

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE

Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Chemie



Bakalářská práce

Viktor Lebruška

Fosforové deriváty 1,4,7-triazacyklononanu pro nukleární medicínu

Complexes of 1,4,7-triazacyclononane for nuclear medicine

Vedoucí bakalářské práce: doc. RNDr. Vojtěch Kubíček, Ph.D.

Praha, 2020

Prohlášení:

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

V Praze dne 15. 6. 2020

Viktor Lebruška

Abstrakt

V současnosti dochází k rozvoji používání kovových izotopů pro studium tkání v oblasti nukleární medicíny. Kovové izotopy se v těle kumulují nespecificky. Z tohoto důvodu je pro diagnostiku a terapii nutné použít vhodné ligandy, které s daným iontem kovu vytvoří termodynamicky stálý a kineticky inertní komplex. Ten je možné navázat na vhodnou targetující skupinu. Izotopy gallia a mědi jsou vhodné pro diagnostiku či terapii. Pro komplexaci iontů gallia, mědi a některých dalších kovů s malým poloměrem je vhodná kavita makrocyklu 1,4,7-triazacyklononanu. Samotný makrocyklus s nimi však netvoří termodynamicky stabilní komplexy, proto musí být jeho atomy dusíku substituovány vhodnými pendantními rameny, těmi mohou být například karboxyláty a v posledních letech jsou jimi často zbytky organických kyselin fosforu. Tato práce se zabývá látkami odvozenými od 1,4,7-triazacyklononanu, obsahující právě fosforová ramena, které byly studovány v posledních letech.

Klíčová slova

komplexy, ligandy, disociační konstanty, konstanty stability

Abstract

The use of metal isotopes for the study of tissues in the field of nuclear medicine is currently being developed. Metal isotopes are accumulated non-specifically in the body. Therefore, it is necessary for diagnosis and therapy to use suitable ligands, which form a thermodynamically stable and kinetically inert complex with the given metal ion, which can be attached to a suitable targeting group. Isotopes of gallium and copper are suitable for imaging and therapy. The cavity of the 1,4,7-triazacyclononane is suitable for the complexation of gallium, copper and some other metals with a small radius. However, the macrocycle itself does not form thermodynamically stable complexes, so the nitrogen atoms must be substituted by proper pendant arms, such as carboxylates. In recent years organic residues of phosphoric acids are also used. This work deals with substances that are derivatives of 1,4,7-triazacyclononane and contain phosphorus arms, which were studied in recent years.

Keywords

complexes, ligands, dissociation constants, stability constants

Obsah

1	Úvod.....	6
1.1	Studium tkání.....	6
1.2	Jednofotonová emisní výpočetní tomografie.....	7
1.3	Pozitronová emisní tomografie.....	8
1.4	Radioterapie.....	10
1.5	Makrocyclické ligandy.....	11
1.6	Fosforová pendantní ramena ligandů.....	14
1.7	Ligandy zmiňované v této práci	16
2	Syntéza fosfonátových a fosfinátových derivátů makrocyccku TACN.....	19
3	Acidobazické a koordinační vlastnosti fosforových derivátů makrocyccku TACN	25
3.1	Acidobazické vlastnosti ligandů	26
3.2	Protonizační konstanty fosfonových a fosfinových analogů glycinu	26
3.3	Acidobazické vlastnosti TRAP-H.....	27
3.4	Koordinační vlastnosti TRAP-H.....	27
3.5	Acidobazické vlastnosti NOPA	29
3.6	Koordinační vlastnosti NOPA.....	29
3.6	Acidobazické a koordinační vlastnosti ostatních fosforových derivátů.....	30
	makrocyccku TACN	30
4	Struktura komplexů s vybranými deriváty v pevné fázi.....	31
	Závěr.....	33
	Seznam Použité literatury	35
	Seznam zkratk	40
	Poděkování.....	41

1 Úvod

1.1 Studium tkání

V dnešní medicíně existuje mnoho neinvazivních technik, které slouží k zobrazování lidské tkáně. Tyto techniky jsou založeny nejčastěji na průchodu ionizujícího záření skrze tkáně. Moderní zobrazovací techniky můžeme rozdělit na transmisní techniky, při kterých je ionizující záření vytvářeno mimo tělo pacienta např: Rentgenová skiaskopie a CT a dále na techniky emisní, kdy je látka vytvářející ionizující záření uvnitř těla pacienta. Nejčastěji se jedná o radioaktivní izotop prvku. Mezi emisní techniky patří SPECT (jednofotonová emisní výpočetní tomografie) a PET (pozitronová emisní tomografie).

V současnosti je do zobrazování možné pro zvýšení citlivosti radiologických metod zapojit moderní výpočetní techniku (výpočetní tomografie – CT). Při běžném vyšetření kolem těla pacienta obíhá rentgenka, která vysílá záření skrze pacientovo tělo. Prošlé záření dopadá na detektory a je transformováno na signál, který je možné dále zpracovávat. K zobrazení měkkých tkání lze využít kontrastních látek, například pro trávicí ústrojí je jí síran barnatý a pro angiografii sloučeniny jodu.

Další metodou zobrazování je sonografie, při které neprochází tělem ionizující záření, ale pacient je vystaven vysokofrekvenčním zvukovým vlnám (1–18 MHz), které mají nižší vlnovou délku než slyšitelný zvuk. Ultrazvukové vlny se od přechodů mezi tělními tkáněmi odráží, jsou zaznamenávány a zpracovávány na obraz. Využití ultrazvuku je omezeno malým přenosem kostmi a vzduchem. Jeho využití je hlavně v porodnictví ke sledování plodu a v kardiologii.

Mezi zobrazovacími technikami má nejlepší rozlišení nukleární magnetická rezonance (Magnetic Resonance Imaging – MRI). V této technice je běžně měřeným jádrem vodík jakožto v organismech nejvíce zastoupený prvek s nenulovým spinem. Signál u MRI je závislý převážně na obsahu vody v tkáni, rozdíl jejich koncentrací tedy určuje odezvu přístroje. U MRI lze dosáhnout mnohem vyššího rozlišení, než je tomu např. u CT.¹ Tato technika je neinvazivní a je vhodná k zobrazování většiny orgánů, pacient zároveň není vystaven ionizujícímu záření. Nevýhodami jsou především vysoká pořizovací cena přístroje a delší doba trvání vyšetření, další nevýhodou je magnetické pole o vysoké intenzitě, proto nelze tuto techniku využít pro pacienty s kovovými a elektronickými implantáty v těle. Pro magnetickou rezonanci lze využít kontrastní látky,

kteře mění relaxační dobu T_1 protonů a dochází k zesílení signálu. Jako kontrastní látky se často využívají komplexy gadolinia.

Dalším významným odvětvím radiologie je nukleární medicína, která využívá ionizující záření ze zářičů aplikovaných do těla pacienta, jedná se tedy o emisní techniky. Výhodou emisních technik oproti transmisním je vystavení pacienta menší dávce radioaktivního záření. Zároveň je možné aplikovaný zářič po těle distribuovat specificky, což bude diskutováno dále v textu. Obecným znakem těchto metod je zachycení ionizujícího záření vycházejícího z těla pacienta scintilačními kamerami. Pro přesnou lokalizaci farmaka v pacientově těle je nutné tyto techniky kombinovat nejčastěji s CT, nebo s MRI.¹

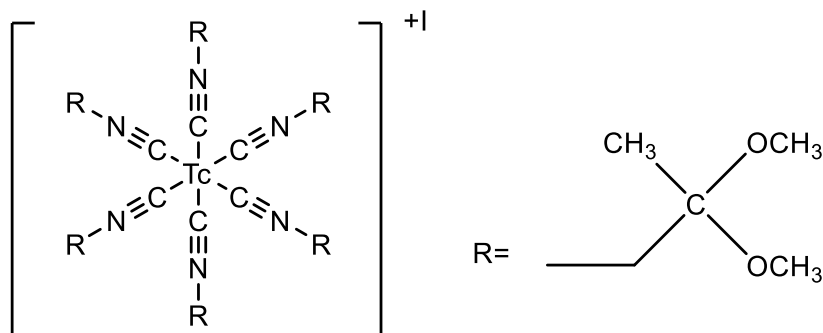
Příprava vhodných pozitronových zářičů a instrumentace pro PET je nákladnější než příprava zářičů pro SPECT, proto je SPECT stále více rozšířenou diagnostickou metodou, i přesto že PET má lepší rozlišení snímků.²

Vedle technik sloužících k zobrazování je součástí nukleární medicíny také radioterapie, kde jsou radioizotopy využívány k léčbě pacienta. V radioterapii je využita ničivá síla některých druhů ionizujícího záření, které je schopné zabít buňky. Tato schopnost je využita například pro léčbu nádorových onemocnění.

1.2 Jednofotonová emisní výpočetní tomografie

Jednofotonová emisní výpočetní tomografie je první emisní zobrazovací technikou. Ta se svým raným vývojem začala již v 60. letech minulého století. Lokalizace zdroje záření u této metody je zprostředkována pomocí kolimátorů, které jsou mezi zdrojem záření a scintilačními kamerami. Skrze kolimátor prochází pouze fotony, které na něj dopadají kolmo. SPECT využívá fotony záření γ . Optimální energií vyzářeného fotonu je 140 keV, jelikož fotony s nízkou energií jsou pohlcovány tkáněmi a neprojdou tedy skrze tělo pacienta k detektoru. Pokud je energie fotonů naopak příliš vysoká naráží se na limity funkčnosti kolimátorů. Jako γ zářiče pro SPECT se využívají ^{99m}Tc , ^{123}I , ^{131}I a ^{201}Tl , z nichž je nejpoužívanější metastabilní ^{99m}Tc ($t_{1/2} = 6 \text{ h}$, $E = 141 \text{ keV}$, 89%).³ Metastabilní technecium je připravováno v molybden-techneciovém generátoru ($^{99}\text{Mo}/^{99m}\text{Tc}$). Z generátoru je technecium eluováno ve formě $^{99m}\text{TcO}_4^-$ a radiofarmaka jsou připravována v takzvaných kitech. Mezi běžně využívaná radiofarmaka patří komplex ^{99m}Tc -MIBI (Obrázek 1), kde MIBI je methoxy-isobutyl-isonitril, který je využíván pro vyšetření perfuse myokardu, ^{99m}Tc -

MAA (makroagregát albuminu) pro plicní perfusi, nebo ^{99m}Tc -sirný koloid pro zobrazování jater.³



Obrázek 1. Komplex Tc–MIBI

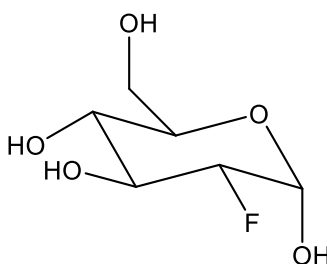
1.3 Pozitronová emisní tomografie

Pozitronová emisní tomografie je moderní metodou nukleární medicíny, jedná se o neinvazivní techniku, která se využívá k zobrazování tkání organismu. V PET se využívají zářiče β^+ , jejichž rozpadem se emituje pozitron (antičástice elektronu). Pozitron po svém vzniku téměř okamžitě anihiluje se svou antičásticí a tím vznikají dva fotony o energii 511 keV, které se od sebe pohybují v úhlu 180° po přímkové trajektorii. Fotony jsou zachytávány scintilačními kamerami umístěnými v kruhu. Fotony dopadající na detektory s definovanou úhlovou ($0,5^\circ$) a časovou odchylkou (3 – 15 ns) tvoří obraz vyšetření³. Nuklidy vykazující β^+ rozpad vhodné pro PET mají poločas rozpadu v řádu desítek minut, proto jsou připravovány nejčastěji cyklotronem v místě, kde probíhá vyšetření, další možností, která zvyšuje přístupnost metody jsou generátory, které mohou sloužit k přípravě kovových radioizotopů, takovým je například germanium-galliový generátor ($^{68}\text{Ge}(\beta^-)^{68}\text{Ga}$, $T_{1/2} = 271$ dní).⁴ Jeden z přenosných generátorů pro přípravu ^{68}Ga je na Obrázku 2.



