

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE

Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Chemie

Studijní obor: Chemie v přírodních vědách



Tereza Beranová

KOMPLEXY HLINÍKU PRO RADIOMEDICÍNSKÉ APLIKACE

Complexes of Aluminium for Biomedical Application

Bakalářská práce

Vedoucí práce: Doc.RNDR. Vojtěch Kubíček, Ph.D.

Praha 2013

Prohlášení

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

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

V Praze 20. 5. 2013

Tereza Beranová

Abstrakt

Tato práce se zabývá přípravou ligandů makrocyklu TACN s aminofosfinátovými pendantními rameny. Byly připraveny a plně charakterizovány dva ligandy. Jeden z ligandů byl využit pro komplexaci hlinitých iontů. Komplex byl studován potenciometricky, pomocí fluoridové iontové selektivní elektrody.

Klíčová slova: makrocyclické komplexy, pozitronová emisní tomografie, fosfinové kyseliny

Abstract

The aim of this work was to prepare ligands of macrocycle TACN with aminophosphinate pendant arms. Two ligands were prepared and fully characterized. A complex of aluminium ion was synthesized with one of the ligand. The complex was used for studying a fluoride coordination by a fluoride ion selective electrode.

Key words: macrocyclic complex, positron emission tomography, phosphinic acid

Obsah

| | | |
|-----------|---|-----------|
| 1. | Úvod | 7 |
| 1.1. | Radiologie | 7 |
| 1.1.1. | Pozitronová emisní tomografie | 8 |
| 1.2. | ^{18}F radiofarmaka | 9 |
| 1.2.1. | Příprava ^{18}F značených látek | 11 |
| 1.3. | ^{18}F -fluorokomplexy hliníku jako kontrastní látky | 13 |
| 1.3.1. | Makrocyclické deriváty fosfinátů jako ligandy | 17 |
| 1.4. | Cíl práce | 18 |
| 2. | Experimentální část | 20 |
| 2.1. | Chemikálie a metody | 20 |
| 2.2. | Syntéza | 22 |
| 2.3. | Studium koordinačních vlastností | 28 |
| 2.3.1. | Příprava pufrů a zásobních roztoků | 28 |
| 2.3.2. | Kinetické studie | 29 |
| 3. | Diskuze | 30 |
| 3.1. | Syntéza | 30 |
| 3.2. | Studium koordinačních vlastností | 36 |
| 4. | Závěr | 38 |
| 5. | Literatura | 39 |

Zkratky

| | |
|-------------------|---|
| DCC | <i>N,N'</i> -dicyklohexylkarbodiimid |
| NHS | <i>N</i> -hydroxysukcinimid |
| TACN | 1,4,7-triazacyklononan |
| DTPA | kyselina diethylentriaminpentaoctová |
| EDTA | kyselina ethylendiamintetraoctová |
| NMR | nukleární magnetická rezonance |
| RT | laboratorní teplota |
| RVO | rotační vakuová odparka |
| THF | tetrahydrofuran |
| NOTA | kyselina 1,4,7-triazacyklononan-1,4,7-trioctová |
| NO ₂ A | kyselina 1,4,7-triazacyklononan-1,4-dioctová |
| Bn | benzyl |
| Me | methyl |
| Et | ethyl |
| Ac | acetyl |
| <i>i</i> Pr | isopropyl |
| <i>t</i> Bu | tercbutyl |

1. Úvod

Látky obsahující radionuklid se v dnešní medicíně běžně používají k diagnóze či léčbě nemocí. Dnes nejvíce používaná radiodiagnostická radiofarmaka obsahují izotop ^{18}F , zejména pro svůj vhodný poločas rozpadu 110 minut. Efektivita doposud používaných kontrastních látek však zdaleka nedosahuje vrcholu, především kvůli časově náročné syntéze. Proto se tu otevírá široké pole možností přípravy nových kontrastních látek s vhodnými vlastnostmi pro použití za podmínek *in vivo*.

1.1. Radiologie

Radiologie je lékařský obor, který využívá ionizující záření k zobrazování a terapii vnitřních orgánů a kostní tkáně. Zobrazovací metody jsou neinvazivní a usnadňují lékařům určení diagnózy.

Jedna z nejstarších zobrazovacích metod je založena na průchodu rentgenového záření tělem pacienta, kde je absorbováno tkáněmi. Paprsky zachycené detektorem jsou převedeny do digitální informace a pomocí počítačové techniky lze následně vytvořit obraz. Na podobném principu jsou založeny další zobrazovací metody přinášející různé výhody. Například fluoroskopie navíc umožňuje sledovat obraz pacienta již během vyšetření. Využívá jednoduchých kontrastních látek jako je síran barnatý nebo jód, které absorbují rentgenové záření mnohem silněji než tkáň samotná. Citlivější metodou je počítačová tomografie, díky prstencovému detektoru kolem pacienta a silnějšímu ionizujícímu záření. K zobrazování nejjemnějších tkání je využíván ultrazvuk. Na rozdíl od ostatních metod využívá k zobrazování místo ionizujícího záření vysokofrekvenčních vln a lze ho proto použít mimo jiné v porodnictví ke sledování správného vývoje plodu v těle matky. Další významnou zobrazovací metodou je MRI (tomografie magnetické rezonance). Pacient je vystaven magnetickému poli, které působí na částice s nenulovým spinem (především na protony v těle). Při určité frekvenci (tzv. rezonanční frekvenci) získá částice spin opačný. Tato frekvence je přeměněna na signál, jehož intenzita se liší v závislosti na poloze částice v těle. Signál je po vyhodnocení převeden na obraz. Snímek je průřezem pacienta podle libovolné roviny. Metoda je nevhodná pro pacienty trpící klaustrofobií, jelikož měření probíhá v hlučném tunelu. Z důvodu přítomnosti silného magnetického pole je navíc obtížné vyšetřovat pacienty s implantovanými kovovými částmi.¹

Zobrazovací metody SPECT (jednofotonová emisní tomografie) a PET (pozitronová emisní tomografie) jsou založeny na detekci ionizujícího záření vyvolaného radiofarmaky, která se liší v závislosti na zobrazované tkáni, na kterou se vážou. Tento typ kontrastních látek obsahuje radioizotopy především jako technecium-99m, jód-123, jód-131, gallium-67 a thallium-201.¹

Metoda SPECT zachycuje na detektoru fotony uvolněné radiofarmakem, signál je poté zpracován počítačem a vyhodnocen v podobě snímku pacienta. Součástí skeneru je kolimátor, který usměrňuje dráhu fotonu. PET funguje na podobném principu jako SPECT. Detektor však zachycuje vždy jen ten pár fotonů vznikající anihilací elektronu s pozitronem, který je v jedné přímce (kolimátor již tedy není pro měření PET třeba). Obě metody zobrazují převážně fyziologické procesy (rozložení radiofarmaka v těle). Často jsou proto kombinovány s metodou počítačové tomografie pro doplnění informace o anatomii.²

1.1.1. Pozitronová emisní tomografie

Pozitronová emisní tomografie je zobrazovací metoda využívaná v nukleární medicíně. Byla vyvinuta americkými vědci v polovině sedmdesátých let.³ Metoda využívá radiofarmakum podléhající β^+ rozpadu za uvolnění pozitronu (částice o stejné hmotnosti a opačném stejně velikém náboji jako elektron). Při srážce pozitronu s elektronem dochází k anihilaci za vzniku dvou fotonů o energii 511 keV. Dráhy takto vzniklých fotonů svírají přímý úhel. Detektor proto zaznamenává jen signály s odchylkou menší než $0,5^\circ$.² Detektor navíc zaznamenává pouze takové páry fotonů, které dopadnou ve stejný okamžik (3–15 ns). Tím je pravděpodobnost záznamu vychýlených fotonů mnohem nižší.

