

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE

Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Chemie



Bakalářská práce

Lucie Kuncová

Značení komplexů hliníku a gallia radioizotopem ^{18}F

Radiolabeling of aluminum and gallium complexes with radioisotope ^{18}F

Vedoucí práce:

doc. RNDr. Vojtěch Kubíček, Ph.D.

Praha, 2020

Prohlášení:

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

V Praze, dne 10. června 2020

Lucie Kuncová

Abstrakt

Nejvíce využívaným zářičem v pozitronové emisní tomografii je izotop fluoru ^{18}F , který se dokáže stabilně vázat na řadu atomů a tím umožňuje tvorbu zobrazovacích činidel pro pozitronovou emisní tomografii. V této práci budou shrnuty metody značení komplexů obsahující ve své molekule kation hlinitý nebo gallitý, které mohou sloužit jako stabilní nosiče pozitronového zářiče v lidském těle. Oba tyto prvky mají jedinečné fyzikální a chemické vlastnosti vhodné pro molekulové zobrazování, a proto zde bude popsán vývoj značení komplexů, jejich struktura, koordinační okolí a některé aplikace v nukleární medicíně.

Klíčová slova

Komplexy, ligandy, značení radionuklidy, pozitronová emisní tomografie, nukleární medicína

Abstract

The most widely used emitter in positron emission tomography is the fluorine isotope ^{18}F , which can bind to a number of atoms, and thus allows the formation of imaging agents for positron emission tomography. This work will summarize methods for labeling complexes containing aluminum or gallium as a central cation, which can serve as stable carriers of the positron emitter in a human body. Both of these elements have unique physical and chemical properties suitable for molecular imaging. Therefore the development of complex labeling, their structure, coordination environment and some applications in nuclear medicine will be described here.

Keywords

Complexes, ligands, radiolabeling, positron emission tomography, nuclear medicine

Poděkování

V první řadě bych chtěla poděkovat svému školiteli doc. RNDr. Vojtěchu Kubíčkovi, Ph.D., za vedení mé práce, trpělivost a ochotu pomoci.

Dále bych chtěla poděkovat všem z laboratorní skupiny za jejich pozitivní přístup a mnoho praktických rad. Velmi si vážím toho, že jsem měla možnost poznat tolik skvělých a zábavných lidí, kteří každý strávený den v laboratoři dělají něčím výjimečným.

Zejména chci poděkovat Elišce, která mě naučila vše do mých laboratorní začátků a jsem vděčná za její trpělivost se mnou. I v její osobní nepřítomnosti mi vždy dokázala pomoci i na stovky kilometrů daleko.

Chtěla bych také poděkovat svému příteli Viktorovi. Myslím, že jsme důkazem, že na přírodovědecké fakultě nejde jen o chemii, která probíhá v baňkách, počítačích nebo na papíře. Děkuju za to, že jsi se mnou zvládl i ty těžké časy a dokázal mi v laboratoři i během studia pomoci, když bylo potřeba.

V neposlední řadě bych chtěla poděkovat svým přátelům, které jsem na Přírodovědecké fakultě potkala, a to nehledě na ročník i obor. Poznala jsem zde řadu výjimečných lidí, kteří mě dokázali motivovat jak v práci, tak pobavit v životě.

Děkuji tátovi za to, že mě motivoval studovat vysokou školu, která mi poskytne více životních možností. Vážím si toho, že jsem díky tobě tuto příležitost mohla využít.

Děkuji Vám všem!

Obsah

1	Úvod.....	7
1.1	Molekulární zobrazování	7
1.1.1	Zářiče pro PET.....	9
2	Značení metodou C- ¹⁸ F.....	10
2.1	Značení jiných nekovových atomů	15
3	Hlinité a gallité komplexy.....	16
3.1	Metody značení komplexů Al ³⁺ a Ga ³⁺	17
3.2	Ligandy pro Al ³⁺ a Ga ³⁺	19
4	Komplexy s navázanou targetující skupinou	27
5	Závěr	33
6	Použitá literatura	35
7	Použité zkratky	42

1 Úvod

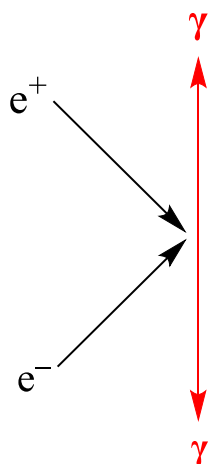
S rychlým rozvojem techniky v posledních desetiletích získáváme čím dál větší rozsah možností zobrazování živých organismů, a to především anatomie člověka, čehož lze využít při odhalování abnormalit v lidském těle, nejčastěji nádorových onemocnění. K tomu využíváme radiodiagnostické metody, kterých existuje několik. Běžně je rozdělujeme na anatomické (morfologické) a molekulární (funkční) zobrazovací techniky. O strukturálních změnách lze získat informace pomocí magnetické rezonance (MRI), počítačové tomografie (CT) nebo vysokofrekvenčního ultrazvuku. Tyto metody neposkytují data o funkcích a metabolismu jednotlivých tkání. Molekulární zobrazení lze získat prostřednictvím optických metod (fluorescence nebo bioluminiscence), jednofotonové emisní výpočetní tomografie (SPECT),¹ anebo pozitronové emisní tomografie (PET),² nejvíce využívané zobrazovací metody. Ta poskytuje kvantitativní informace o biochemických i fyziologických procesech a práce s ní obnáší řadu výhod, jakými je vysoká citlivost zobrazení nebo malé dávky radioaktivity při vyšetření. Zároveň se může s jinými metodami kombinovat pro získání jak funkčních, tak morfologických obrazů. Potom hovoříme o technikách PET/CT nebo PET/MRI.³⁻⁵

1.1 Molekulární zobrazování

Velká skupina metod, která využívá ionizující záření v medicíně, se nazývá radiologie. Do této skupiny patří i výše zmíněna radiodiagnostika, která nám umožňuje zobrazovat, charakterizovat a kvantifikovat biologické procesy na molekulární a buněčné úrovni. Tyto děje v živých organismech můžeme sledovat aplikováním vhodného radiofarmaka. Radiofarmakum je látka, která má ve své struktuře navázaný radioizotop emitující záření o určité energii, které je možné snímat pomocí detektorů. Metody se od sebe vzájemně liší principem zobrazovací techniky a kvalitou výsledků. Nejvíce využívanými metodami jsou PET a SPECT.

PET poskytuje anatomický obraz živého organismu za použití pozitronových zářičů. Jedná se o radionuklidy, které uvolňují radioaktivní záření přeměnou β^+ ve formě kladně nabitých elektronů neboli pozitronů.² V praxi se nejčastěji intravenózně podá pacientovi radiofarmakum, na kterém je navázan radionuklid. V těle pacienta poté dochází k anihilaci částic. V případě PET diagnostiky dochází ke srážce uvolněného pozitronu s elektronem (Obrázek 1), při které vznikají dva fotony záření γ o energii

511 keV. Tento děj se řídí zákonem zachování hybnosti, což v důsledku znamená, že se fotony šíří vzájemně opačnými směry.⁶ Pro detekci těchto fotonů se využívá koincidenčních detektorů, které dokáží identifikovat místo anihilace na přímce mezi fotony. Čím více je použito detektorů, tím přesněji lze zjistit, kde v trojrozměrném prostoru k anihilacím dochází a mohou se tak lépe lokalizovat případné abnormality v živém organismu.



Obrázek 1. Schématické znázornění anihilace v PET

Na rozdíl od PET je principem SPECT¹ podání radiofarmaka obsahujícího radionuklid vyzařující γ záření (nejčastěji ^{99m}Tc), které je snímáno pomocí scintilačních kamer v různých rovinách tomografického řezu.¹ Následně je obraz rekonstruován z jednotlivých snímků matematickými operacemi. Nevýhod této techniky oproti PET je však několik. Jelikož je průběh snímání ovlivněn některými fyzikálními jevy (Comptonův rozptyl a fotoelektrický jev), je mnohdy záření oslabené a dochází ke vzniku nepřesných obrazů. Z fyziologického hlediska je nevýhodou radiační zátěž, která bývá vyšší než při využití pozitronových zářičů v PET. Je zde myšlena především dávka radioaktivity udělená pacientovi během vyšetření. I přesto se metoda SPECT stále aktivně využívá, jelikož byla před objevením PET rozšířena po celém světě a jedná se také o levnější variantu pro klinickou praxi. Hlavní výhodou této metody je snadná dostupnost radioizotopu ^{99m}Tc (oproti např. ^{18}F).

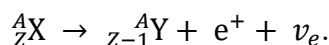
Obě metody využívají radioizotopy z různých zdrojů. Každý radionuklid se získává jinou metodou a jinými reakcemi. Radioizotopy pro SPECT se získávají z radionuklidových generátorů, které se používají snadno a jsou poměrně levné. Nejvíce používaným SPECT generátorem je molybdenový ^{99}Mo , který vytváří metastabilní

technecium ^{99m}Tc podle rovnice ^{99}Mo ($T_{1/2}$ 66 h.) \rightarrow ^{99m}Tc ($T_{1/2}$ 6 h.) a jeho životnost je přibližně dva týdny. Jinou metodou pro získávání radionuklidů jsou jaderné reaktory, ve kterých je možné izolovat štěpné produkty uranu ^{235}U , které se využívají v radiologii. Dále štěpením uranu vznikají neutrony, které se využívají pro ostřelování jader jiných prvků. Tímto způsobem lze připravit řadu dalších radioizotopů např. ^{99}Mo pro molybdenový generátor.

Radioizotopy pro PET se nejčastěji získávají pomocí cyklotronů (cyklických vysokofrekvenčních urychlovačů), ve kterých jsou nabitě částice vlivem elektrického pole urychlovány a magnetické pole jim udává směr proudění. Urychlené částice prochází tzv. terčem, který obsahuje izotop původního (mateřského) prvku. V důsledku srážek se mění struktura jádra, konkrétně počet protonů a získáváme radionuklid, který se po ozáření uvolní a zpracovává. Tímto způsobem můžeme získat mnoho zářičů využívaných v PET.

1.1.1 Zářiče pro PET

Radionuklidy jsou nuklidy prvků schopné samovolné radioaktivní přeměny jader. Existují přeměny, během kterých se radioaktivní záření uvolňuje ve formě částic (α a β) nebo elektromagnetického záření (γ). Jak již bylo zmíněno, v PET zobrazování se využívá radionuklidů s přeměnou β , konkrétně β^+ , které lze popsat obecnou rovnicí



Těchto zářičů je celá řada a některé z nich jsou izotopy prvků, se kterými se běžně setkáváme ve struktuře živých organismů (Tabulka 1).

Tabulka 1. Nejběžnější pozitronové zářiče^{7,8}

Radionuklidy	Poločas rozpadu (min.)	Energie (MeV)
^{11}C	20,4	0,96
^{13}N	10,0	1,19
^{15}O	2,0	1,73
^{18}F	109,8	0,64
^{68}Ga	68,0	1,90
^{82}Rb	1,3	3,15

Jednotlivé izotopy se liší poločasy rozpadu a také energií (Tabulka 1). Nejvíce využívaným pozitronovým zářičem pro PET diagnostiku je ^{18}F . Z tabulky je zřejmé, že má z uvedených izotopů nejdelší poločas rozpadu, který udává čas, za který se přemění polovina přítomných radionuklidů na další dceřiné nuklidy. Tato informace je důležitá při zhodnocení doby přípravy radiofarmak nebo při aplikacích v živém organismu. Energií má tento izotop nejmenší, což je výhodné pro výsledné rozlišení snímků z PET vyšetření. Také rozpad tohoto jádra není téměř doprovázen dalšími procesy, jako je např. elektronový záchyt.

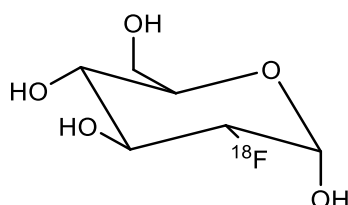
Kromě toho má fluor řadu dalších výhodných vlastností. Jedná se o prvek, který má nejvyšší elektronegativitu v periodické soustavě prvků, a tudíž dokáže silně poutat vazebné elektrony. Důsledkem toho s řadou atomů vytváří polární kovalentní vazby a s jinými vazby iontové. Tím se vytvářejí pevná spojení poskytující tepelnou stabilitu vazby a odolnost vůči oxidaci. To je jen několik vlastností, které jsou však velmi podstatné při zavedení určité látky do živého organismu.

Radioizotop ^{18}F můžeme získat několika způsoby.⁹ Méně využívanou metodou je ostřelování izotopu neonu pomocí deuteronů (^2H) podle rovnice $^{20}\text{Ne}(\text{d}, \alpha)^{18}\text{F}$. Naopak nejvíce využívanou metodou je ostřelování kyslíku ve formě H_2^{18}O . Tímto způsobem vzniká roztok obsahující fluoridy $^{18}\text{F}^-$. Jinou možností, jak získat ^{18}F je ostřelovat molekulu $^{18}\text{O}_2$, které se provádí pomocí protonů (^1H).¹⁰ Tímto způsobem se získá plynná forma $^{18}\text{F}_2$. Jak je zřejmé, můžeme získat radionuklid pro značení molekul ve dvou odlišných formách. Obě tyto formy se využívají, jelikož pro jisté reakce se spíše hodí nukleofil ve formě fluoridu a pro jiné reakce zase elektrofilní fluor. Je nutné však počítat s tím, že při reakcích s $^{18}\text{F}_2$ se nevyhneme přítomnosti tzv. nosiče $^{19}\text{F}_2$, který se využívá k extrahování radioizotopu z terče, a tedy k jeho získání z cyklotronu. Tento nosič způsobí, že specifická aktivita $^{18}\text{F}_2$ bude mnohem menší než aktivita fluoridu v roztoku.