Obrázek 2. Germanium-galliový generátor⁵

Další žádanou specifikací zářiče pro využití v PET je nízká energie záření, pozitron s vysokou počáteční energií prostupuje skrze tkáň do větší vzdálenosti než pozitron s energií nižší. Pozitron je poté anihilován ve větší vzdálenosti od oblasti, kde je navázané radiofarmakum, čímž se snižuje přesnost vyšetření. Radiofarmakum je nejčastěji podáváno intravenózně případně inhalačně. Nejpoužívanějším radiofarmakem v PET je 2-deoxy-2(¹⁸F)fluor-D-glukóza (¹⁸FDG),⁶ jejíž vzorec je na Obrázku 3. Fluorodeoxyglukóza je připravována nahrazením hydroxylové skupiny atomem fluoru. Poprvé byla tato látka připravena na půdě Přírodovědecké Fakulty UK a roku 1968 byla její syntéza popsána prof. Josefem Pacákem. Fluorodeoxyglukóza je v těle distribuována podobně jako glukóza a je akumulována GLUT přenašeči v buňkách organismu, kde však nepodléhá metabolismu v procesu glykolýzy díky navázanému atomu fluoru. FDG se tedy hromadí v buňkách s velkou spotřebou energie tedy s vyšším počtem GLUT přenašečů (buňky CNS, nádorové buňky).



Obrázek 3. Vzorec Fluorodeoxyglukózy

Mimo tradičně používaných nekovových radionuklidů, jako jsou již zmíněné ^{18}F , nebo ^{11}C , se s rostoucím zájmem o zobrazování PET do popředí výzkumu dostávají kovové β^+ zářiče, jako jsou např. ^{60}Cu , ^{62}Cu , ^{86}Y , ^{68}Ga (tyto a některé další zářiče obsahuje Tabulka 1). Tyto nuklidy jsou nejčastěji připravované v generátorech případně cyklotronem.

Tabulka 1. Vybrané kovové radionuklidy vhodné pro PET vyšetření ²

Izotop	$\tau_{1/2}$ (h)	Metoda přípravy	Rozpad	E_{β^+} (keV)
^{60}Cu	0,4	cyklotron, $^{60}\text{Ni}(p,n)^{60}\text{Cu}$	β^+ (93%) EZ (7%)	3920, 3000, 2000
^{62}Cu	0,16	generátor, $^{62}\text{Zn}/^{62}\text{Cu}$	β^+ (98%) EZ (2%)	2910
^{64}Cu	12,7	cyklotron, $^{64}\text{Ni}(p,n)^{64}\text{Cu}$	β^+ (19%) EZ (41%) β^- (40%)	656
^{66}Ga	9,5	cyklotron, $^{63}\text{Cu}(\alpha,n\gamma)^{66}\text{Ga}$	β^+ (56%) EZ (44%)	4150, 935
^{68}Ga	1,1	generátor, $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$	β^+ (90%) EZ (10%)	1880, 770
^{86}Y	14,7	cyklotron, $^{86}\text{Sr}(p,n)^{86}\text{Y}$	β^+ (33%) EZ (66%)	2335, 2019, 1603, 1248, 1043

1.4 Radioterapie

Vedle diagnostických metod studia tkání má mnoho kovových izotopů využití v radioterapii. Cílem radioterapie je specifická kumulace radiofarmaka v určité tkáni a následné poškození této tkáně. Cílovou tkání je nějaká tělu nepřírozená tkáň, jakou může být například nádor. V radioterapii je důležité, aby byl poměr dávky v cílové tkáni proti zdravé tkáni co nejvyšší. Je tedy vyžadováno, aby se radiofarmakum nekumulovalo

ve zdravé tkáni, jelikož záření by ji mohlo poškodit. Pro terapii jsou využívány odlišné zářiče, než je tomu pro diagnostiku. Jedná se o radioizotopy, jejichž záření nemusí procházet skrze tkáň ven z těla a jejichž nejdůležitější vlastností je poškození tkáně. Využívané jsou nejvíce α a β^- zářiče, nebo méně často zářiče Augerových elektronů. Výběr zářiče záleží na lokalizaci, velikosti a homogenitě tumoru, při výběru zářiče často hraje roli, jaké dávkce je zdravá tkáň vystavena.

Částice záření α mají poměrně velkou hmotnost a kladný náboj, jedná se o proud jader helia (He^{2+}). Z hlediska účinku na organismus lze α záření rozdělit na vnější a vnitřní, vnější záření je pohlceno buňkami epitelu, které se nemohou dělit a je neškodné. Naproti tomu α záření, které interaguje s vnitřními tkáněmi má pro buňky devastující účinky. Záření α předá tkáním ze všech terapeuticky využívaných záření nejvíce energie a v poměru k dávkce je nejúčinnější v ničení buněk. Buňky jsou ničeny velkou lokální ionizací, jelikož je značně omezena jejich schopnost opravit poškození po zasažení radiací. Nevýhodou použití α částic je jejich velmi malý dosah, který je 1–3 buněčných průměrů. Proto je jejich využití vhodné pro malé tumory. Mezi nejvíce studované α zářiče se řadí ^{212}Bi , ^{213}Bi nebo ^{225}Ac .⁷

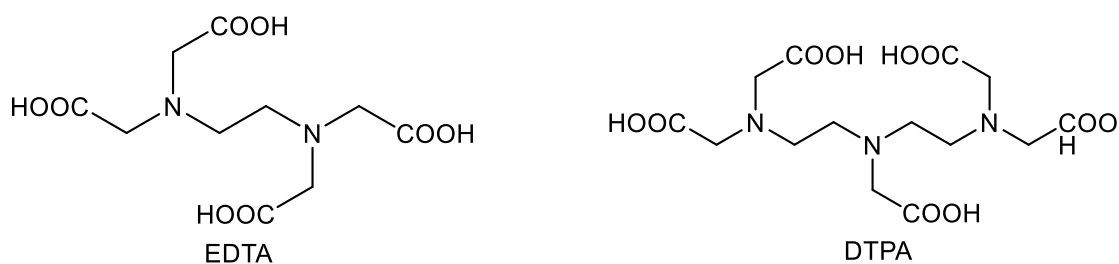
Záření β^- je proud rychle se pohybujících elektronů s vysokou energií, toto částicové záření vzniká rozpadem neutronu v jádře atomu. Záření β^- má obecně větší dosah než α záření, až stovky buněčných průměrů, proto více zasahuje i do zdravé tkáně a není tolik vhodné pro menší tumory. Při ionizaci tkáně nepředává takové množství energie jako je tomu u α záření. Některé zářiče s nízkou energií jsou vhodné i pro malé tumory, což je například zářič ^{177}Lu , ale často jsou β^- zářiče o vyšších energiích využívány jen pro větší tumory, mezi tyto zářiče patří ^{166}Ho , nebo ^{90}Y .⁷

1.5 Makrocyclické ligandy

Radioizotopy kovů využívané v nukleární medicíně jsou do těla vpravovány ve formě iontů. Tyto ionty se však v těle kumulují nespecificky a zároveň mohou mít na organismus řadu nežádoucích účinků. Je proto nutné tyto ionty vázat do komplexu s vhodným ligandem. Specifickou kumulaci farmaka lze zajistit navázáním komplexu na targetující molekulu, která má v těle specifickou afinitu k cílové tkáni, nebo se specificky váže na receptory buněk. Takovými látkami jsou některé peptidy, nebo štěpy protilátek. Spojení mezi komplexem a peptidem je zajištěno přes linker. Díky linkeru nedochází ke sterickému bránění a není omezena aktivita targetující molekuly.

Přírodní peptidy podléhají v těle rychlému rozkladu. Jsou proteázami okamžitě štěpeny na aminokyseliny,⁸ proto se pro značení využívají syntetické peptidy, které jsou připraveny tak, že se dokáží díky své podobnosti s přírodními peptidy specificky vázat na receptorech umístěných v membránách buněk. Jejich ochrana proti proteázám, kterých se v těle nachází více než 600, je zajištěna chemickou modifikací. Modifikace targetujících molekul může mít podobu cyklizace peptidu, výměny některých aminokyselin ze sekvence za jiné syntetické aminokyseliny, nebo chráněním *N*-konce peptidu.⁹

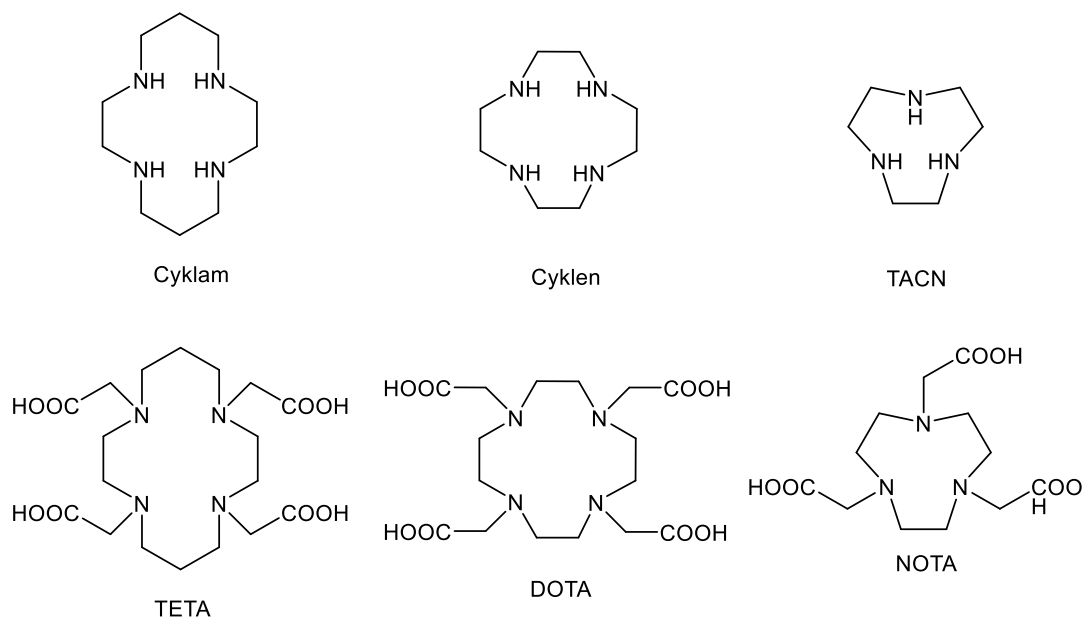
Pro komplexaci medicínsky významných kovů může být využito lineárních bifunkčních ligandů jako jsou EDTA – kyselina ethylendiamintetraoctová, DTPA – kyselina diethylentriaminpentaoctová (Obrázek 4). Tyto ligandy jsou schopné kov často velmi rychle kov zakomplexovat. Jejich zásadní nevýhodou je však malá kinetická inertnost a v *in vivo* podmínkách disociují.¹⁰



Obrázek 4. Lineární chelatující ligandy

Jako vhodnější řešení se ukázalo použití makrocyclických ligandů, jejichž nevýhodou je pomalejší komplexace, v *in vivo* podmínkách jsou ale jejich komplexy výrazně kineticky stabilnější.¹¹ Nejčastěji zkoumanými látkami jsou obecně ligandy řady makrocyclických sloučenin založené na 9, 12 a 14-ti členných kruzích, obsahující 3–4 heteroatomy, nejčastěji se jedná o atomy dusíku.

Zkoumané látky jsou deriváty NOTA (derivát TACN), DOTA (derivát cyklenu) a TETA (derivát cyklamu) (Obrázek 5). Každá z těchto molekul má jinou velikost cyklu a jsou tedy vhodné pro komplexaci jiných iontů kovů. Velikost kavity, ve které je iont zakomplexován lze dále optimalizovat pomocí odlišných pendantních ramen a vytvořit velice selektivní ligand pro daný iont kovu.



Obrázek 5. Běžně používané makrocykly a jejich karboxylátové deriváty

Pro malé ionty kovů jako jsou gallité, železité apod. jsou vhodné ligandy odvozené od makrocyklu TACN,¹² který jim odpovídá svou velikostí. Komplexy se samotným makrocyklem, bez navázaných vhodných donorových skupin nejsou dostatečně stabilní, proto je nutné na makrocyklus navázat vhodné substituenty. Ty zároveň napomáhají k rychlejší komplexaci kovu, což je výhodné v nukleární medicíně, kde se využívají radioizotopy mající často krátký poločas rozpadu (Tabulka 1). Jejich praktické využití v medicíně je tedy velmi limitováno rychlostí a podmínkami vzniku termodynamicky stabilního a kineticky inertního komplexu.

Předpokládaný mechanismus tvorby komplexu probíhá ve dvou krocích, prvním krokem je vznik tzv. out-of-cage komplexu, kdy jsou koordinované kyslíkové atomy pendantních ramen a dusíkové atomy makrocyklu jsou protonované. Tento typ komplexu není velmi stabilní a rychle se rozpadá, ale pomáhá stabilizovat kation kovu a přiblížit ho k donorovým atomům makrocyklu. Tím se usnadňuje vznik in-cage komplexu, ve kterém jsou atomy dusíku makrocyklu koordinovány, tento typ komplexu je stabilní. Například

při koordinaci gallia je díky vzniku out-of-cage komplexu navíc zabráněno tvorbě nerozpustného hydroxidu gallitého, což usnadňuje celkový průběh komplexace makrocylem.

