

Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Chemie
Studijní obor: Chemie se zaměřením na vzdělávání



Jaroslav Kačmarčík

Ditopický ligand na bázi 1,4,7-triazacyklononanu
Ditopic ligand based on 1,4,7-triazacyclononane

Bakalářská práce

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

Praha, 2023

Prohlášení

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

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

V Praze dne 16. srpna 2023

Abstrakt

Radioizotopy ^{64}Cu a ^{68}Ga jsou pro své vlastnosti používány v radiomedicíně, zejména v pozitronové emisní tomografii (PET). Ionť kovu je nutné komplexovat vhodným ligandem, se kterým bude tvořit stabilní a kineticky inertní komplex. Cílem této bakalářské práce byla syntéza polydentátního ligandu na bázi makrocyklu TACN, a následná příprava jeho gallitých a mědnatých komplexů. Komplex $[\text{Cu}(\text{L})]$ byl studován pomocí UV-VIS titrace. Ze závislosti absorbance A vlnové délce λ byly pozorovány d-d přechody ve VIS ($\lambda = 440 - 800$ nm) oblasti a CT přechody společně s přechody na aromatickém cyklu v UV oblasti ($\lambda = 220 - 380$ nm). Syntetizován byl i komplex $[\text{Ga}(\text{L})]$, jehož bližší charakterizace a studium koordinačních vlastností provedeny nebyly.

Klíčová slova: makrocyclické ligandy, komplexy, stabilita, radiomedicína, PET

Abstract

The radioisotopes ^{64}Cu and ^{68}Ga are used in radiomedicine and imaging (PET) due to their properties. The metal ion must be complexed with a suitable ligand forming a stable and kinetically inert complex. The aim of this bachelor thesis was to synthesize polydentate ligand based on the TACN macrocycle, followed by the preparation of its gallium (III) and copper (II) complexes. Based on the dependence of absorbance A on the wavelength λ , d-d transitions in the VIS ($\lambda = 440 - 800$ nm) region and CT transitions with transitions on the aromatic cycle in the UV region ($\lambda = 220 - 380$ nm) for the $[\text{Cu}(\text{L})]$ were also observed. The $[\text{Cu}(\text{L})]$ complex was studied by UV-VIS titration. The complex $[\text{Ga}(\text{L})]$ was also synthesized, but its further characterization and study of coordination properties were not carried out.

Key words: macrocyclic ligands, complexes, stability, radiomedicine, PET

Poděkování

Rád bych se chtěl poděkovat svému školiteli doc. RNDr. Vojtěchovi Kubíčkoví, Ph.D. za vedení této práce, za užitečné a cenné rady, lidský přístup a nekonečnou trpělivost a podporu v průběhu sepisování práce.

Speciální poděkování patří i Jakobovi Šreinovi, a to za veškerou pomoc, odborné rady a čas, který mi byl ochoten obětovat. Děkuji i za zaškolení na přístroje MS, HPLC a pozitivní přístup a podporu, i když se něco nedařilo.

Luce Kuncové děkuji za praktické rady a zaškolení do chodu laboratoře a trpělivost, kterou v mých začátcích se mnou měla. Dále děkuji i celému kolektivu z velkého a malého labu za vytváření skvělého pracovního prostředí a za každodenní dávku humoru.

V neposlední řadě obrovské děkuji patří mojí partnerce, bez její nekonečné podpory a lásky bych to nezvládnul. Děkuji, že ve mě věříš a posouváme se společně dopředu. Obrovskou zásluhu má i moje milovaná rodina, která mě od mých začátků studia podporuje po každé stránce. Bez Vás by tato práce nevznikla, vážím si všeho, co pro mě děláte.

Obsah

1 Úvod do nukleární medicíny	7
1.1 Pozitronová emisní tomografie.....	7
1.1.1 β^+ radionuklidy pro PET	8
1.2 Koordinační chemie mědi	11
1.2.1 Radioizotopy mědi a jejich produkce	12
1.2.2 Makrocyclické ligandy jako nosiče radioizotopů	14
1.3 Koordinační chemie gallia	16
1.3.1 Radioizotopy gallia a jejich produkce	16
1.3.2 Ligandy pro stabilizaci gallia	17
2 Cíl práce	19
3 Experimentální část.....	20
3.1 Použité chemikálie.....	20
3.2 Metody charakterizace.....	20
3.2.1 Nukleární magnetická rezonance (NMR)	20
3.2.2 Hmotnostní spektrometrie.....	20
3.2.3 Tenkovrstvá a sloupcová chromatografie	20
3.2.4 Vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC).....	20
3.2.5 Iontoměničová chromatografie	21
3.2.6 UV-VIS titrace	21
3.3 Syntéza.....	21
3.3.1 1-benzyl-1,4,7-triazacyklononan (4).....	21
3.3.2 Di- <i>t</i> butyl 2,2'-(7-benzyl-1,4,7-triazacyklonan-1,4-diyl)diacetát (5).....	22
3.3.3 Di- <i>t</i> butyl 2,2'-(1,4,7-triazacyklonan-1,4-diyl)diacetát (6).....	23
3.3.4 Kyselina (2-hydroxy-5-methyl-1,3-fenylen)bis(methylen-1,4,7-triazonan-4,7-triyl)tetrakarboxylová (H_5L)	24
3.3.5 Příprava komplexů.....	25
4 Výsledky a diskuze	25
4.1 Syntéza ligandu.....	25
4.2 Studium $[Cu(L)]$ komplexu	27
5 Závěr.....	30
Seznam použité literatury	31

Seznam skratek

ACN	acetonitril
BnBr	benzylbromid
CT	počítačová tomografie
DOTA	kyselina (1,4,7,10-tetraazacyklododekan)-1,4,7,10- tetraoctová
FDG	2-deoxy-2-(¹⁸ F)fluoro-D-glukósa
H ₂ CB-TE2A	4,11-bis(karboxymethyl)-1,4,8,11-tetraazabicyklo[6,6,2]hexadekan
H ₃ DO3A	kyselina (1,4,7,10-tetraazacyklododekan)-1,4,7- trioctová
H ₄ DOTA	kyselina (1,4,7,10-tetraazacyklododekan)-1,4,7,10- tetraoctová
H ₃ NOTA	kyselina (1,4,7-triazacyklononan)-1,4,7-trioctová
HPLC	vysokoúčinná kapalinová chromatografie
H ₂ TE2A	1,8- <i>N,N'</i> -bis(karboxymethyl)-1,4,8,11-tetraazacyklotetradekan
H ₄ TETA	kyselina (1,4,8,11-tetraazacyklotetradekan)-1,4,8,11-tetraoctová
MS	hmotnostní spektrometrie
PET	pozitronová emisní tomografie
RVO	rotační vakuová odparka
SPECT	jednofotonová emisní tomografie
TACN	1,4,7-triazacyklononan
TFA	kyselina trifluoroctová
THF	tetrahydrofuran

1 Úvod do nukleární medicíny

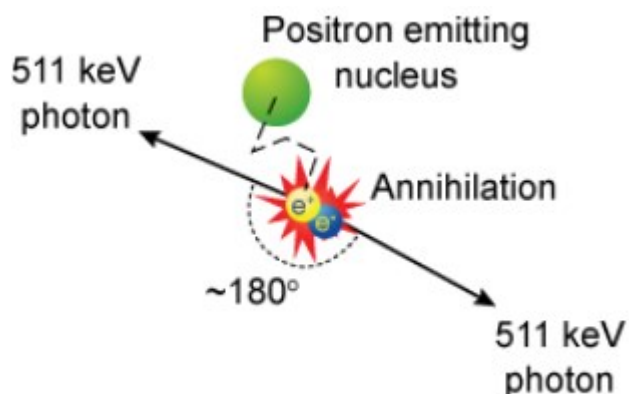
Nukleární medicína je klinickým oborem a specializovanou oblastí radiologie, která se zabývá léčbou, hodnocením a diagnostikou různých chorob pomocí tzv. otevřených zářičů. V případě vyšetření funkce a morfologie orgánů *in vivo* pomocí otevřených zářičů se využívají radioaktivní značené látky navázané na příslušnou molekulu (nosič), které se označují jako radiofarmaka. [6]

Radiofarmaka jsou léčivé látky tvořené molekulární strukturou s navázaným radionuklidem, které nacházejí uplatnění jako gama/beta zářiče pro diagnostiku nebo jako alfa/beta zářiče pro terapii v radiomedicině. Molekulární struktura determinuje fyzikálně-chemické vlastnosti léčiva a jeho schopnost vázat se na cílové struktury (enzymy, proteiny). Radionuklid, jako nuklid prvku s přebytkem energie schopný samovolné radioaktivní přeměny jader, slouží jako zdroj signálu v zobrazovacích metodách.

V posledních několika desetiletích zaznamenaly zobrazovací metody v medicíně prudký rozvoj a v současné době mají zejména v klinické onkologii významnou funkci. Molekulární zobrazování je široce rozšířené pro své neinvazivní působení a podrobné poskytování informací o onemocnění pacienta na buněčné a molekulární úrovni. Ve srovnání se zobrazovacími metodami jako jsou rentgenové snímky, počítačová tomografie (CT) a ultrazvuk umožňuje i vizualizaci chemických a biologických procesů (např. metabolismus glukózy, spotřeba kyslíku) u lidí a jiných živých organismů. [3] [8] Kvalitní diagnostika nemocí poskytuje pacientovi výběr vhodných léčebných postupů, jako i bezpečnost a úspěšnost léčby. Mezi nejběžnější metody řadíme jednofotonovou emisní tomografii (SPECT) a pozitronovou emisní tomografii (PET), které se budeme věnovat v následujících kapitolách.