2 Značení metodou C- ^{18}F

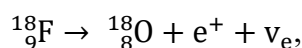
Látky, které ve své struktuře vážou radioizotop ^{18}F na atom uhlíku, byly vůbec prvními, které se v PET aktivně využívaly. Atom uhlíku vytváří s fluoridem poměrně silnou vazbou (Tabulka 2) a jelikož je velká část živých organismů tvořena sloučeninami uhlíku, nabízí se řada látek, které je možné využít pro značení. Radioizotop ^{18}F musí být na struktuře pevně zachycen, aby nedocházelo k jeho disociaci a hromadění v lidském

těle, jelikož fluorid se vyměňuje s hydroxidovými ionty hydroxyapatitu a tímto způsobem se kumuluje v kostech.¹¹ Výjimkou je vyšetření pomocí Na^{18}F , které se k tomuto účelu využívá. Také je důležité, aby byla látka, na které je izotop vázán, v těle správně metabolizována nebo vylučována. Proto se před klinickými aplikacemi provádí mnoho testů na zvířatech. Doposud nejvíce studovanou a využívanou molekulou pro PET je značená glukosa (Obrázek 2).



Obrázek 2. ^{18}F -fluorodeoxyglukosa

^{18}F -fluorodeoxyglukosa (FDG) se primárně využívá ke sledování metabolismu glukosy v těle,¹² jelikož má stejnou strukturu, ale na jednom z uhlíků je hydroxylová skupina nahrazena fluoridovým radioizotopem. Jako analog glukosy je tedy schopná přecházet do buněk, kde dochází k fosforylaci za vzniku ^{18}F -FDG-6-fosfátu. Ten se akumuluje v buňce, dokud nedojde k radioaktivní přeměně podle rovnice

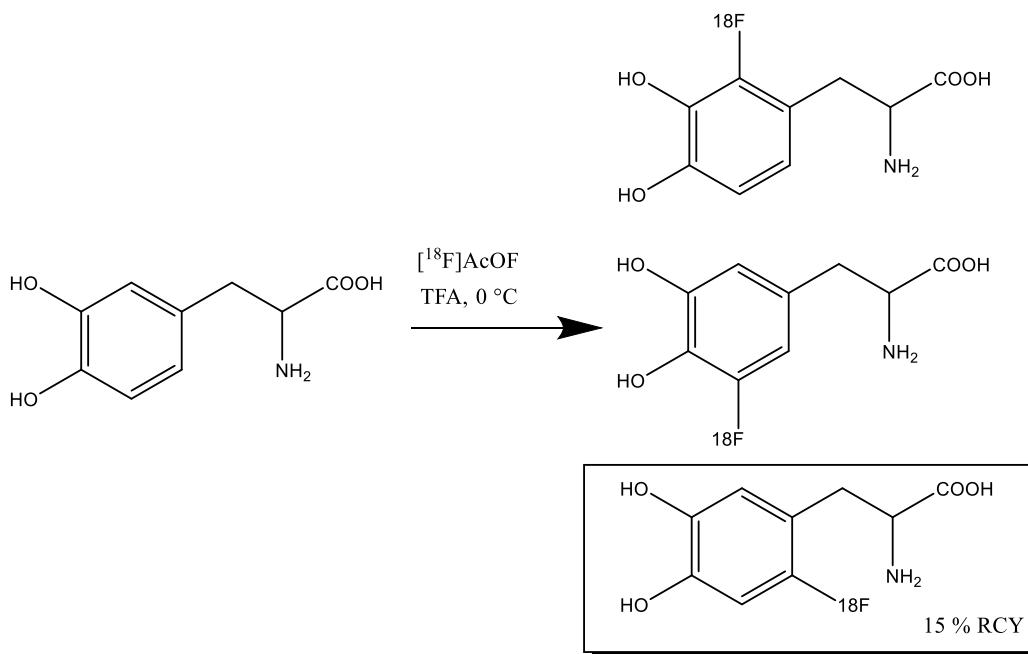


při které vzniká izotop kyslíku ^{18}O , který již nijak nebrání dalšímu metabolismu glukosy v těle. Tímto způsobem je možné pomocí PET sledovat srdce, plíce, mozek – orgány a tkáně, kde dochází k metabolismu glukosy nejvíce. Pomocí FDG lze monitorovat některé nemoci jako jsou rakovina tlustého střeva, prsu nebo diagnostikovat Alzheimerovu chorobu.¹³

Kromě FDG se využívají další látky s vazbou ^{18}F přímo na atom uhlíku např. ^{18}F -FLT (^{18}F -3-fluoro-2-deoxy-thymidin), ^{18}F -choline a ^{18}F -FET (*o*-(2- ^{18}F -fluoroethyl)-L-tyrosin) v onkologii a ^{18}F -fallyprid, ^{18}F -DOPA (3,4-dihydroxyfenylalanin), ^{18}F -altanserin v neurologii (Obrázek 3).¹⁴ Do dnešní doby má značená glukosa a další molekuly obsahující vazbu $\text{C}-^{18}\text{F}$ řadu využití. Tyto molekuly můžeme značit různými způsoby podle toho, o jakou strukturu se konkrétně jedná.

Triflát (Tf) je zde přítomen v roli odstupující skupiny, která je důsledkem S_N2 substituce nahrazena fluoridovým aniontem. Následně jsou chránící acetylové skupiny odstraněny reakcí v přítomnosti HCl za vzniku ^{18}F -fluorodeoxyglukosy. Vše se provádí v co nejkratším čase z důvodu poměrně krátkého poločasu rozpadu izotopu ^{18}F . Jedná se o typický příklad nukleofilní substituce.

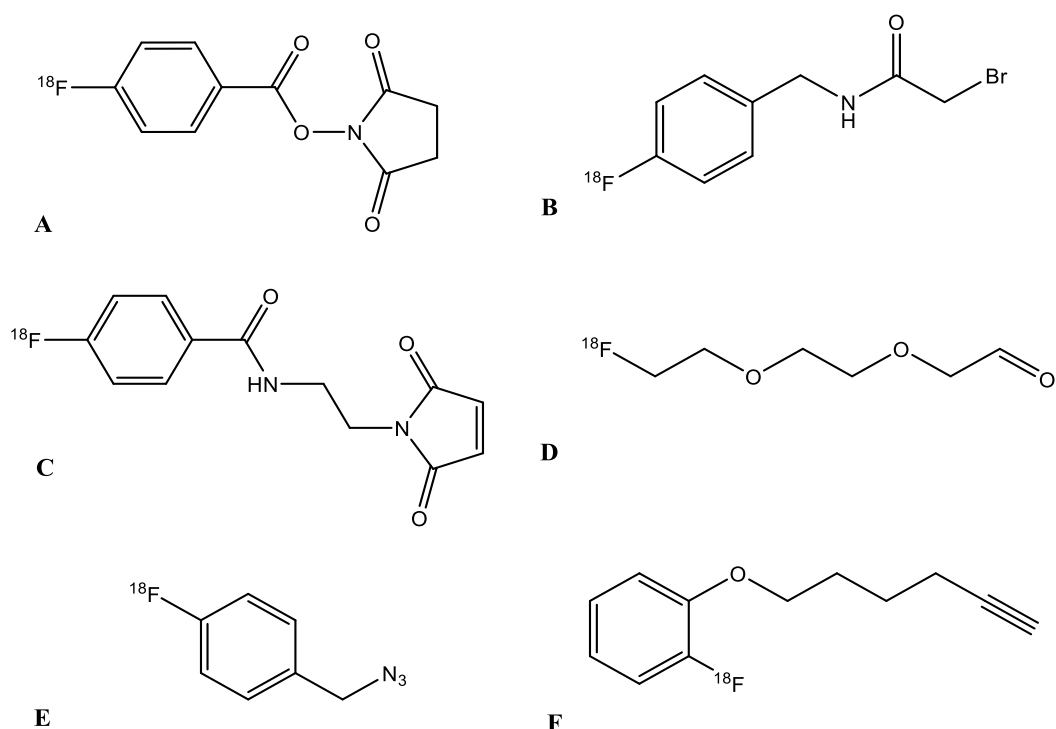
Přímá elektrofilní fluorace se také využívá, ale v menším měřítku. Tato metoda, vlivem silných oxidačních vlastností fluoru, poskytuje téměř vždy směs produktů. Typickým příkladem je značení L-DOPA (Obrázek 5),¹⁷ látky, která se uplatňuje v mnoha biologických systémech a využívá se ke zvýšení koncentrace dopaminu v lidském těle pro léčbu některých nemocí centrální nervové soustavy (CNS). U značení ^{18}F -DOPA se zabráňuje tvorbě nežádoucích produktů temperováním reakce na nízké teploty v přítomnosti inertního plynu, nejčastěji neonu. Jako fluorační činidla se využívají Xe^{18}F_2 nebo $\text{CH}_3\text{COO}^{18}\text{F}$ ($[\text{}^{18}\text{F}]\text{AcOF}$). Reakce probíhá při teplotě $0\text{ }^\circ\text{C}$ v kyselině triflouroctové (TFA) a výtěžek reakce činí pouhých 15 %. Ačkoliv se dříve tato látka značila výhradně elektrofilní substitucí, tak dnes se setkáváme i zde s nukleofilní substitucí, která poskytuje přesnější značení a vyšší výtěžek.



Obrázek 5. Elektrofilní fluorace L-DOPA¹⁷

Biomolekuly jsou v moderních metodách značení důležitou součástí zobrazovacích činidel. Nejčastěji se jedná o peptidy, proteiny a oligonukleotidy, které umožňují kumulaci jen v určitých tkáních a jsou proto specificky distribuovány v živém organismu. Většina těchto biomolekul je tepelně nestabilních. Poměrně specifický způsob značení se nabízí využitím prostetických skupin (PS).¹⁰ Jedná se o malé o molekuly značené radioizotopem (¹⁸F), které se mohou prostřednictvím organických reakcí vázat na biomolekuly.

Z důvodu velkého množství biomolekul bylo vyvinuto i mnoho prostetických skupin. Důležitý je výběr těchto skupin pro aplikace, jelikož jejich navázáním může docházet ke změně chemických i biologických vlastností celé molekuly. Na biomolekulu mohou být prostetické skupiny konjugovány prostřednictvím acylace, alkylace, thiolové či oximové vazby nebo metodou „Click“ chemie (Obrázek 6).¹⁸ Každý z těchto způsobů se využívá podle struktury biomolekuly, na kterou chceme prostetickou skupinu vázat. Příprava těchto konjugátů trvá 1–3 hodiny a jedná se vždy o několika krokovou syntézu. Proto se tato metoda dále příliš nerozvíjí a hledá se jednodušší a rychlejší metoda značení pro PET.



Obrázek 6. Příklady prostetických skupin pro konjugaci acylací (A), alkylací (B), thiolovou (C) či oximovou (D) vazbou nebo metodou „Click“ chemie (E, F)¹⁸

2.1 Značení jiných nekovových atomů

Pozitronová emisní tomografie byla dlouho spojena pouze se sloučeninami, kde se radioizotop váže na atom uhlíku. Metody značení uhlíku jsou dlouho známé, ale přesto nesplňují to, co by si vědci od jednoduché a rychlé metody značení představovali. Jak již bylo uvedeno, příprava radiofarmak je časově náročná a pro citlivé biomolekuly není příliš výhodná. Proto řada vědeckých skupin začala studovat i jiné prvky, které mají schopnost vytvářet s fluoridovým aniontem silnou vazbu (Tabulka 2).¹⁹

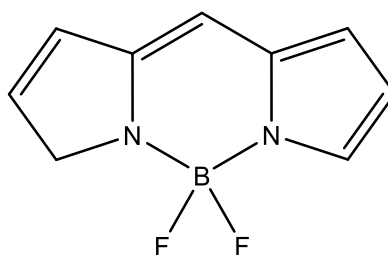
Prvky stejných skupin mají velmi často podobné chemické vlastnosti. Výjimku netvoří ani 14. skupina. Křemík dokonce tvoří silnější vazbu s fluoridem než atom uhlíku (Tabulka 2).^{6,20} Naopak kinetická stabilita byla u vazby Si-¹⁸F očekávatelným problémem, jelikož je silně polarizovaná. Studované sloučeniny byly např. ¹⁸F-SiF₄ nebo (CH₃)₃Si¹⁸F, u kterého značení probíhalo výměnou chloridu v molekule (CH₃)₃SiCl za radioizotop fluoru.²¹ Při testování značených sloučenin křemíku *in vivo* se ukázalo, že vazba velmi brzy podléhá hydrolyze a dochází k defluoraci. Tento problém se výrazně minimalizoval použitím objemných alkylových skupin v okolí vazby Si-¹⁸F. Tím se však látka stává lipofilní, což pro aplikace radioizotopu do živého organismus není ve většině případů vhodné. Proto se tento typ látek v běžné klinické praxi nevyužívá.