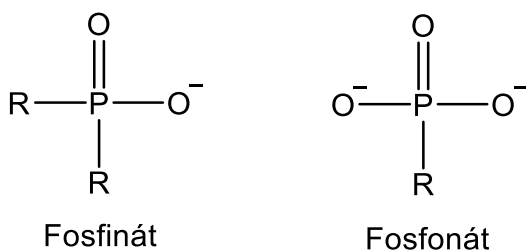
Nejvíce zkoumanými pendantními rameny na ligandu TACN byla acetátová ramena. Ligandy obsahující tato ramena tvoří stabilní komplexy s galliem i mědí (NOTA $\log K_{\text{GaL}} = 31,0$; $\log K_{\text{CuL}} = 21,6$)^{13,2}. Pro komplexaci mědi v tuto chvíli existují vhodnější ligandy odvozené například od makrocyclů TETA a DOTA.^{14,15} Využitím fosforových pendantních ramen namísto acetátových může dojít k přípravě ligandů s vhodnými vlastnostmi pro komplexaci obou těchto iontů kovů.

V nedávné době bylo připraveno mnoho nových bifunkčních chelatujících molekul, jejichž vlastnosti jsou zkoumány. Mezi tyto látky patří další analoga makrocyclu TACN obsahující zbytky kyselin fosfonové a fosfinové. Tyto a další deriváty mohou nalézt své využití jako nosiče právě malých iontů kovů jako jsou ⁶⁸Ga a ⁶⁴Cu v PET.¹⁶

Tato práce se zabývá syntézou a chemickými vlastnostmi derivátů TACN obsahujících fosforová ramena – jejich acidobazickými a koordinačními vlastnostmi a také strukturami komplexů těchto ligandů.

1.6 Fosforová pendantní ramena ligandů

Jako pendantní ramena ligandů jsou využívány organické sloučeniny fosforu, které mohou svými vlastnostmi pozitivně ovlivňovat tvorbu komplexů, nebo některé skupiny obsahující fosfor mohou mít afinitu k některé tělní tkáni. Mezi běžně používané organofosforové sloučeniny patří fosfináty a fosfonáty (Obrázek 6).

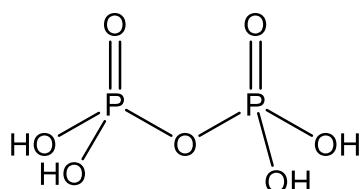


Obrázek 6. Vybrané organofosforové sloučeniny

Fosfonové kyseliny jsou formálními deriváty kyseliny fosforité. Atom vodíku kyseliny navázaný přímo na atom fosforu je nahrazen alkylem, či arylem. Mají obecný vzorec $\text{R}-\text{PO}(\text{OH})_2$, jedná se tedy o dvojsytné kyseliny. Odštěpením atomů vodíku

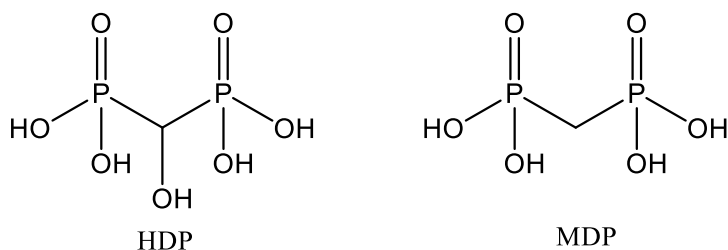
na atomech kyslíku vznikají jejich soli: hydrogenfosfonáty a fosfonáty.¹⁷ Obecnou vlastností fosfonátů je jejich afinita k hydroxyapatitu,¹⁸ který se nachází v kostní tkáni, proto jsou vhodné pro její vyšetření. Tato vlastnost je zároveň jejich nevýhodou a omezením ve využití, jelikož při vyšetření měkkých tkání je zvýšené pozadí snímků způsobené právě akumulací v kostní tkáni.

Molekuly obsahující dvě fosfonátové skupiny se nazývají bis(fosfonáty). Bis(fosfonáty) můžeme dále rozdělit na geminální bis(fosfonáty), kde jsou atomy fosforu navázány na jeden atom uhlíku, a na bis(fosfonáty), kde jsou atomy fosforu navázané na různé atomy uhlíku. Geminální bis(fosfonáty) obsahují fragment P–C–P, který je velmi chemicky stabilní a tepelně odolný, zároveň nepodléhá enzymatickému štěpení. Pokud atom uhlíku formálně nahradíme atomem kyslíku, získáme pyrofosfát, od nějž jsou odvozeny (Obrázek 7).¹⁹



Obrázek 7. Pyrofosfát (kyselina difosforečná)

Geminální bis(fosfonáty) jsou schopné tvořit šestičlenné chelátové kruhy a mají k hydroxyapatitu výrazně vyšší afinitu, než jednoduché fosfonáty.²⁰ Díky tomu jsou využívány již od poloviny minulého století k scintigrafii kostní tkáně. Dodnes používaným izotopem je ^{99m}Tc, který je nejčastěji vázán na methylen-bis(fosfonát) (MDP), nebo oxidronát (HDP) – Obrázek 8.²¹

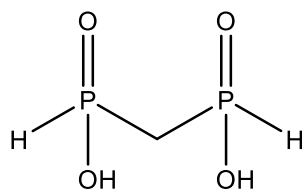


Obrázek 8. Geminální bis(fosfonáty) využívané ve scintigrafii

Pro PET scintigrafii kostí mohou být využity fosfonáty jako pendantní ramena makrocyklů. Tato pendantní ramena umožňují díky hodnotě pK_A komplexaci kovů v kyselém prostředí a zvyšují rychlost komplexace zvýšením stability out-of-cage komplexu. Komplexy tvořené tvořené ligandy odvozenými od makrocyklu TACN obsahující jedno, či dvě fosfonátová ramena nemají vysokou afinitu k hydroxyapatitu. Vyšší afinitu můžeme vidět u ligandů obsahujících 3 fosfonátové skupiny.²² Při měření aktivity komplexů ^{68}Ga s ligandy obsahující bis(fosfonátové) pendanty se ukázalo, že tyto látky se adsorbují na hydroxyapatit výrazně účinněji než komplexy obsahující fosfonáty jednoduché.²³

Z hlediska výzkumu jsou dnes významnějšími fosfinové kyseliny, které mají obecný vzorec $\text{R-PO}_2\text{H-R}'$, kde R' může být atom vodíku, alkyl, či aryl. Fosfinové kyseliny jsou organické látky odvozené od kyseliny fosforené, v níž jsou jeden, nebo dva atomy vodíku nahrazeny alkylovým, či arylovým zbytkem. Jedná se o jednosytné kyseliny a nahrazením kyselého vodíku tvoří jednu řadu solí nazývanou fosfináty.¹⁷ Výhodou oproti fosfonátům je nižší afinita ligandů obsahujících fosfináty jako pendantní ramena ke kostní tkáni při zachování podobných koordinačních vlastností. Tím tyto ligandy získávají univerzálnější využití v rámci nukleární medicíny. Další výhodou fosfinátů je možnost měnit substituenty na atomu fosforu. Fosfináty zároveň zvyšují selektivitu ligandu pro menší ionty kovů.²⁴ Ligandy, které obsahují fosfináty jsou schopné komplexovat kovy při nižším pH, než jejich acetátová analoga.²⁵

V nedávných letech byla navržena nová pendantní ramena makrocyklů, která by měla zvýšit rychlost komplexace, těmito látkami jsou geminální bis(fosfináty), mezi něž patří například kyselina methylenbis(fosfinová) – Obrázek 9. Bis(fosfináty) jsou organofosforové sloučeniny obsahující již zmíněnou vazbu P–C–P a jsou tedy obdobou bis(fosfonátů).²⁶



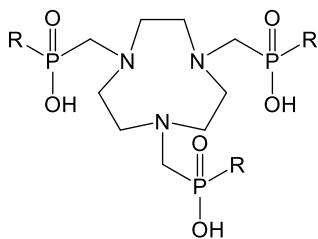
Obrázek 9. Kyselina methylenbis(fosfinová)

1.7 Ligandy zmiňované v této práci

Ligandy (Obrázek 10), které budou v této práci diskutovány, lze rozdělit do dvou hlavních skupin. První kategorií jsou ligandy obsahující jako pendantní ramena

methylenfosfonové a methylenfosfinové skupiny, které se přímo účastní komplexace kovu. Tyto skupiny jsou na makrocyklus vázány kvůli svým acidobazickým vlastnostem, pomáhají urychlit komplexaci a zároveň zvyšují stabilitu komplexu. Tato ramena obsahují například trisfosforové ligandy skupiny TRAP, ligand NOTP a dále ligandy kombinující acetátová a fosforová ramena, jako je například NOPA.

Druhou kategorií jsou ligandy obsahující pendanty se vzdálenou fosforovou skupinou, tyto skupiny se již přímo neúčastní koordinace na iont kovu, ale jsou na ligand vázány z důvodu jiné specifické funkce. Touto funkcí je nejčastěji afinita k některé tkáni. Již bylo zmíněno, že fosfonáty, a především geminální bis(fosfonáty) mají afinitu k hydroxyapatitu, který je hlavní anorganickou součástí kostní tkáně.²⁷ Z tohoto důvodu jsou zkoumány ligandy, které obsahují vzdálená bis(fosfonátová) ramena. Mezi tyto ligandy patří NOTAM^{BP} a NO2AP^{BP}.



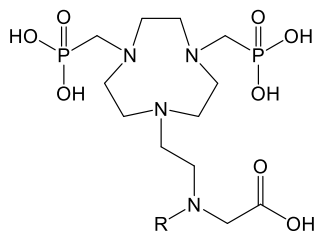
NOTP: R = OH

TRAP-H: R = H

TRAP-Ph: R = Ph

TRAP-OH: R = CH₂OH

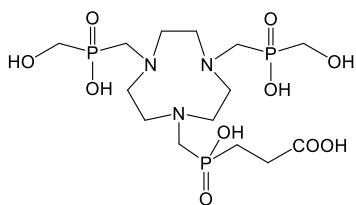
TRAP-Pr: R = CH₂CH₂COOH



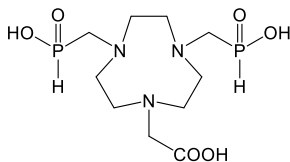
NE2P2A: R = CH₂COOH

p-NO₂-PhPr-NE2P1A: R = *p*-NO₂-Ph-(CH₂)₃

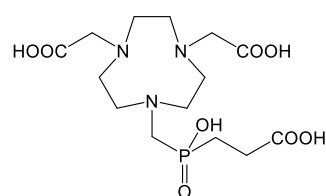
p-SCN-PhPr-NE2P1A: R = *p*-SCN-Ph-(CH₂)₃