1.1 Pozitronová emisní tomografie

Pozitronová emisní tomografie je radiochemická metoda využívána v medicíně pro získání anatomické informace a měření metabolické aktivity buněk tělesných tkání a funkcí orgánů. Vyšetření pacienta pomocí PET vyžaduje orální nebo intravenózní podání malého množství vhodného radiofarmaka do těla pacienta. Radiofarmakum emituje pozitron, který se srazí s elektronem za vzniku dvou fotonů s vysokou energií 511 keV s dráhou letu svírající uhel 180°. Tento jev se nazývá anihilace. Fotony jsou následně detekovány oproti sobě umístěnými scintilačními detektory v okolí pacienta, čímž dokážeme určit přesné místo anihilace a lokalizovat radiofarmakum v těle pacienta. Samotný proces anihilace je ukázán na *Obrázku 1*. [5]



Obrázek 1: Anihilace pozitronu s elektronem. Převzato z [5]

1.1.1 β^+ radionuklidy pro PET

Jak již bylo zmíněno, radiofarmakum určené k aplikaci vyžaduje obsah vhodného radioaktivního izotopu. Jedná se o nestabilní látku, u které dochází k přeměně protonu v atomovém jádře na pozitron a neutrinum. Tyto izotopy mohou být zabudovány do biologicky aktivních molekul, aniž by měnili jejich biologické vlastnosti. Navázání β^+ radionuklidu k molekule umožňuje vizualizovat interakce na molekulární úrovni, vazebná místa a metabolické aktivity v živých organismech.^{[4] [9]}

Výběr vhodného radionuklidu pro vyšetření pacienta se odvíjí od několika faktorů. Mezi nejdůležitější patří:

1. **Poločas rozpadu:** poločas rozpadu ovlivňuje množství záření, kterému je pacient vystaven. Čím je poločas rozpadu nižší, tím je rozpad radionuklidu rychlejší a riziko spojené s radiací je nižší. Volba radionuklidu s optimálně dlouhým poločasem rozpadu je důležitá i pro kvalitní zobrazování a přesné výsledky.
2. **Výtěžek pozitronové emise:** vysoké hodnoty výtěžku pozitronové emise β^+ zářičů zvyšují sílu signálu a citlivost při zobrazování.
3. **Produkce a dostupnost radionuklidu:** často využívaným postupem pro přípravu radionuklidu je produkce v cyklotronu. Nejběžnější nekovové izotopy vyráběné v cyklotronu jsou uvedeny v *Tabulce 1*. Způsob přípravy v cyklotronu je však z hlediska údržby a ceny nevýhodný. Výhodnější alternativou je příprava

v generátorech, které umožňují klinikám snadnou produkci a výběr vhodného radionuklidu s krátkým poločasem rozpadu.

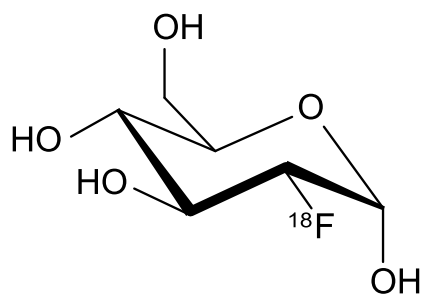
Tabulka 1: Přehled radioizotopů kovů pro PET^{[18][19][20]}

Izotop	$t_{1/2}$ [min]	Využití
¹¹ C	20	metabolismus a vazba neurotransmiterů
¹³ N	10	průtok krve myokardem
¹⁵ O	2	sledování průtoku krve mozkiem a perfuse tkání
¹⁸ F	110	metabolismus glukózy v tkáních

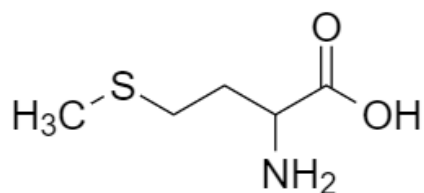
Mezi široce používané radionuklidy pro PET patří ¹⁸F nejčastěji využívaný ve formě 2-deoxy-2-(¹⁸F)fluoro-D-glukosy (FDG). Jedná se o analog glukosy, ve kterém je jedna z jeho hydroxylových skupin substituována pozitron emitujícím radionuklidem ¹⁸F. Struktura je uvedena na *Obrázku 2*.^[7] FDG se využívá v onkologii k detekci specifických typů rakoviny. Nádorové buňky mají rychlejší metabolismus a spotřebují proto větší množství glukosy než buňky zdravé. To má za následek i rychlejší akumulaci FDG. Oblasti s vyšší akumulací FDG jsou detekovány, identifikují se metastázy a určí se rozsah onemocnění u pacienta.^[2]

V neurologii se FDG používá pro identifikaci a sledování oblastí v mozku, ve kterých došlo ke změně příjmu glukosy. V případě těchto metabolických změn můžeme zjistit přítomnost onemocnění jako je Alzheimerova choroba, epilepsie nebo demence.^[22]

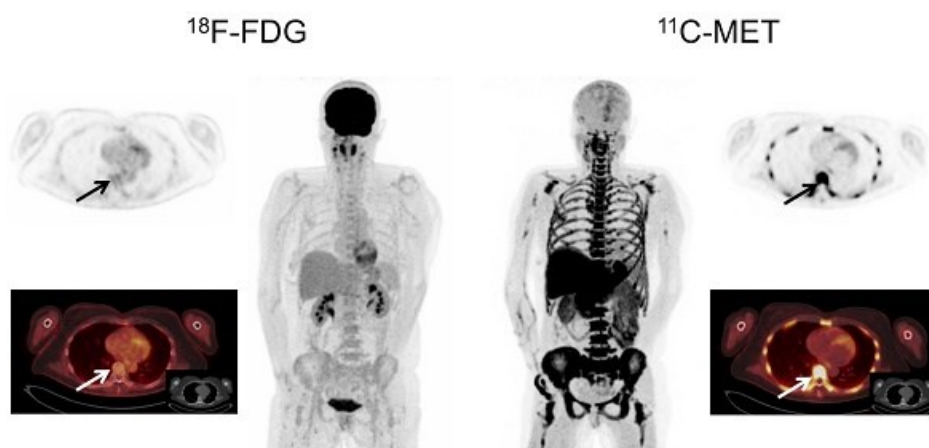
Dalším radionuklidem využívaným v oblasti neurologie a onkologie je ¹¹C, nejčastěji ve formě v ¹¹C-methioninu (*Obrázek 3*), který je určen pro detekci nádorových buněk v mozku. K jeho akumulaci dochází primárně v místech se zvýšenou syntézou proteinů a transportem aminokyselin. Tyto procesy indikují růst nádorových buněk a tedy i zvýšenou metabolickou aktivitu v poškozených buňkách mozku. Sledování aktivity ¹¹C-methioninu poskytuje lékařům důležité informace pro postup léčby v případě onemocnění pacienta.^[22]



Obrázek 2: Molekula (^{18}F)fluoro-D-glukosy



Obrázek 3: Molekula ^{11}C -methionínu



Obrázek 4: PET/CT snímek porovnávající akumulaci ^{18}F -FDG a ^{11}C -MET v oblasti kostní dřeně pacienta. Převzato z [23]

Z hlediska dostupnosti a snadné přípravy se kromě lehkých nuklidů nekovového typu využívají nuklidy těžkých kovů jako je například ^{64}Cu a ^{68}Ga (Tabulka 2). Ionty těžkých kovů ve volném stavu působí pro organismus toxicky, a proto je důležité je zakomplexovat vhodným ligandem. Komplexací iontu kovu dojde k vytvoření dostatečně termodynamicky stabilního a kineticky inertního komplexu.

Tabulka 2: Nejčastěji využívané kovové radioizotopy pro PET^[18]^[19]^[20]

Izotop	$t_{1/2}$ [h]	Způsob rozpadu	E [keV]	Produkce
⁶⁴ Cu	12,7	β^+ (19%) El. záchyt (41%) β^- (40%)	656	Cyklotron
⁶⁸ Ga	1,1	β^+ (90%) El. záchyt (10%)	1880	⁶⁸ Ge/ ⁶⁸ Ga generátor
⁸⁹ Zr	78,5	β^+ (23%) El. záchyt (77%)	897	Cyklotron

1.2 Koordinační chemie mědi

Měď se z hlediska postavení v periodické tabulce prvků nachází v 11. skupině a 4. periodě. V koordinačních sloučeninách se měď nejčastěji vyskytuje v oxidačních stavech +I a +II, sloučeniny mědi s nábojovým číslem III a IV jsou vzácné.

Geometrie komplexů mědi i koordinační čísla se liší v závislosti na konkrétním oxidačním stavu. V nejnižším oxidačním čísle +I se měď vyskytuje v elektronové konfiguraci d^{10} s diamagnetickým příspěvkem bez stabilizační energie ligandového pole. Zejména tento typ komplexů je labilní z důvodu nedostatečné kinetické stability, a proto nejsou velmi vhodné pro radiofarmaceutické účely. Měď v oxidačním čísle +I lze klasifikovat jako měkkou Lewisovu kyselinu tvořící komplexy přednostně s měkkými polarizovatelnými ligandy, jako jsou fosfíny, thioestery, nitrily, isonitrily, kyanidy, iodidy nebo thioláty.

Ve vodném prostředí se u mědi vyskytuje převažující oxidační stav +II s konfigurací d^9 , čím poskytuje stabilizaci krystalového pole. Pro měď v příslušné konfiguraci je charakteristická tvorba čtvercově planárních, trigonálně bipyramidálních a deformovaně oktaedrických komplexů, které preferují jako donorové atomy amin-*N*, imin-*N*, pyridin-*N*, karboxylát-*O*, případně thiol-*S*. U oktaedrických komplexů můžeme

pozorovat v důsledku Jahnova-Tellerova efektu tetragonální kompresi nebo axiální prodloužení. Cu^{II} je méně labilní vůči ligandové výměně (např. v porovnání se Cu^{I}) a pro svůj relativně malý iontový poloměr poskytuje preferenci pro tvorbu pětičlenných chelátových kruhů. [15]

1.2.1 Radioizotopy mědi a jejich produkce

Již několik let jsou radionuklidy mědi zájmem výzkumu pro jejich široké spektrum uplatnění, variaci poločasů rozpadu o rozdílné energii a druhů záření, jak je patrné v *Tabulce 3*. [19][20] Měď se přirozeně vyskytuje ve dvou stabilních izotopech ^{63}Cu a ^{65}Cu , mezi nejstabilnější radioizotopy patří ^{67}Cu , ^{64}Cu a ^{61}Cu . V důsledku jejich poločasů rozpadu (až několika hodin) je zabezpečen dostatečný čas na záchyt radionuklidu v cílové tkáni. Radioizotopy mědi s nukleonovým číslem nižším než 63 se přeměňují β^+ přeměnou za vzniku izotopů niklu (^{62}Ni , ^{61}Ni , ^{60}Ni). V případě nukleonových čísel vyšších než 66 dochází k β^- přeměně, kde jako produkty vystupují izotopy zinku (^{68}Zn , ^{67}Zn). Významným nuklidem je ^{64}Cu , který podléhá oběma typům β rozpadu. [32]

Tabulka 3: Radioizotopy mědi [19][20]

Radionuklid	$t_{1/2}$	Druh rozpadu	Zdroj výroby
^{60}Cu	23,7 min	β^+ (93 %), EZ (7 %)	Cyklotron
^{61}Cu	3,3 h	β^+ (62 %), EZ (38 %)	Cyklotron
^{62}Cu	9,7 min	β^+ (98 %), EZ (2 %)	Generátor/cyklotron
^{63}Cu	stabilní (69,2 %)	-	-
^{64}Cu	12,7 h	β^+ (19 %), EZ (41 %), β^- (40 %)	Reaktor/cyklotron
^{65}Cu	stabilní (30,8 %)	-	-
^{66}Cu	5,1 min	β^- (100 %)	Reaktor/cyklotron
^{67}Cu	61,8 h	β^- (100 %)	Reaktor/cyklotron

V případě jaderného rozpadu může dojít k produkci β^+ a β^- záření, ale i k elektronovému záchytu. ^{64}Cu lze připravit jak v cyklotronu, tak v reaktoru. O nízké měrné aktivitě je možné ^{64}Cu připravit aktivací měděných terčů záchytem tepelných neutronů v reaktoru $^{63}\text{Cu}(n,\gamma)^{64}\text{Cu}$. Lze dosáhnout i měrných aktivit vyšších, a to ozařováním zinkových terčů rychlými neutrony v cyklotronu $^{64}\text{Zn}(n,p)^{64}\text{Cu}$. Jednotlivé způsoby přípravy radioizotopu ^{64}Cu jsou uvedeny v *Tabulce 4*.

