling strategies and synthetic routes. *Bioconjugate Chemistry*. 2015, 26(1): 1–18.
doi:10.1021/bc500475e
28. Jursík F., *Anorganická chemie kovů*. Praha, Vysoká škola chemicko-technologická, 2002. ISBN 80-7080-504-8.
29. Shetty D., Choi, S. Y., Jeong, J. M., et al. Stable aluminium fluoride chelates with triazacyclononane derivatives proved by X-ray crystallography and ^{18}F -labeling study. *Chemistry Community*. 2011, 47(34): 9732–9734.
doi:10.1039/c1cc13151f
30. Bhalla R., Darby C., Levason W., et al. Triaza-macrocyclic complexes of aluminium, gallium and indium halides: Fast ^{18}F and ^{19}F incorporation via halide exchange under mild conditions in aqueous solution. *Chemistry Science*. 2014, 5(1): 381–391.
doi:10.1039/c3sc52104d
31. Hennrich, U., Benešová, M., [^{68}Ga]Ga-DOTA-TOC: The First FDA-Approved ^{68}Ga -Radiopharmaceutical for PET, *Imaging Pharmaceuticals* [online]. 2020, 13(3), 1424–8247.
doi: 10.3390/ph13030038
32. Jaroš, A., Makrocyclické komplexy s neuzavřenou koordinační sférou. *Diplomová práce*. Univerzita Karlova, Přírodovědecká fakulta, Katedra anorganické chemie. 2018.
33. Kubinec, J., Koordinační vlastnosti monoamidu NOTA. *Bakalářská práce*. Univerzita Karlova, Přírodovědecká fakulta, Katedra anorganické chemie, 2016.
34. Kubinec, J., Komplexy derivátů 1,4,7-triazacyklononanu. *Diplomová práce*. Univerzita Karlova, Přírodovědecká fakulta, Katedra anorganické chemie, 2019.

7 Seznam zkratek

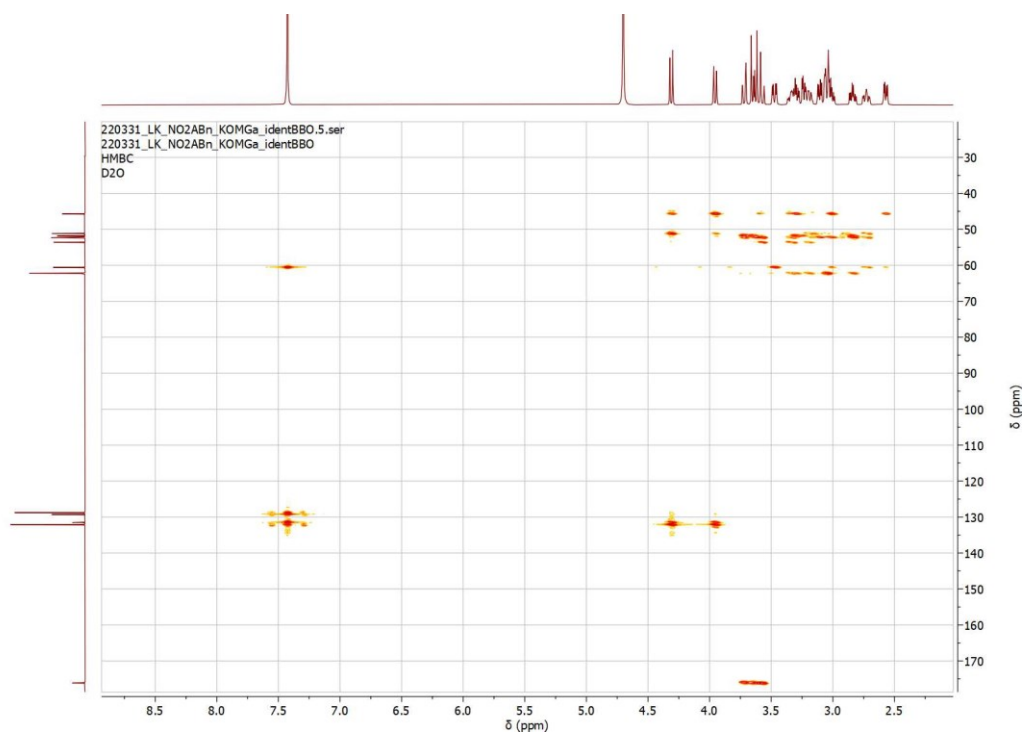
AMPSO	kyselina <i>N</i> -(1,1-dimethyl-2-hydroxyethyl)-3-amino-2-hydroxypropansulfonová
BODIPY	4-difluoro-1,3,5,7,8-pentamethyl-4-bora-3a,4a-diaza- <i>s</i> -indacen
CAPS	kyselina <i>N</i> -cyklohexyl-3-aminopropansulfonová
COSY	^1H - ^1H korelační spektroskopie
CT	počítačová tomografie
DOTA	kyselina (1,4,7,10-tetraazacyklododekan)-1,4,7,10-tetraoctová
DTPA	kyselina diethylentriaminpentaoctová
EA	elementární analýza
EDTA	kyselina ethylendiamintetraoctová
EtOH	ethanol
FDG	fluorodeoxyglukosa
F-ISE	fluoridová iontově-selektivní elektroda
HMBC	heteronukleární vícenásobná korelační spektroskopie
HPLC	vysokoučinná kapalinová chromatografie
HSAB	teorie tvrdých a měkkých kyselin a zásad
HSQC	heteronukleární jednokvantová korelační spektroskopie
NOTA	kyselina (1,4,7-triazacyklononan)-1,4,7-trioctová
MeCN	acetonitril
MOPS	kyselina 4-morfolinopropansulfonová
MRI	magnetická rezonance
PET	pozitronová emisní tomografie
TACN	1,4,7-triazacyklononan