Tabulka 2. Disociační energie a průměrné délky vazeb studovaných prvků s fluorem ^{22,23}

Vazba	D [kJ·mol ⁻¹]	l [Å]
C-F	514	1,35
Si-F	576	1,60
B-F	732	1,30
Al-F	675	1,63
Ga-F	577	1,82

Dalším studovaným nekovovým prvkem byl bor, který tvoří s fluoridy velmi pevné vazby (Tabulka 2). Jeho afinitu k fluoru dokazují některé sloučeniny, které se využívají jako receptory fluoridových aniontů.^{22,24} Díky snadné tvorbě kovalentní vazby B-¹⁸F mohou být molekuly značeny rychle i v částečně vodném prostředí. Proto byla studována řada aryltrifluoborátů, kde se využívá elektrofilních arylových skupin pro zvýšení stability vazby s radioizotopem fluoru. Ve většině případů však docházelo k hydrolyze a vzniku příslušné kyseliny boru.²⁵

Zajímavou možností je využití konjugátů, které mají své struktury navázaný jak pozitronový zářič, tak fluorofor.²⁶ Je tedy možné využít současně nejen PET, ale také fluorescenční metody. Pro využívání fluorescenčních metod tak bylo využito barvivo BODIPY (Obrázek 7), které ve své molekule obsahuje dva fluoridové atomy. Značení probíhá výměnnou jednoho neaktivního fluoridového aniontu za radioizotop $^{18}\text{F}^-$. Na rozdíl od předešlých metod není nutné využívat primárně nevodných prostředí. BODIPY bylo navázáno i na některé biomolekuly a tyto konjugáty byly dále testovány. Duální zobrazování pomocí těchto látek poskytovalo dobré výsledky *in vitro*. Mohlo by se tedy jednat o novou alternativu zobrazování pro PET.²⁷



Obrázek 7. Struktura fluorescenčního barviva BODIPY

3 Hlinité a gallité komplexy

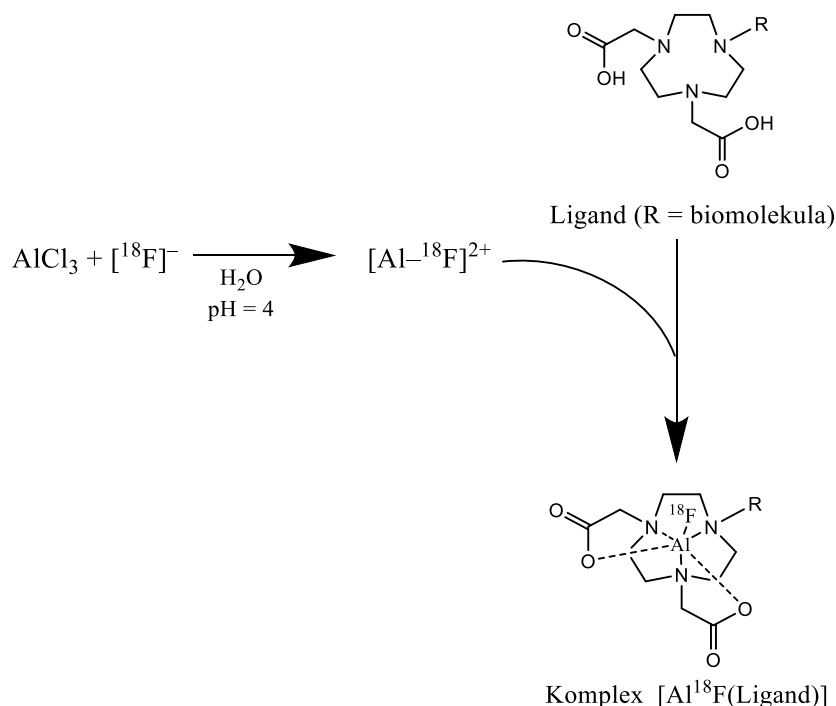
První pokusy o značení jiných nekovových prvků, než je uhlík, přinesly velmi omezené možnosti pro praktická využití v PET. Přesto vedly tyto experimenty k rozvoji nových alternativ pro značení ^{18}F . Kromě nekovových prvků můžeme vázat fluoridy i na kovy prostřednictvím koordinačních sloučenin. Jak již víme, prvky 13. skupiny vytvářejí silné vazby s fluorem. Kromě nekovových prvků mezi ně patří i kovy hliník a gallium, které mohou vytvářet hlinité a gallité komplexy. Tyto dva kovové ionty se svými koordinačními vlastnostmi staly možností, jak biomolekuly nejen účinně značit, ale díky stabilitě jejich komplexů také využívat v PET.

Tyto dva kovy nevytváří ve vodném prostředí stabilní vazby s uhlíkem, a proto se využívají ve formě koordinačních sloučenin. Pro navázání těchto kovů (iontů) se využívají především polydentátní ligandy (cheláty), jejichž komplexy mohou být stabilní i za fyziologických podmínek. Ligandy mohou být jak lineární, tak cyklické. V PET se primárně setkáváme s cyklickými deriváty NOTA, které tvoří poměrně stabilní komplexy ve vodném prostředí za zvýšené teploty. Možná využití mají i lineární ligandy, které

umožňují tvorbu komplexu za laboratorní teploty. O tom, jaký ligand je vhodné zvolit často rozhoduje i metoda značení, která má být využívána.

3.1 Metody značení komplexů Al^{3+} a Ga^{3+}

Nejběžnější metodou značení hlinitých komplexů je tzv. metoda $\text{Al-}^{18}\text{F}$. Součástí postupu jsou dvě reakce. Prvním krokem je tvorba fluorido-hlinitého kationtu $[\text{Al-}^{18}\text{F}]^{2+}$, který se ve druhém kroku naváže na ligand velmi často konjugovaný s biomolekulou. Pro přípravu značeného hlinitého kationtu se využívá hexahydrátu chloridu hlinitého v octanovém pufru o $\text{pH} = 4$, který se následně smíchá s roztokem $^{18}\text{F}^-$. V druhém kroku se na $[\text{Al-}^{18}\text{F}]^{2+}$ koordinuje stabilizující ligand (Obrázek 8). Při koordinaci ligandu je důležitá hodnota pH v roztoku. Při vysokém pH může docházet k vylučování hydroxidu hlinitého, naopak při příliš nízkém pH může být reakce zpomalována protonizací ligandu. Optimální podmínky, při kterých je upřednostňována tvorba komplexu $[\text{Al}^{18}\text{F}(\text{ligand})]$, jsou při $\text{pH} \sim 4$.

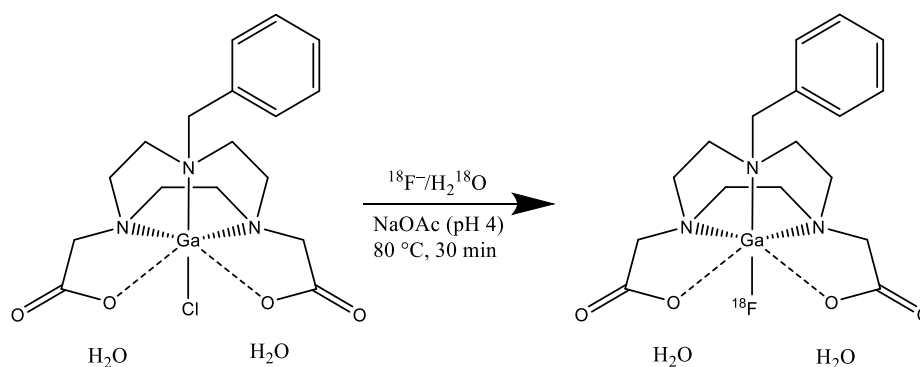


Obrázek 8. Značení látek pomocí $\text{Al-}^{18}\text{F}$ ²⁸

Na rozdíl od původních metod značení atomů uhlíku je zde potřeba daleko méně čistících (purifikačních) kroků, které jsou časově náročné. Také není potřeba reakce provádět za vysokých teplot v organických rozpouštědlech, které některé biomolekuly jednak poškozují a jednak se pro klinická využití následně musí odstranit vysoušením.

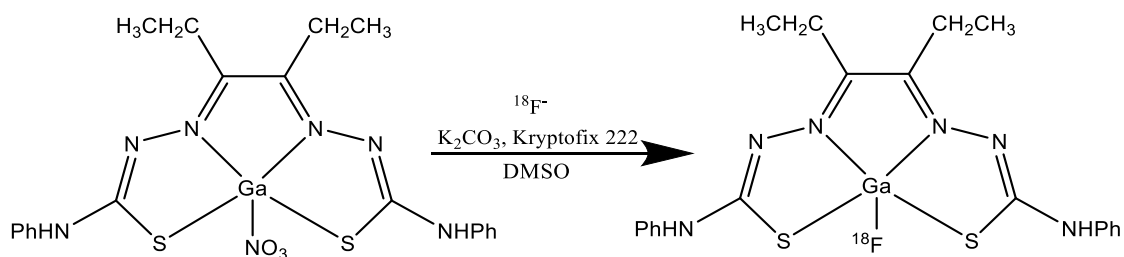
I přesto se většina reakcí musí provádět za vyšších teplot pro získání dobrého radiochemického výtěžku za krátký čas (15–30 minut). Alternativním způsobem značení je tvorba hlinitého komplexu, na který se v posledním kroku naváže $^{18}\text{F}^-$. Doposud však jsou detaily o tomto postupu v literatuře velmi omezené.^{29,30}

Gallité komplexy se na rozdíl od těch hlinitých značí výměnnou ligandových skupin. Metoda se nejčastěji provádí pomocí výměny halogenidů (Obrázek 9).²⁹ To znamená, že se nejdříve předpřipraví komplex $[\text{GaCl}(\text{ligand})]$ a následně dojde k nahrazení chloridu za fluorid. Jako zdroj gallia se pro tvorbu komplexu využívá dusičnan gallitý nonahydrát, který reaguje s hydrochloridem ligandu. Komplex se následně rozpustí v acetátovém pufru, do kterého se přidá $^{18}\text{F}^-$ v roztoku ozářené vody H_2^{18}O . Tento způsob značení je účinný již za laboratorní teploty a za 30 minut poskytuje radiochemický výtěžek ~30 % pro komplex s ligandem NODA-benzyl (Obrázek 9).²⁹ S rostoucí teplotou se radiochemický výtěžek zvyšuje (70 % při 80 °C).



Obrázek 9. Halogenidová výměna $[\text{Ga}^{18}\text{F}(\text{ligand})]^{23}$

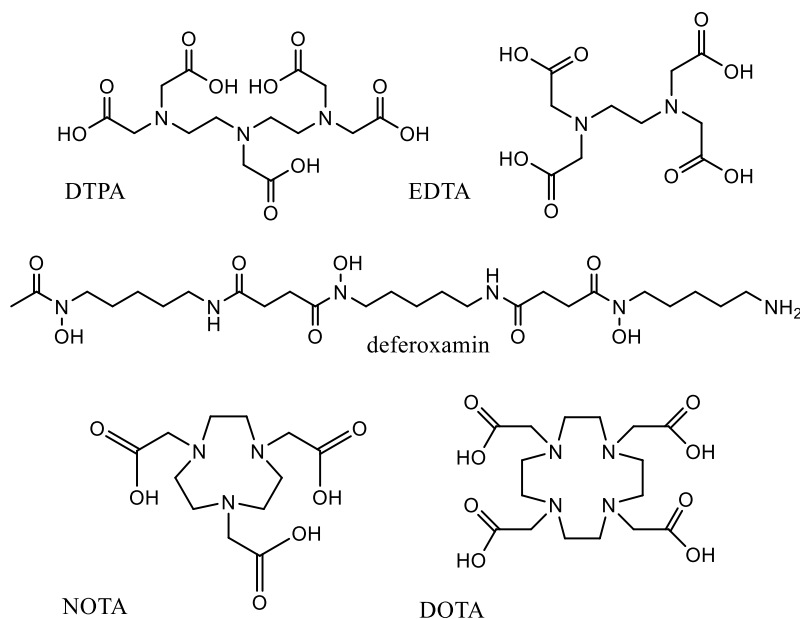
To, že se nemusí jednat jen o halogenovou výměnu jako v předešlém případě, dokazuje značení komplexů obsahující ve své struktuře thiosemikarbazony.³¹ Jedná se o ligandy skládající se z více donorových atomů (dusík, kyslík a síra), díky kterým se mohou koordinovat s řadou kovů. S dusičnanem gallitým tvoří stabilní nitrátový komplex (Obrázek 10), který se následně značí výměnnou skupinou NO_3^- s aniontem $^{18}\text{F}^-$. Dusičnan je lépe odstupující skupina (než chlorid), takže reakce probíhá rychle a jedná se o poměrně jednoduchou a novou metodu značení, která může mít i všeobecné využití pro další radiofarmaka.³²