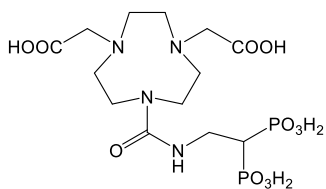
NOPO



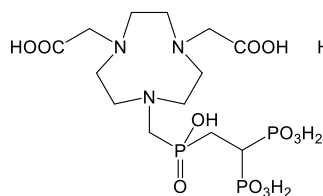
NOPA



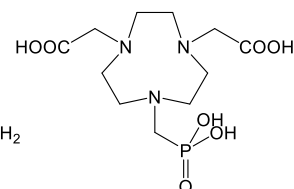
NO2AP-Pr



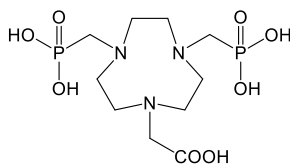
NOTAM^{BP}



NO2AP^{BP}



NO2AP



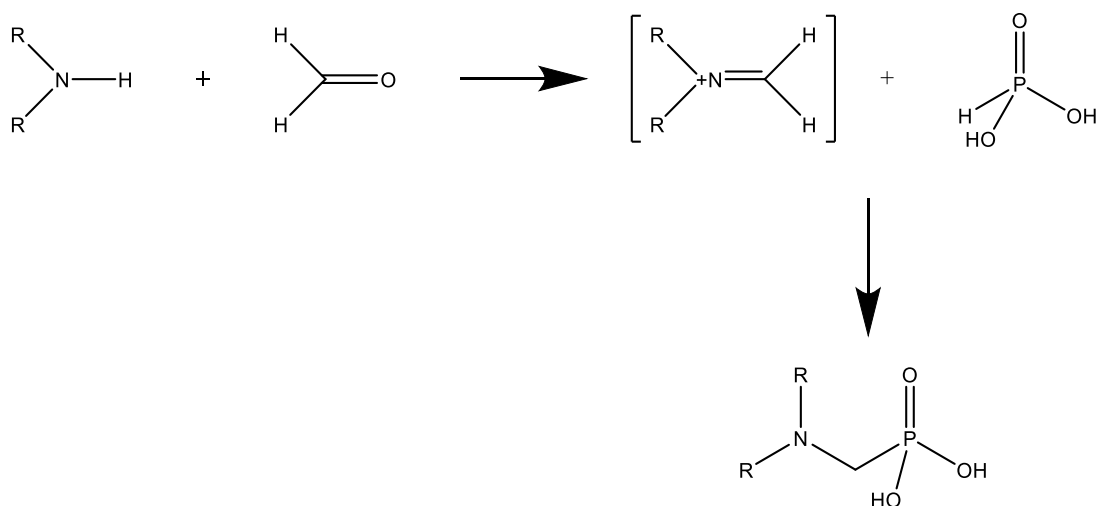
NOA2P

Obrázek 10. Vzorce ligandů zmíněných v této práci

2 Syntéza fosfonátových a fosfinátových derivátů makrocyclu TACN

Příprava derivátů makrocyclů probíhá kondenzačními reakcemi, nejčastěji reakcí Mannichova typu (Obrázek 11). Pokud se reakce účastní nějaká z kyselin fosforu pak se jedná o Moedritzerovu-Iraniho reakci (fosfo-Mannichova reakce). V prvním kroku reakce dochází k nukleofilní adici primárního, nebo sekundárního aminu na karbonylový uhlík aldehydu, za současného odstoupení molekuly vody, tím vzniká meziprodukt nazývaný Schiffova báze. Tento meziprodukt je elektrofilní, obsahuje skupinu $R_2C = NR'$ ($R' \neq H$). V druhém kroku probíhá elektrofilní adice látky obsahující kyselý proton. V syntézách se objevuje jako sekundární amin TACN, který je komerčně dostupný, nebo jeho deriváty. Karbonylový uhlík pochází téměř výhradně z paraformaldehydu a látkou s kyselým atomem vodíku je některá z kyselin fosforu.

Při reakci může docházet k různým vedlejším reakcím, častou vedlejší reakcí je redukční methylace jednoho z atomů dusíku. Vzniklé *N*-methylované deriváty je často složité z reakční směsi čištěním odstranit. Vznik *N*-methylovaných vedlejších produktů lze omezit změnou reakčních podmínek, např. snížením teploty reakce, zvýšením koncentrací výchozích látek a nalezením pH optima.



Obrázek 11. Průběh Mannichovy reakce

Prvním příkladem přípravy ligandů pomocí Moedritzerovy-Iraniho reakce je syntéza trisfosforových derivátů TACN. Ta probíhá v jednom kroku a jsou připojena všechna tři pendantní ramena najednou. Tento typ syntézy je typický pro přípravu ligandů

skupiny TRAP, například pro TRAP-Ph, nebo TRAP-H (Schéma 1). U prvního ligandu je výchozí látkou kyselina fenylofosfinová, která vyžaduje kyslejší podmínky, tudíž reakčním prostředím je 6M HCl a zároveň je reakční teplota 90 °C. Dle ^{31}P NMR je výtěžek po dokončení syntézy 70 %. Výtěžek je však snížen při čištění směsi chromatografií na iontoměniči a dále na silikagelu. Naopak u ligandu TRAP-H je výchozí látkou reaktivnější H_3PO_2 , která je zároveň použita pro syntézu jako jediná látka okyselující prostředí. Reakce probíhá při teplotě 20 °C. Dalším snižováním reakční teploty se již nesnižoval podíl vedlejších produktů. Reakce má dle ^{31}P NMR 90% výtěžek a v reakční směsi vzniká mnohem menší množství *N*-metylovaných vedlejších produktů (**1**), než je tomu při přípravě TRAP-Ph. Čištění této látky na iontoměniči však není velmi efektivní, a konečný výtěžek tak dosahuje jen 33 %.²⁸ Stejná syntetická strategie je použita i pro další deriváty patřící mezi ligandy TRAP, jako je TRAP-Pr.²⁵

Fosfinátová ramena mohou teoreticky procházet různými modifikacemi. Prozatím jedinou používanou modifikací je substituce atomu vodíku skupinou $-\text{CH}_2\text{OH}$. Příkladem této modifikace je příprava ligandu TRAP-OH, která vychází z přípravy TRAP-H. Do nečištěné reakční směsi s připraveným ligandem TRAP-H je přidán přebytek paraformaldehydu a po proběhlé *P*-hydroxymethylaci a čištění od vedlejších *N*-metylovaných produktů (**2**) na kationtovém iontoměniči lze získat 70% výtěžek.²⁸

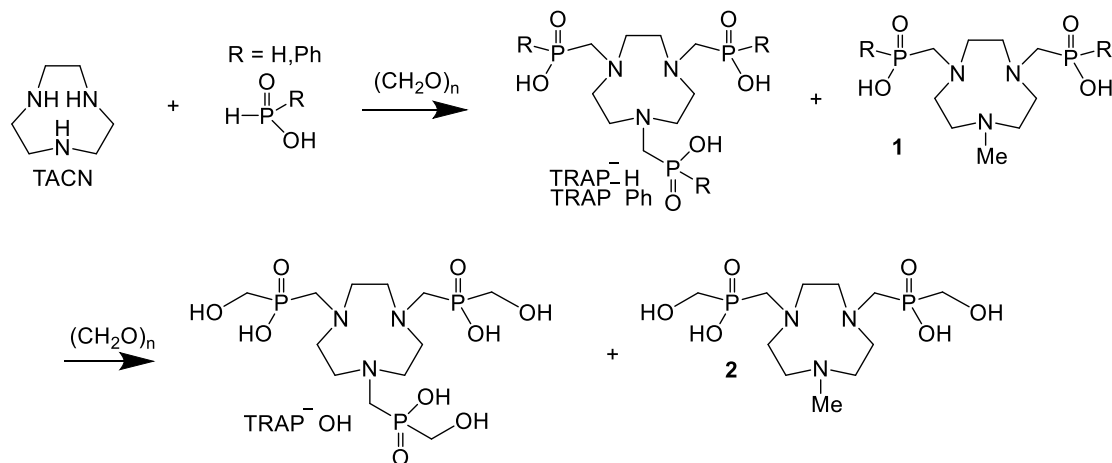


Schéma 1. Syntéza ligandů skupiny TRAP

Syntéza ligandů s různými pendantními rameny je ztížená oproti ligandům skupiny TRAP, kde jsou všechny 3 substituenty totožné. V těchto případech nelze všechna ramena připojit jednokrokově. Syntézu je nutné rozdělit na více kroků a ramena makrocyklu připojovat postupně. Při pokusu o navázání jednoho, či dvou ramen

na makrocyklus probíhá ve většině případů reakce nestechiometricky a vzniká směs několika produktů. Při těchto reakcích je z toho důvodu nutné využívat chránících skupin. Jednou z nejvíce používaných chránících skupin je benzyl.

Právě benzyl je jako chránící skupina využíván například při syntéze ligandu NOPO (Schéma 2), kdy je nejdříve připraven benzylovaný derivát makrocyklu TACN **3**. Poté jsou mechanismem Mannichovy reakce připojena dvě ramena methylen(hydroxymethyl)fosfinátu, čímž je připraven meziprodukt **5** a vzniká vedlejší produkt **6**. Směs je dále čištěna od *N*-metylovaného vedlejšího produktu na kationtovém iontoměniči. Poté je redukcí odstraněn chránící benzyl za vzniku derivátu s dvěma methylen(hydroxymethyl)fosfinátovými rameny **7**. V posledním kroku je připojeno rameno methylen(2-karboxyethyl)fosfinátu, tím je připraven konečný produkt NOPO. Výsledný ligand je čištěn na kationtovém iontoměniči a jeho výtěžek vůči látce **3** je 45 %.²⁹

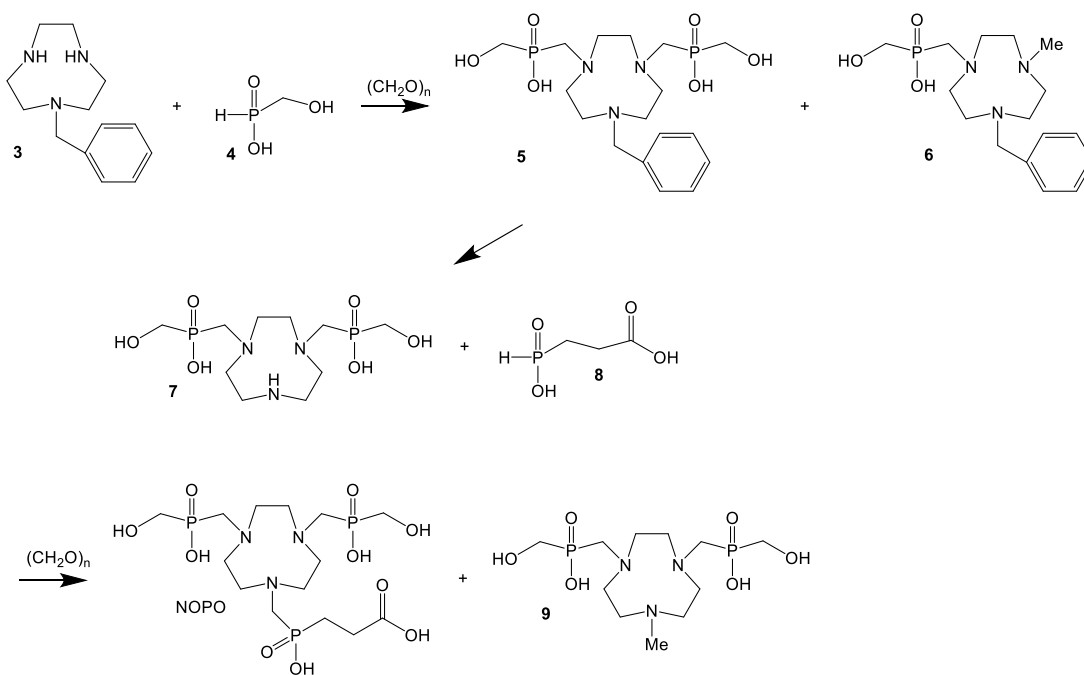


Schéma 2. Syntéza ligandu NOPO

Další možností syntézy fosforových derivátů makrocyklu TACN je připojení vzdálených fosforových skupin. Ramena s těmito vzdálenými fosforovými skupinami lze připojit dvěma různými způsoby. Pokud obsahují fosfinátovou skupinu, tím i atom vodíku přímo navázaný na atom fosforu, pak lze k navázání těchto pendantních ramen využít Moedritzerovy-Iraniho reakce. Pokud však neobsahují tuto skupinu, je nutné je připojit

k makrocyklu jiným mechanismem, a to nejčastěji nukleofilní substitucí. Tímto mechanismem lze připravit ligand úplně bez využití fosfo-Manichovy reakce. Příkladem tohoto postupu je příprava NOTAM^{BP}.

Všechny reakce během syntézy ligandu NOTAM^{BP} probíhají mechanismem nukleofilní substituce na atomech dusíku, ať už se jedná o připojení acetátových ramen, nebo ramena se vzdálenými atomy fosforu. Nukleofilní substituce a Moedritzerovy-Iraniho reakce lze při připojování pendantních ramen v různých krocích syntéz kombinovat, čímž vzniká větší variabilita v tvoření nových ligandů. Příkladem kombinace těchto dvou mechanismů je příprava ligandu NO2AP^{BP}, kde je nejdříve využita nukleofilní substituce pro připojení acetátových ramen a v dalším kroku fosfo-Manichova reakce pro připojení třetího ramene obsahující fosfinátovou skupinu s bis(fosfonátovým) zbytkem.

