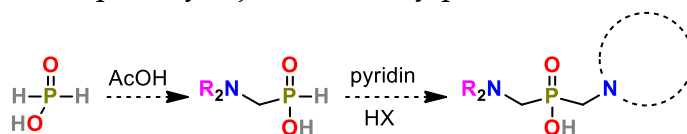


Abstrakt (česky)

Komplexy lanthanoidů(III) s deriváty DOTA jsou využívány pro zobrazování pomocí magnetické tomografie (MRI), magnetické rezonanční angiografie (MRA) nebo magnetické rezonanční spektroskopie (MRS). Tyto komplexy jsou také používány v nukleární medicíně (PET a SPECT) a pro zobrazování pomocí optických metod (luminiscence).

Je známo, že relaxometrické vlastnosti komplexů Gd(III) s deriváty DOTA obsahujících jednu fosfinovou skupinu jako pendantní rameno, Gd-DO3AP^R, mohou být blízké optimálním (např. rezidenční čas koordinované molekuly vody, τ_M , může dosáhnout optimální hodnoty ~10 ns). Relaxometrické parametry lze dále ladit pomocí substituentu na atomu fosforu. Je také známo, že tyto komplexy mají vysokou termodynamickou stabilitu a jsou kineticky inertní. Hlavním cílem této práce je zjistit, jak protonizace aminoskupiny přítomné v substituentu na atomu fosforu bude ovlivňovat vlastnosti těchto komplexů. V této práci byly připraveny a charakterizovány deriváty DOTA s jedním fosfinátovým pendantním ramenem obsahujícím aminoskupinu a jejich komplexy. Tyto komplexy by mohly posloužit jako kontrastní látky pro molekulární zobrazování pomocí MRI nebo ³¹P MRS.

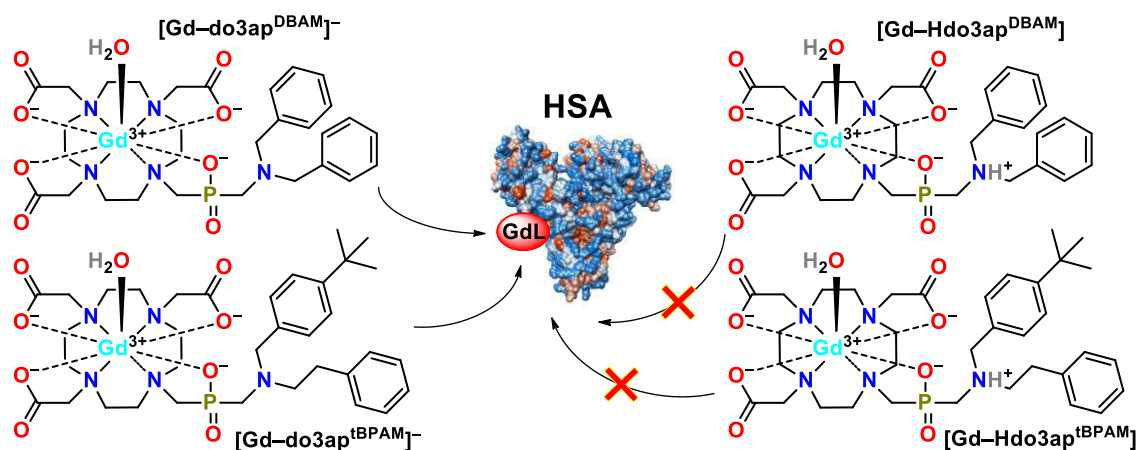
První část této práce je věnována dvěma „fosfa-Mannichovým“ reakcím, které probíhají za mírných podmínek. Amino-*H*-fosfinové kyseliny (AHPA) byly syntetizovány s použitím přebytku patřičného aldehydu a ekvimolárních množství sekundárního aminu a kyseliny fosforené v kyselině octové jako rozpouštědla (Obrázek 1). Sekundární aminy s $pK_A > \sim 8$ poskytovaly příslušné AHPA s vysokou konverzí. Získané AHPA byly většinou čištěny jen pomocí silného kationtového iontoměniče a byly izolovány ve vysokých výtěžcích. Byla připravena malá knihovna α -aminoalkyl-*H*-fosfinových kyselin (~40 sloučenin). Pro méně nukleofilní aminy ($pK_A < \sim 7$) a polyaminy s ethylen-diaminovým fragmentem byla jako hlavní reakce pozorována reduktivní *N*-methylace, která je spojená s oxidací kyseliny fosforené. Byl navržen mechanismus reakce syntézy AHPA. Jako první reakce byla pozorována *N*-hydroxymethylace sekundárního aminu následovaná esterifikací této hydroxy skupiny octovou kyselinou. Poté pravděpodobně dochází k trans-esterifikaci s H₃PO₂ a vzniklý ester H₃PO₂ se přesmykuje na konečný produkt s P-C vazbou, AHPA.