Obrázek 10. Značení výměnou skupin³¹

3.2 Ligandy pro Al³⁺ a Ga³⁺

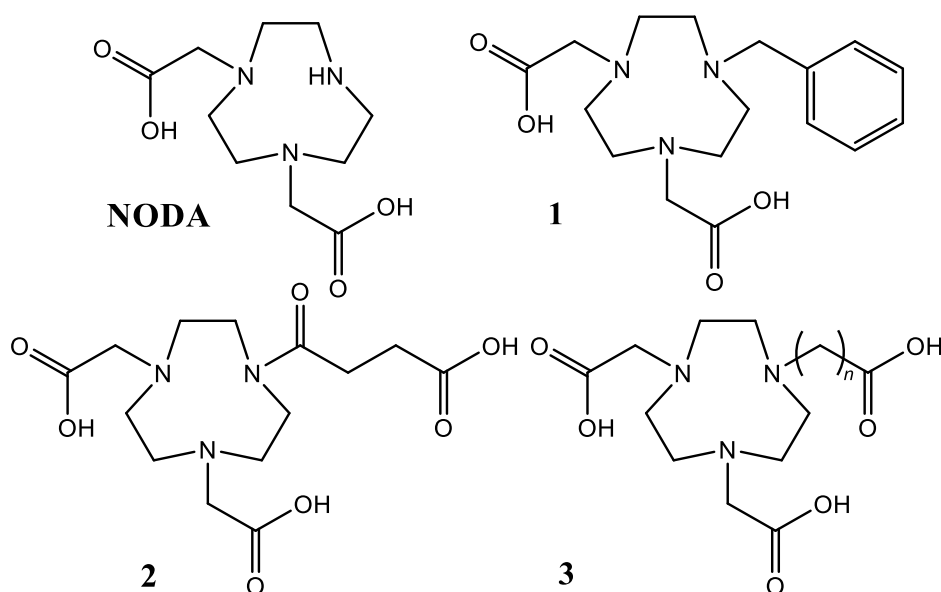
Jak bylo zmíněno výše, pro stabilizaci Al³⁺ a Ga³⁺ komplexů *in vivo* je nezbytné použít vhodné polydentátní ligandy, které budou tvořit stabilní komplexy především ve vodném prostředí.³³ Pro porovnání vlastností některých iontů kovů (Al³⁺, Ga³⁺, In³⁺, Zr³⁺) byly studovány příslušné komplexy s ligandem DTPA (diethylentriaminpentaoctová kyselina). Ve vodném prostředí neprokázal dlouhodobou stabilitu žádný z testovaných komplexů. Přesto nejstabilnějším byl komplex hlinitý.³⁴ Následně byla studována řada ligandů, aby se zjistilo, zda některý z nich bude prokazovat lepší koordinační vlastnosti s hlinitým kationtem než DTPA. Jednalo se konkrétně o ligandy (Obrázek 11): EDTA (kyselina ethylendiamintetraoctová), deferoxamin, NOTA (kyselina 1,4,7-triazocyclononan-1,4,7-trioctová), DOTA (kyselina 1,4,7,10-tetraazocyclododekan-1,4,7,10-tetraoctová) a některé fosfáty a fosfonáty.²⁸



Obrázek 11. Struktury ligandů studovaných pro značení ¹⁸F

Derivát NOTA vytvářel jako jediný stabilní komplex i ve vodném prostředí.²⁸ Následně bylo studováno značení metodou $\text{Al-}^{18}\text{F}$ (Obrázek 8). Jedná se však o ligand hexadentátní, což není zcela výhodné pro značení pomocí ^{18}F . Pro Al^{3+} je charakteristické koordinační číslo šest. To znamená, že váže koordinačně-kovalentní vazbou šest individuálních ligandů, pokud se jedná o ligandy monodentátní, nebo šest koordinujících atomů jednoho či více ligandů, které jsou polydentátní. Pokud tedy bude hlinitý komplex tvořen hexadentátním ligandem, nezbývá prostor pro navázání $^{18}\text{F}^-$. I přesto takové komplexy byly vytvořeny metodou Al^{18}F , kdy je na hlinitý kation nejdříve navázán fluorid a až následně dochází ke koordinaci ligandem.³⁵ Komplexy, které se značí tímto způsobem, jsou nestabilní vlivem kyslíku třetího karboxylátového ramena, který konkuruje vazbě $\text{Al-}^{18}\text{F}$.³⁶

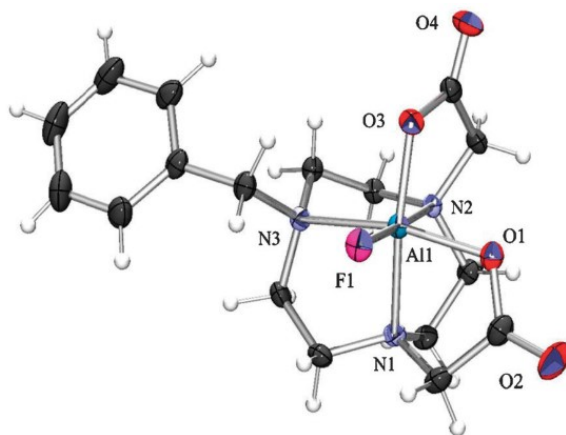
Proto se přednostně studovaly ligandy pentadentátní, anebo ligandy, které mají třetí rameno slaběji koordinující a neovlivňují tím stabilitu komplexu s $^{18}\text{F}^-$. Vznikla tak řada derivátů, kde jsou na struktuře TACN (1,4,7-triazocyclononan) přítomná pouze dvě karboxylátová ramena a jedná se tedy o pentadentátní ligandy, kde základ tvoří NODA (kyselina 1,4,7-triazocyclononan-1,4,-dioctová).³⁷ Deriváty byly syntetizovány primárně za účelem studia struktur (Obrázek 12), které se od sebe liší skupinou připojenou na atom dusíku s nekoordinujícím pendantním ramenem. Tato skupina často slouží ke konjugaci na biomolekulu a využívá se pro ni název „linker“. Různé struktury linkerů podstatně mění chemické chování celého komplexu.



Obrázek 12. Deriváty NODA ($n = 2, 3, 4$)³⁷

V případě ligandu **3** bylo zjištěno, že pro $n = 2$ může docházet k tvorbě šestičlenných kruhů koordinací prostřednictvím atomu kyslíku karboxylové skupiny s Al^{3+} (ale i Ga^{3+}), které mohou konkurovat tvorbě koordinačně-kovalentní vazbě $\text{Al}-^{18}\text{F}$ ($\text{Ga}-^{18}\text{F}$). Pokud je uhlíkatý řetězec delší ($n > 3$), tak k nahrazování ^{18}F dochází minimálně a metody značení jsou mnohem účinnější (kolem 80 %). Naopak pendantní rameno ligandu **2** tvořit kruh díky karboxylové skupině nemůže, ale přesto značení není příliš účinné (přibližně 30 %). Důvodem může být elektrofilita karboxylové skupiny, která brání tvorbě vazby s $^{18}\text{F}^-$.

Nejlépeších výsledků značení ($\pm 90\%$) bylo dosaženo u ligandu **1** (NODA-benzyl), u kterého byla stanovena i rentgenová struktura ternárního komplexu s $^{18}\text{F}^-$ (Obrázek 13). Ta ukazuje, že ion $[\text{Al}-^{18}\text{F}]^{2+}$ dobře zapadá do koordinační dutiny tvořené ligandem. Je zde vidět koordinační okolí, tvořené třemi atomy dusíky a dvěma atomy kyslíku. Zbývající koordinační místo je zde obsazené navázaným $^{18}\text{F}^-$ a doplňuje tak konečnou strukturu oktaedru. Ligand **1** tedy vytváří stabilní značený komplex. Jeho stabilita byla potvrzena i v lidském séru po dobu 2 hodin, a proto mohla být studována jeho biodistribuce na příkladě laboratorních myších, která potvrdila nízkou kumulaci aktivity v kostech a vylučování játry i ledvinami.³⁷

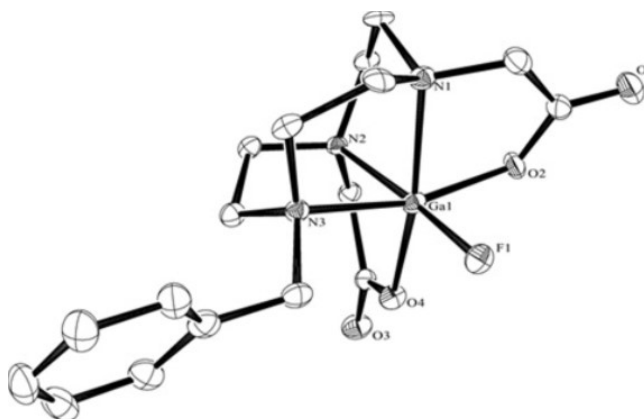


Obrázek 13. Rentgenová struktura komplexu $[\text{Al}^{18}\text{F}(\mathbf{1})]^{37}$

(obrázek převzat z původní literatury)

Následně byl také připraven gallitý komplex $[\text{Ga}^{18}\text{F}(\mathbf{1})]$ značený výměnnou skupin, konkrétně NO_3^- .²³ Při laboratorní teplotě byl získán radiochemický výtěžek 30 %, což umožňuje značit i teplotně nestále biomolekuly, avšak při $\text{pH} \sim 7$ dochází k defluoraci. Tento jev je dán konkurencí iontů OH^- v roztoku se zvyšujícím se pH .

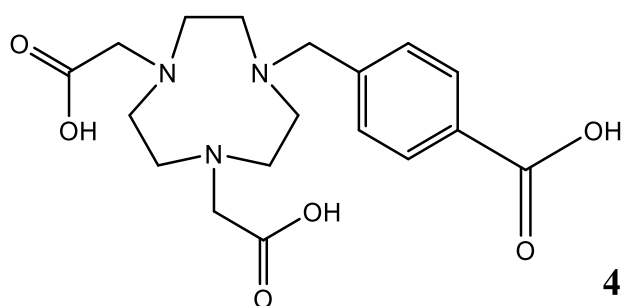
Řešením se nabízí využít objemnějších pendantních ramen, která by stéricky bránila navázání jiných iontů v roztoku. V tomto případě byla také stanovena struktura ternárního komplexu rentgenovou difrakcí (Obrázek 14). Stejně jako u hlinitého komplexu je viditelná struktura oktaedru. Komplex krystalizuje jako dihydrát a v tomto stavu zůstává dlouhodobě stabilní.



Obrázek 14. Rentgenová struktura komplexu $[Ga^{18}F(1)]^{23}$

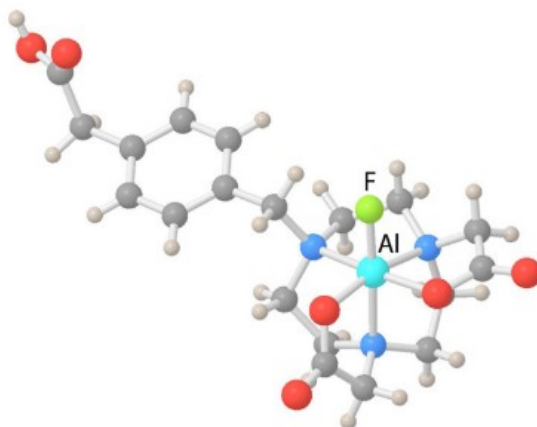
(obrázek převzat z původní literatury)

Pro studium vlastností hlinitých komplexů a zároveň možností, jak konjugovat biomolekuly na jejich strukturu, byl syntetizován ligand NODA–MPAA (Obrázek 15), ve kterém navázaná methylfenyloctová kyselina (MPAA) plní právě funkci linkeru.^{14,26} Značení a koordinace byla prováděna jednak reakcí ligandu s $AlCl_3$ a následně $Na^{18}F$, jednak přímo prostřednictvím $^{18}F-AlF_3$. Nejdříve se testovalo značení s neaktivním fluoridem, který poskytoval poměrně nízké výtěžky (pro $AlCl_3/NaF$ ~14 %, pro AlF_3 ~4 %) při 105 °C po dobu 10 minut. Pomocí hydrofilních organických rozpouštědel (např. ethanol, acetonitril, n-propanol, dioxan, aceton) se však zvýšila reaktivita fluoridových činidel a výtěžky reakcí také vzrostly, jak u fluorace neaktivním i radioaktivním fluoridem. Po přidání ethanolu do roztoku se zvýšil radiochemický výtěžek na ~52 % a s optimalizováním přípravy výtěžek dále rostl.



Obrázek 15. Chemická struktura ligandu NODA–MPAA

Komplex $[AlF(4)]$ je stabilní v PBS (fosfátový puf) při teplotě 37 °C a pH = 7,4 po více než 24 hodin. Rentgenostrukturní analýza komplexu potvrdila uspořádání mírně deformovaného oktaedru s fluoridem v axiální poloze (Obrázek 16). Následně byl syntetizován komplex s ligandem, na kterém byl již navázán haptenový peptid (-NH–D-Lys(HSG)–D-Tyr–D-Lys(HSG)–NH₂). Stejně jako v případě ligandu bez navázaného peptidu byl získán nízký radiochemický výtěžek, který se následně zvýšil přidáním ~50 % (vůči vodě) ethanolu téměř na dvojnásobek. Tato metoda může být účinná v přítomnosti hydrofilních organických rozpouštědel, která musí být následně pro klinické aplikace odstraněna.

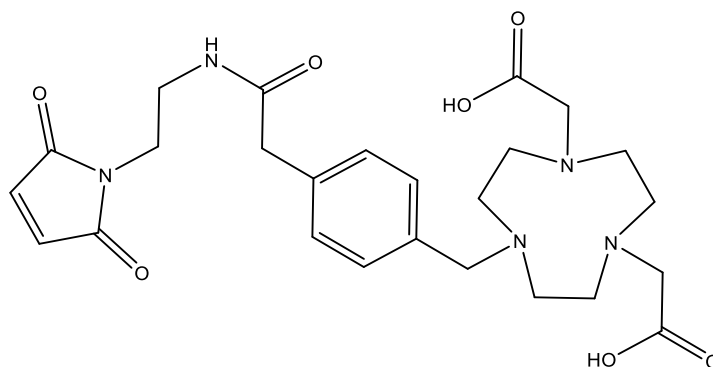


Obrázek 16. Rentgenová struktura komplexu $[AlF(4)]$ ³⁶

(obrázek převzat z původní literatury)

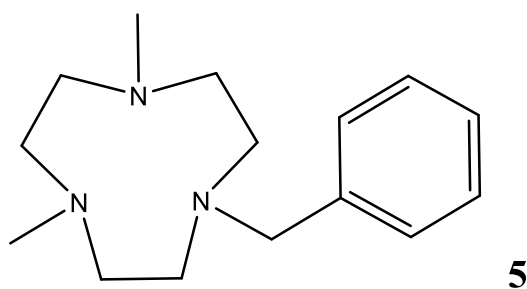
Na stejný bifunkční ligand byl přes MPAA navázán *N*-(2-aminoethyl)maleimid za vzniku konjugátu NODA-MPAEM (Obrázek 17).³⁸ Ten se může dále vázat s „fragmenty vázající antigeny“ (Fab), které mají schopnost v těle rozpoznávat antigeny některých nádorů. Samotný ligand byl značen prostřednictvím Al–¹⁸F při teplotě 105 °C. Radiochemický výtěžek činil 49–82 %. Fab byl poté navázán za laboratorní teploty

s výtěžkem 69–80 % a celý proces trval ~50 minut. Biodistribuce byla sledována na myších s nádorem slinivky břišní. *In vivo* studie prokázala nízkou kumulaci aktivity v kostech, ale zvýšenou kumulaci v játrech a slezině, což může být způsobeno rozdíly mezi lidským Fab, který byl využit a myším Fab. I přesto bylo dokázáno, že je možné optimalizovat přípravu značeného konjugátu pro teplotně nestále biomolekuly.



