

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE

Přírodovědecká fakulta

**Katedra anorganické chemie**

---

NOVÉ LIGANDY PRO  
SELEKTIVNÍ KOMPLEXACI  
GALIA

New Ligands for  
Gallium(III) Complexation

Bakalářská práce  
studijního oboru Chemie v přírodních vědách

Praha 2009

Jan Holub

Přírodovědecká fakulta UK

**KNIHOVNA CHEMIE**



**3233137900**

---

Tato bakalářská práce vznikla v souvislosti s řešením výzkumného záměru MSM0021620857.

## Prohlášení

Prohlašuji, že jsem tuto bakalářskou práci vypracoval samostatně, pod vedením školitele RNDr. Vojtěcha Kubíčka, PhD. a že jsem všechny použité prameny řádně citoval.

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

V Praze dne 1. září 2009.

# 1. OBSAH

<b>1. Obsah</b> .....	<b>3</b>
<b>2. Úvod</b> .....	<b>4</b>
2.1 Úvod do studia struktury tkání .....	4
2.2 Positronová emisní tomografie (PET) .....	5
2.3 Bližší přehled radioisotopů vhodných pro PET .....	6
2.4 Příprava $^{68}\text{Ga}$ .....	7
2.5 Chemické vlastnosti galia .....	7
2.6 Přehled ligandů užívaných pro komplexaci galia .....	8
2.7 Cíl práce .....	12
<b>3. Experimentální část</b> .....	<b>13</b>
3.1 Seznam použitých chemikálií .....	13
3.2 Metody charakterizace .....	14
3.3 Vlastní syntéza .....	14
3.3.1 <i>tetratosyl-N,N'-bis(2-hydroxyethyl)ethylen diamin</i> .....	15
3.3.2 <i>1-benzyl-4,7-ditosyl-1,4,7-triazacyklononan (TACNBnTs<sub>2</sub>)</i> .....	16
3.3.3 <i>1-benzyl-1,4,7-triazacyklononan (TACNBn)</i> .....	17
<b>4. Výsledky a diskuze</b> .....	<b>22</b>
4.1 Příprava TACNBnTs <sub>2</sub> .....	22
4.2 Detosylace TACNBnTs <sub>2</sub> jak klíčový krok syntézy .....	22
4.3 Optimalizace detosylace TACNBnTs <sub>2</sub> pomocí H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> .....	22
4.4 Alternativní způsob přípravy TACNBn .....	25
4.5 Možné další kroky v syntéze .....	26
<b>5. Závěr</b> .....	<b>27</b>
<b>6. Seznam zkratk</b> .....	<b>28</b>
<b>7. Seznam použité literatury</b> .....	<b>30</b>

## 2.1 Úvod do studia struktury tkání

Studium vnitřní struktury tkání patří v lékařství mezi náročné disciplíny, zejména bez jejich současného poškození. Nejstarší metoda jak nahlédnout dovnitř lidského těla, aniž by bylo viditelně poškozeno, byla objevena v roce 1895. Wilhelm Röntgen tehdy objevil, že záření, které vzniká dopadem elektronů urychlených velmi vysokým napětím na vhodnou anodu, dokáže procházet i materiály, které běžné světlo nepropustí. Zjistil, že exponováním různých částí těla tomuto záření proti fotografické desce dojde ke zobrazení kosterní struktury, neboť toto záření je pohlcováno svalovou tkání méně než kosterní. Tato metoda se brzy stala velmi populární a po dlouhou dobu to byla jediná možnost jak nahlédnout dovnitř lidského těla a používá se pro nenáročná vyšetření např. zlomenin kostí dodnes. Za objev tohoto záření byla W. Röntgenovi udělena v roce 1901 Nobelova cena za fyziku.

Cílem moderní medicíny bylo minimalizovat poškození vznikající v důsledku vystavení tkání ionizujícímu záření během vyšetření a zlepšit zobrazovací a rozlišovací schopnosti vývojem nových metod. Výrazný pokrok v tomto odvětví byl učiněn až v 70. letech minulého století s rozvojem výpočetní techniky, kvantové fyziky a jaderné chemie. V roce 1972 byl uveden do provozu první přístroj využívající technologie počítačové výpočetní tomografie (Computed Tomography, CT). Pacient je zasunut do přístroje, ve kterém jej po kruhové ose obíhá zařízení složené z rentgenky a detektorů. Záření emitované z rentgenky prochází zkoumanou tkání, kde je v různé míře pohlcováno. Zkoumaný objekt je tedy prozářen z nejrůznějších úhlů a následně je pomocí počítače sestaven plošný řez zkoumaným objektem. Za objev a rozvoj této metody byla v roce 1979 udělena G. Hounfieldovi a A. Cormackovi Nobelova cena za medicínu.

Mezi další zobrazovací techniky patří magnetická rezonance (Magnetic Resonance Imaging, MRI). Tato metoda byla poprvé použita v roce 1977 a dnes se jedná o nejpoužívanější metodu schopnou zobrazit vnitřní 3-D strukturu zkoumaného objektu. V základu se jedná o podobný princip na kterém pracuje metoda NMR používaná pro studium neživých materiálů. Lidské tělo je složeno převážně z vody, která obsahuje dva atomy vodíku. V silném konstantním magnetickém poli  $B_1$  se spiny protonů v těchto atomech srovnají se směrem magnetického pole. Následně je na krátkou chvíli zapnuto druhé elektromagnetické pole  $B_2$  o proměnné frekvenci, kolmé na pole  $B_1$ . Část energie tohoto pole je absorbována v podobě přechodu jader na vyšší energetické hladiny, přičemž rozdíly mezi těmito hladinami nabývají pouze diskrétních hodnot vyplývajících z řešení příslušných matematických rovnic. Tyto závisí na velikosti magnetického pole  $B_1$ , na frekvenci magnetického pole  $B_2$ , a především také mírně na okolí jádra. Rezonanci se rozumí oscilace

pole spojená se změnou orientace spinu při přechodu jádra na vyšší hladinu a zpět. Se změnou orientace spinu jádra je spjata i změna jeho magnetického momentu. Přiblížením cívký do blízkosti rotujícího magnetického momentu se v ní indukuje napětí, které je následně měřeno, zjednodušeně tedy je velikost naměřeného napětí závislá na poloze a typu tkáně. Následuje počítačové vyhodnocení, ze kterého je sestaven 3-D obraz zkoumané tkáně. Výhodou této metody je, že tělo není vystaveno žádné ionizující radiaci a dále vyšší přesnost při zobrazování daných orgánů. Nevýhodou naopak vysoká pořizovací i provozní cena zařízení.

Další metody lze rozdělit na fluorescenční a radiochemické. Mezi fluorescenční patří především *in-vivo* infračervené fluorescenční zobrazování (Near-Infrared Fluorescence Imaging, NIR). Vhodný fluorofor je selektivně dopraven na cílené místo v organismu, excitován, a následná fluorescenční emise uvolní foton o vlnové délce v rozmezí 700-1000 nm. Přesná vlnová délka závisí na druhu fluoroforu. Je využito faktu, že pro fotony v blízkém IR pásmu je živá tkáň relativně dobře propustná. Následně je pomocí infračervené kamery vyprodukován obraz zachycující distribuci fluoroforu na cílených místech. <sup>[1][2]</sup>

Mezi radiochemické metody lze zařadit jednofotonovou emisní počítačovou tomografii (Single Photon Emission Computed Tomography, SPECT) a pozitronovou emisní tomografii (Positron Emission Tomography, PET). Obě metody využívají zobrazování pomocí radioizotopů, přičemž metoda SPECT využívá  $\gamma$  zářiče (nejčastěji  $^{99m}\text{Tc}$ ;  $t_{1/2} = 6,01$  hod), zatímco metoda PET využívá  $\beta^+$  zářiče (viz níže). Zobrazení je získáno podobně jako při CT, rotující  $\gamma$ -detektor získá 2-D snímky tkáně z nejrůznějších úhlů, ze kterých je následně pomocí počítače zobrazen 3-D obraz. Pro rozšíření možností molekulárního zobrazování se často výše uvedené metody kombinují v rámci jednoho vyšetření pomocí přístroje schopného obsluhovat alespoň dvě metody současně, především PET + CT a PET + MRI.

## 2.2 Positronová emisní tomografie

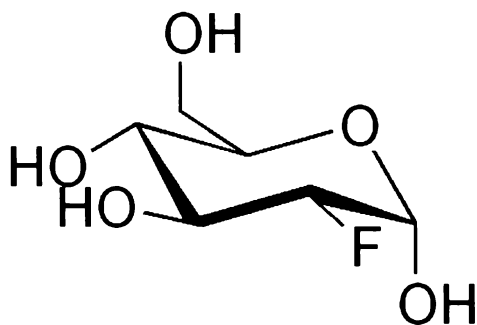
Positronová emisní tomografie (Positron Emission Tomography, PET) je druh lékařského vyšetření, založený na metodách zobrazení 3-D struktury tkání pomocí jaderné medicíny. Do krevního oběhu pacienta je vpraveno vhodné radiofarmakum obsahující radionuklid s poločasem rozpadu v řádech desítek minut, který podléhá  $\beta^+$  rozpadu a hromadí se v předem daném orgánu nebo tkáni. Emitovaný pozitron po svém vzniku téměř ihned, za několik nanosekund, během kterých stihne urazit jen několik milimetrů, anihiluje s elektronem. Výsledek anihilace částice s antičásticí resultuje především ve dva fotony záření  $\gamma$  o energii 511 keV, které z místa srážky odlétají v přímém úhlu. Tyto páry fotonů jsou zachycovány snímacím scintilačním zařízením ve tvaru tunelu, ve kterém je pacient umístěn,

kteří dokáže určit souřadnice, kde proběhla anihilace. Fotony které nedorazí v párech, tedy v časech lišících se o více než cca. 10 nanosekund jsou ignorovány, čímž je zajištěna přesnost přístroje. Z velkého množství takových záchytů (řádově stovky tisíc) lze následně pomocí výpočetní techniky rekonstruovat 3-D strukturu zkoumané tkáně. Vývoj této metody počal již koncem padesátých let 20. století, v sedmdesátých letech byla navržena metoda syntézy  $^{18}\text{F}$ -FDG (viz níže), dnes nejpoužívanějšího PET radiofarmaka a první dobrovolníci byli vyšetřeni touto metodou v roce 1976.

### 2.3 Bližší přehled radioisotopů pro PET

Mezi nejčastěji používané pozitron emitující radioisotopy dnes patří  $^{11}\text{C}$  ( $t_{1/2} = 20,38$  min),  $^{13}\text{N}$  ( $t_{1/2} \sim 10$  min),  $^{15}\text{O}$  ( $t_{1/2} = 2,04$  min) a  $^{18}\text{F}$  ( $t_{1/2} = 109,77$  min). Ve většině případů je použit  $^{18}\text{F}$  ve formě 2-deoxy-2-fluoro-D-glukosy (FDG), která se po intravenosní aplikaci hromadí v orgánech s vysokou spotřebou cukru, tedy mozku, ledvinách a rakovinných buňkách, kde vstupuje do glykolýzového cyklu. Pomocí hexokinázy je fosforylována na FDG-6-fosfát, avšak nemůže být dále metabolizována, neboť jí chybí potřebný atom kyslíku v pozici 2. Až po radioaktivním rozpadu atomu  $^{18}\text{F}$ , který se přemění na stabilní  $^{18}\text{O}$  a po přijmutí  $\text{H}^+$  z okolí se z původní FDG-6-fosfát stane běžná glukosa-6-fosfát, která je již dále spotřebována v glykolýsovém cyklu.