Obrázek 1

Deriváty cykluenu s fosfo(i)nátovými pendantními rameny byly připraveny novou variantou „Kabachnik–Fields“ reakce, ve které reaguje derivát cykluenu, alkyl ester *H*-fosfinové kyseliny nebo H-P(O)(OEt)_2 , a CH_2O v bezvodém pyridinu jako rozpouštědlo (Obrázek 1). Reakce musí být katalyzována silnou kyselinou (např. HBr) a pak probíhá s téměř kvantitativní konverzí. Reakce umožnila přípravu několika modelových látek. Byl navržen její reakční mechanismus, kdy nejprve vzniká aminal, $>\text{N-CH}_2\text{-N}<$, který se silnou kyselinou rychle rozkládá na iminiovou sůl, $(>\text{N}=\text{CH}_2)^+ \text{Cl}^-$. Tato sůl reaguje s P-H vazbou esteru fosforové kyseliny. Reaktivním intermediátem je pravděpodobně tautomer s trojmocným atomem fosforu.

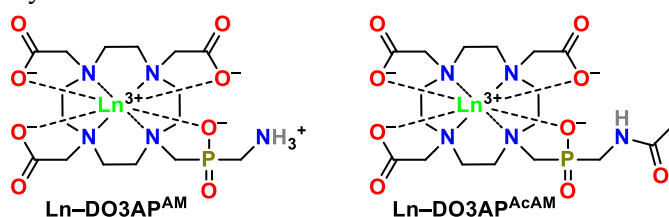
Komplexy Ln(III) a makrocyclických ligandů typu DO3AP^{R} , které obsahují hydrofobní aminomethylovou skupinu vázanou na atom fosforu, byly zkoumány jako kontrastní látky (CAs) pro MRA. Jejich vlastnosti jsou ovlivněny (de)protonací této aminové skupiny (Obrázek 2). Na základě zastoupení izomerů TSA / SA bylo zjištěno, že Gd(III) komplexy koordinují jednu molekulu vody nezávisle na pH. Tyto komplexy mají vysoké zastoupení izomeru TSA (~50–70 %), které se mění s protonací pendantních aminoskupin majících pK_a 5–7. Komplexy Gd(III) s deprotonovanou aminoskupinou (tj. při $\text{pH} > 7\text{--}8$) mají velice krátký rezidenční čas vázané molekuly vody (τ_M až ~5 ns při 25 °C), což se dá vysvětlit snadnou tvorbou okta-koordinovaného komplexu v přechodovém stavu. V přítomnosti lidského sérového albuminu (HSA) se relaxivita těchto komplexů podstatně zvyšuje (5–10-krát; nejvyšší pozorovaná relaxivita byla $r_{1\rho} \sim 55 \text{ mM}^{-1} \text{ s}^{-1}$ při 20 MHz, 37 °C a pH 7,4) díky vzniku supramolekulárního aduktu komplex–HSA. Rozsah této interakce se mění s pH a komplexy s protonovanou pendantní aminoskupinou mají o 1–2 řády nižší afinitu k HSA než komplexy deprotonované. Relaxivita protonovaných a deprotonovaných komplexů, jsou-li teoreticky plně navázány na HSA, je překvapivě takřka identická. Koncept navázání / uvolňování molekul na / z jejich aduktů s HSA v závislosti na jejich protonaci je novou a zajímavou možností, jak měnit farmakokinetiku léků.