Obrázek 17. Chemická struktura NODA-MPAEM

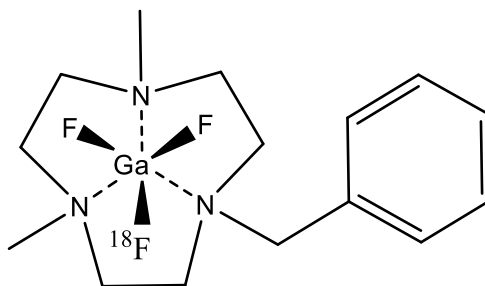
Hlinité ionty tvoří mnoho stabilních komplexů s deriváty NODA, ale pro gallité komplexy platí jen omezená stabilita ($\text{pH} < 7$).²³ Hydrotermální metodou byly připraveny hlinité i gallité trihalogenidové komplexy obsahující ve struktuře ligand **5** (Obrázek 18).²⁹ Značení komplexů se provádí izotopovou nebo halogenidovou výměnou.^{30,39–41} Komplex $[\text{AlCl}_3(\mathbf{5})]$ byl značen přidáním K^{19}F dopovaným $^{18}\text{F}^-$ za 1 hodinu při 80–100 °C s radiochemickým výtěžkem ~24 %. Stabilita komplexu nebyla narušena ani při $\text{pH} = 7$ (desetinásobek NaCl) po dobu několika dní. K rozpadu dochází až při $\text{pH} = 10$ (Na_2CO_3), kdy se v roztoku vylučují hydroxidy.



Obrázek 18. Chemická struktura $\text{BnMe}_2\text{-TACN}$

Komplex $[\text{GaCl}_3(\mathbf{5})]$ může být značen výměnou halogenů nebo izotopovou výměnou $^{18}\text{F}/^{19}\text{F}$ v komplexu $[\text{GaF}_3(\mathbf{5})]$. K výměně halogenů dochází již při laboratorní teplotě s radiochemickým výtěžkem ~30 % na rozdíl od hlinitého komplexu, u kterého se dosáhne nižšího výtěžku i při zahřívání.³⁰ Důležitý je rovněž povrchový náboj iontu

($\text{Al}^{3+} < \text{Ga}^{3+}$) a jeho Lewisova kyselost ($\text{Al}^{3+} > \text{Ga}^{3+}$), které určují vhodné podmínky pro účinné značení. Komplex $[\text{Ga}^{18}\text{F}^{19}\text{F}_2(\mathbf{5})]$ (Obrázek 19) vykazuje vysokou radiochemickou stabilitu při $\text{pH} = 7,4$ v PBS po dobu 2 hodin. Na rozdíl od gallitého komplexu ligandu **1** je stabilní i s rostoucím pH . Pro výměnu halogenů je potřeba mikromolárních množství komplexu, aby došlo k účinnému značení. Pro klinická využití v PET je však potřeba pracovat v nanomolárních množstvích, a proto bylo potřeba využít jiného postupu.²⁹



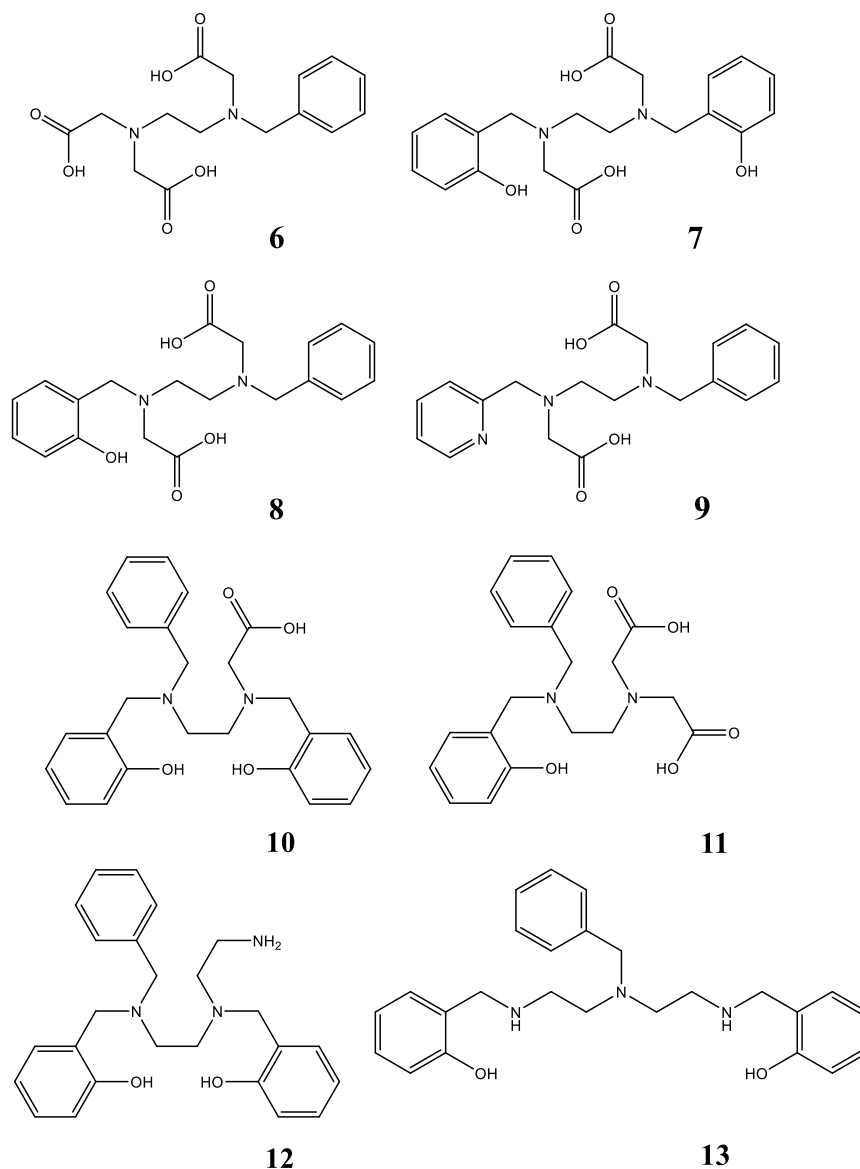
Obrázek 19. Chemická struktura komplexu $[\text{Ga}^{18}\text{F}^{19}\text{F}_2(\mathbf{5})]$

Komplex $[\text{GaF}_3(\mathbf{5})]$ je ve vodném prostředí stabilní i za vyšších teplot ($80\text{ }^\circ\text{C}$). Mohla se tedy využít metoda izotopové výměny $^{18}\text{F}/^{19}\text{F}$, díky které se očekávalo možné snížení koncentrace komplexu, jelikož fluorid podléhá hydrolyze méně než chlorid daného komplexu. Ke značení komplexu $[\text{GaF}_3(\mathbf{5})]$ docházelo již za laboratorní teploty v roztoku $\text{MeCN}/\text{H}_2\text{O}$ (75:25). Při zvýšení teploty na $80\text{ }^\circ\text{C}$ bylo po 10 minutách získán radiochemický výtěžek $\sim 70\%$. V přítomnosti lidského sérového albuminu (HSA) docházelo k pozvolné defluoraci.⁴⁰ Změnou struktury ligandu by se mohlo dosáhnout lepších výsledků a tím získat nové nosiče radioizotopu pro PET zobrazování.

Cyklické ligandy vyžadují k přípravě radiofarmak vyšší teploty ($100\text{--}120\text{ }^\circ\text{C}$), což není vždy výhodné hlavně z důvodu omezené tepelné stability biomolekul. Proto byla studována řada lineárních ligandů,⁴² které umožňují značení za nižších teplot podobně jako u metody izotopové výměny. Struktura ligandů (Obrázek 20) je tvořena kostrou ethylendiaminu, která je substituována různými skupinami (benzyl, 2-hydroxybenzyl, 2-pyridylmethyl a octová kyselina). Ligand **7** je hexadentátní a zbylé ligandy mají pentadentátní strukturu.

Důvodem, proč se tyto ligandy mohou využívat i za nízkých teplot, je jejich flexibilní struktura. Volné řetězce mají více možností, jak se mohou uspořádat v prostoru, než některé cyklické molekuly a tím se snižuje aktivační energie komplexace. Reakce

tedy probíhají poměrně snadno i za laboratorní teploty, ale i přesto se dodáním energie (např. zahříváním) může získat větší výtěžek reakce za kratší dobu, což se prokázalo i zde.⁴² Avšak záleží i na konkrétním strukturním složení jednotlivých ligandů, jelikož některé i přes přítomnost koordinujících skupin netvoří komplex s $[Al^{18}F]^{2+}$ v dobrém výtěžku.



Obrázek 20. Lineární stabilizující ligandy⁴²

Díky různorodému strukturnímu složení těchto ligandů mohly být podrobně prozkoumány jejich odlišné koordinační vlastnosti.⁴² Pouze ligandy **6–9** vytváří komplexy s $[Al^{18}F]^{2+}$ za laboratorní teploty (25 °C), přičemž při zvýšené teplotě (40 °C) byl získán u ligandů **7 a 8** ještě podstatně vyšší výtěžek značeného komplexu. S dalším

nárustem teploty se výtěžek již neměnil. Naopak komplex s ligandem **9** poskytl vyšší výtěžek až při teplotě 60 °C. Z toho lze usoudit, že fenol je za těchto mírnějších podmínek lépe koordinující skupina než pyridin. Za podmínek vhodných ke komplexaci (pH = 4–5) je pyridinový dusík protonizován a kladný náboj, který tím vzniká, může bránit tvorbě koordinačně kovalentní vazby s $[Al^{18}F]^{2+}$ při nižších teplotách. U ligandu **7** dochází ke stejnému problému jako u cyklických hexadentálních ligandů. S rostoucím pH se zvyšuje konkurence mezi volným donorovým atomem kyslíku a vazbou $Al-^{18}F$. Důsledkem je postupné štěpení koordinačně-kovalentních vazeb fluoridu s hlinitým kationtem.

Koordinační vlastnosti těchto ligandů byly porovnávány s vlastnostmi komplexů cyklických ligandů.⁴² Stabilitě $[Al^{18}F(\mathbf{1})]$ se nejvíce přiblížil komplex pentadentálního ligandu $[Al^{18}F(\mathbf{8})]$. Po jedné hodině však dochází k degradaci komplexu při 37 °C v krysím séru a PBS. U zbývajících ligandů (**6**, **7** a **9**) docházelo k rozkladu v rozmezí 10–30 minut. Destabilizace komplexu $[Al^{18}F(\mathbf{6})]$ může být způsobena jeho příliš velkou flexibilitou, která zabraňuje tvořit pevný a stálý komplex, anebo mohou být koordinačně-kovalentní vazby acetátových skupin příliš slabé vůči fenolovým skupinám, které jsou přítomné např. u ligandu **7** a **8**. U hexadentálních ligandů, stejně jako v případě dříve zmíněných cyklických ligandů, je přítomný volný donorový atom, který konkuruje fluoridovému aniontu a tím způsobuje částečnou defluoraci.

Ligand **8** se stal možným kandidátem pro tvorbu komplexů s teplotně nestálými biomolekulami, a proto byla u komplexu $[Al^{18}F(\mathbf{8})]$ zkoumána biodistribuce, která potvrdila jen omezenou kumulaci aktivity v kostech testovaných myší.⁴² K postupné demetalaci či defluoraci dochází po delší době, ale i přesto je zde prostor pro zlepšení. Je tedy možné, že se ligandy tohoto typu budou rozvíjet a brzy se setkáme s řadou nových derivátů s vylepšenými chemickými vlastnostmi pro PET.

4 Komplexy s navázanou targetující skupinou

Komplexy popsané výše mají velmi omezená využití v klinické praxi, jelikož se většinou nespecificky distribuují v těle a dochází tak k jejich rychlému vylučování. Proto se využívá targetujících skupin, které se vážou jen na určité tkáně a poskytují tak specifickou distribuci radiofarmaka v těle pacienta. Obvykle se jedná o biomolekuly, které mají specifickou afinitu k některým receptorům v těle. Biomolekuly se na tyto

receptory tkání vážou prostřednictvím nekovalentních interakcí jako je elektrostatická a lipofilní interakce nebo vodíkové můstky.⁴³

Konjugáty komplex–targetující skupina získáváme dvěma způsoby. První možností je syntetizovat ligand s navázanou targetující skupinou. Tento konjugát se značí a zároveň koordinuje na $[Al-^{18}F]^{2+}$ podle již dříve zmíněného postupu.^{14,34,35} Reakce ale probíhá za poměrně vysokých teplot (100–120 °C) pro získání dobrého radiochemického výtěžku, což není pro všechny biomolekuly vhodné. Přesto je řada peptidů i za těchto teplot stabilní a jejich konjugáty s komplexem $[Al-^{18}F]^{2+}$ se využívají pro výzkum nových nosičů ^{18}F v PET.^{44,45} Tato metoda je výhodná v tom, že se může snadno připravovat v lyofilizovaných soupravách, které umožňují značení v jednom kroku (tzv. one-pot metodou) s vysokým radiochemickým výtěžkem.