Obrázek 1: 2-deoxy-2-fluoro-D-glukosa (FDG)



Výhodou výše uvedených zářičů je především možnost značit látky běžně používané v organismu, tedy cukry, vodu nebo amoniak, aniž by došlo k jejich chemické změně. Nevýhodou je krátký poločas rozpadu a nutná přítomnost cyklotronu vyrábějící tyto isotopy přímo na místě použití. Protože cyklotron je velmi drahé zařízení, je žádoucí připravit  $\beta^+$  zářič vhodný pro *in-vivo* aplikaci bez potřeby mít cyklotron na místě aplikace. Jako alternativa se jeví použití zářičů které je možno připravit za pomoci tzv. generátoru (princip činnosti viz. níže), tedy především vhodných izotopů kovů. Jejich výběr shrnuje tabulka 1. Výhodou těchto izotopů je již zmiňovaná finanční i technická nenáročnost přípravy, nevýhodou je jejich

toxicita, a nutnost komplexace vhodným ligandem, neboť se jedná o látky tělu cizí. Jeden z nejvhodnějších je galium-68.

Tabulka 1: Přehled  $\beta^+$  zářičů připravených pomocí generátoru

Izotop	Poločas rozpadu	Generátor
$^{62}\text{Cu}$	9,74 min	$^{62}\text{Zn}(\beta^-)^{62}\text{Cu}$ , 9.3 h
$^{68}\text{Ga}$	67,7 min	$^{68}\text{Ge}(\beta^-)^{68}\text{Ga}$ , 288 d
$^{82}\text{Rb}$	1,27 min	$^{82}\text{Sr}(\beta^-)^{82}\text{Rb}$ , 25.6 d
$^{110}\text{In}$	68,0 min	$^{110}\text{Sn}(\beta^-)^{110}\text{In}$ , 4.11 d
$^{128}\text{Cs}$	3,80 min	$^{128}\text{Ba}(\beta^-)^{128}\text{Cs}$ , 2.43 d
$^{134}\text{La}$	6,70 min	$^{134}\text{Ce}(\beta^-)^{134}\text{La}$ , 3.0 d
$^{140}\text{Pr}$	3,39 min	$^{140}\text{Nd}(\beta^-)^{140}\text{Pr}$ , 3.3 d

## 2.4 Příprava $^{68}\text{Ga}$

Galium-68 je  $\beta^+$  zářič s poločasem rozpadu 67,71 minut. Nejvýhodnější metoda jeho přípravy spočívá v použití tzv. generátoru, ve kterém se komerčně snadno dostupné a připravené  $^{68}\text{Ge}$  záchytem elektronu s poločasem 270,95 dní přeměňuje na  $^{68}\text{Ga}$ . Nejčastěji je germanium navázáno na nosič (např.  $\text{Al}_2\text{O}_3$ ,  $\text{ZrO}_2$ ,  $\text{Sb}_2\text{O}_5$  nebo  $\text{TiO}_2$ ), odkud je průběžně vznikající galium dle potřeby selektivně vyplavováno díky rozdílným vlastnostem  $\text{Ga}^{3+}$  a  $\text{Ge}^{4+}$ .<sup>[3]</sup> Výhodou této metody je relativně nízká pořizovací i provozní cena a snadnost obsluhy "generátoru" ve srovnání s cyklotronem.

## 2.5 Chemické vlastnosti Galia

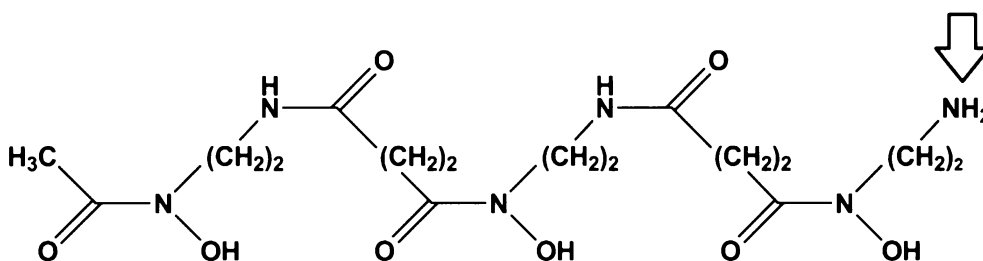
Galium je členem IIIB skupiny periodické tabulky, s elektronovou konfigurací  $[\text{Ar}]3d^{10}4s^24p^1$ , z čehož vyplývá nejstabilnější oxidační číslo +3. Je žádoucí, aby případné komplexy sloužící pro radiofarmacii byly dostatečně kineticky i termodynamicky stabilní a bylo tak zabráněno hydrolýze. Volný  $\text{Ga}^{3+}$  je stabilní pouze v kyselém prostředí. Mezi pH 3 a přibližně 9,5 se sráží jako  $\text{Ga}(\text{OH})_3$  a při pH vyšším než 9,6 se tvoří rozpustný ion  $\text{Ga}(\text{OH})_4^-$ . Koordinační chemie  $\text{Ga}^{3+}$  je velmi podobná  $\text{Fe}^{3+}$ , především díky téměř stejnému iontovému poloměru (62pm pro  $\text{Ga}^{3+}$  a 65pm pro  $\text{Fe}^{3+}$ ).<sup>[4]</sup> Vysoká stabilita komplexu zabrání možnému navázání  $\text{Ga}^{3+}$  na transferrin, což je protein zodpovědný za transport železa v krevní plasmě. Tento obsahuje dvě vazebná místa, velmi selektivní pro  $\text{Fe}^{3+}$  ( $pK \approx 23$ ). Za fyziologických podmínek je afinita transferrinu vůči  $\text{Ga}^{3+}$  taktéž velmi vysoká ( $pK = 20,3$ ).<sup>[5]</sup> Konstanta

stability s novým ligandem by tedy měla být vyšší než v případě komplexu  $\text{Ga}^{3+}$  - transferrin. Dále by měl ligand obsahovat tzv. linker – místo, přes které bude komplex navázán na vhodný biologický zbytek. Tato forma zaručí dopravu radiofarmaka na cílené místo.

## 2.6 Ligandy pro selektivní komplexaci galia

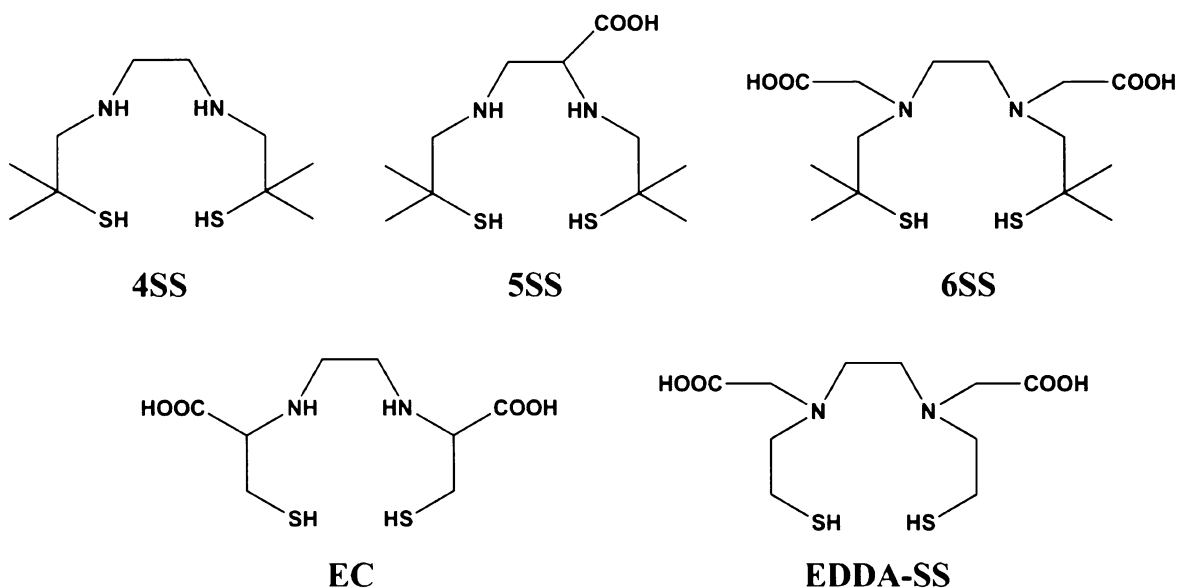
Jeden z prvních chelátů použitých pro cílenou komplexaci galia byl Desferrioxoamin-B (DFO). Tento obsahuje 3 hydroxamátové skupiny jako koordinační místa s vysokou afinitou a stabilitou pro  $\text{Ga}^{3+}$ . Šipkou je označen aminový zbytek, přes který se komplex váže k vhodným biomolekulám sloužící jako linker. Za biologických podmínek v řádově mikromolárních koncentracích je DFO velmi dobrý ligand, avšak na nanomolárních úrovních již DFO ztrácí své dobré chelatujiící vlastnosti.<sup>[6]</sup>

Obrázek 2: struktura DFO



Dále byly prostudovány mnohé thio a amino ligandy s různou denticitou odvozené od EDTA (obr.3).

Obrázek 3: Příklady ligandů odvozených od EDTA

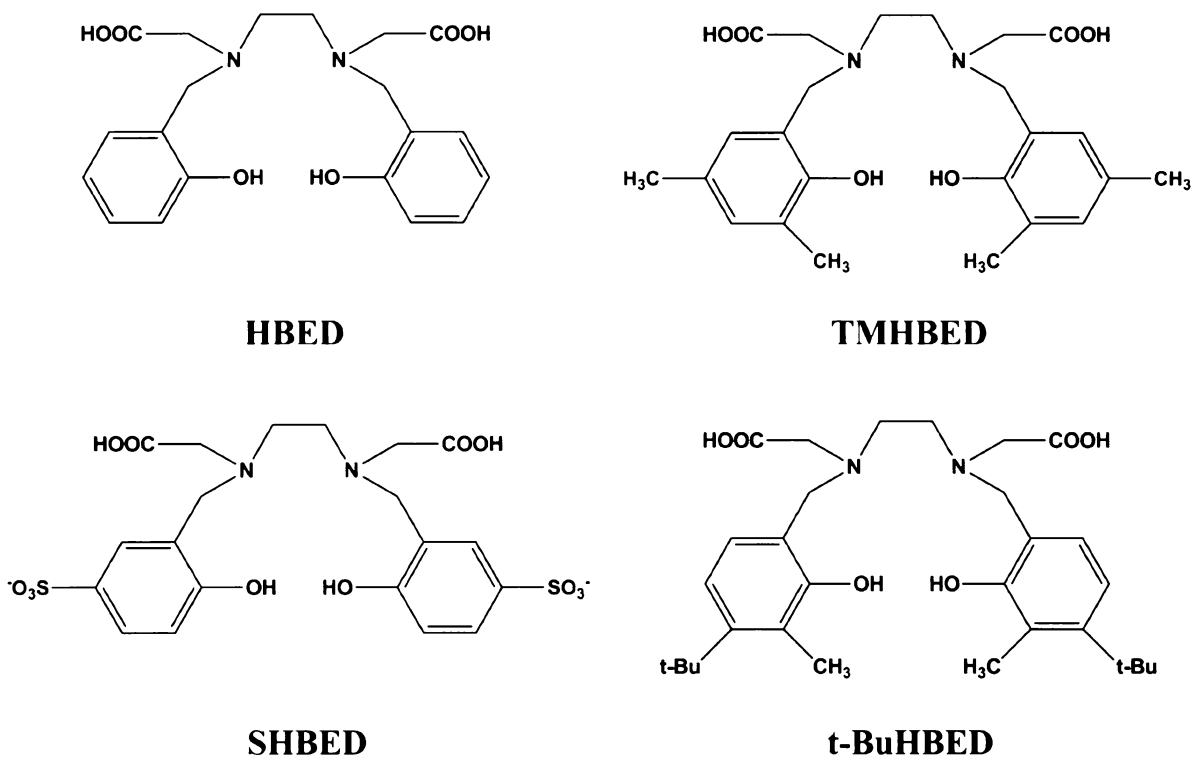




Vhodnost jednotlivých ligandů pro medicínské využití byla posuzována podle „clearance“ v játrech – jednotky popisující rychlost vylučování látky daným orgánem. Méně stabilní komplexy hydrolyzují a vznikající komplex Ga-transferrin je pak v játrech zadržován. Bylo zjištěno, že vhodné jsou především hexadentátní ligandy<sup>[3]</sup>.