Hlavním limitem metody PET je její nízké rozlišení. Výsledný obraz neodpovídá místům emise pozitronu, ale místům anihilace s elektronem, které není totožné. Pozitron, díky energii uvolněné při emisi, urazí ve tkáni nezanedbatelnou vzdálenost než se srazí s elektronem. Vzdálenost, kterou urazí, je 2,3–16,5 mm v závislosti na použitém radionuklidu.² Tato chyba určuje hranici přesnosti detekce PET.

Rozlišení výsledného snímku je dále závislé na použitých scintilátorech nacházejících se v detektoru. Nejčastěji používané scintilátory jsou lutecium orthosilikátové (LSO) popř. lutecium yttrium orthosilikátové (LYSO), které velice dobře odráží světlo, jsou dostatečně citlivé k rozlišení energií a dávají okamžitý signál.²

U starších přístrojů je 3D obraz skládán z mnoha 2D snímků příčných řezů zobrazované tkáně, které se liší hloubkou. Nejnovější PET přístroje však díky vývoji počítačové techniky (nových algoritmů, které transformují signály z detektoru na obraz) a použití citlivých scintilátorů skládají celkový 3D obraz přímo z naměřených dat.⁴

Kontrastní látky vhodné pro PET obsahují radioizotop o krátkém poločasu rozpadu, zajišťující žádoucí rychlé vymizení radioaktivity z těla po ukončení vyšetření. To klade vysoké nároky na rychlost syntézy značené látky, aby nedocházelo k nežádoucímu úbytku aktivity před vlastním měřením.⁵ Syntéza většiny značených organických látek však bývá časově náročná.⁶ Urychlením a zefektivněním značení kontrastních látek se zabývá mnoho výzkumných týmů a tato problematika je i tématem této práce.

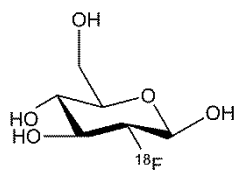
Nejběžnější radionuklid využívaný pro PET je ^{18}F , který je vhodný právě pro svůj krátký poločas rozpadu 110 minut. Energie a tedy i hybnost uvolněných pozitronů je nízká (635 keV), a proto pozitrony urazí jen malou vzdálenost (přibližně 2,3 mm), než se srazí s elektronem. To vede k vysokému prostorovému rozlišení.²

Nevýhodou je naopak nutnost cyklotronu pro přípravu radioizotopu, která je však částečně kompenzována vysokými výtěžky radioaktivního izotopu.² Přesto je vyšetření pomocí PET stále poměrně drahé.

1.2. ^{18}F radiofarmaka

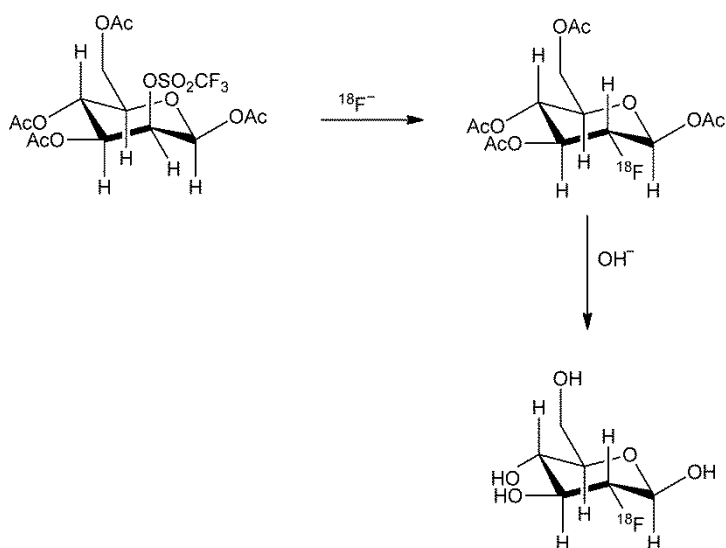
Nejčastěji užívaným radiofarmakem při vyšetření PET je ^{18}F FDG (viz Obr. 1). První syntéza ^{19}F FDG byla provedena na katedře organické chemie Přírodovědecké fakulty UK pod vedením Jaroslava Staňka na konci šedesátých let.⁷ Cílem bylo vytvoření analoga ke sloučenině běžně se nacházející v metabolismu. Glukóza je v těle přednostně spotřebovávána nádorovými buňkami, které ke svému rychlému růstu potřebují energii (zvýšení aktivity enzymů glykolýzy, krevního průtoku a exprese GLUT receptorů)². ^{18}F FDG se v buňkách hromadí obdobně jako glukóza. Jelikož ale nepodléhá glykolýze, nemůže sloužit jako zdroj energie.⁷ Hromadění ^{19}F FDG v buňkách bylo později potvrzeno při hledání vhodných radiofarmak pro PET.³ První syntéza ^{18}F FDG byla provedena roku 1978 Idem a jeho skupinou.⁸ V současné době je ^{18}F FDG využívána pro 95 % všech vyšetření pomocí PET.⁵ Nevýhodou je však hromadění radiofarmaka v místech, kde je vyšší spotřeba glukózy dána fyziologicky (např. mozek, ledviny, močový měchýř). Zvýšená spotřeba glukózy je i např. v kostní tkáni u pacientů po chemoterapii. Při stanovení diagnózy

musí být oblasti s nadměrným vstřebáváním glukózy brány v úvahu. Běžná dávka radiofarmaka pro dospělého člověka obsahuje radiochemickou aktivitu asi 370 MBq.⁹



Obr. 1 – Strukturní vzorec ¹⁸FDG.

Syntéza ¹⁸FDG probíhá jako nukleofilní substituce derivátu manosy ¹⁸F⁻ anionty s následnou hydrolyzou hydroxidem (viz. Obr. 2).¹⁰

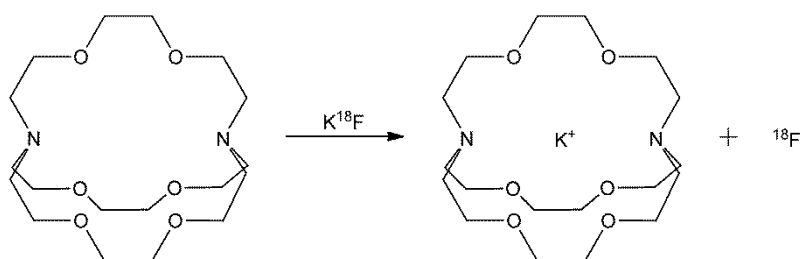


Obr. 2 – Syntéza ¹⁸FDG. Nukleofilní substituce triflátu ionty ¹⁸F⁻ a následné odbourání acetátových chránících skupin hydrolyzou hydroxidem.

V lékařské praxi se běžně vyskytují i jiné fluorované kontrastní látky jako 3'-deoxy-3'-[¹⁸F]fluorothymidin (¹⁸FLT), který detekuje růst mateřského tumoru a zároveň lze sledovat reakce na léčbu. Sloučenina ¹⁸F-fluoromisonidazol (¹⁸FMISO) registruje hypoxii, váže se tedy na tkáň s nedostatkem kyslíku. Nádory s nízkou hladinou kyslíku mohou být totiž rezistentní vůči chemoterapii. K detekci tumoru v kostní tkáni lze využít ¹⁸F-fluoridový anion.¹¹

1.2.1. Příprava ^{18}F značených látek

Standardní postup značení organických látek a menších biomolekul obsahuje dva až tři kroky a trvá jednu až tři hodiny.¹² Radioizotop ^{18}F připravený z cyklotronu je ve formě fluoridu ve vodném roztoku. Ve vodném roztoku jsou nukleofilní vlastnosti fluoridu oslabeny,⁶ proto se roztok nanáší na iontoměnič a následně je eluován roztokem uhličitanu draselného a crown etherem v bezvodém acetonitrilu. Zbytky vody jsou odstraněny azeotropickou destilací. Převedením do acetonitrilu se zvyšují nukleofilní vlastnosti iontů $^{18}\text{F}^-$. Komplex draselných iontů a crown etherů brání vzniku iontových párů s fluoridovými anionty (viz Obr. 3).