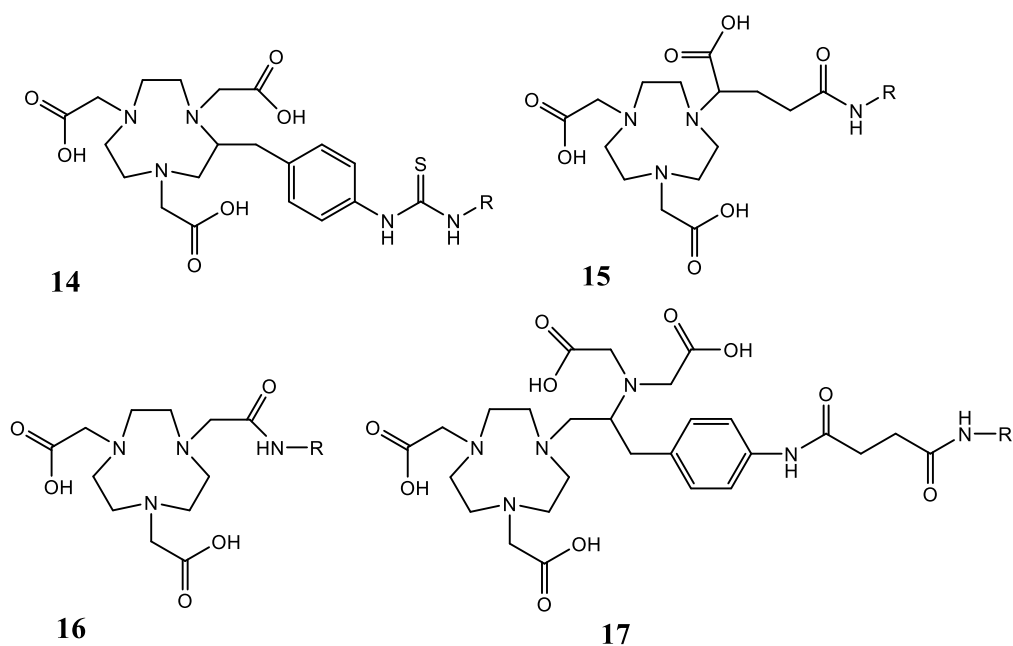
Druhá možnost zahrnuje nejdříve koordinaci ligandu s $[Al-^{18}F]^{2+}$ za vzniku komplexu, na který se následně váže targetující skupina. Tento proces ovšem probíhá s již navázaným radioizotopem ^{18}F , u kterého se s časem snižuje specifická aktivita. Primárně se proto setkáváme s první metodou, která se provádí ve vodných roztocích a značení prostřednictvím $[Al-^{18}F]^{2+}$ se provádí až před aplikací.

Velká část doposud studovaných konjugátů byla využita pro sledování nádorových onemocnění, která jsou doprovázena angiogenními procesy. Ty v sobě zahrnují tvorbu nových krevních kapilár v okolí nádoru, jelikož pro svůj růst vyžaduje přísun kyslíku a živin z krevního řečiště. Zároveň se tímto způsobem dostávají nádorové buňky do oběhu, což jim umožňuje se šířit a metastazovat v řadě dalších orgánů. Tomu lze zabránit včasnou detekcí některých dějů, které tomu předcházejí.

Nádory exprimují během své tvorby a růstu řadu receptorů, které jsou detekovatelné prostřednictvím targetujících skupin vázaných na hlinitý komplex značený ^{18}F . Např. během růstu musí nádor narušit membránu, aby mohl vniknout do okolních tkání, což je zprostředkováno endoteliálními buňkami, které tvoří vnitřní vrstvu krevních a lymfatických cév. Tento děj je spojený s vaskulárními endoteliálními růstovými faktory (VEGF), jejichž hladina je při vzniku nádorových onemocnění zvýšena.⁴⁶ Tuto změnu můžeme prostřednictvím vhodných targetujících skupin sledovat a tím diagnostikovat nádorová onemocnění včas. Těchto faktorů, které nám umožňují identifikovat nádor je celá řada. Může se jednat o hormony, proteiny, enzymy a receptory (itegriny,

somatostatin, albumin), jejichž hladina se s tvorbou nádorů může zvyšovat nebo naopak snižovat.

Pro studium targetujících skupin byla nejdříve syntetizována řada flurido-hlinitých derivátů NOTA a NODA s navázaným targetujícím peptidem buď na jednom z pendantních ramen nebo na atomu uhlíku ligandu (Obrázek 21).³⁶ Komplexy ligandu **14** a **16** vykazovaly srovnatelné radiochemické výtěžky (44 a 31 %). V případě ligandu **15** byl získán výtěžek velmi nízký (5,8 %) pravděpodobně z důvodu sterického bránění karboxylové skupiny navázané na pendantním rameni. V případě ligandu **17** byl získán komplex s nejvyšším radiochemickým výtěžkem (87 %), ale vytvářel dvě formy produktu, a proto musela být jeho příprava optimalizována. Studium těchto ligandů se potvrdilo možnost úspěšně značit komplexy s navázanými targetujícími skupinami prostřednictvím $[Al-^{18}F]^{2+}$.

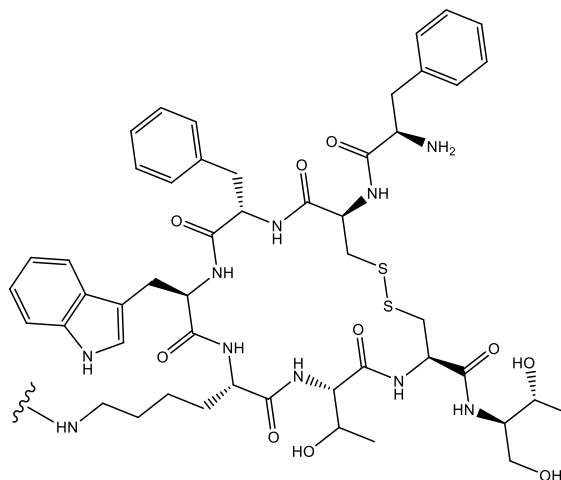


Obrázek 21. Chemické struktury ligandů,



Jednoduchý NODA derivát **16** byl konjugovaný s oktreetidem (Obrázek 22), což je syntetický analog somatostatinu.⁴⁷ Oba tyto hormony umožňují inhibovat sekreci jiných hormonů v těle (růstové, štítné žlázy, žaludeční i střevní). Oktreetid jako targetující skupina umožňuje zobrazovat nádory, které exprimují somatostatinové receptory.⁴⁸ $Al^{18}F$ -NOTA-oktreetid je stabilní v lidském séru po dobu čtyř hodin. *In vivo* testy nepotvrdily akumulaci aktivity v kostech ani jiné aspekty, které by naznačovaly

defluoraci či demetalaci. Celá příprava trvala méně než 45 minut a konjugát se nejvíce kumuloval v nádoru.



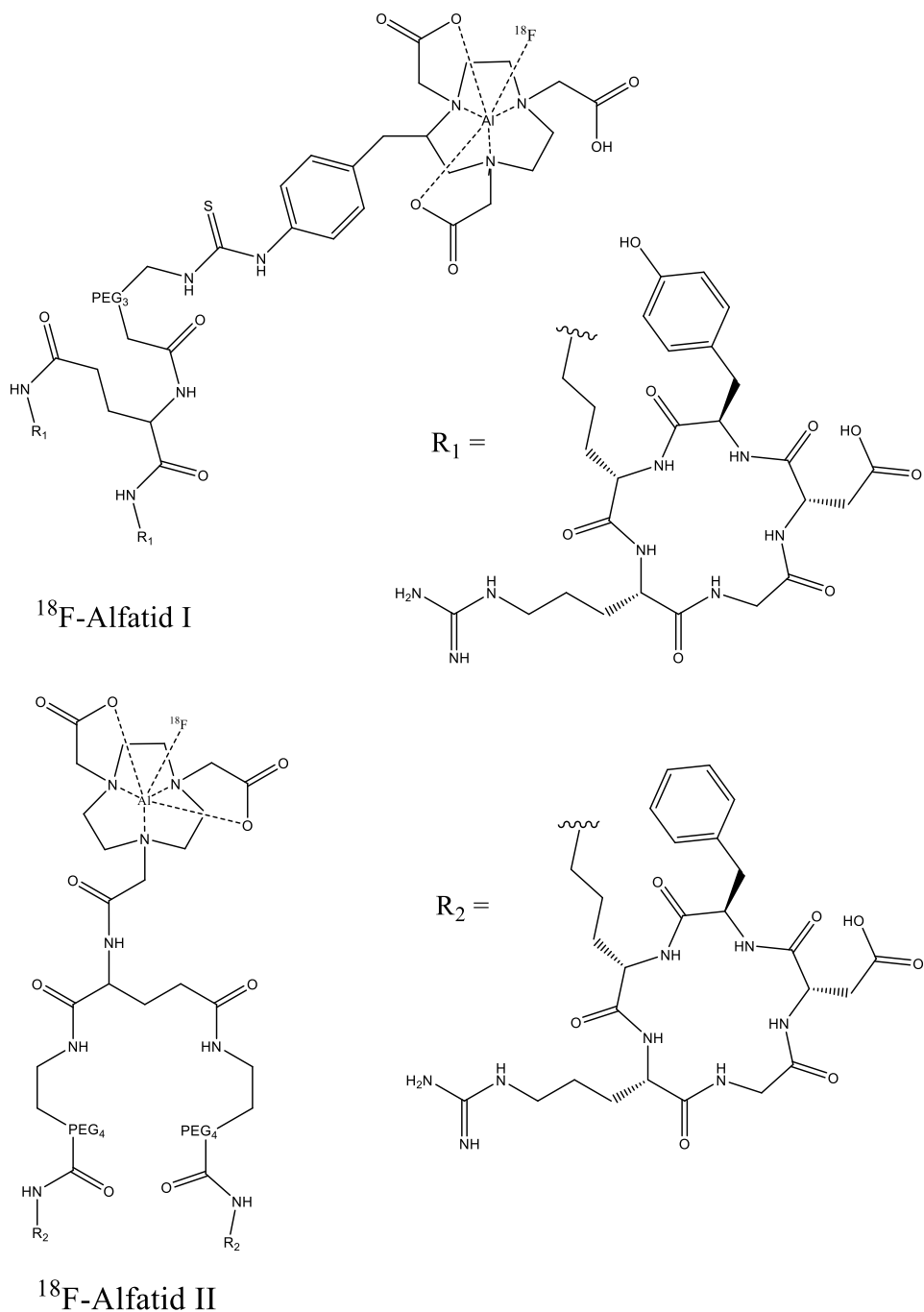
Obrázek 22. Chemická struktura oktreetidu

Další významnou skupinou jsou ligandy nesoucí RGD peptidy vázané na Al^{18}F -NODA, které umožňují v těle lokalizovat integriny.^{32–34} Jedná se o membránové receptory vyskytující se na povrchu všech buněk, které zprostředkovávají integritu tkání, migraci buněk, ale účastní se také některých buněčných signálů, které umožňují fosforylaci, genovou expresi a další buněčné procesy. Integriny se skládají ze dvou podjednotek (α a β), jejichž kombinacemi může vzniknout až 24 dimerů (typů). Pro angiogenezi je důležitým markerem integrin $\alpha_v\beta_3$, který je u zdravé buňky přítomen minimálně, ale u řady nádorů byla potvrzena jeho zvýšená exprese.⁵²

RGD peptidy jsou tripeptidové sekvence (arginin–glycin–aspartát), které ve funkci targetujících skupin umožňují zobrazení nádorů se zvýšenou expresí $\alpha_v\beta_3$.⁵¹ Nejvíce využívané a studované konjugáty značené vazbou Al^{18}F jsou ^{18}F -Alfatid I a ^{18}F -Alfatid II (Obrázek 23).^{43,53,54} Tyto látky lze snadno připravit s vysokým radiochemickým výtěžkem. Struktura ^{18}F -Alfatidu I je tvořena komplexem $[\text{Al}^{18}\text{F}(\mathbf{14})]$, na kterém je navázaný řetězec tří polyethylenglykolových jednotek (PEG_3) a přes peptidovou vazbu je konjugován na dva RGD peptidy (R_1). Konjugát ^{18}F -Alfatid II je tvořen komplexem $[\text{Al}^{18}\text{F}(\mathbf{16})]$, který je pendantním ramenem navázan na dva řetězce čtyř polyethylenglykolových jednotek (PEG_4) končící RGD peptidy (R_2).