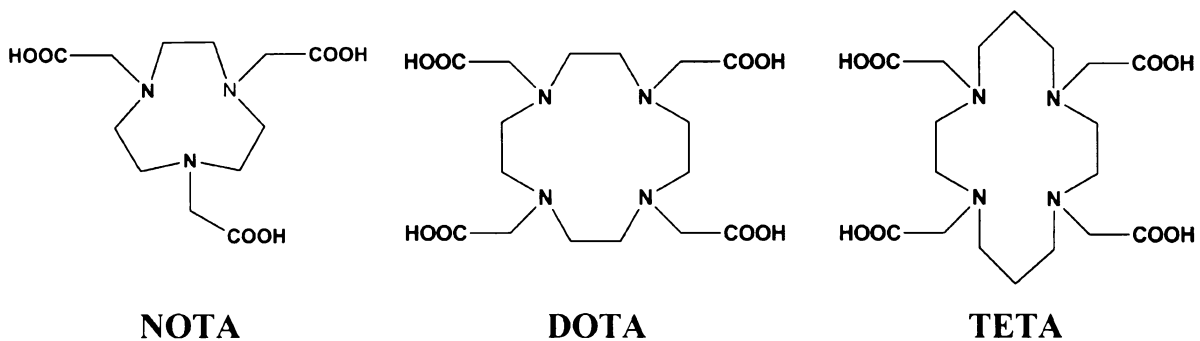
Další příklad zkoumaných ligandů tvoří hydroxybenzylethylendiamin (HBED) a jeho deriváty, viz. obr.4.

Obrázek 4: Ligandy odvozené od HBED



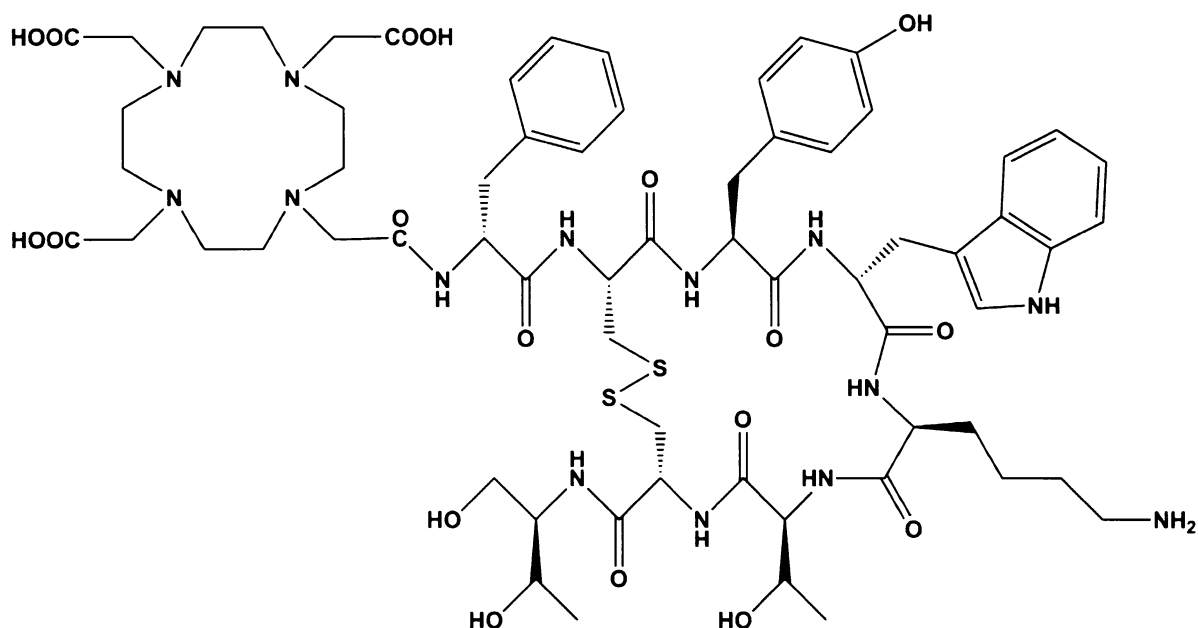
Významnou skupinu tvoří makrocyclické ligandy, založené na 9, 12 nebo 14-čtýchruzích se 3 nebo 4 heteroatomy.

Obrázek 5: Makrocyclické ligandy



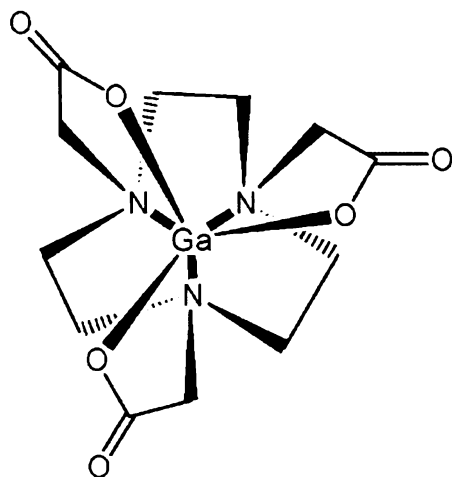
Nejčastěji zkoumané cheláty, vlastnostmi vhodné již pro medicínské nasazení jsou založeny na struktuře DOTA (1,4,7,10-tetraazacyklododekan-1,4,7,10-tetraoctové kyseliny). Velmi slibné vlastnosti má např. konjugát [ $^{68}\text{Ga}$ ]-DOTA s [ $\text{Tyr}^3$ ]-octreotidem (DOTA-TOC), který se selektivně váže na nádorovou tkáň.<sup>[7]</sup>

Obrázek 6: Struktura DOTA-TOC

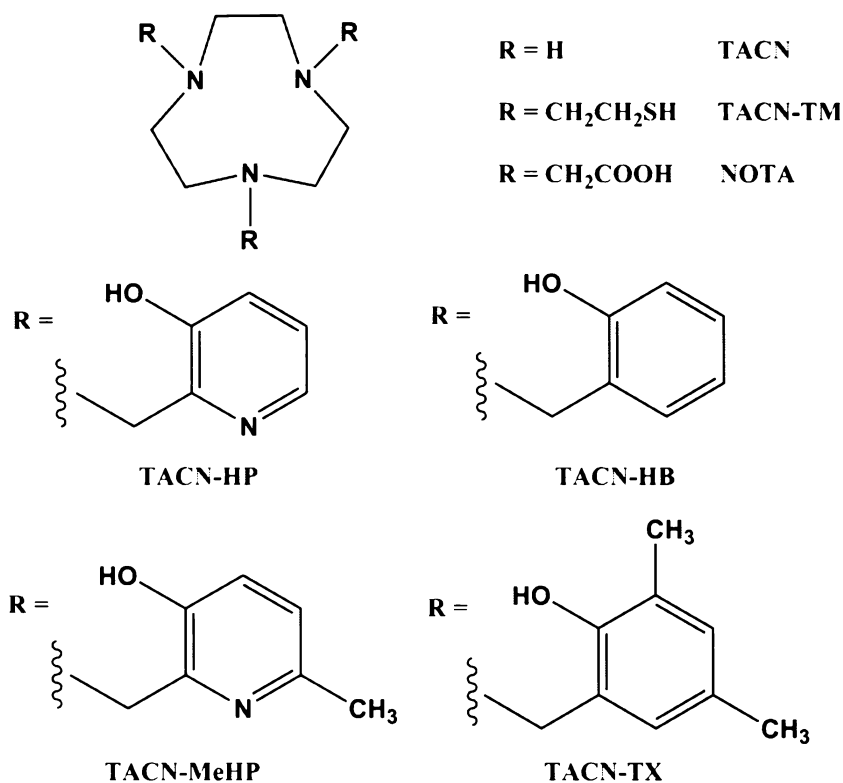


Velmi slibné vlastnosti vykazují ligandy založené na struktuře 1,4,7-triazacyklononan-1,4,7-trioctové kyseliny (NOTA). Konstanta stability  $\text{Ga}^{3+}$  s DOTA ( $\log K = 21,33$ )<sup>[8]</sup> je mnohem nižší než v případě NOTA ( $\log K = 30,98$ )<sup>[9]</sup>, což je způsobeno především rozměrem centrální kavity – ta v případě NOTA velmi přesně odpovídá rozměrům  $\text{Ga}^{3+}$ , u DOTA je kavita větší.

Obrázek 7: Prostorová struktura komplexu Ga-NOTA



Obrázek 8: Ligandy založené na struktuře 1,4,7-triazacyklononanu (TACN)



Tabulka 2 shrnuje přehled ligandů a jejich konstant stability s  $Ga^{3+}$ .<sup>[5,10]</sup> Lze pozorovat, že stabilita komplexů  $Ga^{3+}$  s ligandy založenými na struktuře TACN je velmi vysoká.

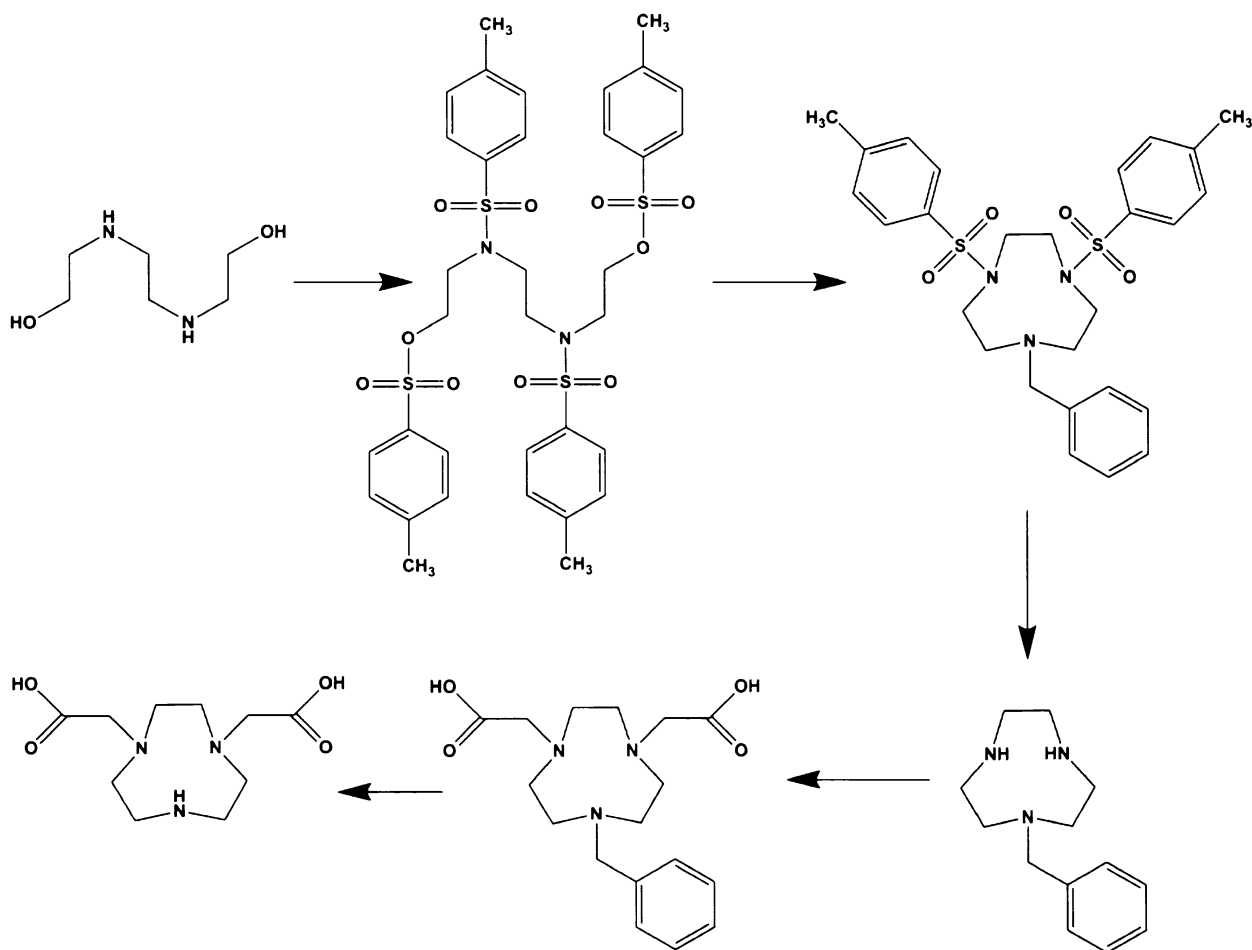
Tabulka 2: Stabilita komplexů  $Ga^{3+}$

Ligand	$\log [ML]/[L][M]$	Ligand	$\log [ML]/[L][M]$
Transferrin	20,3	TMHBED	34,2
EDTA	21,0	<i>t</i> -butyl-HBED	36,3
DTPA	24,3	TETA	19,7
EC	31,5	DOTA	21,3
EDDA-SS	35,6	NOTA	30,1
4SS	24,7	TACN-TM	34,2
5SS	27,4	TACN-HP	42,0
6SS	41,0	TACN-HB	40,5
HBED	38,5	TACN-MeHP	45,6
SHBED	37,4	TACN-TX	44,2

## 2.7 Cíl práce

Ligandy založené na struktuře TACN ukazují velmi slibné vlastnosti a jsou předmětem dalšího výzkumu. Cílem této práce je prozkoumat možnosti přípravy prekurzorů pro syntézu asymetrických derivátů TACN, které by mohly sloužit jako vhodné ligandy pro  $\text{Ga}^{3+}$ . Navržený postup shrnuje schéma 1.