Během syntézy ligandu NOTAM^{BP} je využito více chránících skupin (Schéma 3). Nejdříve je připraven benzylem chráněný derivát makrocyklu TACN **3**. Další krok, na rozdíl od předchozích syntéz probíhá v bezvodém prostředí a jako rozpouštědlo je použit acetonitril. Na zbývající dva atomy dusíku připojeny nukleofilní substitucí *t*-butylestery kyseliny octové za vzniku meziproductu **10**, kde *t*-butyl také funguje jako chránící skupina. V dalším kroku je odstraněn benzyl, na volný atom dusíku je připojena skupina $-\text{CH}_2\text{C}(\text{O})\text{NH}-\text{CH}(\text{PO}_3\text{Et}_2)_2$ a tím vzniká ligand v esterové formě (**12**). Poté je produkt oddělen chromatografií na silikagelu a po odstranění chránících skupin je rekrystalizován s výtěžkem 80 %.²³

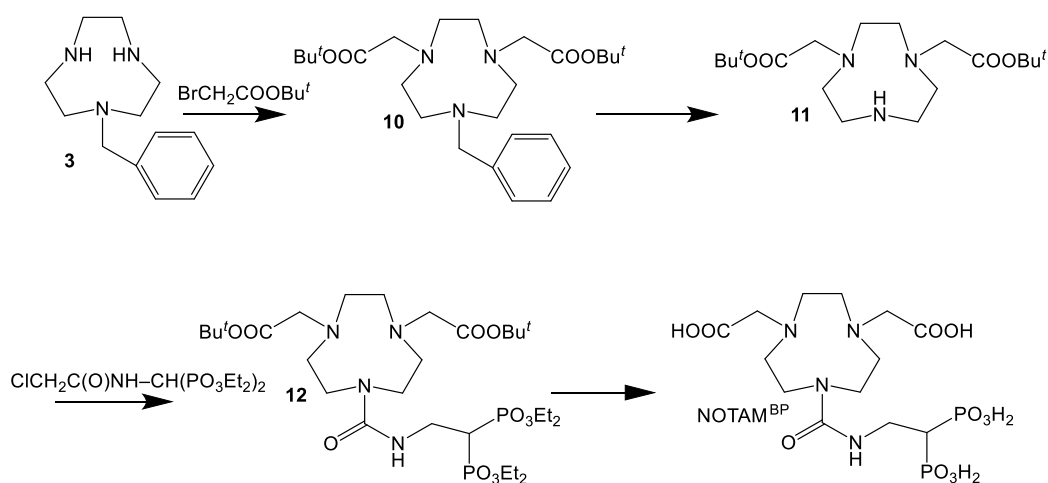
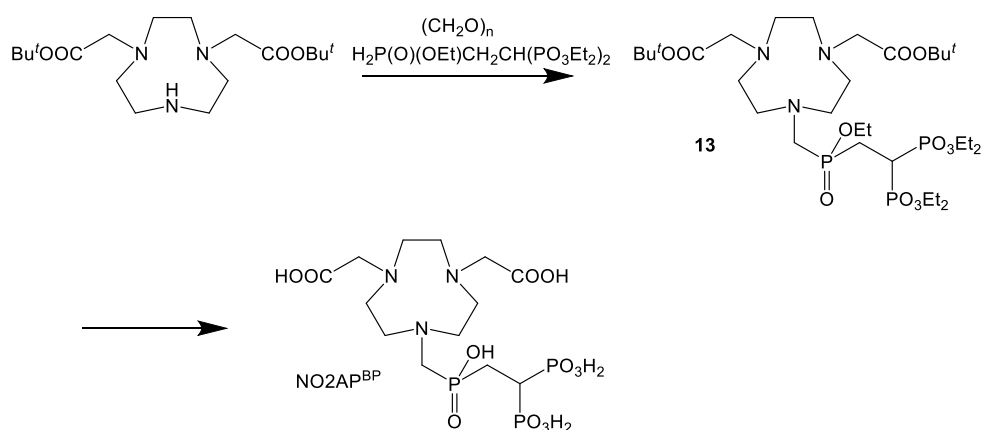


Schéma 3. Příprava ligandu NOTAM^{BP}

Při přípravě NO2AP^{BP} (Schéma 4) probíhá první část syntézy identicky s přípravou NOTAM^{BP}, kdy jsou mechanismem nukleofilní substituce připojena acetátová ramena chráněná *t*-butylem. V následujícím kroku je fosfo-Mannichovou reakcí v acetonitrilu připojena skupina $-\text{CH}_2\text{P}(\text{O})(\text{OEt})\text{CH}_2\text{CH}(\text{PO}_3\text{Et}_2)_2$, za vzniku meziproductu s esterovými skupinami (**13**), dále je ligand čištěn chromatografií na silikagelu. V posledním kroku jsou odstraněny chránící skupiny a produkt je poté rekrystalizován s výtěžkem 40 %.²³ Podobné syntetické strategie je využito také v případě syntézy NO2AP a NO2AP-Pr, kde je meziproductem taktéž ligand **11**.^{22,30}



Další možností syntézy je převedení makrocycly na aminal a opět využití nukleofilní substituce. Toto je příklad syntézy ligandu NOPA (Schéma 5.), kdy je TACN reakcí s $(\text{MeO})_2\text{CHNMe}_2$ převeden na aminal **14**, který je *in situ* monoalkylován *t*-BuO₂CCH₂Br, (*t*-butyl slouží k chránění karboxylu) a krystalizuje jako tetraalkylamoniová sůl **15**. Poté je sůl hydrolyzována pomocí NaOH. Tím je připraven makrocyclyk s jedním acetátovým ramenem **16**, na nějž jsou Moedritzerovou-Iraniho reakcí připojena fosfinátová ramena. Dále je vzniklý ligand NOPA je čištěn od methylovaných vedlejších produktů a výtěžek činil 56 % oproti výchozímu makrocyclyk.³⁰

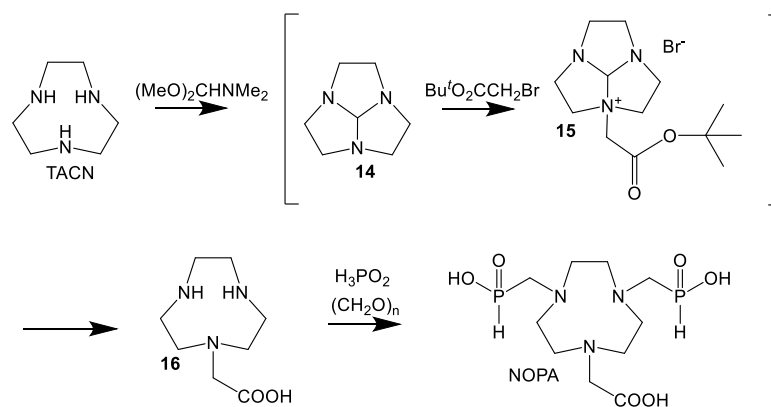


Schéma 5. Syntéza ligandu NOPA

V další metodě přípravy je možné využít v prvním kroku přípravy ligandu *t*-butyloxykarbonylovou chránící skupinu (Boc), a poté Moedritzerovou-Iraniho reakcí připojit fosforová pendantní ramena na zbylé atomy dusíku makrocyklu. Tohoto způsobu přípravy je využito při přípravě ligandu NE2P2A (Schéma 6), kdy je na makrocyklus TACN připojena pomocí nukleofilní substituce chránící skupina Boc za vzniku monosubstituovaného makrocyklu **17**, meziprodukt je poté čištěn extrakcí. V dalším kroku jsou nukleofilní substitucí připojena 2 fosfonátová ramena v podobě ethylesterů a vzniká trisubstituovaný ligand **18**. Dále je odstraněna skupina Boc pomocí kyseliny trifluoroctové v dichlormethanu za vzniku meziproduktu **19**. Na tuto látku je nukleofilní substitucí připojeno třetí pendantní rameno makrocyklu za vzniku derivátu NE2P2A s chránícími skupinami **20**. Tento meziprodukt je čištěn na sloupcové chromatografii. Posledním krokem syntézy je odstranění chránících skupin, čímž vzniká výsledný ligand NE2P2A. Výtěžek reakce vůči látce **19** je 35 %.³¹ Stejnou syntetickou strategií je možné využít pro podobné ligandy jako jsou *p*-NO₂-PhPr-NE2P1A a *p*-SCN-PhPr-NE2P1A.³² Podobným způsobem je také připravován ligand NOA2P, kde je jako chránící skupina využito adamantylester kyseliny octové.²²

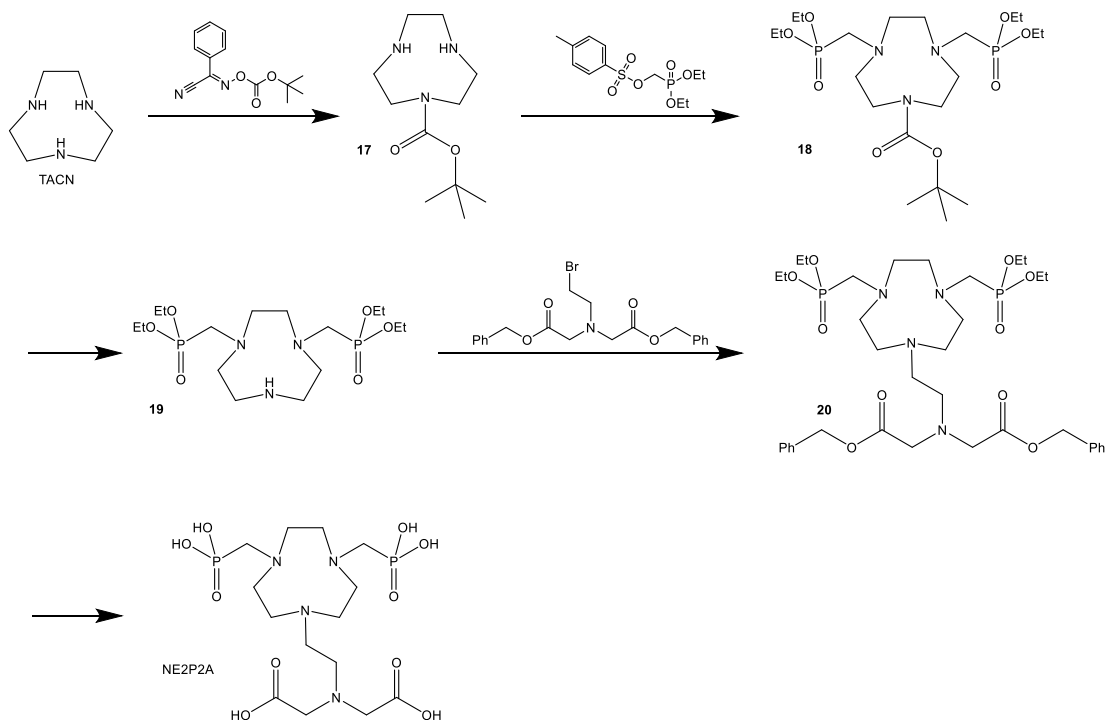


Schéma 6. Syntéza ligandu NE2P2A

3 Acidobazické a koordinační vlastnosti fosforových derivátů makrocyklu TACN

Pro využití komplexů v klinické praxi je nutné, aby kov byl distribuován specificky. Proto nesmí docházet k uvolňování kovu z komplexu. Jelikož volné ionty se kumulují nespecificky, nebo se mohou kumulovat ve tkáni, která není pro vyšetření cílová, musí být komplex dostatečně termodynamicky stabilní a kineticky inertní. Pro zjištění termodynamické stability komplexu musíme znát acidobazické vlastnosti ligandu. Protonizační konstanty ligandu (jeho acidobazické vlastnosti) můžeme stanovit pomocí mnoha metod jako jsou spektrofotometrie, potenciometrie, nebo NMR titrace. Ke zjištění konstant stability komplexu lze využít taktéž potenciometrické titrace.