Pro svou stabilitu a dobré výsledky v preklinických testech mohly být studovány u pacientů s rakovinou. První uvedený byl značen s radiochemickým výtěžkem vyšším než 95 % a byl testován u pacientů s rakovinou plic,⁵⁴ u kterých umožnil specificky

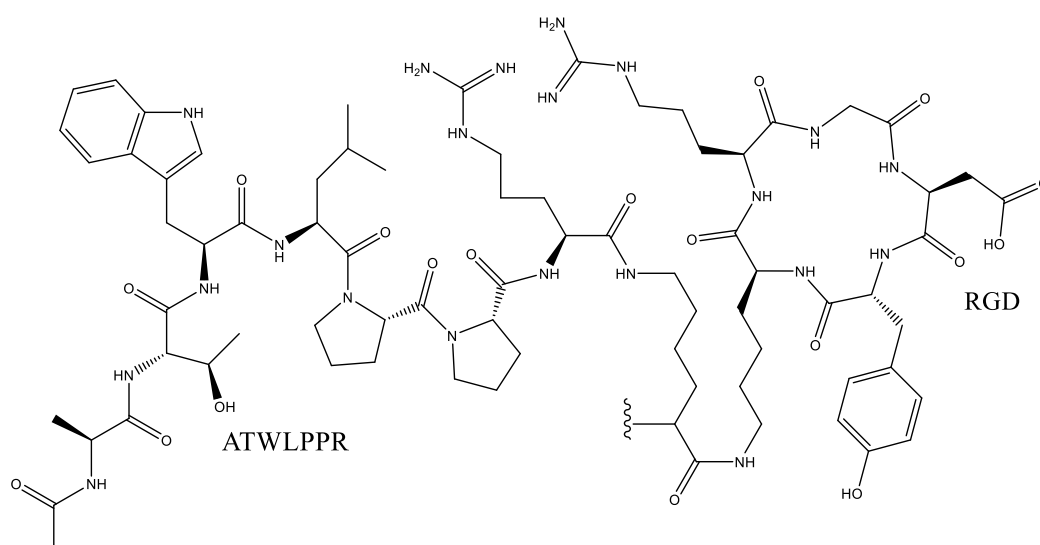
zobrazovat expresi integrinu $\alpha_v\beta_3$. Avšak při porovnávání vizualizace metastáz lymfatických uzlin neposkytl tak dobré výsledky jako ^{18}F -FDG. ^{18}F -Alfatid II naopak poskytl lepší výsledky, než ^{18}F -FDG u vyšetření pacientů s metastázemi v mozku.⁵⁵ Komplex s navázanou RGD targetující skupinou poskytl vizualizaci všech přítomných nádorů, zatímco ^{18}F -FDG dokázala detekovat pouze polovinu z přítomných metastáz.



Obrázek 23. Chemické struktury RGD komplexů pro studium angiogeneze,

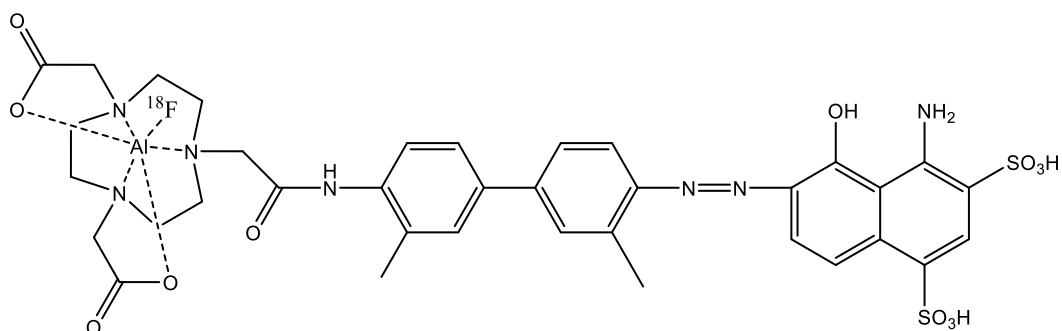
$$\text{PEG}_n = (\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2)_n^{51}$$

Mnoho receptorů se projevuje u některých nádorů současně, a proto se můžeme setkat i s heterodimerními peptidy, které umožňují cílení na dva receptory. Příkladem toho je RGD-A7R peptid, který cílí na dříve zmíněné VEGF a integriny $\alpha_v\beta_3$.⁴⁶ Jiná skupina syntetizovala RGD-ATWLPPR peptid (Obrázek 24) vázaný na komplex $[Al^{18}F(16)]$, který je opět schopný lokalizovat integrin a navíc neuropilin-1, což je protein, který interaguje s VEGF, jehož tvorba je při nádorových onemocněních zvýšená.⁵⁶ Využitím heterodimerních targetujících skupin může docházet k vyšší absorpci v nádoru než u jednotlivých monomerních skupin, což může poskytnout lepší výsledky v klinické praxi.



Obrázek 24. Chemická struktura RGD-ATWLPPR⁵⁶

Jiný způsob využití komplexů $Al^{18}F$ je navázání na sérový albumin, nejvíce zastoupený protein krevní plasmy, který zajišťuje transport látek a podílí se na udržení homeostáze organismu.⁵⁷⁻⁵⁹ Zobrazování sérového albuminu umožňuje sledování funkce srdce po infarktu myokardu, cévní úniky krve nebo maligní nádory v těle. Jako targetující skupina se využívá azobarvivo Evansova modř (NEB), které se kvantitativně váže právě na sérový albumin. Konjugát $Al^{18}F$ -NOTA-NEB (Obrázek 25) byl značen do 30 minut s radiochemickým výtěžkem ~ 58 % a vykazoval dobrou stabilitu jak *in vitro* tak *in vivo*. Jedinou komplikací je využívání Evansovy modři, která je pro organismus ve vyšších dávkách toxická. Pro PET vyšetření se však aplikují malé dávky, a proto by se po podrobných toxikologických studiích mohl $Al^{18}F$ -NOTA-NEB začít využívat pro klinické testování.



Obrázek 25. Chemická struktura $\text{Al}^{18\text{F}}\text{-NOTA-NEB}$

Výše zmíněné příklady ukazují, že targetující skupiny navázané na značené hlinité komplexy mají praktická využití v diagnostice. Těchto konjugátů kromě již zmíněných existuje celá řada. Patří mezi ně i NOTA konjugát s bombesinem – peptidem, který má vysokou afinitu k receptorům uvolňující gastrin (GRPR), jejichž zvýšená tvorba se vyskytuje u nádorových onemocnění prostaty.^{60,61} Jiný analog NOTA byl syntetizován pro receptor GLP-1 (glukagonový peptid), který je důležitý pro léčbu cukrovky, ale jeho nadměrná tvorba je způsobena inzulinomem, nádorem slinivky břišní.⁶² V řadě dalších případů byly využity stejné metody příprav konjugátů více či méně úspěšně. Je tedy pravděpodobné, že se konjugáty značených komplexů hliníku budou dále rozvíjet a mít své stálé využití v PET.

5 Závěr

Tato práce shrnuje vývoj a využití komplexů hliníku a gallia značených radioizotopem ^{18}F pro pozitronovou emisní tomografii.

Metody značení atomů uhlíku radioizotopem ^{18}F pro PET neposkytují nové možnosti, které by umožňovaly jednodušší a rychlejší přípravu radiofarmak. Proto byly studovány další nekovové prvky (křemík, bor, ...), u kterých se předpokládalo, že by mohly mít podobné, dokonce lepší chemické vlastnosti než uhlík. Ani zde se však vědci nesečkali s příliš velkými pokroky. Vývoj nových metod značení se proto zaměřil jiným směrem.

Hliník a gallium tvoří rovněž silné vazby s fluorem, ale jejich sloučeniny s uhlíkem nejsou stabilní ve vodném prostředí, a proto se využívají ve formě koordinačních sloučenin. Polydentátní ligand NOTA a jeho deriváty poskytly nový způsob, jak stabilně vázat hlinitý ion ve formě $[\text{Al-}^{18}\text{F}]^{2+}$. Kromě toho byla syntetizována

i řada lineárních polydentálních ligandů, které umožňují provádět značení za laboratorních teplot pro možnou konjugaci s teplotně nestálými biomolekulami (targetujícími skupinami). Gallité komplexy s NOTA (popř. NODA) nejsou příliš stabilní, a proto se zkoumají jiné ligandy např. dithiosemikarbazony nebo deriváty TACN, jejichž komplexy se značí výměnnou halogenidů nebo izotopů ($^{18}\text{F}/^{19}\text{F}$). Všechny tyto metody poskytují poměrně rychlou a jednoduchou přípravu radiofarmak s dobrým radiochemickým výtěžkem.

Hlinité komplexy, které mají ve své struktuře navázanou targetující skupinu umožňují specifickou distribuci radiofarmaka v těle. Těchto konjugátů byla připravena celá řada a u některých byla potvrzena schopnost lokalizovat receptory angiogenního procesu u pacientů s nádorovými onemocněními a metastázemi. S dalším studiem značených komplexů hliníku i gallia je možné, že se budou časem využívat jako zobrazovací činidla pro běžnou klinickou praxi.

Využití hlinitých a gallitých komplexů je poměrně účinnou metodou značení ^{18}F pro PET, avšak i zde je možné provést další kroky pro zlepšení příprav těchto látek do budoucna. Pro praktická využití je vhodné syntetizovat ligandy pro rychlejší značení především za laboratorní teploty, aby se mohly využívat targetující skupiny, které se při zahřívání rozkládají. K tomu by mohl přispět vývoj metody výměnnou skupin, která umožňuje značit látky s dobrým radiochemickým výtěžkem i za nižších teplot. K rozvoji metody značení hlinitých i gallitých komplexů by nejvíce přispělo studium mechanismů koordinace v chemických podmínkách, které by vedlo k lepšímu pochopení celého systému vzniku těchto komplexů. Tím by se mohly navrhnout a syntetizovat ligandy, které by umožnily rychlou koordinaci i značení s vysokým výtěžkem a za mírnějších podmínek. Tato data však v literatuře zatím chybějí.

6 Použitá literatura

1. Khalil MM, Tremoleda JL, Bayomy TB, Gsell W. Molecular SPECT Imaging: An Overview; 2011. doi:10.1155/2011/796025
2. Daghighian F, Sumida R, Phelps ME. PET imaging: An overview and instrumentation. *J. Nucl. Med. Technol.* 1990.
3. Townsend DW. Combined Positron Emission Tomography-Computed Tomography: The Historical Perspective. *Semin Ultrasound, CT MRI.* 2008;29(4):232–235. doi:10.1053/j.sult.2008.05.006
4. Zhu Y, Zhu X. MRI-driven PET image optimization for neurological applications. *Front Genet.* 2019;10(JUL):782. doi:10.3389/fnins.2019.00782
5. Catana C, Guimaraes AR, Rosen BR. PET and MR imaging: The odd couple or a match made in heaven? *J. Nucl. Med.* 2013;54(5):815–824. doi:10.2967/jnumed.112.112771
6. Li Y. ¹⁸F-Labeling techniques for positron emission tomography. *Sci. China Chem.* 2013;56(12):1682–1692. doi:10.1007/s11426-013-5004-8
7. KUPKA, Karel, Jozef KUBINYI a Martin ŠÁMAL. *Nukleární Medicína: [Učební Text]*. Praha: P3K, C2007. ISBN 978-80-903584-9-2.
8. RNDr. Vojtěch Ullmann: Jaderná a radiační fyzika. 1.4 . Radionuklidy. <http://astronuklfyzika.cz/JadRadFyzika4.htm>.
9. Jacobson O, Chen X. PET Designated Flouride-18 Production and Chemistry. *Curr. Top. Med. Chem.* 2010;10(11):1048–1059. doi:10.2174/156802610791384298
10. Jacobson O, Kiesewetter DO, Chen X. Fluorine-18 radiochemistry, labeling strategies and synthetic routes. *Bioconjugate Chem.* 2015;26(1):1–18. doi:10.1021/bc500475e
11. Win. Factors Affecting Uptake of NaF-18 by the Normal Skeleton. *J. Clin. Med. Res.* 2014;6(6):435. doi:10.14740/jocmr1901w

12. Kelloff GJ, Hoffman JM, Johnson B, et al. Progress and promise of FDG-PET imaging for cancer patient management and oncologic drug development. *Clin. Cancer. Res.* 2005;11(8):2785–2808. doi:10.1158/1078-0432.CCR-04-2626
13. d’Amico A. Review of clinical practice utility of positron emission tomography with ^{18}F -fluorodeoxyglucose in assessing tumour response to therapy. *Radiol. Medica.* 2015;120(4):345–351. doi:10.1007/s11547-014-0446-4
14. D’Souza CA, McBride WJ, Sharkey RM, Todaro LJ, Goldenberg DM. High-yielding aqueous ^{18}F -labeling of peptides via Al^{18}F chelation. *Bioconjugate Chem.* 2011;22(9):1793–1803. doi:10.1021/bc200175c
15. Yang L, Dong T, Revankar HM, Zhang CP. Recent progress on fluorination in aqueous media. *Green Chem.* 2017;19(17):3951–3992. doi:10.1039/c7gc01566f
16. Coenen HH. Fluorine-18 labeling methods: Features and possibilities of basic reactions. *Ernst Schering Res Found Workshop.* 2007;(62):15–50. doi:10.1007/978-3-540-49527-7_2
17. Preshlock S, Tredwell M, Gouverneur V. ^{18}F -Labeling of Arenes and Heteroarenes for Applications in Positron Emission Tomography. *Chem Rev.* 2016;116(2):719–766. doi:10.1021/acs.chemrev.5b00493
18. Schirmacher R, Wängler B, Bailey J, Bernard-Gauthier V, Schirmacher E, Wängler C. Small Prosthetic Groups in ^{18}F -Radiochemistry: Useful Auxiliaries for the Design of ^{18}F -PET Tracers. *Semin. Nucl. Med.* 2017;47(5):474–492. doi:10.1053/j.semnuclmed.2017.07.001
19. Bernard-gauthier V, Lepage ML, Waengler B, et al. Recent Advances in ^{18}F Radiochemistry : A Focus on B- ^{18}F , 2018;59(4):568–573. doi:10.2967/jnumed.117.197095
20. Wängler C, Kostikov A, Zhu J, Chin J, Wängler B, Schirmacher R. Silicon- ^{18}F Fluorine Radiochemistry: Basics, Applications and Challenges. *Appl. Sci.* 2012;2(2):277–302. doi:10.3390/app2020277
21. Bernard-Gauthier V, Wängler C, Schirmacher E, et al. ^{18}F -Labeled Silicon-Based Fluoride Acceptors: Potential Opportunities for Novel Positron Emitting Radiopharmaceuticals. *Biomed. Res. Int.*;2014. doi:10.1155/2014/454503