Schéma 1: Kompletní návrh syntézy



Z výchozího diaminu bude připraven tetratosylát. Reakcí s benzylaminem vznikne asymetricky substituovaný cyklický sketet TACN. Tento bude dále detosylován za vzniku monosubstituovaného TACN, který již může sloužit jako hledaný prekurzor. Jako jedno z možných využití této látky připadá v úvahu alkylace za vzniku dialkyl-monobenzyl derivátu TACN, s jeho následnou debenzylací. Tímto bude připraven vhodně substituovaný skelet TACN s jedním volným atomem dusíku, který bude možno dále modifikovat.

### 3. Experimentální část

#### 3.1 Použité chemikálie:

##### Chemikálie:

aktivní uhlí .....	Fluka
argon 5.6 .....	Linde
amoniak (25% vodný roztok) .....	Penta
benzylamin .....	Fluka
N,N'-bis(2-hydroxyethyl)-1,2-diaminoethan .....	Sigma - Aldrich
bromovodík (33% roztok v bezvodé AcOH) .....	Merck
fenol .....	Penta
fosfor červený .....	Lachema
hydroxid sodný .....	Lach-Ner
kyselina bromoctová .....	Merck
kyselina bromovodíková (48 % vodný roztok) .....	Penta
kyselina chlorovodíková (36 % vodný roztok) .....	Penta
kyselina sírová (96 % vodný roztok) .....	Penta
kyselina trifluoroctová .....	Acros
ninhydrin .....	Penta
p-toluensulfonyl chlorid .....	Sigma - Aldrich
triethylamin .....	Lach-Ner
uhličitan draselný .....	Lach-Ner

##### Rozpouštědla (Penta, Lachema)

acetonitril	dichlormethan	pyridin
aceton	dimethylsulfoxid	voda destilovaná
chloroform	ethanol	
diethylether	methanol	

##### Deuterovaná rozpouštědla:

D <sub>2</sub> O (99,8 % D) .....	Chemotrade
CDCl <sub>3</sub> (99,8 % D) .....	Sigma - Aldrich

Iontoměniče a sorbenty:

Silikagel (Silicagel 60) .....	Merck
Silný anex (Dowex 1, 100-200 mesh) .....	Fluka
Silný katex (Dowex 50WX4-100, 50-100 mesh) .....	Sigma-Aldrich

### 3.2 Metody charakterizace

#### Spektroskopie NMR

Spektra  $^1\text{H}$  byla měřena na přístroji Varian VNMRs 300 na PřF UK ve standardních 5mm NMR kyvetách. Měřeno bylo při pokojové teplotě, pokud není uvedeno jinak. Hodnoty chemických posunů jsou uváděny v ppm s přesností na dvě desetinná místa.

Standardy:  $t\text{-BuOH}$ ,  $\delta_H = 1,25$  ppm pro měření v  $\text{D}_2\text{O}$   
TMS,  $\delta_H = 0,00$  ppm pro měření v  $\text{CDCl}_3$

#### Hmotnostní spektrometrie

Hmotnostní spektra byla získána pomocí spektrometru Bruker Esquire 3000 se zdrojem iontů pomocí metody ESI (Elektrospray Ionization) a detektorem IT (Ion Trap). Budou uvedeny intenzivní signály, které se podařilo jednoznačně přiřadit jednotlivým iontům.

#### Tenkvrstvá chromatografie (TLC)

Chromatografie na tenké vrstvě byly prováděny na hliníkových foliích s vrstvou silikagelu o tloušťce 0,2 mm značky Merck 1.05554.0001 F<sub>254</sub>. Jako mobilní fáze byly použity různé směsi rozpouštědel, uvedené u konkrétních návodů v experimentální části. Detekováno bylo pomocí 0,5 % roztoku ninhydrinu v EtOH nebo pod UV při vlnových délkách 254 a 366 nm.

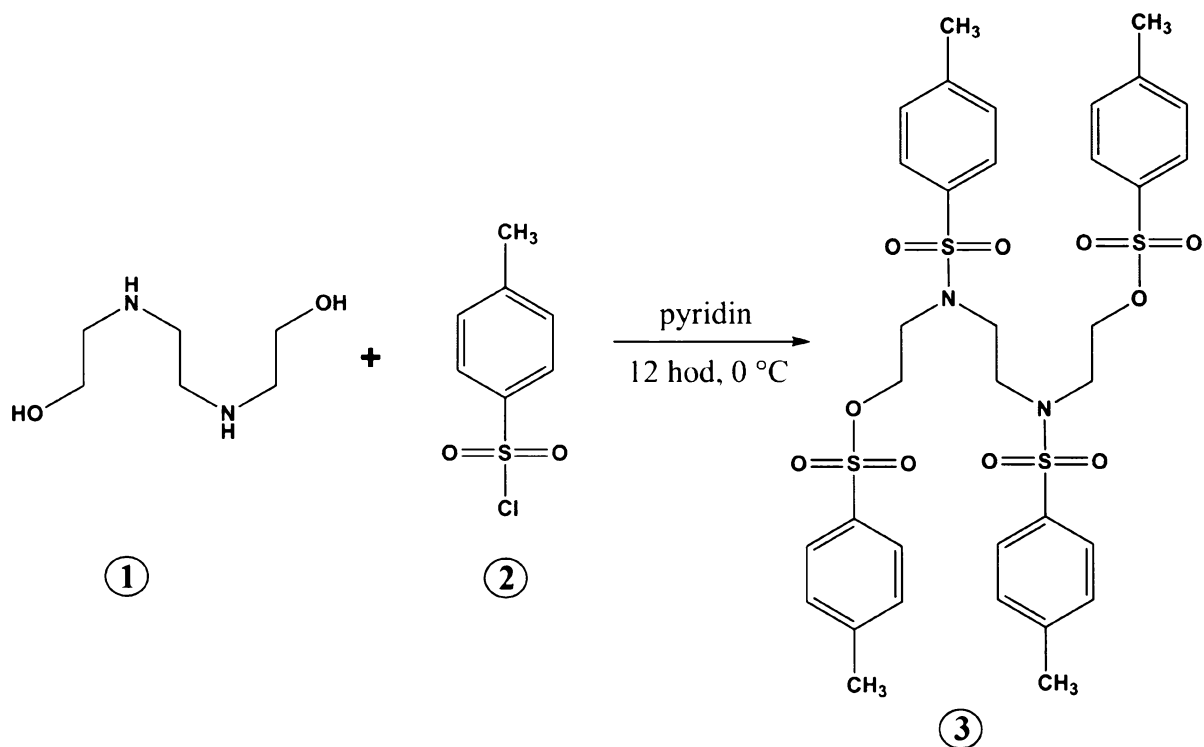
#### Vysokovýkonná kapalinová chromatografie (HPLC)

Separace byla prováděna pomocí přístroje Ecomsro Beta 100 s příslušenstvím od téhož výrobce. Jako stacionární fáze byla použita kolona typu Phenomenex Luna 5u C8(2) 1000A. Separace byla prováděna gradientově, směsí acetonitrilu, 0,1 %  $\text{CF}_3\text{COOH}$  a vody, výchozí složení 5:40:55, cílové složení 55:40:5 s gradientem 10 minut. Detekce pomocí UV při 250 nm.

### 3.3 Vlastní syntéza

#### 3.3.1 tetratosyl-*N,N'*-bis(2-hydroxyethyl)ethylendiamin

Schéma 2:



80,0 g (2) rozpuštěného ve 100 ml pyridinu bylo během 2 hodin přikapáno do roztoku obsahujícího 14,8 g (1) rozpuštěného ve 200 ml pyridinu, za stálého míchání a chlazení v ledové lázni. Směs byla dalších 12 hodin míchána a následně byl celý obsah vylit do směsi 250 ml ledu a 250 ml koncentrované HCl. Ihned vznikla hnědá sraženina mazlavé konzistence, která byla dekantována a promyta vodou. Dále byl přidán 1 litr methanolu a sraženina začala postupně zvyšovat viskozitu a tuhnout. Tato byla rozdrcena tyčinkou a rekrystalována z horkého methanolu. Bylo získáno 48,1 g bílé krystalické látky (3), což odpovídá 54 % teoretického výtěžku.

#### Charakterizace:

NMR ( $\text{CDCl}_3$ ):  $^1\text{H}$   $\delta$  2,42 ( $\text{CH}_3$ , 12H, s); 3,28 ( $\text{N}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{N}$ , 4H, s); 3,37 ( $\text{N}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}$ , 4H, t,  $^3J_{\text{HH}} = 5,4$  Hz); 4,12 ( $\text{N}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}$ , 4H, t,  $^3J_{\text{HH}} = 5,4$  Hz); 7,30 ( $\text{CH}_3-\text{C}-\text{CH}$  arom, 8H, d,  $^3J_{\text{HH}} = 7,2$  Hz); 7,72 ( $\text{S}-\text{C}-\text{CH}$  arom, 8H, m)

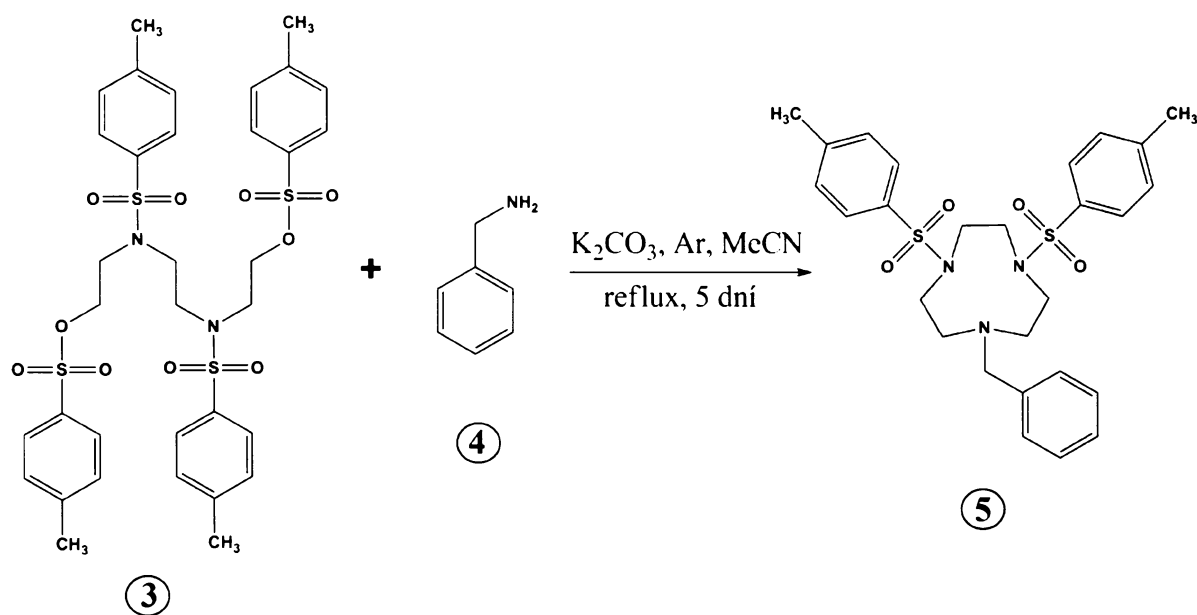
MS: (+) 765,1( $\text{M}+\text{H}^+$ )

TLC: EtOAc : hexan 1:2 ; RF = 0,3

Reakce byla později opakována ve dvojnásobném množství, výsledkem bylo 58,1 g produktu, což činí 38 % teoretického výtěžku. Nižší výtěžek byl pravděpodobně způsoben ztrátami při manipulaci, neboť množství použitého nadměrného laboratorního skla bylo značné, a jeho čištění navíc velmi obtížné. Případnou pozdější syntézu látky (3) v množství větším než v prvním pokusu proto nedoporučuji. NMR spektra látek připravená v prvním i druhém pokusu se shodují a odpovídají popsanému standardu.<sup>[11]</sup>

### 3.3.2 1-benzyl-4,7-ditosyl-1,4,7-triazacyklononan

Schéma 3:



Do 120 ml acetonitrilu předem vysušeného destilací s P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> bylo přidáno 8,0 g (3), 1,22 g (4) a 3,17 g uhličitanu draselného. Reakční směs byla refluxována 5 dní pod argonem. Poté byla pevná fáze odfiltrována a promyta dalšími 160 ml acetonitrilu. Čirý roztok byl poté odpařen do oleje a rekrystalován z 80 ml horkého ethanolu. Vzniklá bílá krystalická látka byla vysušena přes noc v evakuovaném exsikatoru nad P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, výsledkem bylo 4,52 g produktu (5), což činí 82 % teoretického množství.