Tabulka 4: Příprava ^{64}Cu v cyklotronu ^{[17][19]}

Reakce	Výtěžek ^{64}Cu [MBq/ μAh]	Energie svazku [MeV]
$^{64}\text{Zn}(d,2p)^{64}\text{Cu}$	31	19,5
$^{66}\text{Zn}(d,\alpha)^{64}\text{Cu}$	8	14
$^{66}\text{Zn}(p,2pn)^{64}\text{Cu}$	777	70
$^{68}\text{Zn}(p,\alpha n)^{64}\text{Cu}$	12,2	26,5
	36,4	29
	28	26
	67	25
$^{64}\text{Ni}(p,n)^{64}\text{Cu}$	236	12
	185	15,5
$^{64}\text{Ni}(d,2n)^{64}\text{Cu}$	385 ^a	19

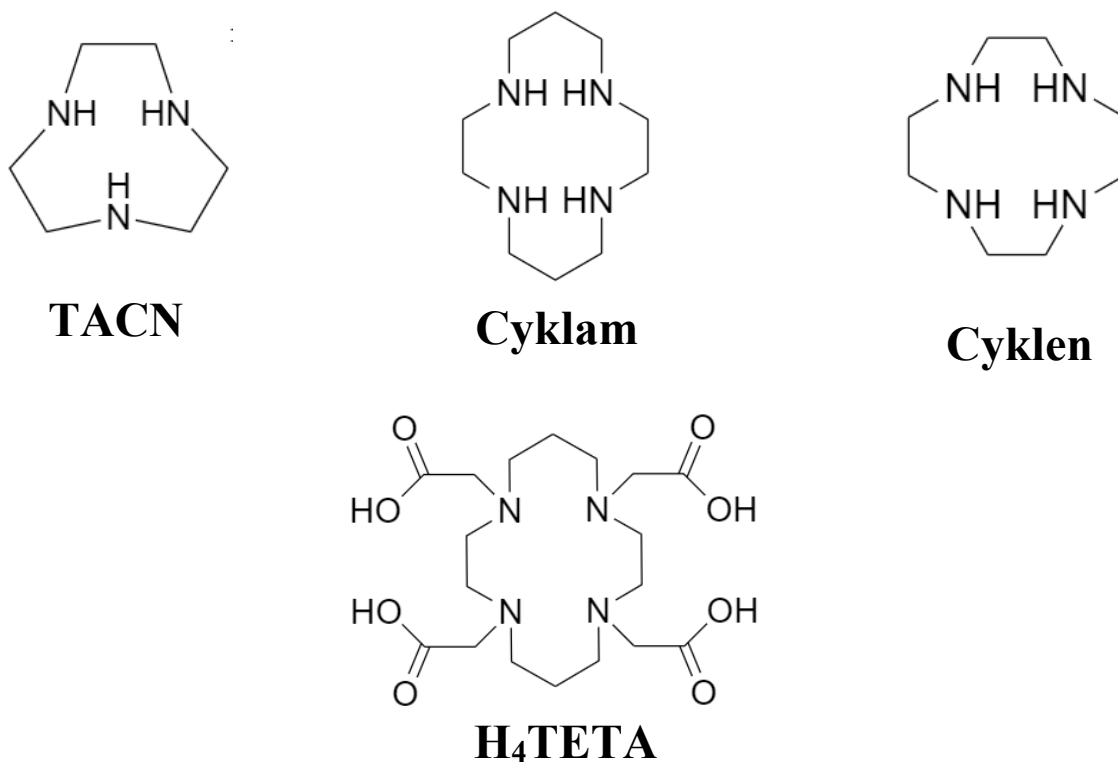
Tabulka 5: Příprava ^{64}Cu v reaktoru ^{[19][20]}

Reakce	Výtěžek ^{64}Cu [MBq/mg] materiálu ($A_{\text{celková}}$)	Tok neutronů [$\text{cm}^2 \cdot \text{s}$]	
		Termální	Rychlé
-	-	Termální	Rychlé
$^{\text{nat.}}\text{Cu}(n,\gamma)^{64}\text{Cu}$	56 (14 GBq) 0,7 (740 MBq)	$5 \cdot 10^{13}$	$8,5 \cdot 10^{12}$
$^{\text{nat.}}\text{Zn}(n,p)^{64}\text{Cu}$	0,4 0,2 (925 MBq)	$5 \cdot 10^{12}$	

1.2.2 Makrocyclické ligandy jako nosiče radioizotopů

V radiomedicině jsou používány v rámci kontrastních látek radioizotopy iontů těžkých kovů. Pokud nejsou ionty kovů *in vivo* vázány v pevných komplexech, dochází k jejich postupné akumulaci v orgánech a působí toxicky. Řešením je tedy výběr vhodných ligandů, které by plnili podmínky selektivity, aby nedocházelo k výměně iontu kovu jiným kovem nacházejícím se v organismu. Současně je nezbytné zajistit při výběru ligandu, aby vznikající komplexy byly kineticky inertní, termodynamicky stabilní a nedocházelo k jejich disociaci v organismu.

Od druhé poloviny 20. století je rozsáhlým předmětem výzkumu v koordinační chemii příprava a studium koordinačních vlastností makrocyclických ligandů. Jedná se o cykly obsahující alespoň devět atomů, včetně heteroatomů, a tři nebo více donorových míst, které se mohou vázat na centrální iont kovu. Základ příslušného chelátoru je tvořen polyaminovou sloučeninou s navázanými pendantními rameny, které obsahují vhodné skupiny splňující koordinační vlastnosti, jako například acetátové a amidové skupiny. Mezi nejčastější zástupce patří porfiríny, crown étery a polyazamakrocycly. ^[14] Několik příkladů ligandů pro stabilizaci mědi je uvedených na *Obrázku 5*. ^[21]

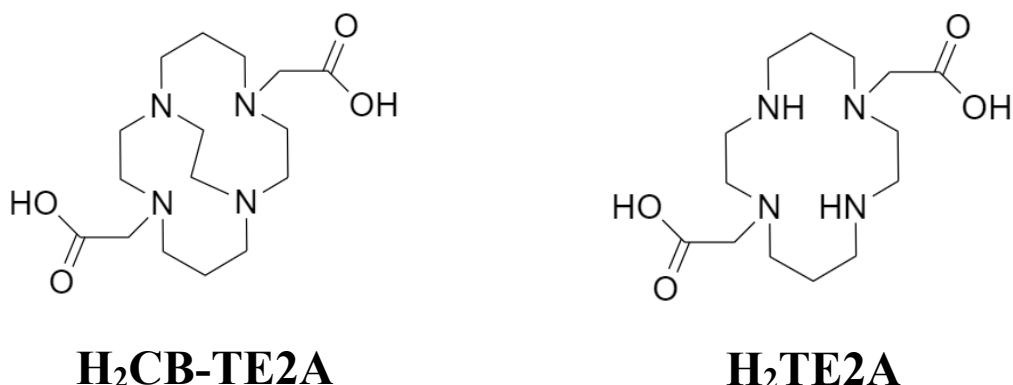


Obrázek 5: Struktury ligandů pro stabilizaci mědi

Schopnost příslušných ligandů vázat iont kovu do své struktury a vytvářet komplexy s vysokou kinetickou a termodynamickou stabilitou umožňuje makrocyclický efekt. Kombinace kinetické inertnosti komplexu a vysoké afinity mědi v oxidačním čísle +II k atomům dusíku se využívá pro tvorbu radiofarmak na bázi polyazamkrocyklů kompenzujících náboj prostřednictvím postranních pendatních ramen obsahující zejména oxo nebo thiolátové donorové skupiny.

H₄DOTA, neboli tetraxetan, je makrocyclický polydentátní ligand určen pro teranostické aplikace díky své vysoké termodynamické stabilitě a inertnosti komplexů. H₄DOTA jako chelatační činidlo vykazuje vysokou afinitou k dvoj a trojmocným kationtům (např. Cu²⁺, Ca²⁺, Gd³⁺, Y³⁺). V případě, že se na ní váže iont kovu s malým iontovým poloměrem, vystupuje jako hexadentátní ligand, vázející se přes čtyři dusíky a dva karboxyláty. Navázání iontu kovu s velkým iontovým poloměrem vede ke vzniku oktaedrického okolí komplexu. Z hlediska dostupnosti a praktické aplikace se nejčastěji pro komplexaci ⁶⁴Cu využívá ligand H₄DOTA. Termodynamická stabilita daného ligandu (log β = 22,1) je podobná stabilitě komplexu Cu(TETA) (log β = 22,2).^[33,34]

Z řady doposud syntetizovaných ligandů se často používá i tetraazamakrocyclický ligand cyklam (1,4,8,11-tetraazacyklotetradekan) patřící do skupiny aza-crown éterů. V kombinaci s měďnatými kationty vytváří v *in vivo* komplex s výraznou kinetickou inertností. Cyklamový skelet obsahuje čtyři sekundární aminy, které vzhledem ke stabilizaci iontu kovu a orientaci N-H center můžou vytvářet různé diastereoméry. Koordinační skupiny navázané na tato centra poskytují rozmanitou skupinu ligandů jakou jsou například polyaminokarboxyláty na *Obrázku 6*.^[21]



Obrázek 6: Struktury derivátů cyklamu.