8 Přílohy

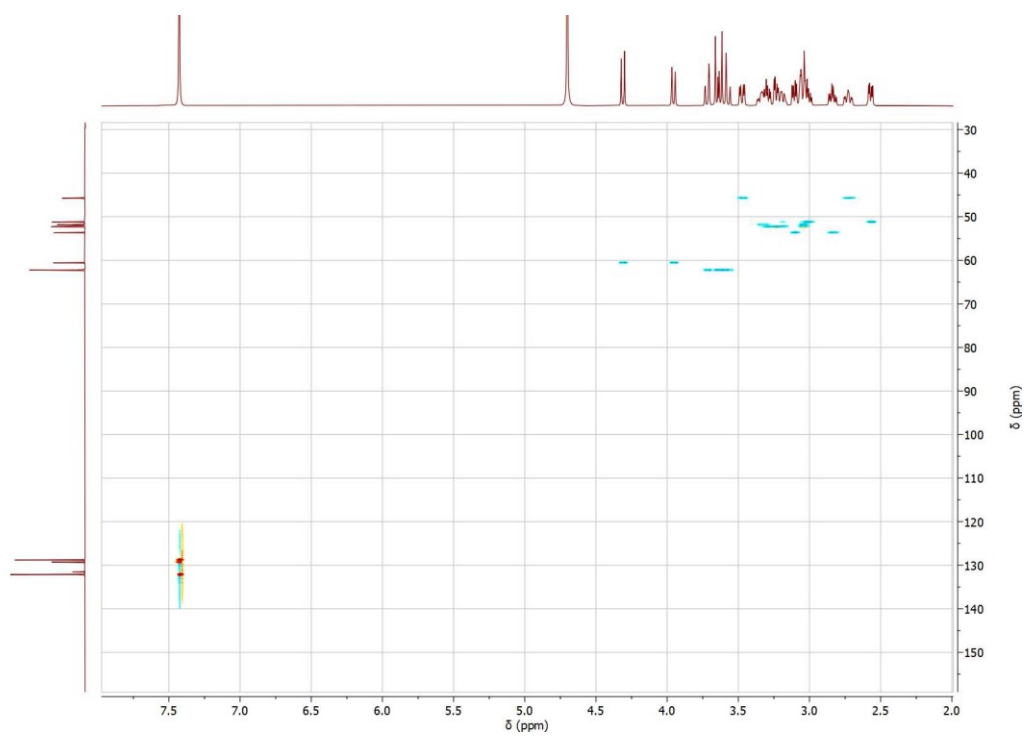
A. NMR spektra



Obrázek A1. ^1H COSY spektrum komplexu $[\text{Ga}(\text{L1})]$ (D_2O)