Později byla reakce opakována se 12,0 g vstupní látky se 77% výtěžkem a se 30,0 g se 78% výtěžkem. NMR spektra se ve všech případech shodují a odpovídají popsanému standardu.<sup>[12]</sup>



### Charakterizace:

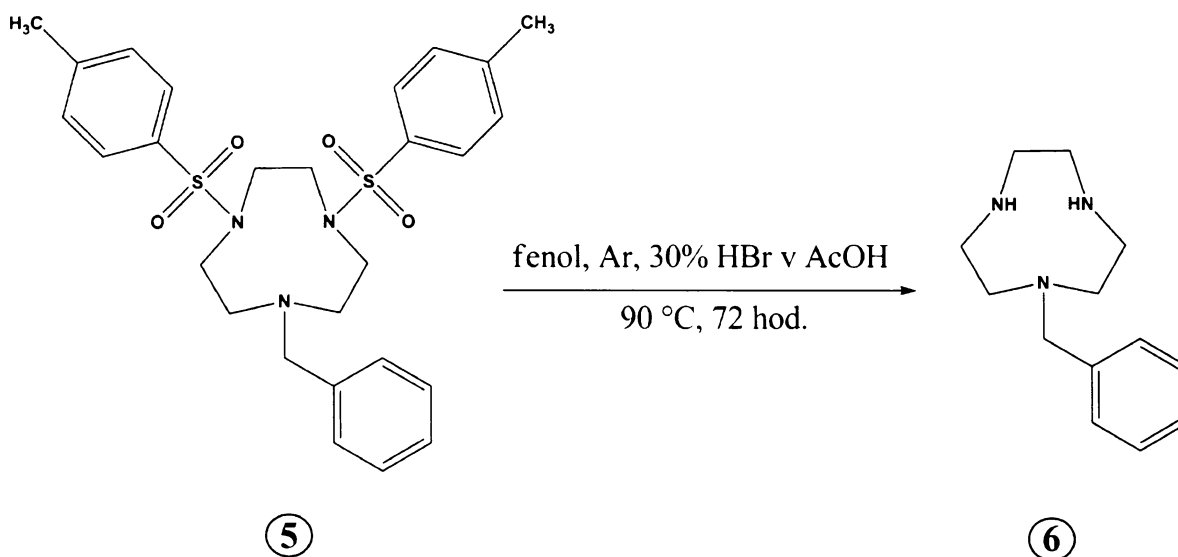
NMR (CDCl<sub>3</sub>): <sup>1</sup>H δ 2,40 (CH<sub>3</sub>, 6H, s); 2,97 (CH<sub>2</sub>-N(Bn)-CH<sub>2</sub>, 4H, t, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 3,6 Hz); 3,12 (N(tos)-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-N(Bn), 4H, t, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 3,6 Hz); 3,46 (N(tos)-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-N(tos), 4H, s.); 3,74 (N-CH<sub>2</sub>-C, 2H, s); 7,24 (CH aromBn, 5H, m); 7,36 (CH<sub>3</sub>-C-CH aromTos, 4H, m); 7,62 (S-C-CH aromTos, 4H, m)

MS: (+) 528,1(M+H<sup>+</sup>)

### 3.3.3. 1-benzyl-1,4,7-triazacyklononan

#### a) detosylace pomocí HBr / AcOH

Schéma 4:



Podle publikovaného postupu<sup>[13]</sup> bylo 0,25 g (5) smícháno s 0,33 g fenolu a rozpuštěno ve 30 ml 30 % roztoku bromovodíku v bezvodé kyselině octové. Reakční směs byla zahřáta za stálého míchání na 90 °C po 72 hodin pod argonem. Po vychladnutí byla reakční směs vylita do 100 ml Et<sub>2</sub>O předem suchým ledem vychlazeného na - 60 °C. Sraženina byla odfiltrována a propláchnuta dalšími 20 ml Et<sub>2</sub>O. Filtrát byl zakoncentrován pomocí rotační vakuové odparky na 5 ml a zneutralizován 50% roztokem NaOH. Vzniklá směs byla protřepána 3x 50 ml CHCl<sub>3</sub>, organická vrstva byla oddělena, vysušena pomocí MgCO<sub>3</sub>, přefiltrována a odpařena. Výsledkem byla velmi viskosní olejovitá látka, kterou se nepodařilo žádným způsobem zkrystalovat. NMR spektrum bylo velmi komplikované a neodpovídalo cílenému produktu (6). Produkt se nepodařilo izolovat.

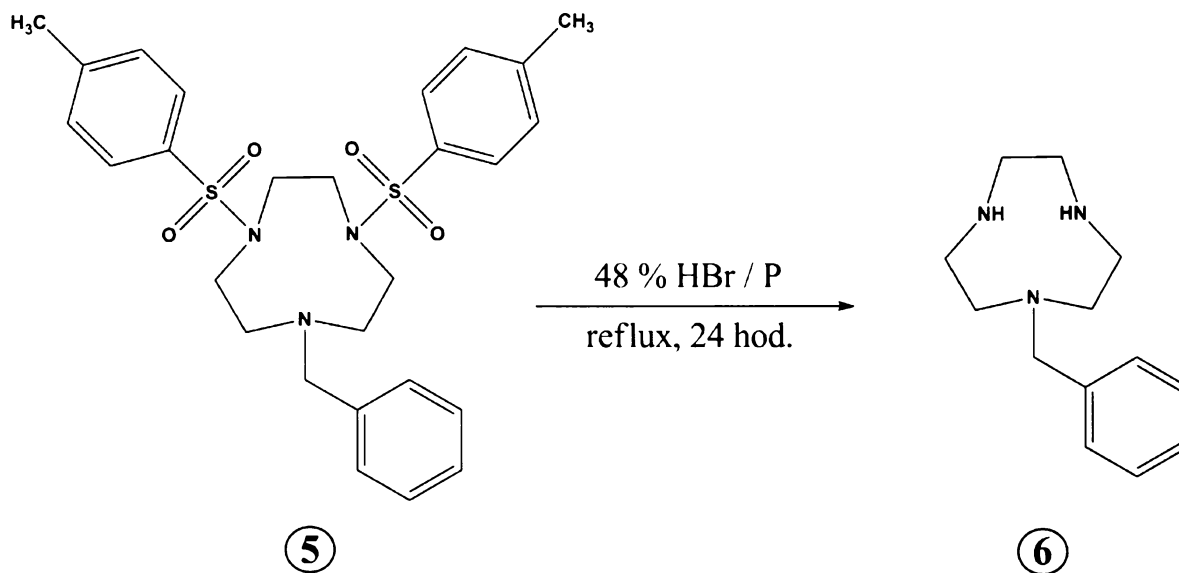
### Charakterizace:

NMR (D<sub>2</sub>O): komplikované, nebylo možno jednoznačně identifikovat

## b) detosylace pomocí HBr / P

Podle publikovaného postupu<sup>[14]</sup> byla navržena detosylace ve 48 % HBr za přítomnosti červeného fosforu.

Schéma 5:



0,50 g (5) bylo smícháno s 0,11 g červeného fosforu a rozpuštěno ve 3,0 ml koncentrované kyseliny bromovodíkové a 0,6 ml vody. Směs byla refluxována po dobu 48 hodin. Po skončení reakce byla přefiltrována, filtrát odpařen do sucha, triturován s 1,5 ml Et<sub>2</sub>O a 0,75 ml MeOH a vysušen. Podle TLC byla výsledkem směs látek, jejíž hmotnostní spektrum ukázalo, že přítomna je především vstupní látka a monotosylovaný intermediát, avšak žádný cílený produkt.

### Charakterizace:

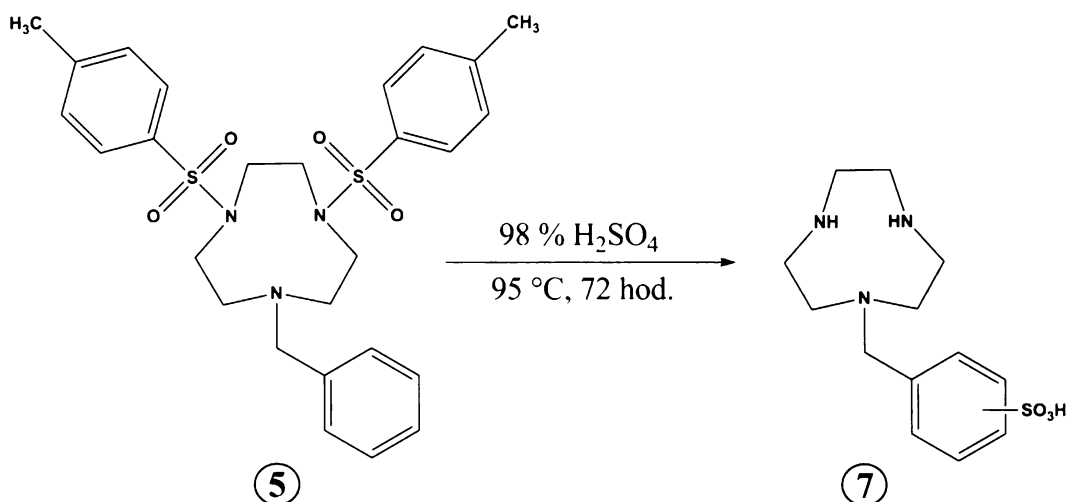
NMR (D<sub>2</sub>O): komplikované, nebylo možno jednoznačně identifikovat

MS: (+) 528,1(TACNBnTs<sub>2</sub>+H<sup>+</sup>), 373,9(TACNBnTs+H<sup>+</sup>)

### c) detosylace pomocí koncentrované kyseliny sírové

#### I) Dlouhá reakční doba - za vzniku sulfonovaného produktu

Schéma 6:



0,5 g (5) bylo rozpuštěno ve 3 ml koncentrované H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> a za stálého míchání zahřáto na 95 °C po dobu 3 dní v uzavřené baňce propláchnuté proudem argonu. Poté byla směs naředěna 5 ml ethanolu a čištěna na silném katexu, ze kterého byly nečistoty eluovány vodou a produkt 6 M kyselinou chlorovodíkovou. Bylo získáno obtížně měřitelné množství látky, dostačující pouze na charakterizaci pomocí TLC a NMR. Postup byl zopakován v množství 5,0 g vstupní látky. Pokusy o následnou krystalizaci pomocí různých kombinací H<sub>2</sub>O, EtOH, Et<sub>2</sub>O, CHCl<sub>3</sub>, byly neúspěšné. Jako hydrochlorid produkt tedy krystaluje velmi neochotně. Proto bylo k odparku přidáno 2x 20 ml koncentrované HBr a odpařeno do sucha, čímž byla sůl látky převedena na hydrobromid. Pro odstranění nečistot a zbylého bromovodíku byla látka ještě jednou rozpuštěna ve vodě, zfiltrována s aktivním uhlím a odpařena. Po rozpuštění v minimu H<sub>2</sub>O a přidáním EtOH se nyní látka vysrážela jako bílé krystalky v množství 0,53 g, což činí 19 % teoretického výtěžku.