1.3 Koordinační chemie gallia

Gallium se nachází v periodické tabulce prvků ve 13. skupině a 4. periodě. Nejčastěji se vyskytuje ve formě trojmocného iontu Ga^{3+} , který je stabilní v kyselém prostředí a ve vodném prostředí tvoří aquakomplexy. V závislosti na pH prostředí vznikají různé sloučeniny gallia. V rozmezí hodnot pH 3–7 vzniká nerozpustný $\text{Ga}(\text{OH})_3$, naopak v bazickém prostředí vzniká $[\text{Ga}(\text{OH})_4]^-$. Vysoká hodnota náboje a malý iontový poloměr umožňuje tvorbu oktaedrických a tetraedrických komplexů. Biologické vlastnosti a koordinační chemie gallia je podobná železu. Hlavním důvodem je stejný oxidační stav +III, podobný iontový poloměr ($r_{\text{Ga}^{3+}} = 0,62 \text{ \AA}$, $r_{\text{Fe}^{3+}} = 0,65 \text{ \AA}$) a schopnost vytvářet oktaedrické okolí. Výsledkem zmíněných podobností je „Ga-ligandová záměna“ za kationt kovu Fe^{3+} v biomolekulách vykazujících vysokou afinitu vůči kationtu železa (např. transferrin). Ligandovou záměnu lze využít v zobrazovacích metodách (PET nebo SPECT) s použitím vhodných izotopů gallia. [13,33]

1.3.1 Radioizotopy gallia a jejich produkce

Gallium v přírodní formě tvoří dva stabilní izotopy, a to ^{69}Ga a ^{71}Ga . Mezi nejstabilnější a komerčně dostupné patří radioizotopy ^{67}Ga ($t_{1/2} = 3,3$ dne) a ^{68}Ga ($t_{1/2} = 68$ min). ^{67}Ga je produkován v cyklotronu a pro svou schopnost vyzařovat gamma záření po elektronovém záchytu se využívá v nukleární medicíně v procesu zvaném gallium scan. Jedná se o speciální typ vyšetření, pomocí kterého se získává obraz cíleného typu specifických tkání a míst, ve kterých došlo k zánětu, infekci nebo vzniku rakoviny. Jako kontrastní látky lze použít soli ^{67}Ga , např. ^{67}Ga -citrát a ^{67}Ga -nitrát. [13]

^{68}Ga je pro svůj relativně krátký poločas rozpadu ($t_{1/2} = 68$ min) vhodným β^+ zářičem používaným v pozitronové emisní tomografii (PET). Radioaktivní značení ^{68}Ga lze využít v PET například pro zobrazování neuroendokrinních nádorů. Mezi další významné benefity patří vysoká frakce pozitronové emise ($\beta^+ = 89 \%$) a použití nižších efektivních koncentrací kontrastních látek na bázi Ga^{68} , což představuje nižší radiační zátěž pacienta. Hlavním zdrojem ^{68}Ga je $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ generátor (Obrázek 7) fungující na principu využití rozdílných poločasů přeměny mateřského radionuklidu ^{68}Ge ($t_{1/2} = 270$ dní) a dceřiného ^{68}Ga . Generátor je vybaven stacionární fází (např. s obsahem TiO_2), která představuje sorbent pro imobilizaci ^{68}Ge . Postupnou elucí 0,1 M HCl lze získat ^{68}Ga ve formě $^{68}\text{GaCl}_3$. Eluát se následně využívá pro značení jak makrocyclických, tak acyclických ligandů, kterým bude věnována pozornost v další kapitole.



Obrázek 7: $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ generátor. Převzato z [5]

1.3.2 Ligandy pro stabilizaci gallia

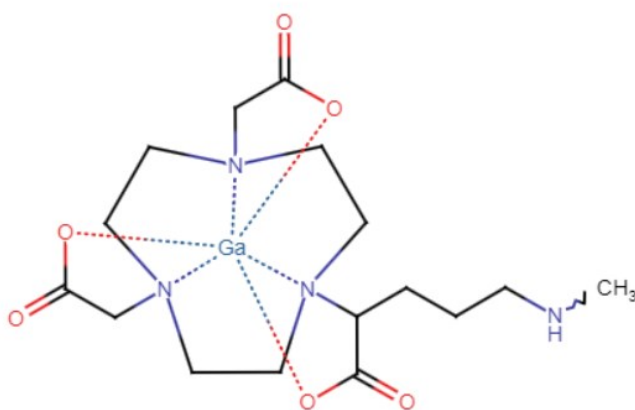
Výběr vhodného ligandu pro komplexaci kationtu $^{68}\text{Ga}^{3+}$ se odvíjí od několika specifických parametrů podmiňujících termodynamickou stabilitu a kinetickou inertnost komplexu. Vzhledem na oxidační stav +III a malý iontový poloměr řadíme Ga^{3+} mezi tvrdé Lewisovy kyseliny, což mu umožňuje silně se vázat na donorové atomy například dusíku a kyslíku za vzniku oktaedrických komplexů. Rovněž tak vytváří převážně termodynamicky stabilní komplexy s karboxylátovými, fosfonátovými, hydroxamátovými a aminovými skupinami. Doposud byly zjištěny i případy vazby na měkké donorové atomy ze skupiny thiolátů a fenolátů. [11]

Pro praktické aplikace v medicíně jsou vhodnější ligandy makrocyclické, které v porovnání s acyklickými poskytují větší kinetickou inertnost díky tzv. makrocyclickému efektu. V důsledku příslušného efektu se minimalizuje riziko dekomplexace *in vivo*. Pro komplexaci se nejčastěji používají deriváty polyazamakrocyklů jako je např. H_3NOTA a H_4DOTA . [16]

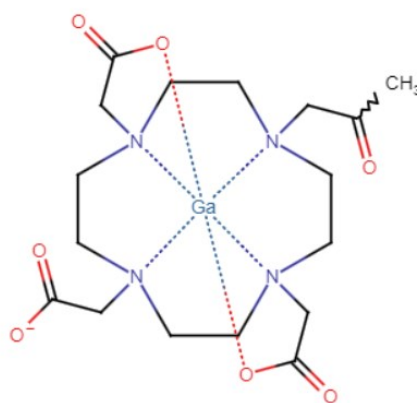
Ga^{3+} je v ligandu H_4DOTA koordinován prostřednictvím donoru N_4O_2 a pendentními rameny s dvěma karboxylovými skupinami v *cis* konformaci, což vede ke vzniku $\text{Ga}(\text{DOTA})$ komplexu. H_4DOTA je nejčastěji používaným chelátorem díky své dostupnosti.

Komplexaci Ga^{3+} lze docílit i zavedením bočních donorových skupin (např. thiol-*S*, karboxylát-*O* a fosfonát-*O*) na sekundárních aminech příslušných multidentátních derivátů polyazamakrocyklů TACN a cyklen.

Vysokou konformační a velikostní selektivitu vůči $^{68}\text{Ga}^{3+}$ vykazují triazacyklononanové deriváty NOTA, které vážou kationt kovu pseudooktaedricky-*fac*- N_3O_3 . Výsledkem je vznik komplexů $\text{Ga}(\text{NOTA})$ s $\log \beta_1 = 30,7$ s neutrálním celkovým nábojem při fyziologickém pH vykazujících termodynamickou stabilitu přibližně o devět řádů vyšší než u komplexu $\text{Ga}(\text{DOTA})$ $\log \beta = 21,3$.^[33,34] Konjugaci $\text{Ga}(\text{NOTA})$ s cílenými vektory lze docílit pomocí jedné ze tří dostupných funkčních karboxylových skupin. Tím zároveň nemůže být zajištěna preferovaná stabilní oktaedrická koordinace a komplex získává kladný náboj *in vivo*.



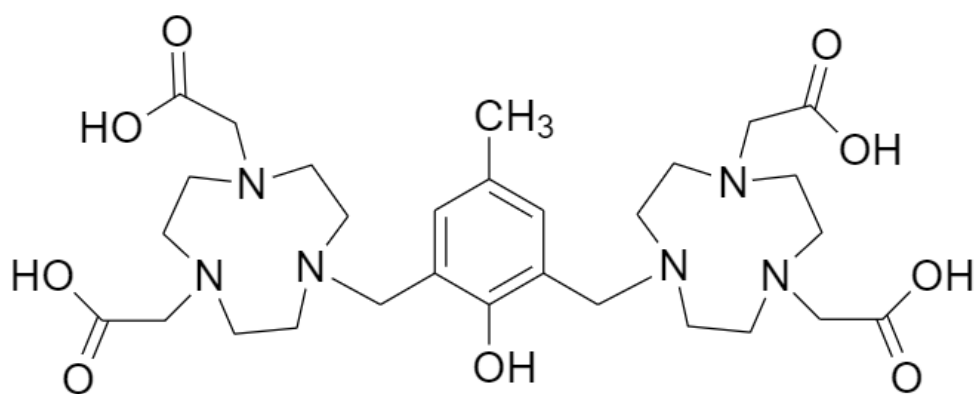
Obrázek 8: $^{68}\text{Ga}(\text{DOTA})$ komplex



Obrázek 9: $^{68}\text{Ga}(\text{NOTA})$ komplex

2 Cíl práce

Pro schopnost vázat iont kovu prostřednictvím více donorových atomů hrají polydentátní ligandy zásadní roli při tvorbě stabilních a složitých komplexů. V oblasti výskumu radiomedicíny se jako pendatní ramena polydentátních ligandů používají fenolátové deriváty. Fenolát umožňuje napojení dvou makrocyklů a tvorbu ditopických komplexů. Cílem této práce je syntéza a charakterizace navrženého ligandu **H₅L** (Obrázek 10) pro komplexaci Cu²⁺ a Ga³⁺ iontů. Pro větší termodynamickou stabilitu a kinetickou inertnost komplexu byl použit derivát makrocyklu 1,4,7-triazacyklononanu s dvěma pendantními rameny obsahujícími karboxylové skupiny. Makrocykly jsou propojeny můstkem na bázi *p*-kresolu. Přítomnost makrocyklů umožňuje koordinaci dvou iontů kovu, což v případě jejich radioaktivní přeměny vede k většímu emitování záření, a tedy i většímu kontrastu, který poskytuje lepší zobrazení cílového orgánu pacienta.