Kinetická inertnost je vyhodnocena z faktorů, které ovlivňují disociaci komplexu. Je zkoumána kompetice iontu kovu s jinou částicí, která může být na ligand navázána. Častou možností je kyselá dekomplexace, která je zkoumána vystavením komplexu prostředí o nízkém pH. Další možností je transmetalace, což je nahrazení zkoumaného iontu, iontem kovu jiného. Tento jev lze zkoumat uvolněním radioizotopu kovu z komplexu při vystavení nadbytku iontů, které se v těle běžně vyskytují, těmi jsou například Fe^{3+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Ca^{2+} a další.³³ Poslední běžnou možností uvolnění kovu

z komplexu je transchelatace. Při tomto jevu je radioizotop vyvázán z komplexu působením ligandu, který se nachází v krevním séru. (transferin, metallothioneiny a další).³⁴

Termodynamická stabilita je vyjádřena pomocí konstanty stability komplexu. Tu můžeme zjistit z rovnovážné rovnice v roztoku obsahujícím ionty M^{i+} (iont kovu), H^+ (proton) a L^{j-} (ligand), která může být zapsána rovnicí (1). Celková konstanta stability značená K_{ML} je vyjádřena poměrem koncentrací částic komplexu vůči koncentracím iontů v roztoku.



$$K_{ML} = \frac{[ML]}{[M^{i+}][L^{j-}]} \quad (2)$$

3.1 Acidobazické vlastnosti derivátů TACN

K první protonizaci na volném makrocycly TACN dochází v alkalickém prostředí, ($\log K_{H1} = 10,44$), druhá protonizace se nachází v neutrálním prostředí ($\log K_{H2} = 6,81$), třetí konstanta nebyla stanovena z toho důvodu, že se nachází v příliš kyselém prostředí.³⁵ V případě ligandu NOTA je první protonizační konstanta $\log K_{H1} = 13,17$. Druhá protonizační konstanta má hodnotu $\log K_{H2} = 5,74$. Obě tyto konstanty náleží atomům dusíku makrocycly a tyto konstanty jsou vyšší, než tomu je u mateřského makrocycly. Bazicita dusíků ligandu obsahující acetátová ramena je zvýšena záporným nábojem na jeho pendantních ramenech. Další dvě změřené protonizační konstanty už náleží acetátovým ramenům ($\log K_{H3} = 3,22$ a $\log K_{H4} = 1,96$).³⁶

3.2 Protonizační konstanty fosfonátových a fosfinátových analogů glycinu

Pro ilustraci acidobazických vlastností látek užívaných jako pendantní ramena lze využít jednoduché ligandy jako je glycin a jeho fosforové analogy. Protonizační konstanty kyseliny aminomethylfosfonové $NH_2CH_2PO(OH)_2$, aminomethylfosfinové a jejich derivátů $NH_2CH_2PO_2H-R$ ($R = H, Ph, Me$) jsou uvedeny v Tabulce 2. Z porovnání je vidět, že nejvyšší bazicitu mají aminofosfonové kyseliny, poté aminokarboxylové kyseliny a nejnižší bazicitu mají aminofosfinové kyseliny. Vyšší zásaditost dusíkového atomu aminofosfonátů lze vysvětlit přítomností vyššího záporného náboje atomů kyslíku, který převládá nad odtahováním elektronů fosfonátovou skupinou, čímž dochází ke zvýšení elektronové hustoty na atomu dusíku. Aminofosfináty mají nižší záporný

náboj a převládá u nich spíše odtahování elektronů fosfinátovou skupinou, čímž se snižuje elektronová hustota na atomu dusíku. U aminofosfinátů bazicitu ovlivňuje substituent na atomu fosforu. Nejnižší bazicitu má aminofosfinát s atomem vodíku na atomu fosforu a bazicita dále roste v pořadí –H, –Ph, –Me a –*t*-butyl.^{37,38}

Tabulka 2. Hodnoty protonizačních konstant analogů glycinu^{39,40}

Konstanta	Gly	GlyP	GlyP–H	GlyP–Ph	GlyP– Me	GlyP– <i>t</i> -butyl
$\log K_{H1}$	9,57	10,00	8,07	8,08	8,40	8,43
$\log K_{H2}$	2,36	5,38	0,5	0,4	0,89	1,20
$\log K_{H3}$	–	0,5	–	–	–	–

3.3 Acidobazické vlastnosti TRAP-H

Fosfinátové deriváty TACN obecně mají nižší první protonizační konstantu, než je tomu u jejich acetátového analogu NOTA a fosfonového analogu NOTP ($\log K_{H1} = 12,1$).²⁸ Protonizační konstanta se u různých ligandů s fosfinátovými rameny liší podle substituentu na atomu fosforu a podle toho, jak substituent dokáže odčerpávat elektrony. Nejvíce odčerpávajícím substituentem v této řadě ligandů je atom vodíku a díky tomu má ligand TRAP-H nejnižší první protonizační konstantu ($\log K_{H1} = 10,48$).²⁸ Druhá protonizační konstanta náleží dalšímu atomu dusíku makrocyclu a má hodnotu $\log K_{H2} = 3,28$. K třetí protonizaci dochází na methylenfosfinátovém rameni a hodnota třetí protonizační konstanty je $\log K_{H3} = 1,11$. Další tři protonizační konstanty, které ligand má se nacházejí v silně kyselém prostředí a není možné je stanovit. Tento fakt koresponduje s tím, že fosfináty jsou kyselejší než acetáty ligandu NOTA, u kterého lze naměřit i čtvrtou protonizační konstantu. Z tohoto měření vyplývá, že některá fosfinátová ramena ligandu TRAP-H jsou volná a připravená ke komplexaci kovů i při $\text{pH} < 1$. Ligand je proto vhodný ke komplexaci iontů, které musejí být komplexovány v silně kyselém prostředí.

3.4 Koordinační vlastnosti TRAP-H

Potenciometricky byly stanoveny konstanty stability ligandu TRAP-H s Ga^{3+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Mg^{2+} , Ca^{2+} a dalšími ionty kovů. Jelikož hlavním využitím tohoto ligandu by mohla být selektivní komplexace gallitých iontů, je nutné také stanovit konstanty stability komplexů s kovy nacházejícími se v organismu a stanovit tak selektivitu komplexace gallia oproti těmto iontům. Tvorba in-cage komplexu gallia byla natolik pomalá, že nebylo možné využít klasické potenciometrické titrace, proto byla využita metoda out-

of-cell titrace.* U TRAP-H je i na začátku titrace při pH 1,5 gallium plně zakomplexováno. Je tedy nutné stanovit konstanty stability v alkalickém prostředí, kde makrocyclický ligand soupeří s tvorbou $[\text{Ga}(\text{OH})_4]^-$. Se zvyšujícím se pH roste koncentrace částice $[\text{Ga}(\text{L})(\text{OH})]^-$. K tvorbě hydroxidu dochází v mírně alkalickém prostředí a od pH = 9 v roztocích je jedinou částicí v roztoku, to je při nižším pH než u NOTA. Stanovená konstanta stability TRAP-H je $\log K_{\text{GaL}} = 21,91$ oproti ligandu NOTA $\log K_{\text{GaL}} = 29,63$.

Všechny ligandy odvozené od makrocycly TACN jsou selektivní pro malé ionty kovů. Tato vlastnost je ještě více podpořena u ligandů obsahujících fosfinátová pendentní ramena. Rozdíl konstant stability komplexu gallia a mědi je pro TRAP-H $\log K_{\text{GaL}} - \log K_{\text{CuL}} = 8,5$, přičemž měď má za galliem druhou nejvyšší konstantu stability, ze zkoumaných iontů. TRAP-H váže gallium oproti ostatním studovaným iontům o 1–3 řády selektivněji v porovnání s ligandem NOTA. Konstanty stability pro jednotlivé ionty jsou v Tabulce 2. Potvrzení větší afinity ligandu k malým iontům je vyšší konstanta stability u Mg^{2+} oproti Ca^{2+} , který má větší průměr. Stabilita komplexu s Cu^{2+} je snížena, protože jeden z dusíků makrocycly musí být vázán v axiální poloze, a proto je hodnota konstanty stability komplexů s ionty Cu^{2+} a Zn^{2+} velmi podobná.²⁸

Tabulka 2. Hodnoty $\log K_{\text{ML}}$ pro TRAP-H a NOTA²⁸

Iont kovu	TRAP-H	NOTA
Ga^{3+}	21,91	29,63
Mg^{2+}	5,32	10,97
Ca^{2+}	4,29	10,32
Cu^{2+}	13,43	21,99
Zn^{2+}	13,04	21,58

*Out-of-cell titrace je metoda, při které je pro každý bod titrace připraven do vialky roztok komplexu přidáním ekvimolárního množství kovu a ligandu. Je nastavena iontová síla roztoku například přidáním $(\text{Me}_4\text{N})\text{Cl}$. Poté je přidáno požadované množství báze. Dále jsou roztoky temperovány při konstantní teplotě. Poté je kontrolována v určených časových intervalech hodnota pH, dokud nedosáhne konstantní hodnoty.^{45,46}

3.5 Acidobazické vlastnosti NOPA

NOPA je ligand, který kombinuje methylen(fosfinátová) a acetátová ramena. Proto je očekávatelné, že acidobazické vlastnosti tohoto ligandu budou odpovídat hodnotám, které jsou vymezeny ligandy NOTA a TRAP-H. Toto očekávání bylo také potvrzeno pomocí potenciometrických titrací.³⁰ První protonizační konstanta se opět vyskytuje v bazickém prostředí a odpovídá protonizaci atomu dusíku makrocyklu, na kterém je navázána acetátová skupina ($\log K_{H1} = 12,06$). Druhá protonizační konstanta odpovídá protonizaci atomu dusíku, na kterém je navázané fosfinátové pendantní rameno a její hodnota je $\log K_{H2} = 3,90$. Třetí protonizační konstanta má hodnotu $\log K_{H3} = 1,95$ a k protonizaci dochází na acetátovém rameni.

3.6 Koordinační vlastnosti NOPA

Koordinační vlastnosti byly taktéž studovány pomocí potenciometrických titrací. Komplex s Ga^{3+} byl utvořen již v pH nižším, než 1,5 a tedy před začátkem titrace. Konstanta stability byla opět zjišťována z kompetice s hydroxidovými anionty v alkalickém prostředí. Doba ustálení rovnováhy tvorby $[\text{Ga}(\text{OH})_4]^-$ v zásaditém prostředí byla více než 2 týdny, a proto byla pro zkoumání využita out-of-cell titrace. Opět v roztocích s vyšším pH vznikala částice $[\text{Ga}(\text{L})(\text{OH})]^-$. Dále byla sledována částice $[\text{Ga}(\text{HNOPA})]^+$, která je in-cage komplexem a k protonizaci dochází na atomu kyslíku fosfinátového ramene. Komplex Ga^{3+} -NOPA má konstantu stability $\log K_{\text{GaL}} = 24,4$.³⁰ Tato hodnota odpovídá předpokladu, že jsou jeho vlastnosti mezi hodnotami naměřenými pro ligandy NOTA a TRAP-H.

Dalším studovaným komplexem byl Cu^{2+} -NOPA.³⁰ Konstanta stability tohoto komplexu byla stanovena metodou klasické (in-cell) titrace v rozmezí pH 1,6–12. Ačkoliv komplex vznikal v kyselém prostředí, tak na začátku titrace roztok obsahoval dostatečné množství Cu^{2+} iontů pro stanovení konstanty stability. V roztoku se s rostoucím pH tvořila částice $[\text{Cu}(\text{L})(\text{OH})]^{2-}$. Konstanta stability komplexu Cu^{2+} -NOPA má hodnotu $\log K_{\text{CuL}} = 16,66$ a podobně jako u komplexu s Ga^{3+} je tato hodnota mezi hodnotami pro NOTA a TRAP-H.

3.6 Acidobazické a koordinační vlastnosti ostatních fosforových derivátů makrocyklu TACN

U dalších makrocyclických ligandů jsou acidobazické vlastnosti velmi podobné a liší se jen hodnoty protonizačních konstant. Do jisté míry vybočují ligandy NOTP, NO2AP a NOA2P, jejichž první protonizační konstanty se dostávají nad hodnotu $\log K_{H1} = 14$.¹³ Tyto protonizační konstanty ligandů musely být stanovovány pomocí NMR pH titrací namísto potenciometrických titrací, které byly využity k stanovení ostatních protonizačních konstant. V Tabulce 3 jsou pro ligandy NO2AP a NOA2P protonizační konstanty určeny pomocí ¹H NMR a pro ligand NOTP pomocí ³¹P NMR s H₃PO₄ jako vnějším standardem.

Tabulka 3. Protonizační konstanty ostatních fosforových derivátů TACN^{13,25,28,29}

Konstanta	NO2AP	NOA2P	NOTP	NOPO	TRAP-OH	TRAP-Pr	TRAP-Ph
$\log K_{H1}$	–	12.98	14.50	11,96	11,47	11,48	12,08
$\log K_{H2}$	7,16	8.19	9.11	5,22	3,85	5,44	3,24
$\log K_{H3}$	4.90	6.29	8.02	3,77	1,30	4,84	1,44
$\log K_{H4}$	2.23	4.24	6.77	1,54	–	4,23	–
$\log K_{H5}$	–	2.38	5.56	–	–	3,45	–
$\log K_{H6}$	–	–	3.45	–	–	1,66	–
$\log K_{H7}$	–	–	1.82	–	–	–	–

Ligandy odvozené od makrocyklu TACN s fosforovými pendanty jsou přímo navrženy pro komplexaci gallia. Z toho důvodu je pro tyto ligandy komplexace s tímto kovem nejvíce zkoumána. Díky tomu je nevíce dat v oblasti konstant stability právě pro gallité ionty a je možné díky tomu porovnávat jednotlivé ligandy. Velká část ligandů má velmi podobné koordinační vlastnosti a jejich konstanty jsou zaznamenány v Tabulce 4 spolu s konstantami pro kovy, které jsou významné pro určení selektivity ligandu. V tabulce je vidět, že fosfinátové ligandy TRAP-OH ($\log K_{\text{GaL}} - \log K_{\text{CuL}} = 7$) a TRAP-Pr ($\log K_{\text{GaL}} - \log K_{\text{CuL}} = 9$) váží gallité ionty velmi selektivně i vůči měďnatým kationtům, které mají ze zkoumaných iontů druhou nejvyšší konstantu stability.