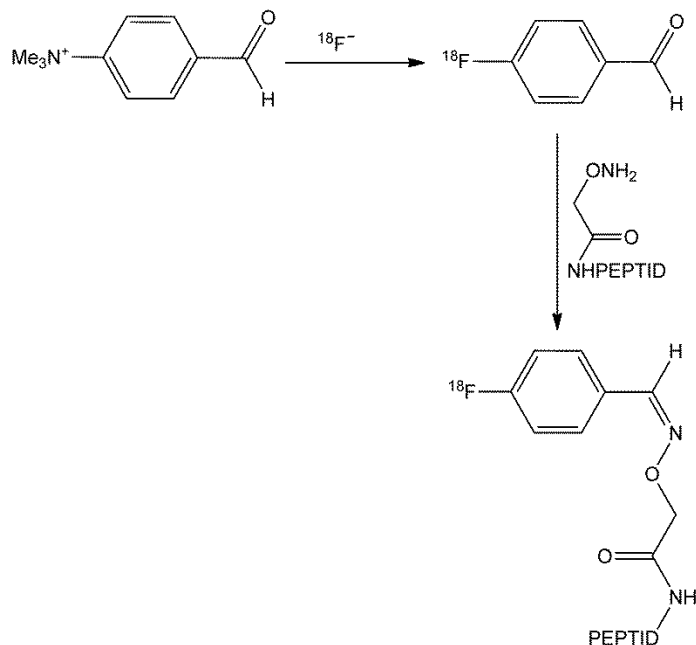
Obr. 3 – Potlačení tvorby iontového páru K^{18}F vznikem komplexu crownetheru s draselným kationtem.

Následně $^{18}\text{F}^-$ přímo substituje dobře odstupující skupinu (mesylát, tosylát, triflát) (viz Obr. 2) nebo je nejprve navázán na prostetickou skupinu (nízkomolekulární organická či anorganická molekula tvořící pevnou kovalentní vazbu se substrátem) a ta dále reaguje s vhodným nosičem, který většinou představují biomolekuly jako jsou peptidy. Značený produkt je zpravidla čištěn pomocí HPLC.⁶ Příkladem takového značení je metoda, kterou objevili Poethko a jeho tým, značení pomocí oximových můstků.¹³ Substituované 4-formyl-*N,N,N*-trimethylanilinium reaguje s $^{18}\text{F}^-$ za vzniku [^{18}F]fluorobenzaldehydu jako značené prostetické skupiny, který je čištěn na silném katexu a dále reaguje s aminooxypeptidem (viz Obr. 4). Celá reakce trvá 75 minut a výtěžek se pohybuje od 33–98 % dle teploty a doby reakce [^{18}F]fluorobenzaldehydu s peptidem.

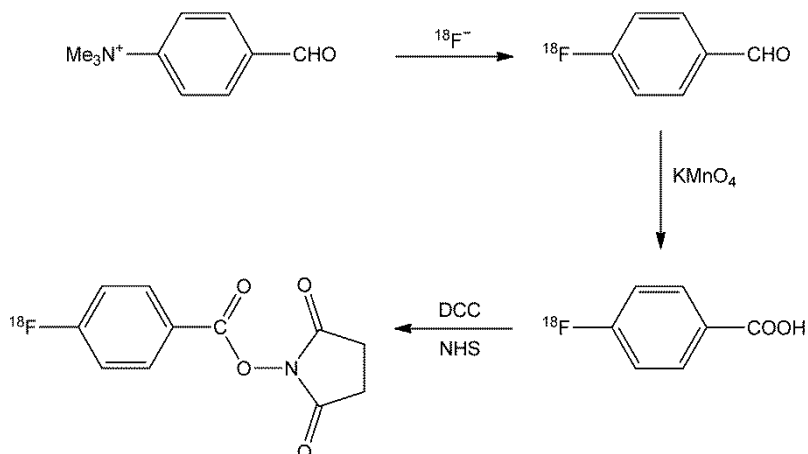
Dalším příkladem je ^{18}F -fluoroacylace. Příprava vhodných prostetických skupin jako je například *N*-sukcinimidyl-4-([^{18}F]fluorometyl)benzoát však vyžaduje vícekrokou syntézu (viz. Obr. 5)^{14,15} nebo poskytuje malé výtěžky (< 30 %).¹⁶

Nevýhodou těchto způsobů značení je tedy časová náročnost především z důvodu nutnosti chránění reaktivních skupin organických molekul či peptidů.⁶ Uvedené syntézy trvají déle než jednu hodinu, navíc je třeba uvažovat čas, potřebný

pro distribuci radiofarmaka v těle pacienta, což je 45–60 minut a dobu měření, která se u metody PET pohybuje mezi 20 až 45 minutami.² Poločas rozpadu ^{18}F je 110 minut, což znamená, že při syntéze radiofarmaka delší než jedna hodina, je aktivita radiofarmaka poloviční.



Obr. 4 – ^{18}F značení pomocí oximových můstků. Nukleofilní substituce 4-formyl-*N,N,N*-trimethylanilinia $^{18}\text{F}^-$ za vzniku [^{18}F]fluorobenzaldehydu, který následně reaguje s aminoroxypeptidem.



Obr. 5 – Syntéza *N*-sukcinimidyl-4-([^{18}F]fluorometyl)benzoátu. Nukleofilní substituce 4-formyl-*N,N,N*-trimethylanilinia ^{18}F za vzniku [^{18}F]fluorobenzaldehydu, který je oxidován na karboxylovou kyselinu. Ta v přítomnosti DCC reaguje s NHS za vzniku prostetické skupiny *N*-sukcinimidyl-4-([^{18}F]fluorometyl)benzoátu.

1.3. ^{18}F -fluorokomplexy hliníku jako kontrastní látky

Hliník je tzv. tvrdý kov, a proto tvoří komplexy především s tvrdými donorovými atomy (např. kyslík). Díky malému iontovému poloměru (51 pm)¹⁷ hlinité ionty preferují koordinační číslo šest (oktaedrické uspořádání). Vyšší stability těchto komplexů lze dosáhnout použitím polydentátních chelátů bazických donorových skupin obsahujících záporně nabitě atomy kyslíku.^{18,19} V kyselém prostředí se však bazické donorové skupiny snadno protonizují, dochází tedy ke kompetici hlinitých iontů a protonů.¹⁸ V bazickém prostředí se hlinité ionty snadno hydrolyzují¹⁸ a hydroxidový anion se stává konkurentem cílového ligandu (viz Tab. 1). Komplexace hlinitých iontů se proto provádí při pH okolo 4.^{20–22}