#### Charakterizace:

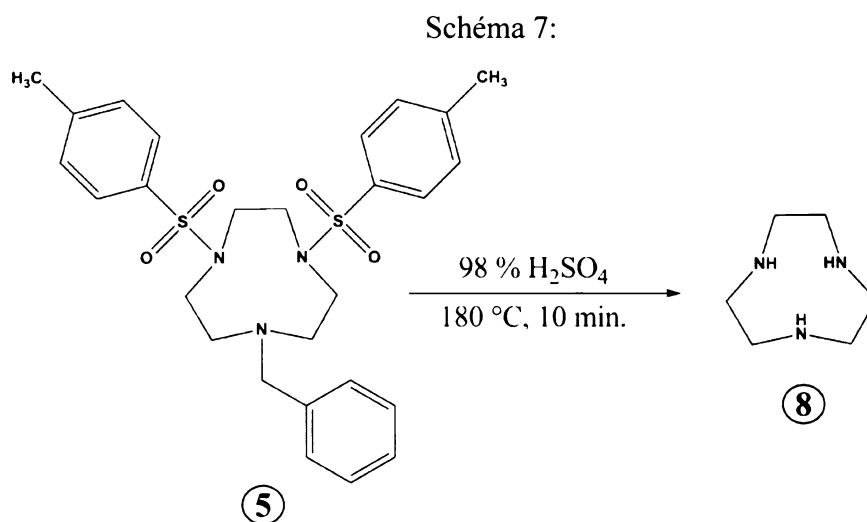
NMR (D<sub>2</sub>O): <sup>1</sup>H δ 3,04 (NH—CH<sub>2</sub>—CH<sub>2</sub>—N, 4H, t, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6,0 Hz); 3,25 (NH—CH<sub>2</sub>—CH<sub>2</sub>—N, 4H, t, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6,0 Hz); 3,67 (NH—CH<sub>2</sub>—CH<sub>2</sub>—NH, 4H, s); 3,96 (N—CH<sub>2</sub>—Ph, 2H, s,); 7,59 (CH<sub>2</sub>—C—CH arom, 2H, m); 7,86 (CH arom—C—S, 2H, m)

MS: (+) 299,8(M+H<sup>+</sup>)

Průběh reakce byl sledován pomocí HPLC. Postup přípravy vzorků: 100  $\mu\text{l}$  reakční směsi bylo odpipetováno do 2 780  $\mu\text{l}$  10% roztoku  $\text{N}(\text{Et})_3$  v acetonitrilu. Jako standardy byly použity vstupní látka (5), látka připravená při předchozí reakci (7) a čistý TACN. 100 mg vstupní látky (5) bylo rozpuštěno v 5,0 ml konc.  $\text{H}_2\text{SO}_4$  a za stálého míchání zahřáto na 95  $^\circ\text{C}$ . První vzorek byl odebrán ihned po rozpuštění, další po 5 minutách, 30 minutách, 4 hodinách, 15, 25 a 48 hodinách.

## II) Reakce za vysoké teploty – za vzniku nesubstituovaného TACN

Byl použit modifikovaný publikovaný postup<sup>[15]</sup>, který popisoval detosylaci pomocí koncentrované kyseliny sírové za vysoké teploty (180  $^\circ\text{C}$ ).



1,0 g látky (5) bylo po částech za stálého míchání přidáno do 3,5 ml koncentrované kyseliny sírové předem zahřáté na 180  $^\circ\text{C}$  v olejové lázni. Po 10 minutách byla baňka s reakční směsí vyndána z lázně a ponechána vychladnout na pokojovou teplotu. Následně byla směs zředěna 20 ml ethanolu, přičemž byl ihned pozorován vznik sraženiny. Dále bylo přidáno 100 ml diethyletheru. Vzniklá sraženina byla odfiltrována, rozpuštěna ve 30 ml vody a po přidavku aktivního uhlí zahorka zfiltrována. Filtrát byl odpařen do oleje. NMR spektrum ukázalo, že za těchto podmínek dojde nejen k detosylaci, ale i k debenzylaci, neboť jediný hlavní pík ve spektru odpovídá čistému TACN. Tyto reakční podmínky jsou tedy pro přípravu cílené látky (6) nevhodné.

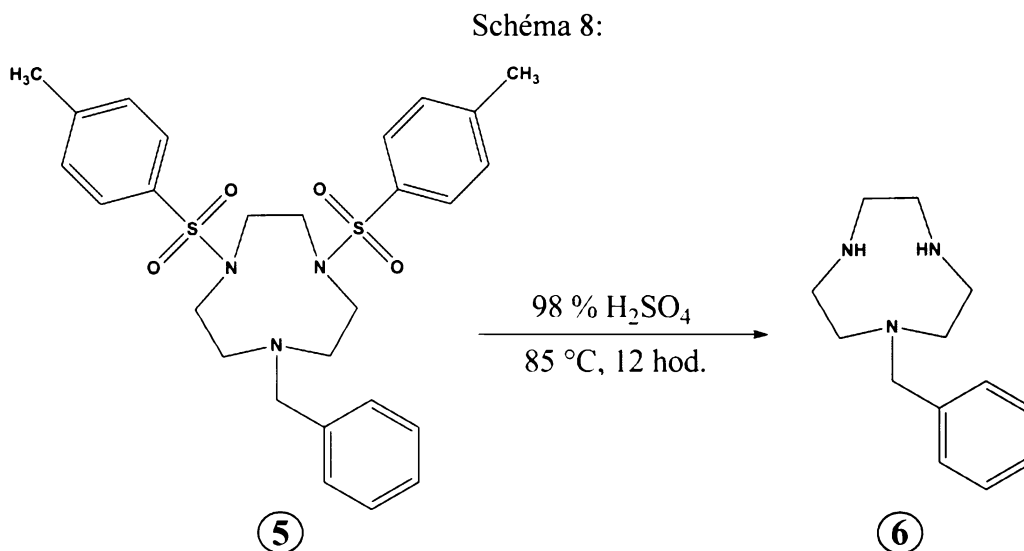
### Charakterizace:

NMR ( $\text{D}_2\text{O}$ ):  $^1\text{H}$   $\delta$  3,49 ( $\text{CH}_2$  12H, s)

MS: (+) 129,9 ( $\text{TACN}+\text{H}^+$ )

### III) Reakce za mírnějších podmínek – optimalizovaná reakce

Byl navržen postup detosylace pomocí kyseliny sírové za mírnějších podmínek: Při 85 °C po dobu 12 hodin.



1,0 g látky (5) bylo přidáno do 5,0 ml koncentrované kyseliny sírové a zahřáto na olejové lázni na 85 °C za stálého míchání po dobu 12 hodin. Po vychladnutí byla směs zředěna 20 ml ethanolu a 100 ml diethyletheru. Vznik sraženiny byl na rozdíl od reakce za vysoké teploty pozorován až po přidání diethyletheru. Sraženina byla odfiltrována a vysušena v evakuovaném exsikátoru. TLC (mobilní fáze MeOH : NH<sub>3</sub> 100:1) ukázala, že ve směsi jsou přítomny 3 látky o  $RF_A = 1,0$ ,  $RF_B = 0,5$  a  $RF_C = 0,2$ . Frakce byly rozděleny na sloupci silikagelu (mobilní fáze s MeOH + NH<sub>3</sub> 100:1, pro eluci produktu C byl poměr snížen na 10:1). Frakce obsahující produkt B byly spojeny a odpařeny dosucha. TLC a NMR potvrdilo, že se jedná o sulfonovaný derivát (7), který byl zkrystalován rozpuštěním v minimu vody a následnou pomalou difuzí EtOH přes plynnou fázi v uzavřeném exsikátoru. Frakce obsahující produkt C byly opět spojeny a odpařeny do sucha. NMR ukázalo, že se jedná o cílený produkt (6), který byl izolován ve formě jemných nažloutlých krystalů. Celkem bylo získáno cca 40 mg látky (7) a 200 mg látky (6). Výtěžek činil 7 % látky (7) a 49 % látky (6).

#### Charakterizace produktu C:

NMR (D<sub>2</sub>O): <sup>1</sup>H δ 2,96 (NH—CH<sub>2</sub>—CH<sub>2</sub>—N, 4H, t, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 5,1 Hz); 3,14 (NH—CH<sub>2</sub>—CH<sub>2</sub>—N, 4H, t, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 5,1 Hz); 3,54 (NH—CH<sub>2</sub>—CH<sub>2</sub>—NH, 4H, s); 3,86 (N—CH<sub>2</sub>—Ph, 2H, s,); 7,40 (CH arom, 5H, m)

## 4. Výsledky a diskuze

### 4.1 Příprava TACNBnTs<sub>2</sub>

Metoda přípravy TACNBnTs<sub>2</sub> podle prvních dvou kroků schématu 1 již byla publikována.<sup>[11,12]</sup> Tento postup se ukázal jako plně reprodukovatelný. V prvním kroku při přípravě látky (3) byl dosažen výtěžek 54 %. Provedení reakce ve větší dávce než původních cca 15 g vstupní látky (1) se ukázalo jako neefektivní, při dvojnásobném množství byl výtěžek pouze 38 %. Příčina nižšího výtěžku byla dána nutností práce s velkými objemy rozpouštědel a velkým množstvím nadměrného laboratorního skla. Pro práci v takové škále není laboratoř běžně vybavena.

Následná reakce látky (3) s benzylaminem za vzniku TACNBnTs<sub>2</sub> (5) byla opakována 3x. Zde se naopak škálování reakce pro větší množství vstupní látky ukázalo jako bezproblémové, přičemž bylo dosahováno výtěžků přes 75 %.

### 4.2 Detosylace TACNBnTs<sub>2</sub> jak klíčový krok syntézy

Detosylace TACNBnTs<sub>2</sub> za vzniku TACNBn (6) se ukázala jako klíčový krok syntézy. Dříve publikovanou metodu detosylace<sup>[13]</sup> pomocí 30 % roztoku HBr v AcOH se nepodařilo reprodukovat. NMR spektrum bylo vždy velmi komplikované a neodpovídalo produktu. Zřejmě docházelo k rozkladu látek a jednotlivé produkty se nepodařilo separovat. Analogická reakce se 48% kyselinou bromovodíkovou, i vyšší reakční teplota nepřinesly lepší výsledky. Bylo proto nutno použít jiné způsoby detosylace.

Pokud byla pro detosylaci použita směs koncentrované kyseliny bromovodíkové a červeného fosforu<sup>[14]</sup>, výsledkem byla opět směs látek, obtížně identifikovatelná pomocí NMR. Hmotnostní spektrum ukázalo, že přítomna byla především vstupní látka a monotosylovaný intermediát, avšak téměř žádný cílený produkt. Uvedená metoda byla proto také shledána nevhodnou.