H₅L

Obrázek 10: Struktura navrženého ligandu

3 Experimentální část

3.1 Použité chemikálie

Výchozí chemikálie i rozpouštědla použitá pro přípravu látek byly získány z komerčních zdrojů od firem Lachema a Sigma-Aldrich.

3.2 Metody charakterizace

3.2.1 Nukleární magnetická rezonance (NMR)

Měření spekter ^1H a ^{13}C NMR bylo provedeno na přístrojích Varian VNMRS 300 a Varian VNMRS 400. Jednotlivé hodnoty chemických posunů jsou uváděny v jednotkách ppm. V rámci měření byly použité standardy *t*-BuOH ($\delta_{\text{H}} = 1,25$ ppm, $\delta_{\text{C}} = 30,30$) a tetramethylsilan (TMS, $\delta_{\text{H}} = 0$, $\delta_{\text{C}} = 0$) a jako rozpouštědla CDCl_3 (99,8 %) a D_2O (99,95 %).

3.2.2 Hmotnostní spektrometrie

Hmotnostní spektra byly změřena a na spektrometru Waters ACQUITY QDa s ionizací elektrosprejem (ESI).

3.2.3 Tenkovrstvá a sloupcová chromatografie

Tenkovrstvá chromatografie (TLC) byla vykonána na aluminiových destičkách s nanosenou vrstvou silikagelu značky Merck TLC (silica gel 60 F₂₅₄ plates). V části Syntéza jsou uvedeny mobilní fáze a retenční faktory. Detekce jednotlivých látek byla provedena UV lampou MINERALIGHT® LAMP při vlnových délkách 254 a 366 nm a vybarvením Dragendorffovým činidlem nebo 5 % roztokem modré skalice ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) a zahřátím horkovzdušnou pistolí.

Purifikace látek byla provedena sloupcovou chromatografií na koloně silikagelu (Silica gel 60 Merck) s použitím mobilní fáze EtOH : NH_3 (20:1)

3.2.4 Vysokoučinná kapalinová chromatografie (HPLC)

Separace a analýza látek byla provedena na přístroji Waters Arc HPLC System s UV/VIS detektorem. Pro dělení byla použita kolona C18 CORTECS (2,7 μm , 4,6×50 mm) s průtokem 50,00 ml/min, jako mobilní fáze byly použity mobilní fáze **A** ($\text{H}_2\text{O} + 0,1\%$ TFA) a mobilní fáze **B** (ACN + 0,1% TFA).

3.2.5 Iontoměničová chromatografie

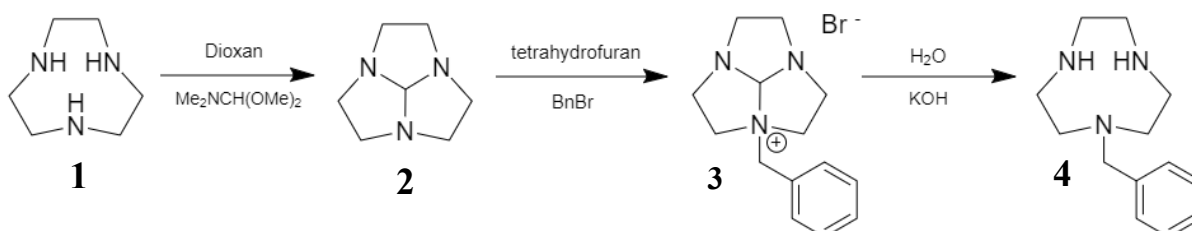
Iontoměničová chromatografie byla provedena na silném katexu DOWEX 50 s použitím 10% pyridinu ve vodě, který sloužil jako eluční směs.

3.2.6 UV-VIS titrace

Metoda UV-VIS titrace byla použita pro přípravu mědnatého komplexu. Měření byla provedena na spektrofotometri Analytikjena SPECOR® 50 v rozmezí vlnových délek ($\lambda = 190 - 800 \text{ nm}$), při teplotě ($T = 25 \text{ }^\circ\text{C}$) a koncentraci ligandu $c(\text{H}_5\text{L}) = 1,604 \text{ mM}$. Získaná data byla vynesena do grafu pro další studium vlastností komplexu.

3.3 Syntéza

3.3.1 1-benzyl-1,4,7-triazacyklononan (4) ^{[11][12]}



V 250ml baňce bylo ve směsi 30 ml 1,4-dioxanu a 3,32 g ($n = 27,8 \text{ mmol}$) *N,N*-dimethylformamid dimethylacetalu rozpuštěných 3,00 g (23,3 mmol) 1,4,7-triazacyklononanu. Směs byla následně refluxována pod zpětným chladičem při teplotě lázně $105 \text{ }^\circ\text{C}$ 3 hodiny. Po ukončení refluxu byla směs ponechána vychladnout na laboratorní teplotu a odpařena na rotační vakuové odparce do oleje, ke kterému bylo přidáno 23 ml THF. Za intenzivního míchání bylo pomalu přidáváno 3,5 g ($n = 20,5 \text{ mmol}$) BnBr rozpuštěného v 23 ml THF. K takto připravené směsi bylo přidáno ještě 15 ml THF a směs byla míchána přes noc. Vyloučená pevná látka byla následně odfiltrována, promyta 10 ml THF a rozpuštěna ve směsi 15 ml H_2O , 30 ml EtOH a 7 g KOH . Směs byla zahřívána k varu pod zpětným chladičem po dobu 3 dní. Připravená směs byla odpařena na RVO. Odparek byl rozpuštěn v 10 ml H_2O a produkt byl extrahován do CH_2Cl_2 (3x50 ml). Spojené frakce obsahující produkt byly odpařeny na RVO, rozpuštěny v 8 ml 6M HCl . Rozpouštědla byla odpařena. Získaný odparek byl rozpuštěn v 5 ml H_2O a bylo přidáno 10 ml EtOH a směs byla ponechána krystalizovat v lednici. Produkt byl následně odfiltrován na fritě S4, výtěžek reakce činil 1,23 g (4), což představuje 59 % teoretického výtěžku reakce. Příprava látky (4) byla

zreprodukována se vstupní množství 2,00 g (15,5 mmol) látky (**1**). Výsledkem reakce bylo 1,35 g látky $4 \cdot 2\text{HCl} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, což činí 40 % teoretického množství.

Charakterizace látky (**4**):

TLC: mobilní fáze: EtOH : NH_3 (20:1), detekce: Dragendorffovo činidlo

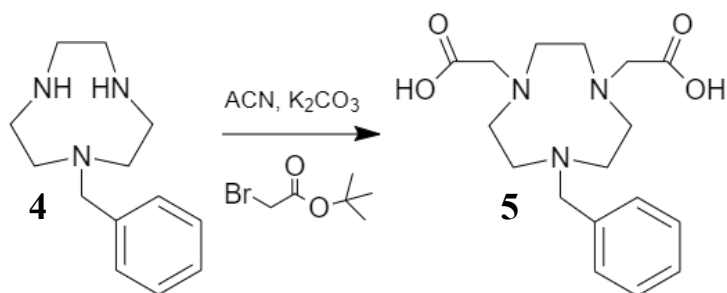
(žlutooranžová skvrna), $R_f = 0,7$

MS: (+) 219,8 ($\text{M} + \text{H}^+$)

NMR (D_2O): ^1H δ 2,94 ($\text{CH}_2\text{—N}(\text{Bn})$, 4H, t, $^3J_{\text{HH}} = 5,3$), δ 3,12 ($\text{CH}_2\text{—CH}_2\text{—N}(\text{Bn})$, 4H, t, $^3J_{\text{HH}} = 6,1$ Hz) δ 3,54 ($\text{NH—CH}_2\text{—CH}_2\text{—N}(\text{Bn})$, 4H, s), δ 3,82 ($\text{N—CH}_2\text{—C}$, 2H, s), δ 3,12, δ 7,36 (arom, 5H, s);

^{13}C δ 44,5 ($\text{CH}_2\text{—CH}_2\text{—N}(\text{Bn})$, 2C, s); 45,9 ($\text{NH—CH}_2\text{—CH}_2\text{—NH}$, 2C, s); 50,4 ($\text{CH}_2\text{—N}(\text{Bn})$, 2C, s); 61,3 ($\text{N—CH}_2\text{—C}$, 2C, s); 129,9 (C—CH—CH—CH , 1C, s); 131,2 (arom., 2C, s); 132,7 (arom., 2C, s); 137,2 (arom., 1C, s)

3.3.2 Di-*t*-butyl 2,2'-(7-benzyl-1,4,7-triazacyklonan-1,4-diyl)diacetát (**5**)



1,0 g (4,6 mmol) látky (**4**) bylo rozpuštěno za intenzivního míchání ve směsi 1,79 g (12,9 mmol 4,0 ekv.) K_2CO_3 a 80 ml acetonitrilu. Pomocí přikapávačky bylo pomalu přikapáváno 1,26 g (6,5 mmol 2,0 ekv.) *t*-butylbromacetátu rozpuštěného v 120 ml acetonitrilu. Následně byla směs míchána za laboratorní teploty po dobu 3 dnů. Pevný podíl byl odfiltrován na fritě a filtrát byl odpařen na RVO za vzniku oleje žluté barvy. Produkt byl vyčištěn na sloupci silikagelu flash chromatografií za použití eluční směsi EtOH : NH_3 (30:1). Celkový výtěžek činil 2,18 g v podobě bezbarvého oleje, což představuje 70 % teoretického výtěžku.