Tab. 1 – Konstanty stability vybraných ligandů s Al^{3+} ionty.²³

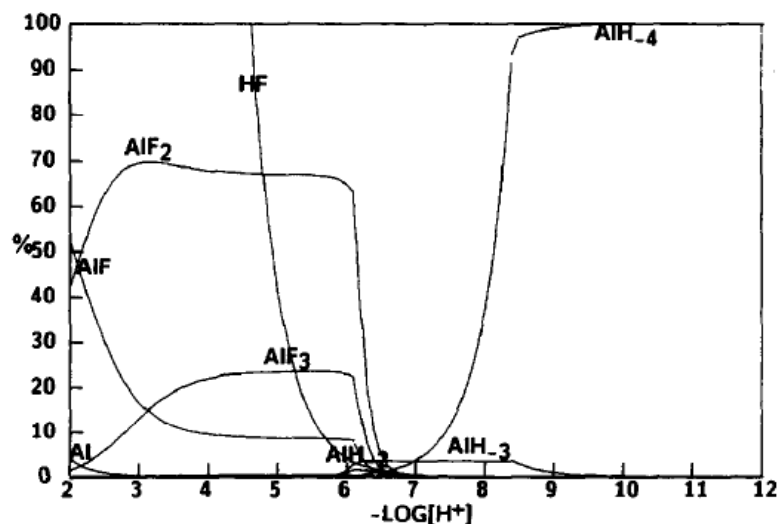
| ligand | $\log K_{\text{Al(L)}}$ |
|---------------|-------------------------|
| OH^- | 9,01 |
| EDTA | 16,4 |
| DTPA | 18,6 |

Fluoridové anionty se všeobecně vyznačují vysokou afinitou ke kovům. Vazba k hliníku je však v rámci vazeb kov–F jednou z nejsilnějších (viz Tab. 2).

Tab. 2 – Síla vazby kov–F.¹⁷

| kov | $E_{\text{kov-F}}$ [kJ mol ⁻¹] |
|-----|--|
| Cu | 430,5 |
| Be | 568,6 |
| Al | 674,9 |

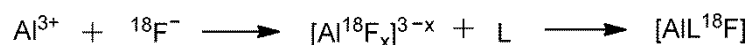
Hlinité kationty vytváří ve vodném roztoku komplexy s fluoridovými ionty pouze v kyselém prostředí (pH < 6), v závislosti na koncentraci fluoridových aniontů vytváří komplexní ion $[\text{Al}(\text{H}_2\text{O})_{6-x}\text{F}_x]^{3-x}$. V neutrálním roztoku se sráží $\text{Al}(\text{OH})_3$ a v silně bazickém prostředí vzniká dobře rozpustná komplexní částice $[\text{Al}(\text{OH})_4]^-$ (viz Obr. 6).^{18,24}



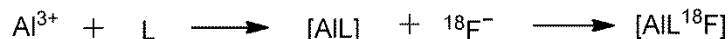
Obr. 6 - Závislost relativní molární koncentrace komplexů na pH (převzato z ¹⁸). Fluoridové ionty jsou ve vodném roztoku hlinité soli komplexovány do pH = 6, při vyšším pH vzniká hydroxid hlinitý, v silně bazickém prostředí hlinité ionty komplexují hydroxidové anionty. ($c_{Al^{3+}} = 1 \mu M$; $c_{F^-} = 50 \mu M$; $T = 25 \text{ }^\circ C$).

Volné hlinité ionty jsou pro lidský organismus toxické a v těle jsou distribuovány velice rychle. Akumulují se především v plicích, žaludku, srdci, mozku a kostech.²⁵ Zvýšený obsah hlinitých iontů v těle byl nalezen u pacientů trpících Alzheimerovou chorobou, zda-li je však příčinou nemoci, nebylo dokázáno.¹⁸ K odstranění hlinitých iontů z těla se používají vhodné ligandy, které jsou selektivní vůči hlinitým iontům a tvoří stabilní komplexy. Ty jsou následně z těla vyloučeny. Jedním z využívaných chelatanů je desferrioxamin-B (desferal, DFO) (viz Obr. 9), který komplexuje také železité ionty, ale při fyziologickém pH tvoří přednostně komplexy s hlinitými ionty.²⁵

Vysokou stabilitu vazby Al–F lze využít pro přípravu značených látek. Aby bylo možno řídit distribuci komplexu v těle, je nutno hliník chelatovat. Toho lze docílit dvěma postupy. Prvním z nich je příprava [¹⁸F]fluorokomplexu hlinitého $[Al^{18}F_x]^{3-x}$, který je následně komplexován vhodným chelatanem navázaným na nosiči (viz Obr. 7). Jiný postup je syntéza hlinitého komplexu vhodného chelatanu a následná koordinace ¹⁸F⁻ (viz Obr. 8).

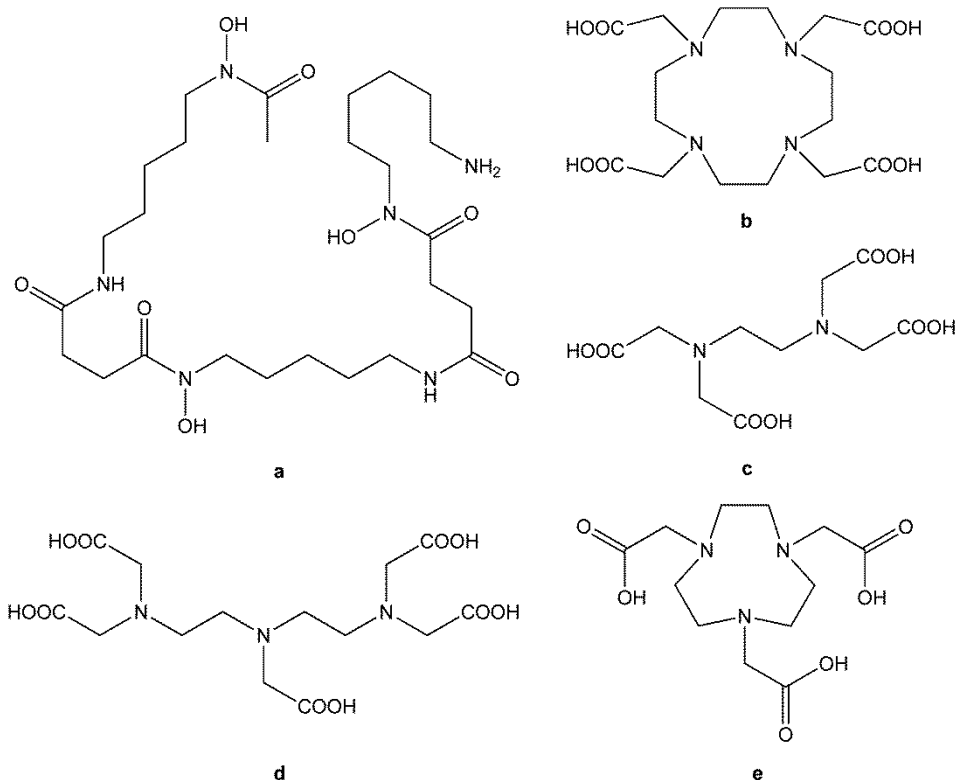


Obr. 7 - Značení komplexací [¹⁸F]fluorokomplexu hlinitého vhodným chelatanem. Komplexace hlinitých iontů ¹⁸F⁻ a následná komplexace chelátem. L = chelatan