Obrázek 2

Monokrystaly komplexů Ln(III) s těmito ligandy byly také zkoumány pomocí rentgenové difrakce (17 struktur). Výsledky potvrdily prodlužování vazebné vzdálenosti Ln(III)–OH₂ pro menší ionty Ln(III) a to, že se současně zkracuje vzdálenost Ln(III)–QN₄. Tyto struktury byly porovnány se strukturami komplexů derivátů DOTA. „Otevírací úhel“ ω v komplexech Gd–DO3AP^R je menší než stejný úhel v Gd–DOTA, ale přitom stále umožňuje koordinaci jedné molekuly vody. „Bezvodý“ okta-koordinovaný přechodový komplex Gd(III) objevující se při výměně koordinované molekuly vody je tedy snáze dostupný pro komplexy Gd–DO3AP^R a výměna vody je tímto urychlena.

Komplexy Ln(III) a ligandu s primární aminoskupinou, DO3AP^{AM} (Obrázek 3) jsou nejjednodušší komplexy typu Ln–DO3AP^R, jejichž vlastnosti mohou záviset na protonaci aminoskupiny. Chování těchto komplexů bylo srovnáno s chováním komplexů DO3AP^{AcAM} (Obrázek 3), jejichž vlastnosti nemohou být závislé na protonaci aminoskupiny. Zastoupení izomerů SA / TSA v lanthanoidové sérii a sledování hydratace (změna chemického posunu ¹⁷O vody indukovaná Dy(III) a luminiscence Eu(III)) jasně ukázalo, že komplex Gd(III) je monohydratován nezávisle na pH. Residenční čas koordinované molekuly vody ($\tau_M \sim 40 / \sim 32$ ns pro Gd–DO3AP^{AM} / Gd–DO3AP^{AcAM}; pro 25 °C, pH ~ 7) není tak krátký jako u komplexů uvedených výše, ale stále je podstatně kratší než u Gd–DOTA. Je to pravděpodobně způsobeno tím, že voda se nekoordinuje až dále v lanthanoidové řadě. Relaxivita Gd–DO3AP^{AM} v roztocích o různém pH se překvapivě nemění, ačkoli se změní protonace aminoskupiny s $pK_A \sim 8,2$. Relaxivita je nižší než očekávaná, což může být způsobeno nižším „efektivním hydratačním číslem q_{eff} “ $\sim 0,8$ (pH ~ 7), které bylo nalezeno při zpracování naměřených dat.