### 4.3 Optimalizace detosylace TACNBnTs<sub>2</sub> pomocí H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>

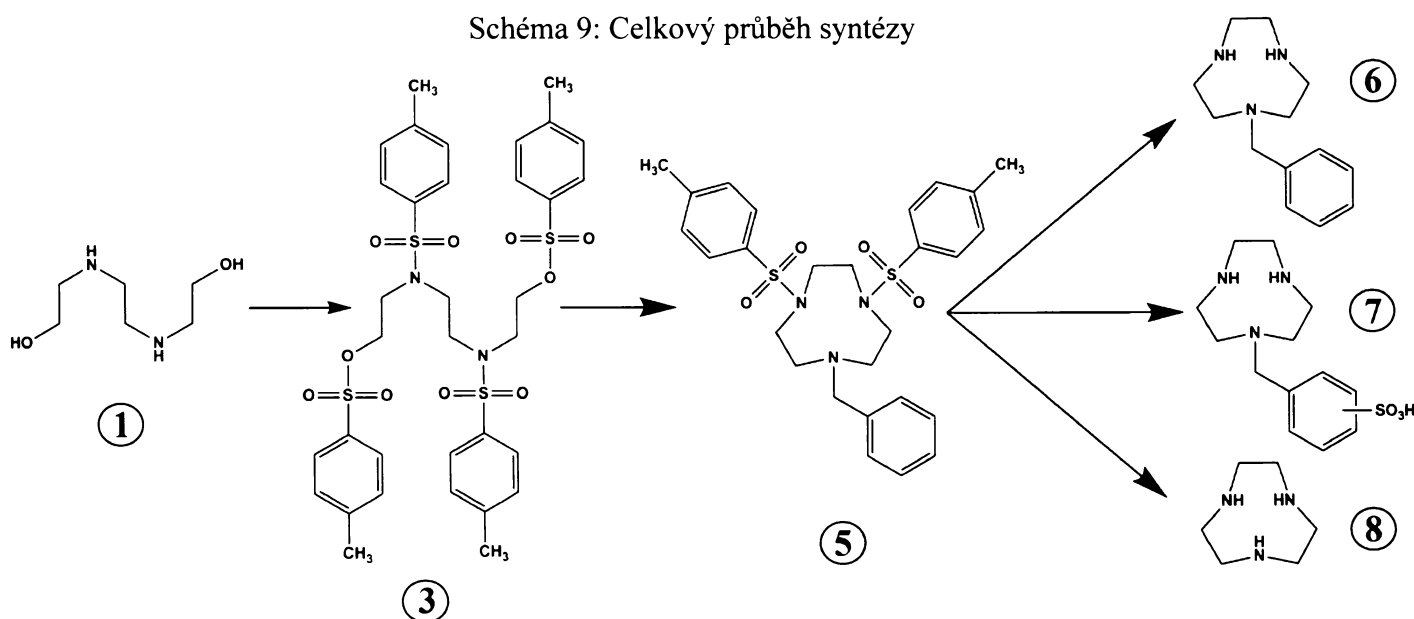
Další metodou obecně používanou pro detosylace je reakce s koncentrovanou kyselinou sírovou. V prvním pokusu byla navržena reakce při 95 °C po dobu 3 dní. Bylo zjištěno, že za těchto podmínek došlo bezezbytku k odbourání obou tosylových skupin, avšak

zároveň k sulfonaci benzylového jádra. Výsledkem tedy byl neočekávaný sulfonovaný produkt (7), TACNBnSO<sub>3</sub>H. Výtěžek byl 19 %, přičemž reakce však nebyla optimalizována. Příčina sulfonace byla odhadnuta na příliš dlouhý reakční čas.

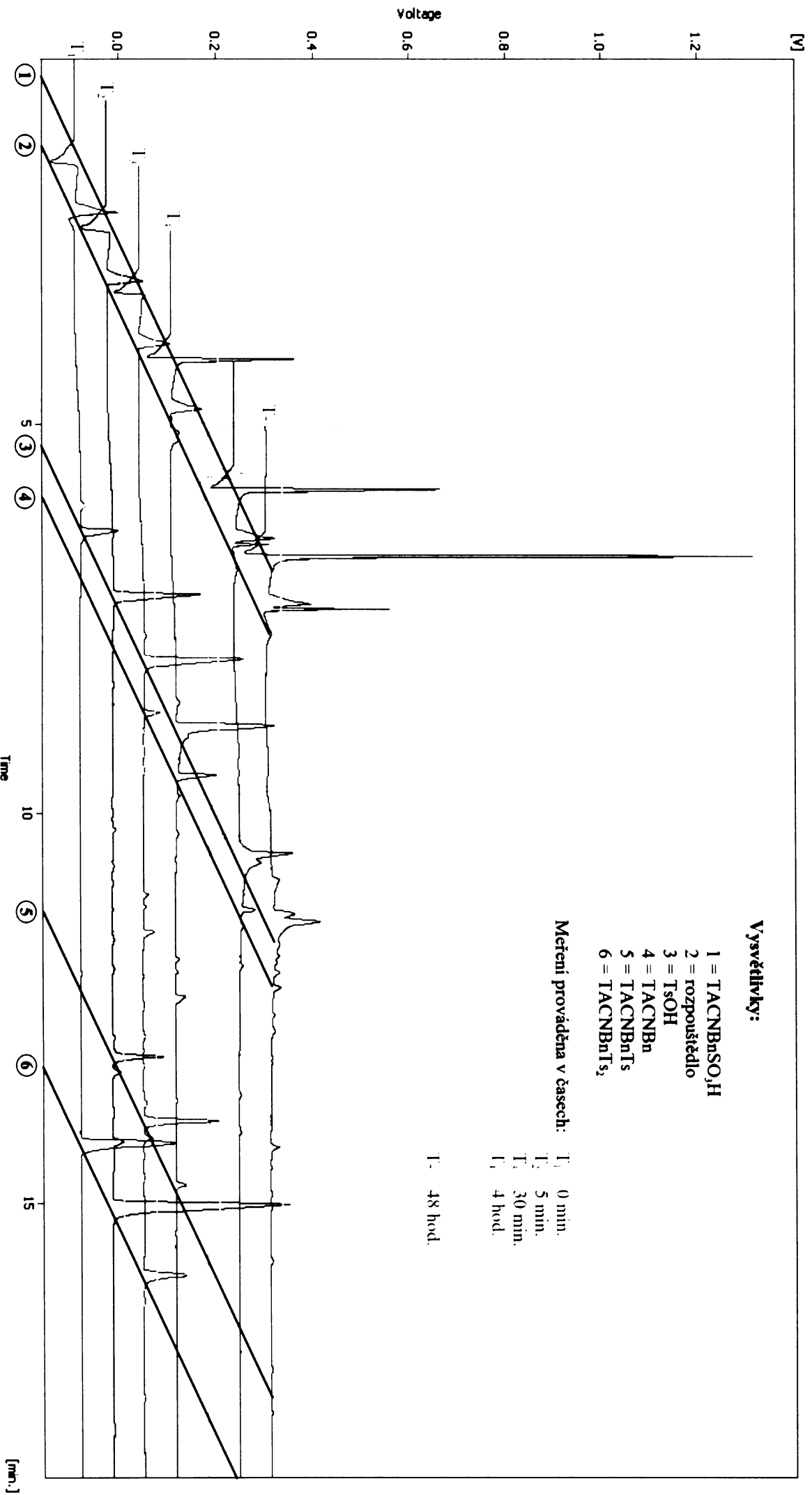
Ve snaze zjistit kinetiku reakce, odhadnout optimální reakční čas a teplotu tak, aby došlo k odbourání tosylových skupin ale zároveň ještě nedošlo k sulfonaci benzylového jádra, byla v dalším pokusu za stejných podmínek reakce průběžně sledována pomocí metody HPLC. Výsledný chromatogram je uveden na obrázku 9. Je patrné, že již po 5 minutách lze pozorovat vznik monotosylovaného intermediátu a úbytek vstupní látky, po 30 minutách je znatelný vznik produktu a po 4 hodinách je téměř všechna vstupní látka přeměněna na cílený produkt (6), avšak značné procento je již zároveň nasulfonováno. Příslušnost píků k jednotlivým látkám byla určena pomocí standardů; pro látky u kterých nebyl k dispozici standard bylo naměřeno MS spektrum příslušné frakce, podle kterého byla látka identifikována. Nižší pík odpovídající vstupní látce při čase  $T_1 = 0$  min je způsoben problémy s rozpustností výchozí látky při přípravě vzorku.

Detosylace pomocí koncentrované H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> byla vyzkoušena ještě za vysoké teploty a kratšího času; 180 °C po dobu 10 minut.<sup>[15]</sup> Bylo zjištěno, že za těchto podmínek dojde nejen k detosylaci, ale i k odbourání benzylového zbytku, výsledkem je tedy nesubstituovaný skelet TACN (8). Tyto podmínky tedy k cílenému produktu (6) nevedou.

Na základě poznatků získaných při předchozích pokusech o detosylaci, byla navržena reakce za mírnějších podmínek, 85 °C po dobu 12 hodin. Tato vedla ke směsi produktů (6) a (7), které byly snadno oddělitelné pomocí chromatografie na sloupci silikagelu, přičemž cílený produkt (6) byl výrazně v nadbytku. Celkový výsledek práce shrnuje schéma 9.



Obrázek 9: HPLC chromatogram

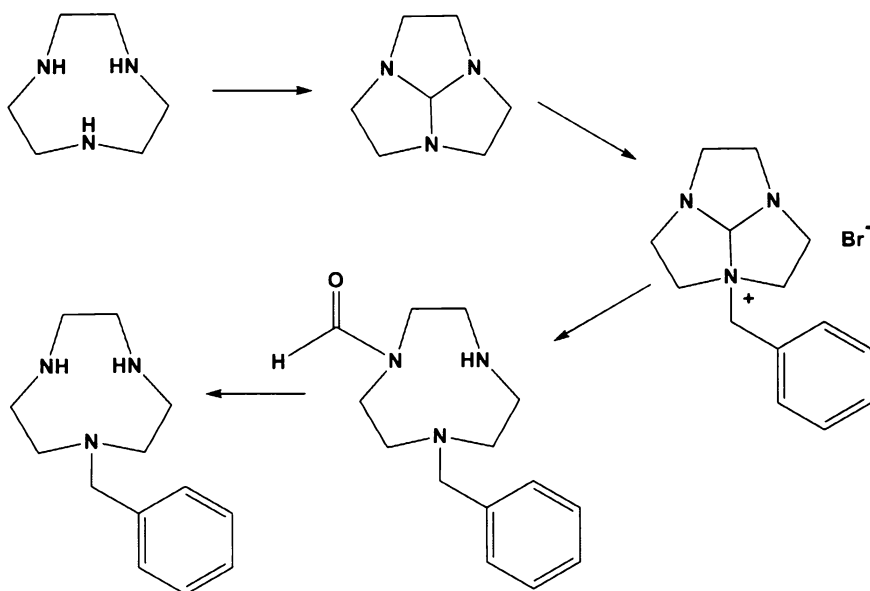




#### 4.4 Alternativní způsob přípravy TACNBn

TACNBn není novou látkou. Již dříve byla popsána další metoda jeho přípravy (schéma 10).<sup>[16,17,18,19]</sup> Vstupní látku, nesubstituovaný TACN, lze laboratorně připravit několikasupňovou syntézou<sup>[15,20]</sup>, případně je dostupný i komerčně, avšak jeho cena je řádově vyšší než cena vstupní látky (1) použité pro tuto práci. Proto byl v této práci zvolen postup vycházející z levných prekurzorů. Selektivní benzylaci TACN lze podle schématu 10 provést rychle a s vysokým výtěžkem. Pro budoucí syntézu TACNBn je proto třeba zvážit, zda je výhodnější časově delší postup optimalizovaný v této práci, nebo rychlejší, avšak finančně náročnější postup uvedený ve schématu 10.

Schéma 10:



#### 4.5 Možné další kroky v syntéze

Z časových důvodů a především díky uvedeným potížím při přípravě TACNBn nebyly další reakce prostudovány. TACNBn již může sloužit jako prekurzor pro další modifikace, především alkylation podle schématu 11 a fosforylaci podle schématu 12. Tyto reakce by podle obecně známých postupů měly probíhat bez větších obtíží.