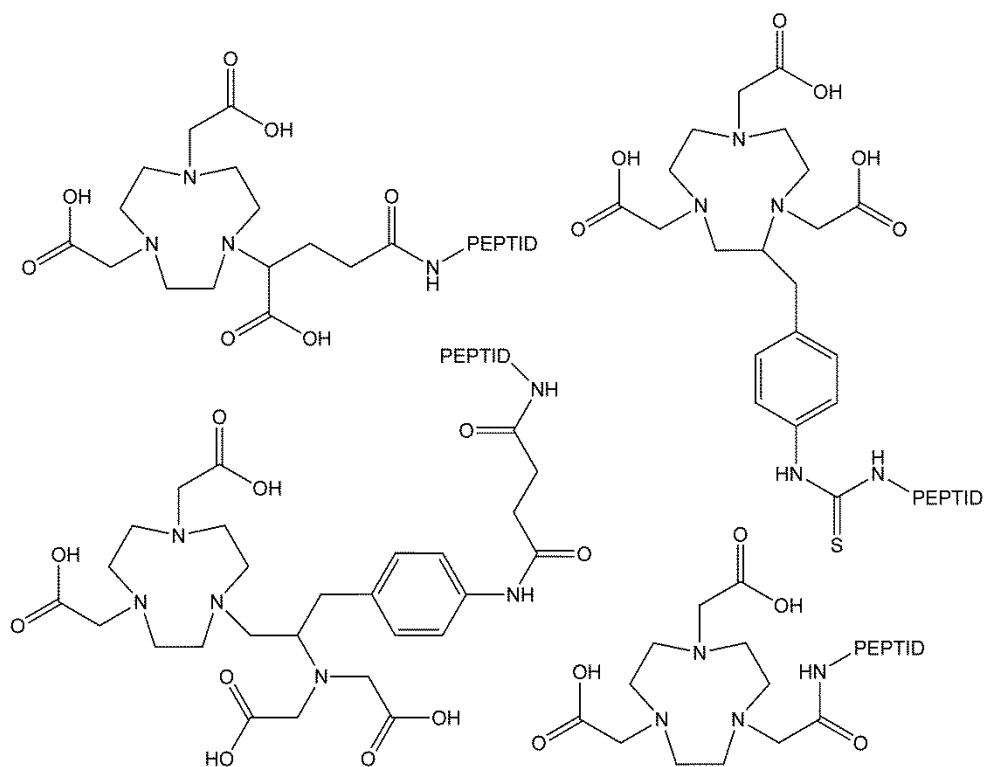
Obr. 8 – Značení koordinací ${}^{18}\text{F}^{-}$ na komplex hlinitých iontů. Komplexace hlinitých iontů chelatantem a následná koordinace ${}^{18}\text{F}^{-}$. L = chelatant

Pro značení pomocí $[\text{Al}^{18}\text{F}_x]^{3-x}$ byly testovány různé kyslíkaté ligandy: desferrioxamin B, DOTA, EDTA, DTPA, fosfonáty, fosfáty a NOTA (viz Obr. 9).⁶



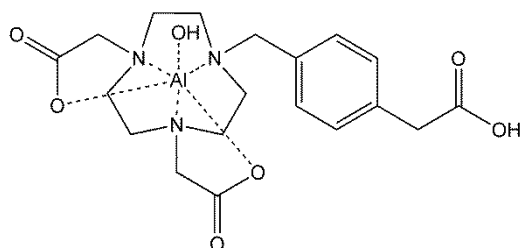
Obr. 9 – Testované ligandy pro značení pomocí $[\text{Al}^{18}\text{F}_x]^{3-x}$. a) desferrioxamin B (DFO, deferoxamin), b) DOTA, c) EDTA, d) DTPA, e) NOTA.

Komplex hexadentátního ligandu NOTA (viz Obr. 9) byl ze všech testovaných chelátů nejstabilnější.⁶ Tento postup byl proto vyzkoušen na mnoho derivátech NOTA (viz Obr. 10)^{6,12,26-28} i ligandu NOTA samotném^{29,30}. Značení probíhá při teplotě okolo 100 °C přibližně 15 minut u většiny derivátů. Výtěžek reakce je závislý kromě použitého typu chelatantu na zvoleném pufru, pH a dalších specifických činidlech urychlujících komplexaci. V některých případech je dosaženo téměř 90% výtěžku.²⁶



Obr. 10 – Deriváty NOTA testované pro značení pomocí $[Al^{18}F_x]^{3-x}$.

Zařazení reakce s $^{18}F^-$ až v posledním kroku, obsahuje nejprve přípravu komplexu hlinitých iontů s vhodným chelatantem a následnou koordinací $^{18}F^-$ na hlinité ionty. Výhodou je, že komplexace hlinitých iontů chelatantem je předřazena práci s radionuklidem a tudíž neovlivňuje radiochemický výtěžek. Touto metodou byly značeny komplexy derivátu NO2A (viz. Obr. 11).²⁰



Obr. 11 – Komplex derivátu NO2A testovaný pro koordinaci $^{18}F^-$.

Bylo zjištěno, že komplexace probíhá rychleji v polárních organických rozpouštědlech jako je ethanol. Komplex je zahříván v uzavřené nádobě ve vodném roztoku flouridových aniontů s ethanolem (1:1) 15 minut při 105 °C. Značený produkt je získán s výtěžkem 45–97 % s vysokou specifickou aktivitou.

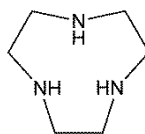
Radiofarmakum je čištěno sloupcovou chromatografií s Al_2O_3 jako stacionární fází, kde se zachytí nenavázaný $^{18}\text{F}^-$. Celková doba značení včetně čištění je přibližně 20 minut. Reakci lze optimalizovat pomocí vnějších podmínek (pH, teplota, použitý pufr apod.), které jsou závislé na typu ligandu.^{20,21}

Výhodou značení pomocí fluorovaných komplexů hlinitých iontů je vyšší rychlost reakce, ale i nižší počet reakčních kroků bez nutnosti sušení, tedy výměny vodného prostředí za bezvodé, jelikož voda je v těchto případech rozpouštědlem.

Oba způsoby značení, tedy komplexace částice $[\text{Al}^{18}\text{F}_x]^{3-x}$ vhodným ligandem i koordinace $^{18}\text{F}^-$ na hlinitý komplex, vyžadují ligandy, které jsou stále při teplotách okolo $100\text{ }^\circ\text{C}$.^{20,21} Tyto podmínky jsou omezením pro použití řady biomolekul.²¹

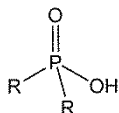
1.3.1. Makrocyclické deriváty fosfinátů jako ligandy

Pro komplexaci iontů s malým iontovým poloměrem (hlinité, indité, gallité ionty) jsou vhodné hexadentátní ligandy^{31,32} jako jsou deriváty dusíkatého heterocyklu 1,4,7-triazacyklononanu (viz Obr. 12).



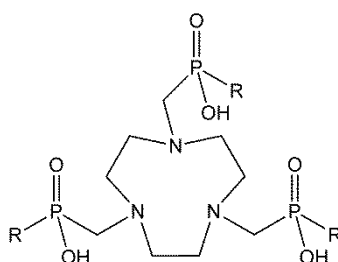
Obr. 12 – Strukturní vzorec 1,4,7-triazacyklononanu (TACN).

Přítomnost makrocycly v ligandu vede k vyšší termodynamické stabilitě komplexů a zároveň kinetické inertnosti.³³ Jedním z nejznámějších derivátů TACN je již výše zmíněný ligand NOTA, 1,4,7-triazacyklononan nesoucí tři pendentní ramena zakončená karboxylovou skupinou (viz Obr. 9). Ligand NOTA je vhodným ligandem pro komplexaci hlinitých iontů, pro značení ^{18}F však poskytuje nízké radiochemické výtěžky²⁹, právě pro svoji vysokou stabilitu s hlinitými ionty, která je podpořena preferovaným oktaedrickým uspořádáním.³⁴ Příprava a následné značení derivátů NOTA radionuklidem ^{18}F je v současné době intenzivně zkoumáno.^{6,20,21,26-28} Další alternativou je náhrada pendentních ramen NOTA, tedy použití fosfinátů místo karboxylových skupin (viz Obr. 13). Zbytky fosfinových kyselin jsou kyselější než analogické acetátové pendanty. Zvyšují tak schopnost koordinace již při nízkém pH, což je při komplexaci výhodou.^{32,35}



Obr. 13 – Strukturní vzorec kyseliny fosfinové.