Charakterizace látky (5):

TLC: mobilní fáze: EtOH : NH₃ (20:1), detekce: Dragendorffovo činidlo

(žlutooranžová skvrna), $R_f = 0,45$

MS: (+) 444,8 ($M + H^+$), 392,3 ($M - tBu + 2H^+$), 336,2 ($M - 2 tBu + 3H^+$)

NMR (CD₃Cl): ¹H δ 1,42 (C-(CH₃)₃, 18H, s), δ 2,82 (N(Bn)-CH₂-CH₂-N(ac), 8H,

s), δ 2,94 (N(ac)-CH₂-CH₂-N(ac), 4H, s), δ 3,25 (N-CH₂-COO), 4H, s), δ 3,74

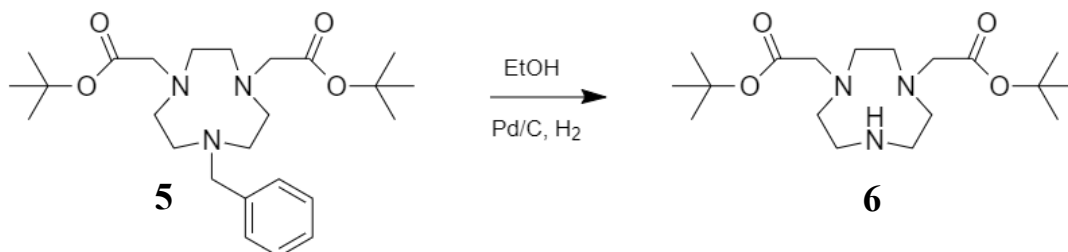
(N-CH₂-C, 2H, s), δ 7,28 (arom, 5H, s;

¹³C δ 30,6 (C-(CH₃)₃, 6C, s); 51,7 + 53,8 + 55,3 (C cyklick., 6C (2C + 2C + 2C) s); 60,5

(N-CH₂-COO, 2C, s); 61,3 (N-CH₂-C, 1C, s); 84,0 (C-(CH₃)₃, 2C, s); 132,4

(C arom, 5C, m); 172,6 (COO, 2C, s);

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



1,34 g (3,0 mmol) látky (5) bylo rozpuštěno ve směsi 30 ml bezvodého EtOH a 0,13 g 10% Pd/C katalyzátoru. Směs byla míchána za laboratorní teploty pod vodíkovou atmosférou po dobu 2 dnů. Pevná složka směsi byla odfiltrována na fritě a filtrát byl odpařen za vzniku oleje. Výtěžek reakce činil 0,84 g, což představuje 79 % teoretického množství.

Charakterizace látky:

TLC: mobilní fáze: EtOH : NH₃ (20:1), detekce: Dragendorffovo činidlo

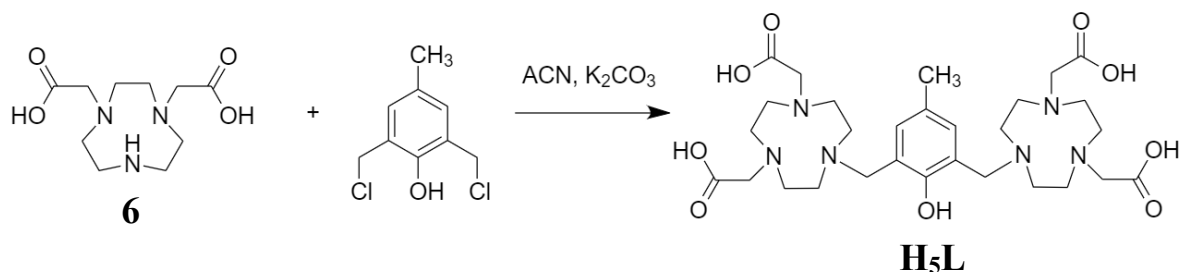
(žlutooranžová skvrna), $R_f = 0,52$

MS: (+) 358,4 ($M + H^+$), 302,2 ($M - tBu + 2H^+$), 246,2 ($M - 2tBu + 3H^+$)

NMR (CD₃Cl): ¹H δ 1,42 (C-(CH₃)₃, 18H, s), δ 2,82 (N(ac)-CH₂-CH₂-N(ac),

4H, s), δ 3,06 (N(ac)—CH₂—CH₂—NH, 4H, s), δ 3,25 (N(ac)—CH₂—CH₂—NH, 4H, s),
 δ 3,42 (N—CH₂—COO), 4H, s);
¹³C δ 20,2 (C—(CH₃)₃, 6C, s); 44,3 (N(ac)—CH₂—CH₂—NH), 2C, s), 48,8
(N(ac)—CH₂—CH₂—NH), 2C, s), 51,9 (N(ac)—CH₂—CH₂—N(ac), 2C, s), 56,8
(N—CH₂—COO), 2C, s), 81,8 (C—(CH₃)₃, 2C, s), 170,9 (COO), 2C, s);

3.3.4 Kyselina (2-hydroxy-5-methyl-1,3-fenylen)bis(methylen-1,4,7-triazonan-4,7-triyl)tetrakarboxylová (H₅L)



0,86 g (2,4 mmol) látky (**6**) bylo rozpuštěno v roztoku 60 ml acetonitrilu, 1,00 g (7,2 mmol 3,0 ekv.) K₂CO₃ a 0,22 g (1,0 mmol) 2,6-bis(chlormethyl)-4-methylfenolu. Baňka s reakční směsí byla chlazená ledovou lázní, směs byla míchána přes noc. Pevný podíl byl odfiltrován na fritě S4 a směs byla odpařena na RVO za vzniku olejovité kapaliny. Olej byl rozpuštěn ve směsi 20 ml CH₂Cl₂ a 10 ml CF₃CO₂H. Směs byla míchána přes noc při laboratorní teplotě. Následně byla směs odpařena na RVO, odparek byl poté dvakrát rozpuštěn dvakrát v 10 ml H₂O a znovu odpařen. Odparek byl posléze rozpuštěn v 20 ml vodného roztoku NaHCO₃ a produkt byl extrahován do CH₂Cl₂ (3x50 ml). Organická fáze byla vysušena bezvodým Na₂SO₄. Pevný podíl byl odfiltrován na fritě a směs byla odpařena na RVO. Po odpaření bylo přidáno 10 ml vody a 10 ml acetonitrilu a směs obsahující produkt byla nanášena na kolonu modifikovaného silikagelu (C18-120g) a eluována roztokem **A** (H₂O + 0,1% TFA) a **B** (ACN + 0,1% TFA). Po odpaření směsi na RVO byl získán produkt ve formě oleje růžovočerveného zbarvení. Produkt byl následně pomocí Pasteurovy pipety přemístěn do 25ml slzy baňky. Produkt byl následně lyofilizován, výsledkem byl bělorůžový prášek, jehož hmotnost činila 300 mg, což představuje 44 % teoretického výtěžku.

Charakterizace látky:

TLC: mobilní fáze: EtOH : NH₃ (20:1), detekce: Dragendorffovo činidlo

(žlutooranžová skvrna), $R_f = 0,65$

MS: (+) 847,9 (M + H⁺), 848,9 (M + 2H⁺), 849,9 (M + 3H⁺)

3.3.5 Příprava komplexů

Gallitý komplex [Ga(L)]

50 mg ($n = 0,059$ mmol) ligandu bylo převedeno do 50ml odměrné baňky a rozpuštěno v 5,00 ml destilované vody. K vodnému roztoku ligandu byl přidán 30 mg ($n = 0,12$ mmol) Ga(NO₃)₃ · xH₂O ($\approx 2,0$ ekv.) a pH bylo upraveno pomocí 0,01 M LiOH na hodnotu 4. Baňka byla poté zahřívána na 80 °C po dobu 20 minut, posléze byla ponechána vychladnout na laboratorní teplotu. Následně bylo pH upraveno na hodnotu 8, čímž došlo k vysrážení Ga³⁺ iontů ve formě Ga(OH)₃. Roztok byl přefiltrován přes mikrofiltr a jeho hodnota byla upravena 6 M HCl na hodnotu 6. Roztok byl odpařen na RVO, k odparku bylo přidáno 5 ml 0,5 M LiClO₄.

Měďnatý komplex [Cu(L)]

100 mg ($n = 0,12$ mmol) ligandu bylo převedeno do 10ml odměrné baňky, baňka byla poté doplněná destilovanou vodou po rysku. Následně byl připraven pufr o koncentraci 0,4 M (*N,N*-dimethylpiperazín + 6 M HCl), z kterého byl odebrán 1 ml a převeden do 3 ml kyvety. K danému množství pufru bylo přidáno 0,7 ml destilované vody a 0,3 ml vodného roztoku ligandu. Do kyvety bylo následně pomocí automatické pipety přidáno 10 μl standardního roztoku 0,005 M CuCl₂ (při studiu komplexu ve VIS oblasti) a 10 μl standardního roztoku 0,0005 M CuCl₂ (při studiu komplexu v UV oblasti). Postup byl opakován 50-krát, vznik komplexu byl studován pomocí UV-VIS titrace.

4 Výsledky a diskuze

4.1 Syntéza ligandu

Podle Schématu 1 byla provedena syntéza ligandu (**H₅L**). Postup pro přípravu látek (**1-5**) byl reprodukován z bakalářské práce J. Holuba. ^[24]

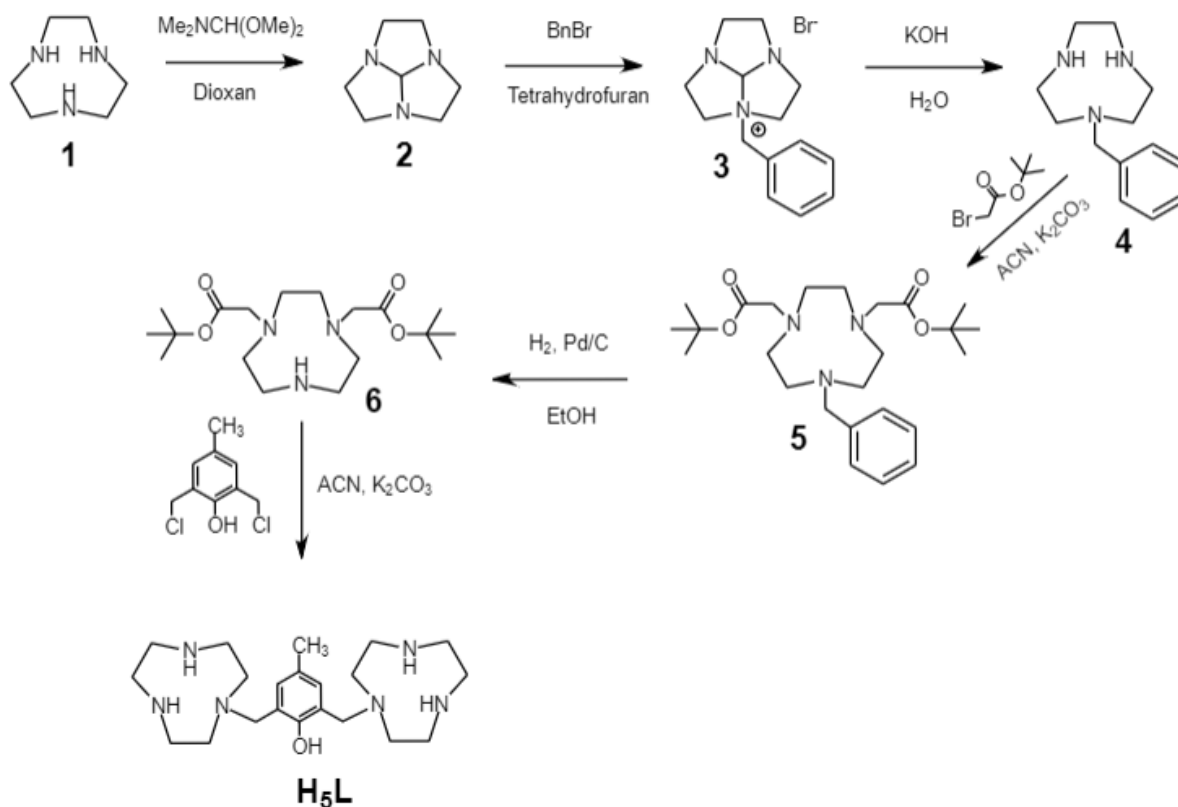


Schéma 1 Příprava ligandu

Prvním krokem syntézy navrženého ligandu byla reakce makrocyklu (**1**) a *N,N*-dimethylformamid-dimethylacetalem v dioxanu, který umožňuje vznik karbamátového můstku (**2**), což umožňuje selektivní monoalkylaci pomocí BnBr. Reakce BnBr s látkou (**2**) rozpuštěnou v tetrahydrofuranu vedla ke vzniku kvarterní amoniové soli (**3**). Bazickou hydrolyzou byl odstraněn karbamátový můstek, výsledkem byl vznik látky (**4**). K produktu (**4**) byla přidána 6M HCl a po vícenásobném odpaření na RVO byl produkt rekrystalizován z vody přidavkem EtOH za vzniku hydrochloridu $4 \cdot 2\text{HCl} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ve formě bílého prášku.