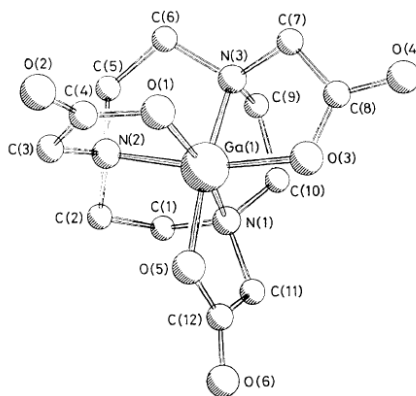
Tabulka 4. Konstanty stability $\log K_{ML}$ ostatních fosforových derivátů s vybranými ionty kovů^{13,25,28,29}

Iont kovu	NOA2P	NOPO	TRAP-OH	TRAP-Pr	TRAP-Ph
Ga ³⁺	34,44 ± 0.04	25,0	23,30	26,24	–
Mg ²⁺	–	–	6,59	7,84	5,38
Ca ²⁺	–	–	4,87	6,04	3,77
Cu ²⁺	–	–	15,53	16,85	15,18
Zn ²⁺	–	–	16,12	16,88	–

4 Struktura komplexů s vybranými deriváty v pevné fázi

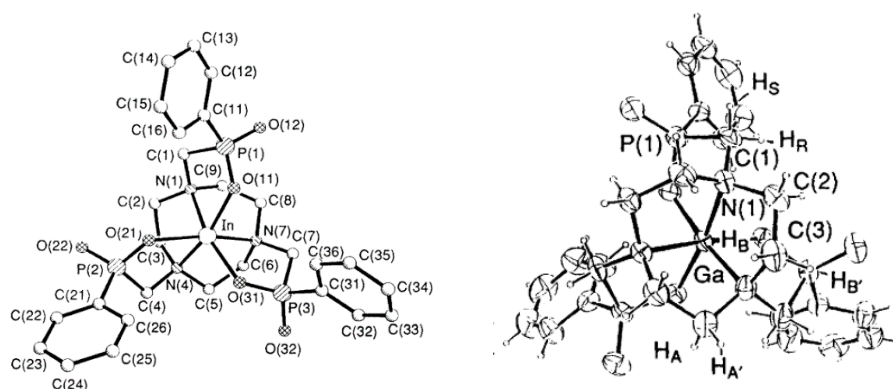
Každý iont kovu preferuje nějaké koordinační okolí, což znamená, že správný počet koordinujících skupin pro daný iont může stabilitu komplexu zvýšit. Dále hraje roli preorganizace ligandu, kdy u některých kovů je velmi důležitá například velikost makrocyclu využitého ligandu.

Několik komplexů gallia a železa a dalších kovů s fosforovými ligandy bylo připraveno a studováno pomocí monokrystalové rentgenové difrakce. Zkoumané ligandy byly porovnávány s odpovídajícími komplexy ligandu NOTA. Komplex NOTA s galliem (Obrázek 12) má přibližně oktaedrální strukturu. *Trans* úhly N–Ga–O mají velikost přibližně 167°, kvůli vnitřním úhlům chelátového kruhu, který se koordinací tvoří. Tímto dochází k pootočení roviny tvořené dusíkovými atomy proti rovině tvořené atomy kyslíku. Torzní úhly jsou v komplexu 47,6° narozdíl od pravidelného oktaedru (60°). Vzájemné úhly mezi atomy kyslíku jsou 95° a mezi atomy dusíku 84°. Molekula téměř dosahuje C₃ symetrie.⁴¹



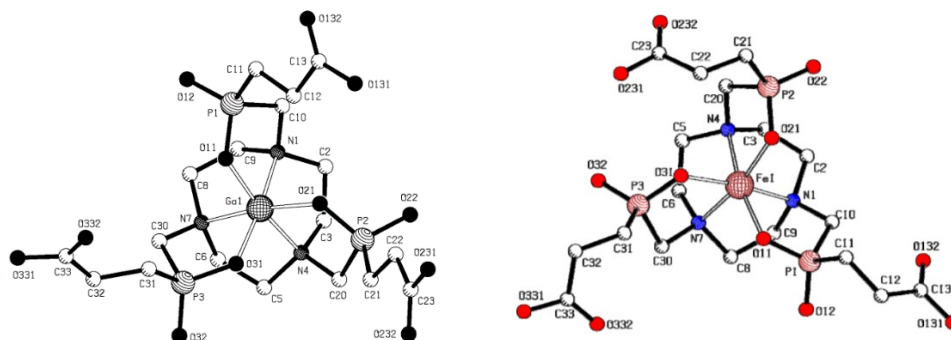
Obrázek 12. Struktura komplexu Ga–NOTA (převzato z původní literatury)⁴¹

Bylo připraveno 8 komplexů ligandu TRAP-Ph obsahujících dvojmocné a trojmocné kovy, které měly velmi podobnou strukturu. Zkoumán byl i komplex ligandu s galliem, který měl oktaedrickou strukturu a obsahoval dva diastereozomery se stejnou konfigurací na všech stereoizomerních centrech. *Trans* úhly N–Ga–O mají průměrně velikost 168,3°. ⁴² Ve struktuře komplexu s galliem je iont kovu posunut více k rovině atomů kyslíku, a díky tomu je torzní úhel 52,2°, což je blíže optimální struktuře oktaedru, než je tomu u komplexu s NOTA. Komplex Ga–TRAP-Ph má C_3 symetrii, podobně jako komplexy s In^{III} , Co^{III} a s Fe^{III} . ⁴³



Obrázek 13. Struktura komplexů In–TRAP-Ph a Ga–TRAP-Ph
(převzato z původní literatury) ⁴³

Ligand TRAP-Pr tvoří komplexy s řadou kovů. Komplexy dvou kovů byly zkoumány pomocí monokrystalové rentgenové difrakce. Odpařením roztoků obsahujících komplexy $[Ga(H_3TRAP-Pr)]$ a $[Fe(H_3TRAP-Pr)]$ (Obrázek 14) byly připraveny hexahydráty těchto komplexů. Mřížka obsahuje dva diastereoizomery komplexu Ga–TRAP-Pr. Jeho struktura je velmi podobná jiným hexakoordinovaným komplexům gallia a *trans* úhly N–Ga–O mají velikost průměrně 169,9°. Jednotky komplexu mají trigonálně antiprismatickou koordinační sféru, kde propionátové skupiny jsou vysunuty nad kavitou komplexu. V porovnání s dalšími komplexy gallia jako je NOTA nebo TRAP-Ph má ligand TRAP-Pr pro koordinační sféru gallia nejvhodnější strukturu. Komplex Fe–TRAP-Pr má trigonálně antiprismatickou strukturu velmi podobnou komplexu Ga–TRAP-Pr. ^{25,44}



Obrázek 14. Struktura komplexů Ga–TRAP-Pr a Fe–TRAP-Pr
(převzato z původní literatury)²⁵

Závěr

V této práci byl shrnut vývoj fosforových derivátů 1,4,7-triazacyklononanu v posledních několika letech. Byly popsány možnosti syntézy ligandů s čistě fosforovými pendantními rameny i ligandů kombinující různé skupiny na pendantech. Dále byly shrnuty vlastnosti ligandů důležitých pro komplexaci medicínsky významných radionuklidů, jako jsou ^{67}Ga , ^{68}Ga , ^{64}Cu a další.

V oblasti fosforových derivátů bylo připraveno mnoho ligandů s vlastnostmi vhodnými pro komplexaci ^{68}Ga , které mohou být využity v nukleární medicíně jako konjugáty s vhodnými targetujícími molekulami. Bylo prokázáno, že fosforové deriváty TACN jsou vhodné pro selektivní komplexaci gallia a že jsou selektivnější než ligand NOTA. V poslední části této práce byly popsány struktury v pevné fázi připravených komplexů fosforových derivátů makrocyclu TACN, které byly srovnány mezi sebou a taktéž byly srovnány s ligandem NOTA.

Pro vývoj nových ligandů významných pro medicínské využití je nutné zkoumat jejich acidobazické vlastnosti. Avšak mnoho ligandů bylo syntetizováno a poté byly využity ke konjugaci s peptidy, aniž by byly hlouběji zkoumány jejich acidobazické vlastnosti.

Budoucí výzkum v této oblasti by se mohl zaměřit na nalezení nových motivů, které by byly použity jako pendantní ramena. Takovými látkami byly v nedávné minulosti například bis(fosfináty). S bis(fosfináty) jako pendantními rameny bylo několik ligandů syntetizováno a zkoumáno. Tato ramena byla navázána na některé ligandy odvozené od cykvenu, či cyklamenu a došlo ke zlepšení vlastností těchto derivátů oproti jejich mateřským ligandům. Z toho důvodu by v budoucnu mohly být více využity i pro 1,4,7-

triazacyklononán a mohlo by tak dojít k přípravě nových ligandů s rychlejší komplexací zkoumaných kovů. Mohly by tak být připraveny nové komplexy pro využití v nukleární medicíně.

Seznam Použité literatury

1. Pichler BJ, Wehrl HF, Kolb A, Judenhofer MS. Positron Emission Tomography/Magnetic Resonance Imaging: The Next Generation of Multimodality Imaging? *Semin Nucl Med.* 2008;38(3):199–208. doi:10.1053/j.semnuclmed.2008.02.001
2. Wadas TJ, Wong EH, Weisman GR, Anderson CJ. Coordinating radiometals of copper, gallium, indium, yttrium, and zirconium for PET and SPECT imaging of disease. *Chem. Rev.* 2010;110(5):2858–2902. doi:10.1021/cr900325h
3. Boros E, Packard AB. Radioactive Transition Metals for Imaging and Therapy. *Chem. Rev.* 2019;119(2):870–901. doi:10.1021/acs.chemrev.8b00281
4. Fellner M, Biesalski B, Bausbacher N, et al. ⁶⁸Ga-BPAMD: PET-imaging of bone metastases with a generator based positron emitter. *Nucl. Med. Biol.* 2012;39(7):993–999. doi:10.1016/j.nucmedbio.2012.04.007
5. <http://radiomedix.com/gallium-generators/> (citováno 1. 6. 2020).
6. Ido T, Wan C-N, Casella V, et al. Labeled 2-deoxy-D-glucose analogs. ¹⁸F-labeled 2-deoxy-2-fluoro-D-glucose, 2-deoxy-2-fluoro-D-mannose and ¹⁴C-2-deoxy-2-fluoro-D-glucose. *J. Label. Compd. Radiopharm.* 1978;14(2):175–183. doi:10.1002/jlcr.2580140204
7. Cutler CS, Hennkens HM, Sisay N, Huclier-Markai S, Jurisson SS. Radiometals for combined imaging and therapy. *Chem. Rev.* 2013;113(2):858–883. doi:10.1021/cr3003104
8. Tornesello AL, Buonaguro L, Tornesello ML, Buonaguro FM. New insights in the design of bioactive peptides and chelating agents for imaging and therapy in oncology. *Molecules.* 2017;22(8):1282. doi:10.3390/molecules22081282
9. Gentilucci L, De Marco R, Cerisoli L. Chemical Modifications Designed to Improve Peptide Stability: Incorporation of Non-Natural Amino Acids, Pseudo-Peptide Bonds, and Cyclization. *Curr. Pharm. Des.* 2010;16(28):3185–3203. doi:10.2174/138161210793292555
10. Hancock RD. Chelate ring size and metal ion selection: The basis of selectivity for metal ions in open-chain ligands and macrocycles. *J. Chem. Edu.* 1992;69(8):615–621. doi:10.1021/ed069p615
11. Hancock RD, Martell AE. Chelate ring geometry, and the metal ion selectivity of macrocyclic ligands. Some recent developments. *Supramol Chem.* 1996;6(3–