Fosfinátové deriváty 1,4,7-triazacyklononanu (TRAP ligandy viz Obr. 14) byly studovány pro komplexaci kationtů gallitých jako vhodné kontrastní látky pro ^{68}Ga PET. Tyto ligandy vykazovaly vysokou selektivitu vůči gallitým iontům, které koordinovaly i ve velmi kyselém prostředí ($\text{pH} = 0$). Všechny testované TRAP ligandy s různými substituenty fosfinových kyselin byly dostatečně inertní vůči dekomplexaci v kyselém prostředí.³²



Obr. 14 - TRAP ligandy, fosfinátové deriváty triazacyklononanu, testované pro komplexaci gallitých iontů za účelem syntézy kontrastních látek pro ^{68}Ga PET. R = H, Ph, CH_2OH , $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$.

1.4. Cíl práce

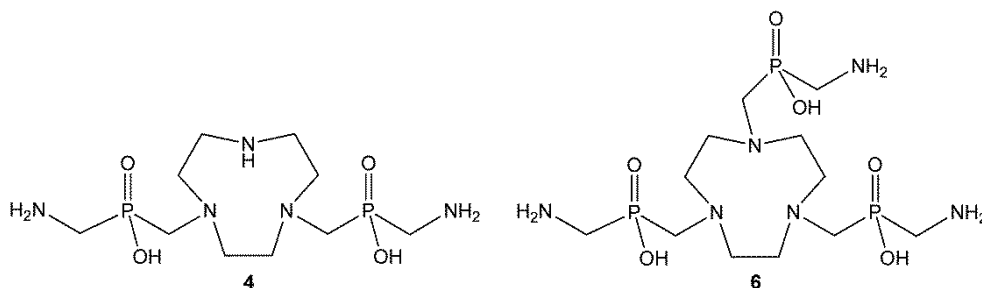
Cílem práce je syntéza ligandů – derivátů triazacyklononanu nesoucích dvě nebo tři pendantní ramena zakončená aminovou skupinou (viz Obr. 15) navržených pro komplexaci hlinitých iontů a následnou koordinaci radioaktivního izotopu ^{18}F , tedy pro značení v posledním kroku.

Deriváty dusíkatého makrocyclu 1,4,7-triazacyklononanu jsou vhodné pro koordinaci iontů kovů s malým iontovým poloměrem, jako jsou právě hlinité ionty. Ty navíc vykazují vysokou afinitu k záporně nabitým kyslíkovým atomům na fosfinátech.

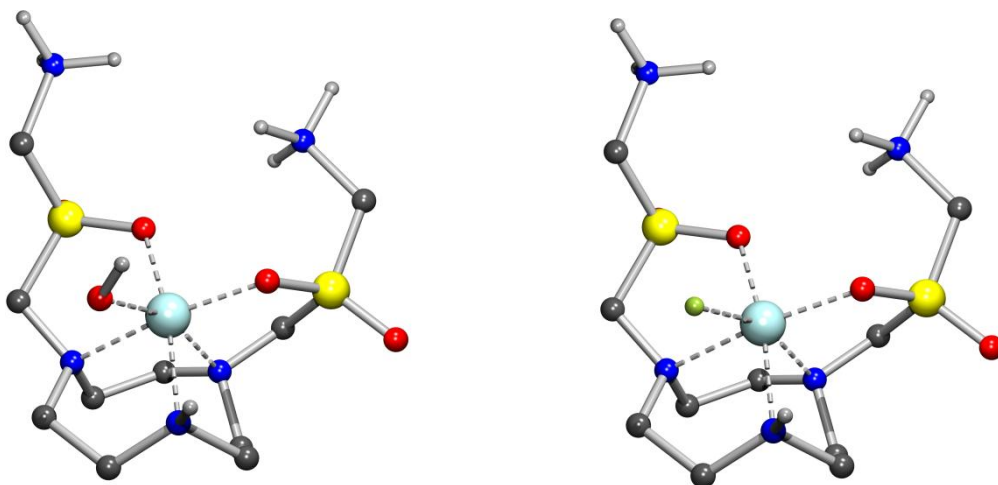
Rychlost koordinace fluoridových aniontů a zároveň stabilita komplexu by měla být podpořena tvorbou vodíkových můstků mezi aminovou skupinou na konci pendantních ramen a koordinovanými fluoridy.

Ligand **4** má sedm donorových atomů. Předpokládá se však, že aminové skupiny na konci pendantních ramen budou nevýhodné pro koordinaci a proto se ligand bude vázat pouze pěti donorovými atomy. Následně v podobě aqua-,

popřípadě hydroxo-, hlinitého komplexu by mělo docházet ke koordinaci fluoridového aniontu na hlinitý ion. Komplexace ligandu **4** s hlinitými ionty a koordinace fluoridových aniontů na připravený komplex je dalším cílem této práce (viz Obr. 16).



Obr. 15 – Studované ligandy pro značení ^{18}F . Bis- a tris(fosfinátové) deriváty 1,4,7-triazacyklononanu navržené pro komplexaci hlinitých iontů a následnou koordinaci $^{18}\text{F}^-$. Výsledné komplexy obsahující radionuklid by měly být vhodné kontrastní látky pro ^{18}F PET.



Obr. 16 – Studované komplexní částice $[\text{Al}(\mathbf{4})\text{OH}]$ a $[\text{Al}(\mathbf{4})\text{F}]$ (zleva). (sv. modrá – hliník, červená – kyslík, žlutá – fosfor, modrá – dusík, tm. šedá – uhlík, sv. šedá – vodík, zelená – fluor) Vodíkové atomy na uhlíku nejsou pro přehlednost struktury znázorněny. Modely struktur byly navrženy molekulovou mechanikou HyperChemTM.

Za předpokladu koordinace dusíkových atomů makrocyklu a kyslíkových atomů fosfinátů je ligand **6** hexadentátní, proto by měl komplexovat hlinité ionty pevněji. Vzhledem k preferovanému koordinačnímu číslu šest je pak koordinační sféra hlinitého kationtu zcela vysycena a tento komplex by tedy neměl umožňovat přímou koordinaci fluoridů. Může být proto využit pro bližší studium koordinačních vlastností aminoskupin na fosfinátových pendantních ramenech.

2. Experimentální část

2.1. Chemikálie a metody

Použité chemikálie

Při syntéze byly použity komerčně dostupné chemikálie od firem Lachner, Sigma-Aldrich, Acros, CheMatech. Použitý paraformaldehyd byl odfiltrován ze starých roztoků formaldehydu a vysušen ve vakuovém exsikátoru nad P_2O_5 . Produkty **1** a **2** byly připraveny dle publikované syntézy.³⁶⁻³⁸

Spektroskopie nukleární magnetická rezonance

^{31}P NMR spektra byla měřena na spektrometru Varian NMR System 300MHz a Varian^{UNITY} INOVA 400, ^{27}Al na spektrometru Varian^{UNITY} INOVA 400 a 1H , $^{13}C\{^1H\}$ na spektrometru Bruker Avance III 600MHz. Měřená jádra a jejich rezonanční frekvence jsou uvedeny v Tab. 3. Vnitřní standardy jsou uvedeny v Tab. 4. ^{31}P NMR spektra byla referencována na externí standard 85% H_3PO_4 $\delta_P = 0,0$ ppm. ^{27}Al NMR spektra byla referencována na externí standard $[Al(OH)_4]^-$ v 1M NaOH $\delta_{Al} = 80,0$ ppm vs. $[Al(H_2O)_6]^{3+}$ $\delta_{Al} = 0,0$ ppm.