Schéma 11: Alkylation

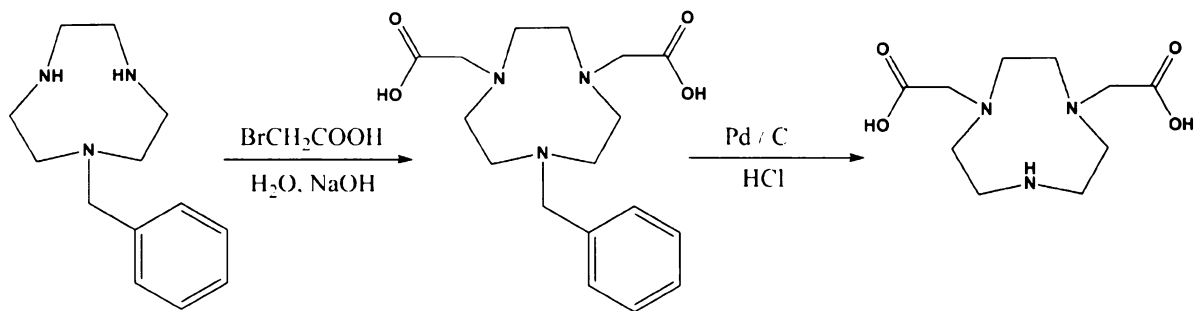
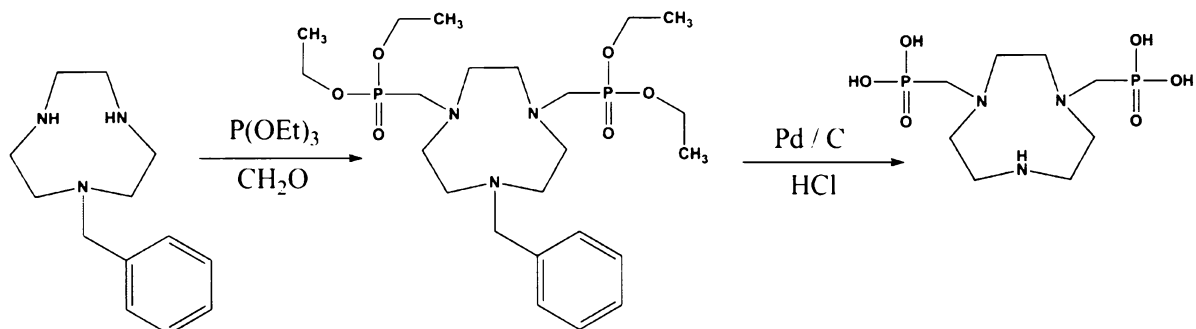


Schéma 12: Fosforylace



## 5. Závěr

Byla ověřena reprodukovatelnost publikované dvoustupňové syntézy TACNBnTS<sub>2</sub>. Povedlo se určit optimální reakční podmínky potřebné pro následnou klíčovou reakci, detosylaci TACNBnTS<sub>2</sub> za vzniku TACNBn, který slouží jako hledaný prekurzor pro další modifikace. Z časových důvodů a díky obtížím při výše zmíněné optimalizaci nebyla již další derivatizace v rámci této práce provedena a zůstává předmětem dalšího výzkumu. TACNBn byl připraven v množství dostatečném pro charakterizaci.

Vedlejší produkt detosylace TACNBnTS<sub>2</sub> pomocí koncentrované kyseliny sírové je sulfonovaný derivát TACNBnSO<sub>3</sub>H, který lze snadno připravit ve větším množství. Námětem pro další výzkum však zůstává, jak by sulfoskupina navázaná na benzylovém zbytku ovlivňovala vlastnosti a reaktivitu tohoto derivátu pro jeho další využití.

## 6. Seznam zkratek

1:	N,N'-bis(hydroxyethyl)-1,2-diaminoethan
2:	p-toluensulfonyl chlorid (tosyl chlorid)
3:	tetratosyl-N,N'-bis(2-hydroxyethyl)ethylendiamin
4:	benzylamin
5, TACNBnTS <sub>2</sub> :	1-benzyl-4,7-ditosyl-1,4,7-triazacyklononan
6, TACNBn:	1-benzyl-1,4,7-triazacyklononan
7. TACNBnSO <sub>3</sub> H:	1-(sulfonylbenzyl)-1,4,7-triazacyklononan
8. TACN	1,4,7-triazacyklononan
4SS:	N,N'-bis(2,2-dimethyl-2merkaptethyl)ethylendiamin
5SS:	karboxy-N,N'-bis(2,2-dimethyl-2merkaptethyl)ethylendiamin
6SS:	N,N'-bis(2,2-dimethyl-2merkaptethyl)ethylendiamin-N,N'- dioctová kyselina
AcOH	kyselina octová
DOTA:	1,4,7,10-tetraazacyklododekan-1,4,7,10-tetraoctová kyselina
DTPA:	diethylentriaminpentaoctová kyselina
EC:	N,N'-ethylen-di-l-cystein
EDDA-SS:	N,N'-bis(2-merkaptethyl)ethylendiamin-N,N'-dioctová kyselina
EDTA:	ethylendiamintetraoctová kyselina
Et <sub>2</sub> O	diethylether
EtOAc	ethylacetát
EtOH	ethanol
FDG:	2-deoxy-2-fluoro-D-glukosa
HBED:	N,N'-bis(2-hydroxy-3,5-dimethylbenzyl)ethylendiamin- N,N'- dioctová kyselina
MeCN	acetonitril
N(Et) <sub>3</sub>	triethylamin
NOTA:	1,4,7-triazacyklononan-1,4,7-trioctová kyselina
SHBED:	N,N'-bis(2-hydroxy-5-sulfonylbenzyl)ethylendiamin- N,N'- dioctová kyselina
<i>t</i> -butyl-HBED:	N,N'-bis(5- <i>terc</i> -butyl-2-hydroxy-3-methylbenzyl) ethylendiamin-N,N'-dioctová kyselina
TACN-HB:	1,4,7-tris(2-hydroxybenzyl)-1,4,7-triazacyklononan

TACN-HP:	1,4,7-tris(3-hydroxy-2-pyridylmethyl)-1,4,7-triazacyklononan
TACN-MeHP:	1,4,7-tris(3-hydroxy-6-methyl-2-pyridylmethyl)-1,4,7-triazacyklononan
TACN-TM:	1,4,7-tris(2-mercaptoethyl)-1,4,7-triazacyklononan
TACN-TX:	1,4,7-tris(3,5-dimethyl-2-hydroxybenzyl)-1,4,7-triazacyklononan
TACNBnTs:	1-benzyl-4-tosyl-1,4,7-triazacyklononan
TETA:	1,4,8,11-tetraazacyklotetradekan-1,4,8,11-tetraoctová kyselina
TMHBED:	tetrakis-(2-hydroxy-5-methylbenzyl)ethylendiamin
TMS:	tetramethylsilan
TsOH:	p-toluensulfonová kyselina

## 7. Seznam použité literatury:

- 1: Frangioni J V: *In vivo* near infrared fluorescence imaging, *Curr. Op. Chem. Biol.*, 2003; 7: 626–634
- 2: Rao J, Dragulescu-Andrasi A, Yao H: Fluorescence imaging *in vivo*: recent advances, *Curr. Op. Chem. Biol.*, 2007; 18: 17–25
- 3: Fani M, André P J, Maecke H R:  $^{68}\text{Ga}$ -PET: a powerful generator-based alternative to cyklotron-based PET radiopharmaceuticals, *Contrast Media Mol. Imaging*, 2008; 3: 67–77
- 4: Greenwood & Earnshaw: *Chemistry of elements*
- 5: Harris W.R, Pecoraro V: Thermodynamic binding constants for gallium transferrin, *Biochemistry*, 1983; 22: 292–299
- 6: Caraco C, Aloj L, Eckelman W C: The gallium-deferoroamine complex: stability with different deferoroamine concentrations and incubation conditions, *Appl. Radiat. Isot.*, 1998; 49: 1477–1479
- 7: Heppeler A, Froidevaux S, Mäcke H R, Hermann E, Bebé M, Powell P, Hennig M: R Radiometall-labeled macrocyclic chelator-derivatised somatostatin analogue with super tumour-targeting prosperities and potential for receptor-mediated internal radiotherapy, *Chem. Eur. J.*, 1999; 5: 1016–1023
- 8: Clarke E T, Martell A E: Stabilities of trivalent metal ion complexes of the tetraacetate derivatives of 12-, 13-, and 14-membered tetraazamacrocycles, *Inorg. Chim. Acta*, 1992; 190: 37–46
- 9: Clarke E T, Martell A E: Stabilities of the Fe(III), Ga(III) and In(III) chelates of N,N',N'' - triazacyclononatriacetic acid, *Inorg. Chim. Acta*, 1991; 181: 273–280
- 10: Reichert D E, Lewis J S, Anderson C J: Metal complexes as diagnostic tools, *Coord. Chem. Rev.*, 1999; 184: 3–66
- 11: Nicolas C, Borel M, Maurizis J-C, Gallais N, Rapp M, Ollier M, Verny M, Madelmont J-C: Synthesis of N-Quaternary Ammonium [ $^3\text{H}$ ] and [ $^{99\text{m}}\text{Tc}$ ] Polyazamacrocycles, Potential Radiotracers for Cartilage Imaging, *J. Labelled Cpd. Radiopharm.*, 2000; 43: 585–594
- 12: Pullacchini S, Watkinson M: An efficient one-pot route to symmetrically and unsymmetrically substituted 1,4,7-triazacyclononanes also results in the isolation of a stable macrocyclic aminal, *Tetrahedron Lett.*, 1999; 40: 9363–9365
- 13: Chong H, Brechbiel M W: A short and Efficient Synthesis of Mono-substituted 1,4,7-Triazacyclononanes, *Synth. Commun.*, 2003; 33: 1147–1154

- 14: Jordis U, Sauter F, Siddiqi S M, Küenburg B, Bhattacharya K: Synthesis of (1R,4R)- and (1S,4S)-Diazabicyclo[2.2.1]heptanes and their N-substituted Derivatives, *Synthesis*, 1990; 10: 925–930
- 15: Baker M V, Brown D H, Skelton B W, White A H: An investigation of 1,4,7-tri(4-alkynyl)-1,4,7-triazacyclononanes: ligand synthesis and metal co-ordination chemistry, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 2000; 4607–4616
- 16: Blake A J, Fallis I A, Gould R O, Parsons S, Ross S A, Schröder M: Stacked Amido Macrocyclic Complexes: Synthesis and Single Crystal X-Ray Structure of  $\text{Na}[\text{Cu}(\text{L})(\text{NCMe})](\text{BF}_4)_2(\text{NO}_3)$ ; [L = 1-formyl-4,7-bis(2-hydroxy-2-methylpropyl)-1,4,7-triazacyclononane], *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 1994; 21:2467–2470
- 17: Blake A J, Fallis I A, Parsons S, Ross S A, Schröder M: Asymmetric functionalisation of aza macrocycles. Syntheses, crystal structures and electrochemistry of  $[\text{Ni}(\text{Bz}[9]\text{aneN}_3)_2[\text{PF}_6]_2$  and  $[\text{Pd}(\text{Bz}[9]\text{aneN}_3)_2][\text{PF}_6]_2 \cdot 2 \text{ MeCN}$  (Bz[9]aneN<sub>3</sub> = 1-benzyl-1,4,7-triazacyclononane), *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 1996; 525–532
- 18: Blake A J, Fallis I A, Gould R O, Parsons S, Ross S A, Schröder M: Selective derivatisation of aza macrocycles, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 1996; 4379–4387
- 19: Wiesman G R, Vachon D J, Johnson V B, Gronbeck A D: Selective N-protection of Medium-ring Triamines, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 1987; 886–887
- 20: McAuley A, Norman P R, Olubuyede O: Preparation, Characterization, and Outer-Sphere Electron-Transfer Reactions of Nickel Complexes of 1,4,7-Triazacyclononane, *Inorg. Chem.*, 1984; 23: 1938–1943

## Poděkování

Na závěr práce bych rád poděkoval svému školiteli, Vojtovi Kubíčkovvi za výborné vedení, trpělivost a čas který pro tuto práci obětoval.

Dále děkuji Sandrovi za spoustu užitečných rad, zaučení na HPLC koloně, ochotné měření NMR spekter a Mírovi Pniokovi za měření hmotnostních spekter.

Děkuji celému osazenstvu laboratoře „19“ za vytvoření příjemného pracovního prostředí a dobrou podporu při řešení jakýchkoliv nesnází.