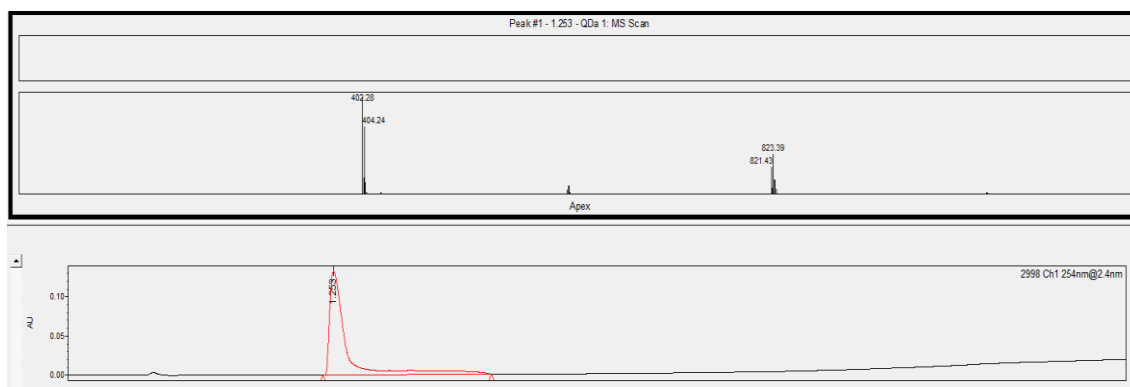


Obrázek A2. $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ HMBC spektrum $[\text{Ga}(\text{L1})]$ (D_2O)

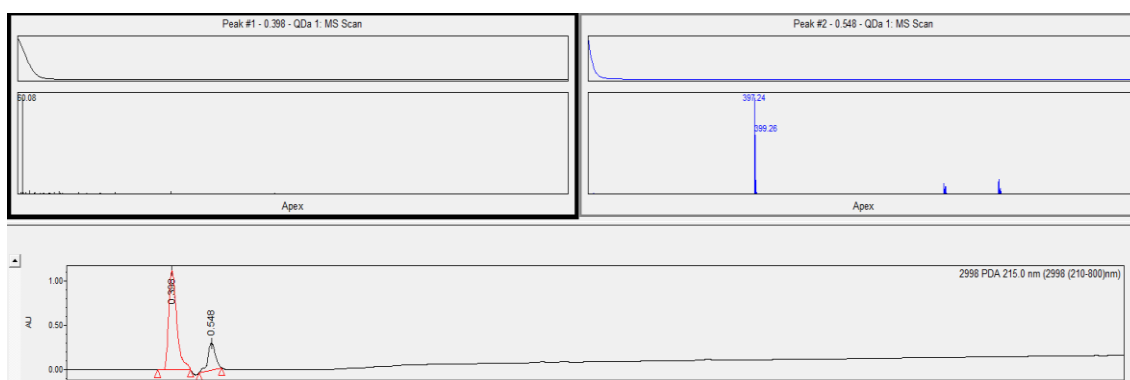


Obrázek A3. $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ HSQC spektrum $[\text{Ga}(\text{L1})]$ (D_2O)

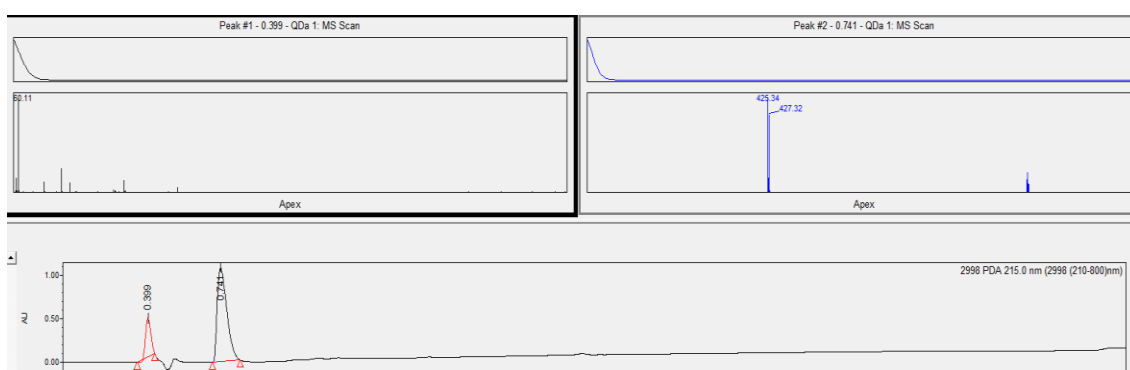
B. HPLC-MS data



Obrázek B1. Chromatogram (UV) získaný metodou M1 pro komplex [Ga(L1)]



Obrázek B2. Chromatogram (UV) získaný metodou M1 pro komplex [Ga(L2)]



Obrázek B3. Chromatogram (UV) získaný metodou M1 pro komplex [Ga(L3)]