Tab. 3 – Měřená jádra a jejich rezonanční frekvence.

| jádro | rezonanční frekvence [MHz] | | |
|-----------|----------------------------|------------|-----------|
| | VNMRS 300 | VINOVA 400 | BAIII 600 |
| 1H | 299,4 | – | 600,2 |
| ^{13}C | 75,4 | – | 150,9 |
| ^{31}P | 121,4 | 161,9 | – |
| ^{27}Al | – | 104,2 | – |

Tab. 4 – Vnitřní standardy jader 1H a ^{13}C .

| rozpouštědlo | chemický posun [ppm] | |
|--------------|----------------------|-------------------|
| D_2O^a | $\delta_H = 1,25$ | $\delta_C = 30,3$ |
| CD_3OD | $\delta_H = 3,34$ | $\delta_C = 49,9$ |

^a vnitřní standard *t*BuOH

Hmotnostní spektrometrie

Hmotnostní spektra byla měřena na spektrometru Bruker ESQUIRE 3000, vzorky byly ionizovány pomocí ESI (Elektrospray Ionization). Ionty byly analyzovány pomocí IT (Ion Trap). Měřeními byla získána spektra záporných i kladných iontů, jejich signály jsou uvedeny v charakterizaci připravených sloučenin.

Tenkvrstvá chromatografie

K chromatografii byly použity tenkovrstvé hliníkové folie Merck 1,0554 F₂₅₄, pokryté vrstvou silikagelu. Po dokončení chromatografie byl pomocí horkovzdušné pistole chromatogram zbaven rozpuštědel. Produkty byly detekovány párami I₂, kde se zbarvily do oranžova nebo ponořením chromatogramu do roztoku manganistanu draselného (1 g KMnO₄, 2 g Na₂CO₃, 100 mL H₂O) a vyvoláním pod proudem teplé vody.

Elementární analýza

Elementární analýza byla provedena servisním pracovištěm Ústavu makromolekulární chemie AV ČR. Výsledky jsou uvedeny v charakterizaci ve tvaru: „teoretická hodnota“ („stanovená hodnota“) jako hmotnostní procenta.

Potenciometrické měření – fluoridová iontově selektivní elektroda

Koordinace fluoridů a komplexů fluorohliníkových byla sledována měřeními koncentrace volných fluoridových iontů fluoridovou iontově selektivní elektrodou (Metrohm, 6.0502.150). Jako referentní elektroda byla použita argentchloridová elektroda s referentním elektrolytem KCl (3M) a můstkovým elektrolytem NH₄NO₃ (1M). Obě elektrody byly připojeny k titrační soustavě Titrando 808 a naměřená data byla sbírána a zpracována programem Tiamo (Metrohm). Roztoky o celkovém objemu 10 mL byly míchány magnetickým míchadlem v polyethylenové nádobě vyhřívané na 25 °C. Zásobní roztok fluoridových aniontů (0,1M) byl připraven sušením pevného NaF ve vakuové peci při 110 °C po dobu 3 hodin, následným rozpuštěním navážky asi přesně 420 mg a doplněním H₂O na celkový objem 100 mL. Závislost potenciálu elektrody na koncentraci volných fluoridových iontů lze popsat rovnicí (1):

$$E_F = E_F^\circ - S \log[F^-] + E_j \quad (1)$$

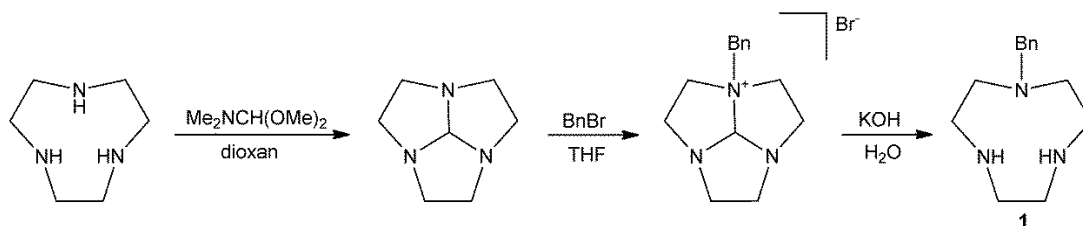
kde S je směrnice přímky, která odpovídá směrnici Nernstovy rovnice tj. $RT/zF\{\log(e)\} = 59,159$ mV, E_F° je parametr elektrody, E_F je měřený potenciál, E_j je

kapalinový potenciál a $[F^-]$ je koncentrace volných fluoridů. Parametry S a E_F° byly před každým experimentem určeny kalibrací elektrody. Do známého objemu pufru byl přidán známý objem roztoku NaF (0,1M) a po ustálení odečten potenciál. K tomuto roztoku byl přidán další známý objem NaF (0,1M) a byl znovu odečten potenciál. Celkem byla změřena pětibodová kalibrační křivka.

2.2. Syntéza

1-benzyl-1,4,7-triazacyklononan (**1**)^{37,38}

(produkt byl získán ve formě $\mathbf{1} \cdot 3\text{HCl} \cdot 0,5\text{H}_2\text{O}$)



Suspenze TACN (2,00 g; 15,5 mmol) a $\text{Me}_2\text{NCH}(\text{OMe})_2$ (2,21 g; 18,5 mmol) v dioxanu (20 mL) byla refluxována 3 h. Po ochlazení na laboratorní teplotu byl roztok odpařen na RVO. Odparek byl rozpuštěn v THF (15 mL) a za intenzivního míchání k němu byl velmi pomalu přikapán roztok BnBr (3,44 g; 20,1 mmol) v THF (15 mL). Poté byl do směsi přidán THF (10 mL) a směs byla míchána přes noc při RT. Výsledná sraženina byla odfiltrována, promyta THF (5 mL) a rozpuštěna ve směsi H_2O (10 mL), EtOH (20 mL) a KOH (5,00 g; 89,1 mmol). Vzniklý roztok byl refluxován 3 dny. Roztok byl odpařen na RVO a odparek rozpuštěn v H_2O (40 mL) a extrahován CHCl_3 (3×40 mL). Spojené organické frakce byly odpařeny na RVO, rozpuštěny v roztoku HCl (6M; 20 mL) a znovu odpařeny. Surový produkt byl rozpuštěn v malém množství H_2O (5 mL) a po přidání Et_2O (15 mL) se vytvořily dvě fáze. Stáním v lednici se vyloučily krystaly, které byly odsáty na fritě S3. Opakovanou krystalizací byl získán další podíl. Všechny frakce byly spojeny a dosušeny ve vakuovém exsikátoru nad P_2O_5 . Produkt **1** byl získán ve formě mikrokrystického prášku (2,41 g; 46 %).

NMR (D_2O , $\text{pD} < 1$): ^1H δ 3,07 ($\text{CH}_2\text{-N-Bn}$, t, 4H, $^3J_{\text{HH}} = 6$ Hz); 3,24 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-N-Bn}$, t, 4H, $^3J_{\text{HH}} = 6$ Hz); 3,64 ($\text{NH-CH}_2\text{-CH}_2\text{-NH}$, s, 4H); 3,94 ($\text{CH}_2\text{-Ph}$, s, 2H); 7,50–7,39 (CH- arom. , m, 5H); ^{13}C δ 42,8 ($\text{CH}_2\text{-N-Bn}$, s); 44,2

(CH₂-CH₂-N-Bn, s); 48,3 (NH-CH₂-CH₂-NH, s); 59,8 (CH₂-Ph, s); 129,1 (CH-arom., s); 129,6 (CH-arom., s); 131,0 (CH-arom., s); 135,8 (CH₂-C-CH, s).