Hydrochlorid makrocyklu (**4**) s navázanou benzylovou skupinou byl rozpuštěn ve směsi ACN a K_2CO_3 a za pomalého přikapávání byl přidáván *t*Bu-bromoacetát rozpuštěný v ACN pro navázání *t*Bu-acetátových skupin na volné atomy dusíku makrocyklu. Látka (**5**) byla vyčištěna na sloupci silikagelu flash chromatografií za použití eluční směsi EtOH/ NH_3 (30:1). Katalytická redukce benzylové skupiny pod vodíkovou atmosférou pomocí 10% Pd/C vedla ke vzniku látky (**6**).

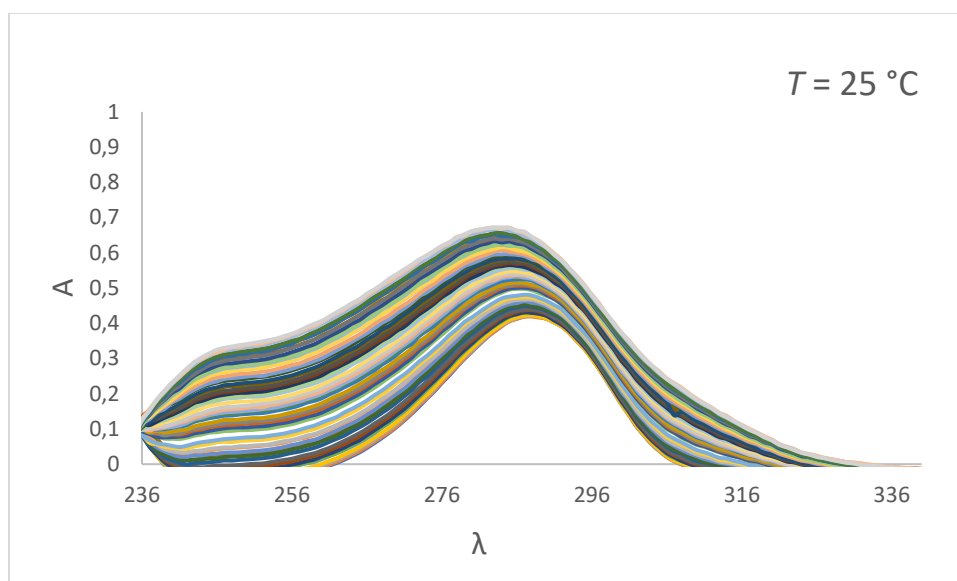
K připravené látce (**6**) bylo přidáno alkylační činidlo 2,6-bis(chlormethyl)-4-methylfenol rozpuštěný ve směsi ACN a K_2CO_3 . Reakční směs byla chlazená ledovou lázní.

Připravená látka (7) byla odpařena na RVO za vzniku olejovité kapaliny, ke které byla přidána směs $\text{CH}_2\text{Cl}/\text{CF}_3\text{CO}_2\text{H}$ (2:1) pro odstránění *t*butylových skupin. Produkt (**H₅L**) byl dočištěn na silném katexu v H^+ cyklu pro odstránění $\text{CF}_3\text{CO}_2\text{H}$ a jiných nečistot. Odpařením produktu na RVO se eliminovala pyridinová frakce, výsledkem byl vznik oleje světleřůžové barvy. Po vychladnutí na laboratorní teplotu byl na závěr produkt lyofilizován.

4.2 Studium [Cu(L)] komplexu

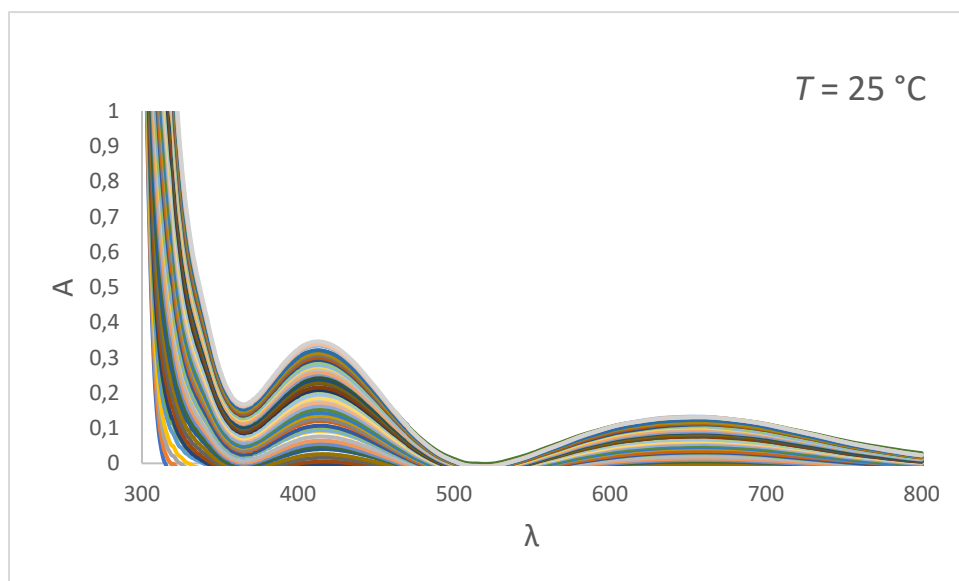
Měďnatý komplex [Cu(L)] byl připraven rozpuštěním návažky ligandu v destilované vodě, ke které byl přidán 0,4 M *N,N*-dimethylpiperazinový pufr. Do směsi obsahující ligand, o koncentraci $c(\text{H}_5\text{L}) = 1,604 \text{ mM}$, byl postupně přidáván standardní roztok 0,005 M CuCl_2 při studiu komplexu ve VIS oblasti ($\lambda = 400 - 800 \text{ nm}$, $T = 25 \text{ }^\circ\text{C}$, Graf 2,3) a 0,0005 M CuCl_2 při studiu v UV oblasti ($\lambda = 235 - 340 \text{ nm}$, $T = 25 \text{ }^\circ\text{C}$, Graf 1,4). Komplex byl studován při $\text{pH} = 3,25$.

Graf 1: Studium [Cu(L)] komplexu v UV oblasti



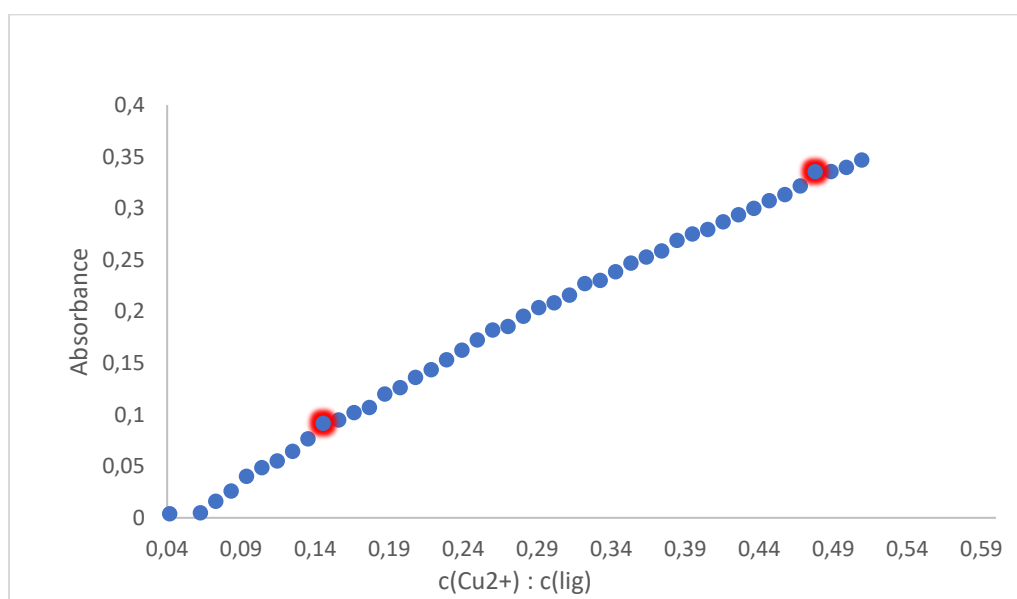
Ze získaných dat je patrné, že v oblasti vlnové délky $\lambda \approx 285 \text{ nm}$ dochází k CT přechodům a přechodům na aromatickém cyklu.