22. Burke B, Clemente G, Archibald S. Boron- ^{18}F containing positron emission tomography radiotracers: advances and opportunities, *Contrast Media Mol. Imaging*. 2015;10(2):96–110. doi:10.1002/cmml.v10.2
23. Bhalla R, Levason W, Luthra SK, McRobbie G, Sanderson G, Reid G. Radiofluorination of a pre-formed Gallium(III) aza-macrocyclic complex: Towards next-generation positron emission tomography (PET) imaging agents. *Chem. Eur. J.* 2015;21(12):4688–4694. doi:10.1002/chem.201405812
24. Gale P, Gunnlaugsson T, Galbraith E, James TD. Supramolecular chemistry of anionic species themed issue Boron based anion receptors as sensorsw. *Chem. Soc. Rev.* 2010;39:3831. doi:10.1039/b926165f
25. Ting R, Harwig CW, Lo J, et al. Substituent effects on aryltrifluoroborate solvolysis in water: Implications for Suzuki-Miyaura coupling and the design of stable ^{18}F -labeled aryltrifluoroborates for use in PET imaging. *J. Org. Chem.* 2008;73(12):4662–4670. doi:10.1021/jo800681d
26. Chansaenpak K, Vabre B, Gabbai FP. [^{18}F]-Group 13 fluoride derivatives as radiotracers for positron emission tomography. *Chem. Soc. Rev.* 2016;45(4):954–971. doi:10.1039/c5cs00687b
27. Liu S, Lin TP, Li D, et al. Lewis acid-assisted isotopic ^{18}F - ^{19}F exchange in BODIPY dyes: Facile generation of positron emission tomography/fluorescence dual modality agents for tumor imaging. *Theranostics*. 2013;3(3):181–189. doi:10.7150/thno.5984
28. Thorp-Greenwood FL, Coogan MP. Multimodal radio- (PET/SPECT) and fluorescence imaging agents based on metallo-radioisotopes: Current applications and prospects for development of new agents. *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* 2011;40(23):6129–6143. doi:10.1039/c0dt01398f
29. Bhalla R, Darby C, Levason W, et al. Triaza-macrocyclic complexes of aluminium, gallium and indium halides: Fast ^{18}F and ^{19}F incorporation via halide exchange under mild conditions in aqueous solution. *Chem. Sci.* 2014;5(1):381–391. doi:10.1039/c3sc52104d

30. Levason W, Luthra SK, McRobbie G, Monzittu FM, Reid G. [AlCl₃(BnMe₂-tacn)]-a new metal chelate scaffold for radiofluorination by Cl/F exchange. *Dalton Trans.* 2017;46(42):14519–14522. doi:10.1039/c7dt02122d
31. Venkatachalam TK, Bernhardt P V., Stimson DHR, Pierens GK, Bhalla R, Reutens DC. A Novel Strategy to Introduce ¹⁸F, a Positron Emitting Radionuclide, into a Gallium Nitrate Complex: Synthesis, NMR, X-Ray Crystal Structure, and Preliminary Studies on Radiolabelling with ¹⁸F. *Aust. J. Chem.* 2018;71(2-3):81–86. doi:10.1071/CH17334
32. Venkatachalam TK, Stimson DHR, Bhalla R, Mardon K, Bernhardt P V., Reutens DC. Synthesis of ¹⁸F-radiolabeled diphenyl gallium dithiosemicarbazone using a novel halogen exchange method and in vivo biodistribution. *J. Label. Compd. Radiopharm.* 2019;62(7):321–331. doi:10.1002/jlcr.3746
33. Correia JDG, Paulo A, Raposinho PD, Santos I. Radiometallated peptides for molecular imaging and targeted therapy. *Dalton Trans.* 2011;40(23):6144–6167. doi:10.1039/c0dt01599g
34. Laverman P, McBride WJ, Sharkey RM, Goldenberg DM, Boerman OC. Al¹⁸F labeling of peptides and proteins. *J. Label. Compd. Radiopharm.* 2014;57(4):219–223. doi:10.1002/jlcr.3161
35. McBride WJ, Sharkey RM, Karacay H, et al. A novel method of ¹⁸F radiolabeling for PET. *J. Nucl. Med.* 2009;50(6):991–998. doi:10.2967/jnumed.108.060418
36. McBride WJ, Sharkey RM, Goldenberg DM. Radiofluorination using aluminum-fluoride (Al¹⁸F). *EJNMMI Res.* 2013;3(1):1–11. doi:10.1186/2191-219X-3-36
37. Shetty D, Choi SY, Jeong JM, et al. Stable aluminium fluoride chelates with triazacyclononane derivatives proved by X-ray crystallography and ¹⁸F-labeling study. *Chem. Commun.* 2011;47(34):9732–9734. doi:10.1039/c1cc13151f
38. McBride WJ, D'Souza CA, Sharkey RM, Goldenberg DM. The radiolabeling of proteins by the [¹⁸F]AlF method. *Appl. Radiat. Isot.* 2012;70(1):200–204. doi:10.1016/j.apradiso.2011.08.013

39. Bhalla R, Burt J, Hector AL, et al. Complexes of aluminium, gallium and indium trifluorides with neutral oxygen donor ligands: Synthesis, properties and reactions. *Polyhedron*. 2016;106:65-74. doi:10.1016/j.poly.2015.12.032
40. Monzittu FM, Khan I, Levason W, Luthra SK, McRobbie G, Reid G. Rapid Aqueous Late-Stage Radiolabelling of [GaF₃(BnMe₂-tacn)] by ¹⁸F/¹⁹F Isotopic Exchange: Towards New PET Imaging Probes. *Angew Chemie - Int Ed*. 2018;57(22):6658–6661. doi:10.1002/anie.201802446
41. Wang W, Liu Z, Li Z. One-step ¹⁸F labeling of non-peptidic bivalent integrin $\alpha_v\beta_3$ antagonist for cancer imaging. *Bioconjugate Chem*. 2015;26(1):24–28. doi:10.1021/bc500590f
42. Cleeren F, Lecina J, Billaud EMF, Ahamed M, Verbruggen A, Bormans GM. New Chelators for Low Temperature Al¹⁸F-Labeling of Biomolecules. *Bioconjugate Chem*. 2016;27(3):790–798. doi:10.1021/acs.bioconjchem.6b00012
43. Liu S. Radiolabeled Cyclic RGD Peptide Bioconjugates as Radiotracers Targeting Multiple Integrins. *Bioconjug Chem*. 2015;26(8):1413–1438. doi:10.1021/acs.bioconjchem.5b00327
44. Hausner SH, Bauer N, Sutcliffe JL. In vitro and in vivo evaluation of the effects of aluminum [¹⁸F]fluoride radiolabeling on an integrin $\alpha_v\beta_6$ -specific peptide. *Nucl. Med. Biol*. 2014;41(1):43–50. doi:10.1016/j.nucmedbio.2013.09.009
45. Zeng JL, Wang J, Ma JA. New Strategies for Rapid ¹⁸F-Radiolabeling of Biomolecules for Radionuclide-Based in Vivo Imaging. *Bioconjugate Chem*. 2015;26(6):1000–1003. doi:10.1021/acs.bioconjchem.5b00180
46. Liang S, Ma Y, Guo J, Guo R, Wang H. ¹⁸F-radiolabeled analogs of peptide RGD-A7R for simultaneous PET imaging of both $\alpha_v\beta_3$ and VEGF in tumors. *J. Radioanal. Nucl. Chem*. 2015;303(3):1891–1896. doi:10.1007/s10967-014-3689-6
47. Lamberts SWJ, van der Lely A-J, de Herder WW, Hofland LJ. Octreotide. Wood AJJ, ed. *N. Engl. J. Med*. 1996;334(4):246–254. doi:10.1056/NEJM199601253340408

48. Laverman P, McBride WJ, Sharkey RM, et al. A novel facile method of labeling octreotide with ^{18}F -fluorine. *J. Nucl. Med.* 2010;51(3):454–461. doi:10.2967/jnumed.109.066902
49. Dijkgraaf I, Terry SYA, McBride WJ, et al. Imaging integrin α -v-beta-3 expression in tumors with an ^{18}F -labeled dimeric RGD peptide. *Contrast Media Mol. Imaging.* 2013;8(3):238–245. doi:10.1002/cmimi.1523
50. Shetty D, Jeong JM, Kim YJ, et al. Development of a bifunctional chelating agent containing isothiocyanate residue for one step F-18 labeling of peptides and application for RGD labeling. *Bioorganic. Med. Chem.* 2012;20(19):5941–5947. doi:10.1016/j.bmc.2012.07.050
51. Chen H, Niu G, Wu H, Chen X. Clinical application of radiolabeled RGD peptides for PET imaging of integrin $\alpha_v\beta_3$. *Theranostics.* 2016;6(1):78–92. doi:10.7150/thno.13242
52. Debordeaux F, Chansel-Debordeaux L, Pinaquy JB, Fernandez P, Schulz J. What about $\alpha_v\beta_3$ integrins in molecular imaging in oncology? *Nucl. Med. Biol.* 2018;62-63:31–46. doi:10.1016/j.nucmedbio.2018.04.006
53. Zhang X, Xiong Z, Wu Y, et al. Quantitative PET imaging of tumor integrin α v β 3 expression with ^{18}F -FRGD₂. *J. Nucl. Med.* 2006;47(1):113–121. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16391195>. Accessed June 5, 2020.
54. Wan W, Guo N, Pan D, et al. First experience of ^{18}F -alfatide in lung cancer patients using a new lyophilized kit for rapid radiofluorination. *J. Nucl. Med.* 2013;54(5):691–698. doi:10.2967/jnumed.112.113563
55. Yu C, Pan D, Mi B, et al. ^{18}F -Alfatide II PET/CT in healthy human volunteers and patients with brain metastases. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging.* 2015;42(13):2021–2028. doi:10.1007/s00259-015-3118-2
56. Wu H, Chen H, Pan D, et al. Imaging Integrin $\alpha_v\beta_3$ and NRP-1 Positive Gliomas with a Novel Fluorine-18 Labeled RGD-ATWLPPR Heterodimeric Peptide Probe. *Mol. Imaging Biol.* 2014;16(6):781–792. doi:10.1007/s11307-014-0761-0

57. Cleeren F, Lecina J, Ahamed M, et al. Al¹⁸F-labeling of heat-sensitive biomolecules for positron emission tomography imaging. *Theranostics*. 2017;7(11):2924–2939. doi:10.7150/thno.20094
58. Niu G, Lang L, Kiesewetter DO, et al. In vivo labeling of serum albumin for PET. *J. Nucl. Med.* 2014;55(7):1150–1156. doi:10.2967/jnumed.114.139642
59. Wang Y, Lang L, Huang P, et al. In vivo albumin labeling and lymphatic imaging. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 2015;112(1):208–213. doi:10.1073/pnas.1414821112
60. Dijkgraaf I, Franssen GM, McBride WJ, et al. PET of tumors expressing gastrin-releasing peptide receptor with an ¹⁸F-labeled bombesin analog. *J. Nucl. Med.* 2012;53(6):947–952. doi:10.2967/jnumed.111.100891
61. Chatalic KLS, Franssen GM, Van Weerden WM, et al. Preclinical comparison of Al¹⁸F- and ⁶⁸Ga-labeled gastrin-releasing peptide receptor antagonists for PET imaging of prostate cancer. *J. Nucl. Med.* 2014;55(12):2050–2056. doi:10.2967/jnumed.114.141143
62. Kiesewetter DO, Guo N, Guo J, et al. Evaluation of an [¹⁸F]AlF-NOTA analog of exendin-4 for imaging of GLP-1 receptor in insulinoma. *Theranostics*. 2012;2(10):999–1009. doi:10.7150/thno.5276

7 Použité zkratky

PET	pozitronová emisní tomografie
SPECT	jednofotonová emisní výpočetní tomografie
FDG	fluorodeoxyglukosa
MRI	nukleární magnetická rezonance
CT	počítačová tomografie
FLT	3-fluoro-2-deoxy-thymidin
FET	<i>o</i> -(2-fluoroethyl)-L-tyrosin
DOPA	3,4-dihydroxyfenylalanin
Tf	triflát
TFA	kyselina trifluoroctová
BODIPY	boron-dipyrromethen
NOTA	kyselina 1,4,7-triazocyklonona-1,4,7-trioctová
DTPA	kyselina diethylentriaminpentaoctová
EDTA	kyselina ethylendiamintetraoctová
DOTA	kyselina 1,4,7,10-tetraazocyklododeka-1,4,7,10-tatraoctová
TACN	1,4,7-triazocyklononan
NODA	kyselina 1,4,7-triazocyklonona-1,4-dioctová
MPAA	kyselina methyl-fenyl-octová
MPAEM	methyl-fenyl-acetamido-ethylmalaimid
Fab	fragmenty vázající antigeny
PBS	fosfátový pufr
HSA	lidský sérový albumin
RGD	ariginin-glycin-asparagová kyselina
PEG	polyethylenglykol
NEB	Evansova modř
GLP	glukagonový peptid