- 4):401–407. doi:10.1080/10610279608032561
12. Kostelnik TI, Orvig C. Radioactive Main Group and Rare Earth Metals for Imaging and Therapy. *Chem. Rev.* 2019; 119(2): 902–956.
doi:10.1021/acs.chemrev.8b00294
 13. Prata MIM, André JP, Kovács Z, et al. Gallium(III) chelates of mixed phosphonate-carboxylate triazamacrocyclic ligands relevant to nuclear medicine: Structural, stability and in vivo studies. *J Inorg Biochem.* 2017;177:8–16.
doi:10.1016/j.jinorgbio.2017.08.015
 14. Lewis MR, Boswell CA, Laforest R, et al. Conjugation of monoclonal antibodies with TETA using activated esters: Biological comparison of ⁶⁴Cu-TETA-1A3 with ⁶⁴Cu-BAT-2IT-1A3. *Cancer Biother. Radiopharm.* 2001;16(6):483–494.
doi:10.1089/10849780152752083
 15. Tamura K, Kurihara H, Yonemori K, et al. ⁶⁴Cu-DOTA-trastuzumab PET imaging in patients with HER2-positive breast cancer. *J. Nucl. Med.* 2013;54(11):1869–1875. doi:10.2967/jnumed.112.118612
 16. Meckel M, Fellner M, Thieme N, Bergmann R, Kubicek V, Rösch F. In vivo comparison of DOTA based ⁶⁸Ga-labelled bisphosphonates for bone imaging in non-tumour models. *Nucl Med Biol.* 2013;40(6):823–830.
doi:10.1016/j.nucmedbio.2013.04.012
 17. Quin LD. *A Guide to Organophosphorus Chemistry.* John Wiley and Sons; 2000.
 18. Vitha T, Kubíček V, Hermann P, et al. Complexes of DOTA - Bisphosphonate conjugates: Probes for determination of adsorption capacity and affinity constants of hydroxyapatite. *Langmuir.* 2008;24(5):1952–1958. doi:10.1021/la702753j
 19. Fleisch, H., *Bisphosphonates in Bone Disease – 4th ed.* London, 2000.
 20. Fruhling, J.; Verbist, A.; Balikdjian D. Which diphosphonate for routine bone scintigraphy (MDP, HDP or DPD)? *Nucl. Med. Commun.* 1986;7(6):415–425.
 21. Palma E, Correia JDG, Campello MPC, Santos I. Bisphosphonates as radionuclide carriers for imaging or systemic therapy. *Mol. Biosyst.* 2011;7(11):2950–2966.
doi:10.1039/c1mb05242j
 22. Fellner M, Riss P, Loktionova N, et al. Comparison of different phosphorus-containing ligands complexing ⁶⁸Ga for PET-imaging of bone metabolism. *Radiochim. Acta.* 2011;99(1):43–51. doi:10.1524/ract.2011.1791
 23. Holub J, Meckel M, Kubíček V, Rösch F, Hermann P. Gallium(III) complexes of

- NOTA-bis (phosphonate) conjugates as PET radiotracers for bone imaging. *Contrast Media Mol. Imaging*. 2015;10(2):122–134. doi:10.1002/cmimi.1606
24. Notni J, Šimeček J, Wester HJ. Phosphinic acid functionalized polyazacycloalkane chelators for radiodiagnostics and radiotherapeutics: Unique characteristics and applications. *ChemMedChem*. 2014;9(6):1107–1115. doi:10.1002/cmdc.201400055
25. Notni J, Hermann P, Havlíčková J, et al. A triazacyclononane-based bifunctional phosphinate ligand for the preparation of multimeric ⁶⁸Ga tracers for positron emission tomography. *Chem. Eur. J.* 2010;16(24):7174–7185. doi:10.1002/chem.200903281
26. Lukeš I, Kotek J, Vojtišek P, Hermann P. Complexes of tetraazacycles bearing methylphosphinic/phosphonic acid pendant arms with copper(II), zinc(II) and lanthanides(III). A comparison with their acetic acid analogues. *Coord. Chem. Rev.* 2001;216–217:287–312. doi:10.1016/S0010-8545(01)00336-8
27. Zhang S, Gangal G, Uludağ H. “Magic bullets” for bone diseases: Progress in rational design of bone-seeking medicinal agents. *Chem. Soc. Rev.* 2007;36(3):507–531. doi:10.1039/b512310k
28. Šimeček J, Schulz M, Notni J, et al. Complexation of metal ions with TRAP (1,4,7-triazacyclononane phosphinic acid) ligands and 1,4,7-triazacyclononane-1,4,7-triacetic acid: Phosphinate-containing ligands as unique chelators for trivalent gallium. *Inorg. Chem.* 2012;51(1):577–590. doi:10.1021/ic202103v
29. Šimeček J, Zemek O, Hermann P, Notni J, Wester HJ. Tailored Gallium(III) chelator NOPO: Synthesis, characterization, bioconjugation, and application in preclinical Ga-68-PET imaging. *Mol. Pharm.* 2014;11(11):3893–3903. doi:10.1021/mp400642s
30. Máté G, Šimeček J, Pniok M, et al. The influence of the combination of carboxylate and phosphinate pendant arms in 1,4,7-triazacyclononane-based chelators on their ⁶⁸Ga labelling properties. *Molecules*. 2015;20(7):13112–13126. doi:10.3390/molecules200713112
31. Wang S, Gai Y, Zhang S, Ke L, Ma X, Xiang G. Synthesis and evaluation of a class of 1,4,7-triazacyclononane derivatives as iron depletion antitumor agents. *Bioorganic Med Chem Lett*. 2018;28(2):117–121. doi:10.1016/j.bmcl.2017.11.048
32. Gai Y, Sun L, Lan X, Zeng D, Xiang G, Ma X. Synthesis and Evaluation of New

- Bifunctional Chelators with Phosphonic Acid Arms for Gallium-68 Based PET Imaging in Melanoma. *Bioconjugate Chem.* 2018;29(10):3483–3494.
doi:10.1021/acs.bioconjchem.8b00642
33. Wilson JJ, Ferrier M, Radchenko V, et al. Evaluation of nitrogen-rich macrocyclic ligands for the chelation of therapeutic bismuth radioisotopes. *Nucl. Med. Biol.* 2015;42(5):428–438. doi:10.1016/j.nucmedbio.2014.12.007
34. Comba P, Jermilova U, Orvig C, et al. Octadentate Picolinic Acid-Based Bispidine Ligand for Radiometal Ions. *Chem. Eur. J.* 2017;23(63):15945–15956.
doi:10.1002/chem.201702284
35. Luckay R, Hancock RD, Cukrowski I, Reibenspies JH. Study of protonation of 1,4,7-tris(2-hydroxyethyl)-1,4,7-triazacyclononane, and its complexes with metal ions, by crystallography, polarography, potentiometry, molecular mechanics and NMR. *Inorganica Chim. Acta.* 1996;246(1):159–169.
doi:https://doi.org/10.1016/0020-1693(96)05063-3
36. Drahoš B, Kubíček V, Bonnet CS, Hermann P, Lukeš I, Tóth É. Dissociation kinetics of Mn^{2+} complexes of NOTA and DOTA. *Dalton Trans.* 2011;40(9):1945–1951. doi:10.1039/c0dt01328e
37. Kiss T, Lázár I, Kafarski P. Chelating tendencies of bioactive aminophosphonates. *Met. Based Drugs.* 1994;1(2-3):247–264.
doi:10.1155/MBD.1994.247
38. Tebby JC. Aminophosphonic and aminophosphinic acids: chemistry and biological activity. Valery P. Kukhar and Harry R. Hudson (eds), John Wiley & Sons Ltd, Chichester, 2000. xxv + 634 pages. £175 ISBN 0-471-89149-5.
Appl. Organomet. Chem. 2000;14(9):514.
doi:10.1002/1099-0739(200009)14:9<514::AID-AOC32>3.0.CO;2-J
39. Smith RM, Martell AE. *Critical Stability Constant. Amines Vol.2.* Vol 2.; 1976.
40. Rohovec J, Lukeš I, Vojtíšek P, Císařová I, Hermann P. Complexing properties of phosphinic analogues of glycine. *J Chem Soc - Dalt Trans.* 1996;(13):2685–2691.
doi:10.1039/DT9960002685
41. Craig AS, Parker D, Adams H, Bailey NA. Stability, ^{71}Ga NMR, and crystal structure of a neutral gallium(III) complex of 1,4,7-triazacyclononanetriacetate: a potential radiopharmaceutical? *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* 1989;(23):1793–1794. doi:10.1039/C39890001793

42. Cole E, Copley RCB, Howard JAK, et al. 1,4,7-Triazacyclononane-1,4,7-triyltrimethylenetrakis-(phenylphosphinate) enforces octahedral geometry: crystal and solution structures of its metal complexes and comparative biodistribution studies of radiolabelled indium and gallium complexes. *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* 1994;(11):1619–1629. doi:10.1039/DT9940001619
43. Cole E, Parker D, Ferguson G, Gallagher JF, Kaitner B. Synthesis and structure of chiral metal complexes of polyazacycloalkane ligands incorporating phosphinic acid donors. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* 1991;(20):1473–1475. doi:10.1039/C39910001473
44. Broan CJ, Cox JPL, Craig AS, et al. Structure and solution stability of indium and gallium complexes of 1,4,7-triazacyclononanetriacetate and of yttrium complexes of 1,4,7,10-tetraazacyclododecanetetraacetate and related ligands: kinetically stable complexes for use in imaging and radioimmuno. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2.* 1991;(1):87–99. doi:10.1039/P29910000087
45. Zompa LJ. Metal Complexes of Cyclic Triamines. 2. Stability and Electronic Spectra of Nickel(II), Copper(II), and Zinc(II) Complexes Containing Nine-through Twelve-Membered Cyclic Triamine Ligands. *Inorg Chem.* 1978;17(9):2531–2536. doi:10.1021/ic50187a039
46. Amorim MTS, Chaves S, Delgado R, Da Silva JJRF. Oxatriaza macrocyclic ligands: Studies of protonation and metal complexation. *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* 1991;938(11):3065–3072. doi:10.1039/DT9910003065

Seznam zkratek

SPECT	jednofotonová emisní výpočetní tomografie
PET	pozitronová emisní tomografie
CT	výpočetní tomografie
MRI	zobrazování magnetické rezonance
MIBI	methoxy-isobutyl-isonitril
MAA	makroagregát albuminu
^{18}F FDG	2-deoxy-2(^{18}F)fluor-D-glukóza
GLUT	přenašeč glukózy
EDTA	kyselina etylendiaminotetraoctová
DTPA	kyselina dietyltriaininpentaoctová
cyklam	1,4,8,11-tetraazacyklotetradekan
cyklen	1,4,7,10-tetraazacyklododekan
TACN	1,4,7-triazacyklononan
DOTA	kyselina 1,4,7,10-tetraazacyklododekan-1,4,7,10-tetraoctová
TETA	kyselina 1,4,8,11-tetraazacyklotetradekan -1,4,8,11-tetraoctová
NOTA	kyselina 1,4,7-triazacyklononan-1,4,7-trioctová
MDP	methylen-bis(fosfonát)
HDP	oxidronát
NO ₂ A	kyselina 1,4,7-triazacyklononan-1,4-dioctová
BP	bis(fosfonát)
TRAP	kyselina 1,4,7-triazacyklononan-1,4,7-trisfosfinová
M ⁱ⁺	iont kovu
H ⁺	proton
L ^{j-}	ligand
p <i>K</i> _{ML}	celková konstanta stabilitykomplexu
p <i>K</i> _{Hj}	protonizační konstanta
Boc	<i>t</i> -butyloxykarbonylová chránící skupina

Poděkování

V závěru své práce bych chtěl poděkovat všem, kteří přispěli k jejímu vzniku. V první řadě děkuji vedoucímu mé práce doc. RNDr. Vojtěchu Kubíčkoví, Ph.D. za všechny čas, který mojí práci věnoval a za jeho rady.

Chtěl bych poděkovat Lucii, která mne naučila se orientovat při práci v laboratoři a se vším mi vždy ochotně pomohla. Také děkuji celému osazenstvu velkého i malého „labu“. Všichni mi při nesnázích vždy poradili a zároveň navodili příjemnou pracovní atmosféru.

Velký dík patří mé rodině, která mi vůbec umožnila studovat, a hlavně mojí mamce, která mi vždy dodala potřebná slova podpory.

Chtěl bych moc poděkovat Luce, své přítelkyni, která při mně stála nejen ve chvílích radosti, ale hlavně v těžkých chvílích.

V neposlední řadě bych chtěl poděkovat všem spolužákům a přátelům z ročníku, za příjemnější studia a některých dlouhých přednášek.