Graf 2: Studium [Cu(L)] komplexu ve VIS oblasti



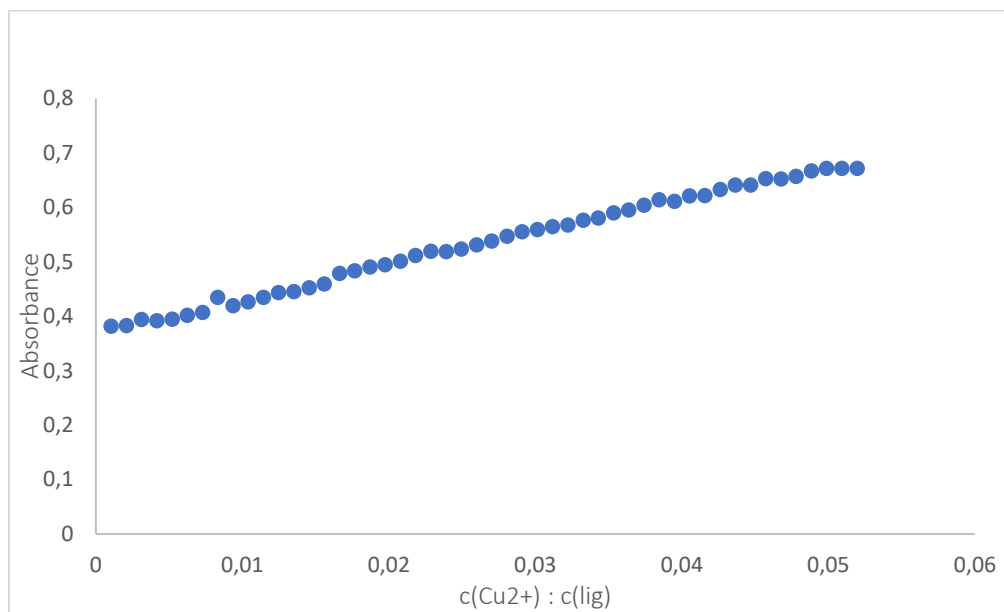
Při vlnové délce $\lambda \approx 654\text{ nm}$ byly pozorovány d-d přechody ve VIS oblasti [Cu(L)] komplexu

Graf 3: Závislost absorbance A na poměru molárních koncentrací kationt : ligand ve VIS oblasti



Poznámka: Barevně vyznačené body označují oblasti komplexace mědi v ligandu H_5L

Graf 4: Závislost absorpance A na poměru molárních koncentrací kationt : ligand v UV oblasti



5 Závěr

V rámci této práce byl připraven ligand (**H₅L**) společně s Cu²⁺ komplexem. Připravený komplex [Cu(L)] byl studován UV-VIS titrací při vlnových délkách ($\lambda = 235 - 340$ nm) a ($\lambda = 400 - 800$ nm). Výsledkem měření bylo pozorování d-d přechodů ve viditelné oblasti při vlnové délce ($\lambda \approx 654$ nm), což představuje navázání iontu Cu²⁺ do kavit mikrocyklů, dále byly pozorovány přechody CT a přechody na aromatickém cyklu ($\lambda \approx 285$ nm).

Seznam použité literatury

- [1] Ptáčník, V.; Zogala, D. ^{18}F -fluciclovine PET/CT in prostate cancer. *Urol. Praxi* 2021, 22 (1), 5–8.
- [2] Lowentritt, B. H.; Kipper, M. S. Understanding and Improving ^{18}F -Fluciclovine PET/CT Reports: A Guide for Physicians Treating Patients with Biochemical Recurrence of Prostate Cancer. *Prostate Cancer* 2020
- [3] McQuade, P.; Rowland, D.J.; Lewis, J.S.; Welch, M.J. *Curr. Med. Chem.* 12, 2005, 807.
- [4] Ikotun, S.; Lapi, E. *Future Med. Chem.* 3, 2011, 599.
- [5] Wadas, T.J.; Wong, E.H.; Weisman, G.R.; Anderson, C.J. *Curr. Pharm. Des.* 13, 2007, 3.
- [6] Weissleder, R. Molecular Imaging in Cancer. *Science* 2006, 312 (5777), 1168–1171.
- [7] Krčál, J. 2-[^{18}F]-FDG. *RadioMedic s.r.o.*
- [8] *Radiation Basics*. NRC Web. <https://www.nrc.gov/about-nrc/radiation/health-effects/radiation-basics.html> (accessed 2022-11-07).
- [9] Gillings N. Radiotracers for positron emission tomography imaging. *Magma* (New York, N.Y.) [online]. 2013, 26(1).
- [10] Ido, T.; Wan, C.-N.; Casella, V.; Fowler, J. S.; Wolf, A. P.; Reivich, M.; Kuhl, D. E. Labeled 2-Deoxy-D-Glucose Analogs. ^{18}F -Labeled 2-Deoxy-2-Fluoro-D-Glucose, 2-Deoxy-2-Fluoro-D-Mannose and ^{14}C -2-Deoxy-2-Fluoro-D-Glucose. *J. Label. Compd. Radiopharm.* 1978, 14 (2), 175–183.
- [11] Blake A.J, Fallis I.A, Gould R.O, Persons S, Ross S.A, Schröder M: Selective derivatisation of aza macrocycles, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 1996: 4379–4387
- [12] Huskens J, Sherry A.D: Synthesis and Characterization of 1,4,7-Triazacyclononane
- [13] Green, M. A.; Welch, M. J. Gallium Radiopharmaceutical Chemistry. *Int. J. Rad. Appl. Instrum. B* 1989, 16 (5), 435–448.
- [14] Kubíček, V.; Böhmová, Z.; Ševčíková, R.; Vaněk, J.; Lubal, P.; Poláková, Z.; Michalíková, R.; Kotek, J.; Hermann, P. NOTA Complexes with Copper(II) and Divalent Metal Ions: Kinetic and Thermodynamic Studies. *Inorg. Chem.* 2018, 57 (6), 3061–3072.
- [15] Haidar, R.; Ipek, M.; DasGupta, B.; Yousaf, M.; Zompa, L. J. Copper(II) Complexes of Bis(1,4,7-Triazacyclononane) Ligands with Polymethylene Bridging Groups: An Equilibrium and Structural Study. *Inorg. Chem.* 1997, 36 (14), 3125–3132.
- [16] *Figure 1. Structures of the DOTA and NOTA ligands and the PCTA[12]* ResearchGate. https://www.researchgate.net/figure/Structures-of-the-DOTA-and-NOTA-ligands-and-the-PCTA12-ligands-studied-in-this-work_fig1_323232003 (accessed 2023-03-07).
- [17] Blower, P. J.; Lewis, J. S.; Zweit, J. Copper radionuclides and radiopharmaceuticals in nuclear medicine. *Nucl. Med. Biol.* 1996, 957-980.
- [18] Wadas, T.; Wong, E.; Weisman, G.; Anderson, C. *Curr. Pharm. Des.*, 2007, 13, 3–16.

- [19] Blower, P. J.; Lewis J. S.; Zweit. Nucl. Med. Biol., 1996, 23, 957–980.
- [20] Neirincks, R. D.: Simultaneous production of ^{67}Cu , ^{64}Cu and ^{67}Ga and labelling of Bleomycin with ^{67}Cu and ^{64}Cu . *Appl. Radiat. Isot.* 1977, 28, 802-803.
- [21] Wu, N.; Kang, C. S.; Sin, I.; Ren, S.; Liu, D.; Ruthengael, V. C.; Lewis, M. R.; Chong, H.-S. Promising Bifunctional Chelators for Copper 64-PET Imaging: Practical ^{64}Cu Radiolabeling and High in Vitro and in Vivo Complex Stability. *JBIC J. Biol. Inorg. Chem.* 2016, 21 (2), 177–184.
- [22] Terakawa, Y.; Tsuyuguchi, N.; Iwai, Y.; Yamanaka, K.; Higashiyama, S.; Takami, T.; Ohata, K. Diagnostic Accuracy of ^{11}C -Methionine PET for Differentiation of Recurrent Brain Tumors from Radiation Necrosis After Radiotherapy. *J. Nucl. Med.* 2008, 49 (5), 694–699.
- [23] Lapa, C.; Garcia-Velloso, M. J.; Lückerrath, K.; Samnick, S.; Schreder, M.; Otero, P. R.; Schmid, J.-S.; Herrmann, K.; Knop, S.; Buck, A. K.; Einsele, H.; San-Miguel, J.; Kortüm, K. M. ^{11}C -Methionine-PET in Multiple Myeloma: A Combined Study from Two Different Institutions. *Theranostics* 2017, 7 (11), 2956–2964.
- [24] Holub, J. Komplexy gallia pro molekulární zobrazování kostní tkáně. *Diplomová práce*. Univerzita Karlova, Přírodovědecká fakulta, Katedra anorganické chemie, 2011
- [25] Ouellette, R. J.; Rawn, J. D. 25 - Aryl Halides, Phenols, and Anilines. In *Organic Chemistry (Second Edition)*; Ouellette, R. J., Rawn, J. D., Eds.; Academic Press, 2018; pp 801–828.
- [26] Roles of phenol groups and auxiliary ligand of copper(ii) complexes with tetradentate ligands in the aerobic oxidation of benzyl alcohol - Dalton Transactions (RSC Publishing). <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2017/dt/c7dt01716b> (accessed 2023-08-11).
- [27] *Ligands - Chemistry LibreTexts*. [https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Inorganic_Chemistry/Supplemental_Modules_and_Websites_\(Inorganic_Chemistry\)/Coordination_Chemistry/Structure_and_Nomenclature_of_Coordination_Compounds/Ligands](https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Inorganic_Chemistry/Supplemental_Modules_and_Websites_(Inorganic_Chemistry)/Coordination_Chemistry/Structure_and_Nomenclature_of_Coordination_Compounds/Ligands) (accessed 2023-08-11).
- [28] Lima, L. M. P.; Esteban-Gómez, D.; Delgado, R.; Platas-Iglesias, C.; Tripier, R. Monopicolinate Cyclen and Cyclam Derivatives for Stable Copper(II) Complexation. *Inorg. Chem.* 2012, 51 (12), 6916–6927.
- [29] Velikyan, I. Prospective of ^{68}Ga Radionuclide Contribution to the Development of Imaging Agents for Infection and Inflammation. *Contrast Media Mol. Imaging* 2018
- [30] Roesch F.: Maturation of a Key Resource – The Germanium-68/Galium-68 Generator: Development and New Insights Current radiopharmaceuticals, 2012, pp. 202-211
- [31] Riss, P. J.; Kroll, C.; Nagel, V.; Rösch, F. NODAPA-OH and NODAPA-(NCS)_n: Synthesis, ^{68}Ga -Radiolabelling and in Vitro Characterisation of Novel Versatile Bifunctional Chelators for Molecular Imaging. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2008, 18 (20), 5364–5367.
- [32] Green, M.A.; Welch, M.J, Nucl.Med.Bio.1989, 435
- [33] Shokeen, M.; Anderson, C.J. Acc.Chem.Res. 2009, 832

[34] Mirick, G.R.; O'Donnell, R.T.; DeNardo, S.J.; Shen, S.; Meares, C.F. Nucl.Med.Biol. 1999, 841