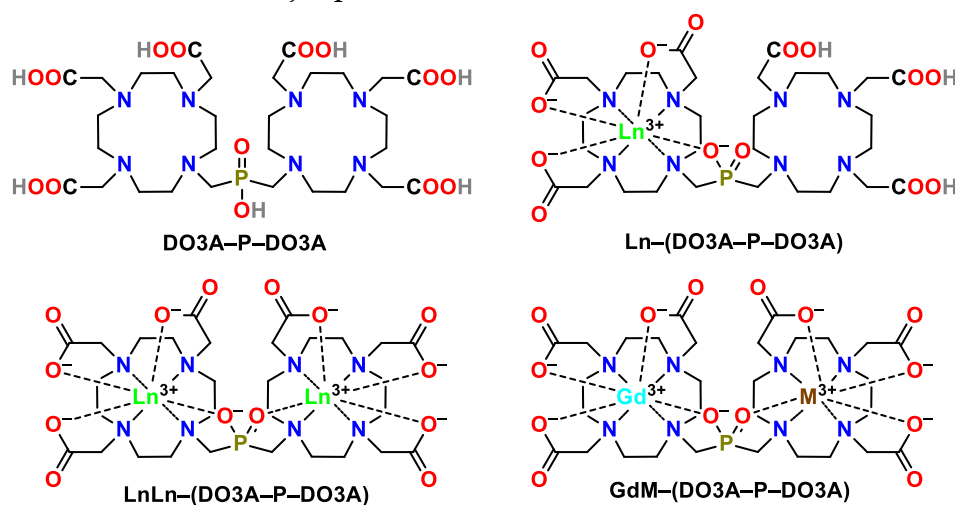


Obrázek 3

V komplexech Ln–DO3AP^{AM} je protonovatelná aminoskupina blízko atomu fosforu, což znamená, že NMR vlastnosti jádra ³¹P budou záviset na pH. Koordinovaný paramagnetický kation způsobuje jak zkrácení relaxačních časů jádra ³¹P (až do oblasti „ms“), tak zvětšení rozdílů chemických posunů ³¹P pro různě protonované komplexy (až desítky ppm). Chemické posuny ³¹P jsou desítky až stovky ppm jinde, než chemické posuny endogenních fosforových sloučenin. Hodnota $pK_A \sim 8,2$ pro aminoskupinu v komplexech je bohužel výše než je obvyklé

fyziologické pH a navíc byl nejlepší poměr T_2^*/T_1 pro jádro ^{31}P (0,4–0,7) nalezen v komplexech s velmi krátkým relaxačním časem T_1 (1–7 ms). Toto vede k tomu, že tato data mohou být pouze pokládána za výzkum dokazující, že protonovatelné komplexy typu $\text{Ln-DO}_3\text{AP}^{\text{R}}$ mohou být pokládány za nové kontrastní látky pro ^{31}P MRS pro zobrazování změn pH tkání *in vivo*. Je ale potřeba najít komplexy s vhodnější bazicitou.

Poslední část této práce se věnuje ditopickému ligandu $\text{DO}_3\text{A-P-DO}_3\text{A}$ (Obrázek 4), který je dostupný teprve díky nové variantě reakce „Kabachnik–Fields“. Struktura ligandu umožňuje přípravu termodynamicky stabilních a kineticky inertoních mono- a dimetalických komplexů, které lze získat, jak homo-, tak jako heteronukleární (Obrázek 4). Ionty kovů v dimetalických komplexech jsou spojeny přes fosfinátovou skupinu. Tato struktura byla potvrzena v pevném stavu pomocí rentgenové difrakce na monokrystalech (6 struktur). Tyto dinukleární komplexy se vyznačují složitou izomerií, kdy se izomerie SA / TSA makrocyclického ligandu kombinuje s chirálním fosforovým atomem. V roztoku bylo pozorováno nejméně osm rozdílných diastereoizomerů, z nichž ale jen tři až čtyři jsou výrazně zastoupeny (v součtu > 85 %). Zpracování relaxometrických dat pro dinukleární komplex $\text{Gd}_2(\text{III})$ ukázalo neobvykle krátký rezidenční čas koordinované molekuly vody ($\tau_{\text{M}} \sim 7$ ns při 25 °C), což je pravděpodobně způsobeno blízkostí hydratačního zlomu v lanthanoidové sérii hned za $\text{Gd}(\text{III})$ (zjištěno pomocí luminiscencí komplexů $\text{Eu}(\text{III})$ a $\text{Tb}(\text{III})$). Blízkost dvou paramagnetických iontů kovů, které jsou v dinukleárních komplexech spojené přes fosfinátový můstek, významně nemění jejich elektronové relaxační časy. Hetero-dimetalické komplexy typu $\text{GdM}(\text{DO}_3\text{A-P-DO}_3\text{A})$ (Obrázek 4), kde M je trojmocný kovový kation (např. $\text{Sc}(\text{III})$, $\text{La}(\text{III})$, $\text{Bi}(\text{III})$) byly zkoumány proto, aby se ověřila možná závislost relaxivity na celkové molekulové hmotnosti komplexu. Ukázalo se, že relaxivita komplexů nezávisí na molekulové hmotnosti, ale je spíše řízena izomerií SA / TSA.



Obrázek 4