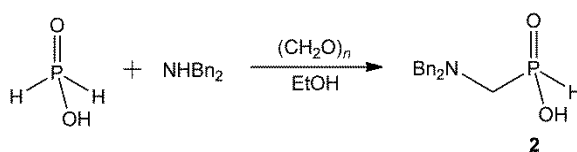
EA (C₁₃H₂₁N₃·3HCl·0,5H₂O, M_R = 337,7): C 46,2 (46,4); H 7,5 (7,4); N 12,4 (12,2); Cl 31,5 (31,5).

MS: (+) 220,5 [M+H]⁺.

TLC (THF-MeOH-NH₃ 5:1:1): R_f = 0,5.

Kyselina *N,N*-dibenzylaminomethylfosfinová (**2**)³⁶

(produkt byl získán ve formě **2**·0,3H₂O)



K suspenzi NHBn₂ (5,00 g, 25,0 mmol) a (CH₂O)_n (1,52 g, 50,6 mmol) v EtOH (96%; 50 mL) byl za stálého míchání při 60 °C přidán vodný roztok H₃PO₂ (50%; 10,0 g; 76,0 mmol) a směs byla zahřívána 24 h při 60 °C. Po ukončení reakce byl roztok odpařen na RVO. Odparek byl rozpuštěn v malém množství vody a čištěn na silném katexu (DOWEX 50; H⁺ cyklus; 200 mL; H₂O-EtOH 1:1 → 5% NH₃) a následně silném anexu (Amberlite IRA 402; AcO⁻ cyklus; 200 mL; H₂O → 50% AcOH). Frakce obsahující produkt byla několikrát odpařena s H₂O. Produkt byl rozpuštěn v horkém Me₂CO (20 mL) a ponechán krystalizovat. Vzniklé krystaly byly odsáty na fritě S3 a dosušeny ve vakuovém exsikátoru nad P₂O₅. Produkt **2** byl získán ve formě bílého prášku (5,89 g; 84 %).

NMR (D₂O, pD = 2): ¹H δ 3,18 (CH₂-P, d, 2H, ²J_{HP} = 11 Hz); 4,50 (CH₂-Ph, s, 4H); 6,93 (P-H, d, 1H, ¹J_{HP} = 553 Hz); 7,46-7,56 (CH-arom., m, 10H); ¹³C{¹H} δ 51,6 (CH₂-P, d, ¹J_{CP} = 83 Hz); 59,8 (CH₂-Ph, s); 129,4 (CH-arom., s); 130,1 (CH-arom., s); 131,0 (CH-arom., s); 132,0 (CH-arom., s); ³¹P{¹H} δ 10,8 (s); ³¹P δ 10,8 (d, ¹J_{PH} = 553 Hz).

EA (C₁₅H₁₈NO₂P·0,3H₂O, M_R = 280,7): C 64,2 (64,3); H 6,7 (6,3); N 5,0 (5,0).

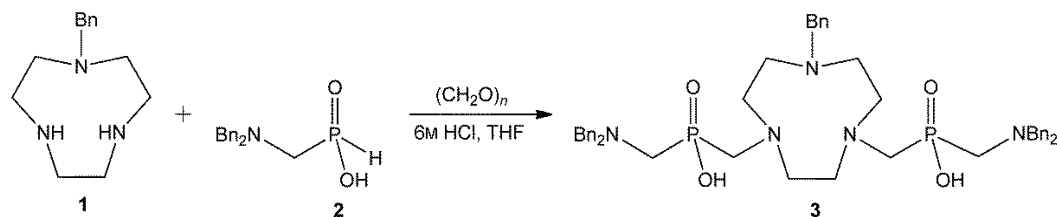
MS: (+) 298,6 [M+Na]⁺; 573,7 [2M+Na]⁺.

(-) 274,3 [M-H]⁻.

TLC (THF-MeOH-NH₃ 9:1:1): R_f = 0,5.

Kyselina 1-benzyl-1,4,7-triazacyklononan-4,7-bis(methyl(N,N-dibenzylamino)methylfosfinová) (3)

(produkt byl získán ve formě **3**·3,5H₂O)



K roztoku **1** (1,00 g; 2,96 mmol) a **2** (2,62 g; 9,36 mmol) ve směsi THF (35 mL) a vodné HCl (6M; 35 mL) byl za stálého míchání přidán (CH₂O)_n (342 mg; 11,4 mmol). Reakční směs byla zahřívána 24 h při 60 °C. Po ukončení reakce byl roztok ochlazen na laboratorní teplotu a odpařen na RVO. Hnědá látka olejovité konzistence byla rozpuštěna v H₂O (60 mL) a k vzniklé suspenzi byl přidán konc. NH₄OH do pH 9 a poté CH₂Cl₂ (50 mL). Organická fáze byla oddělena a vodná fáze byla extrahována CH₂Cl₂ (3×50 ml). Organické frakce obsahující produkt byly spojeny a odpařeny na RVO. Odparek byl rozpuštěn v minimálním množství *i*PrOH-CH₂Cl₂ 1:5 a čištěn sloupcovou chromatografií (SiO₂; 300 mL; *i*PrOH-CH₂Cl₂ 1:5 → *i*PrOH-CH₂Cl₂ 1:2 → *i*PrOH-CH₂Cl₂ 1:1 → NH₄OH-MeOH 1:5). Frakce obsahující produkt byly spojeny, odpařeny na RVO a několikrát odpařeny s MeOH. Produkt **3** byl získán ve formě nažloutlého oleje (2,01 g; 79 %).

NMR (CD₃OD): ¹H δ 2,67 (CH₂-N-Bn₂, d, 4H, ²J_{HP} = 9 Hz); 2,78–3,06 (CH₂-cyklus, N-CH₂-P-CH₂-N-Bn₂, m, 16H); 3,84 (CH₂-Ph, s, 8H); 3,99 (CH₂-Ph, s, 2H); 7,27 (CH-arom., t, 4H, ³J_{HH} = 7 Hz); 7,31–7,39 (CH-arom., m, 11H); 7,41 (CH-arom., d, 8H, ³J_{HH} = 7 Hz); 7,47 (CH-arom., d, 2H, ³J_{HH} = 8 Hz); ¹³C{¹H} δ 53,4 (CH₂-cyklus, s); 54,6 (CH₂-N-Bn₂, d, ¹J_{CP} = 105 Hz); 55,4 (CH₂-cyklus, s); 56,1 (CH₂-cyklus, s); 56,4 (N-CH₂-P-CH₂-N-Bn₂, d, ¹J_{CP} = 100 Hz); 60,6 (CH₂-Ph, d, ³J_{CP} = 6 Hz); 61,3 (CH₂-Ph, s); 128,6 (CH-arom., s); 129,5 (CH-arom., s); 129,6 (CH-arom., s); 129,8 (CH-arom., s); 130,8 (CH-arom., s); 131,5 (CH-arom., s); 135,7 (CH₂-C-CH., s); 139,3 (CH₂-C-CH., s); ³¹P{¹H} δ 31,5 (s).

EA (C₄₅H₅₇N₅O₄P₂·3,5H₂O, M_R = 857,0): C 63,1 (63,2); H 7,5 (7,2); N 8,2 (7,7).

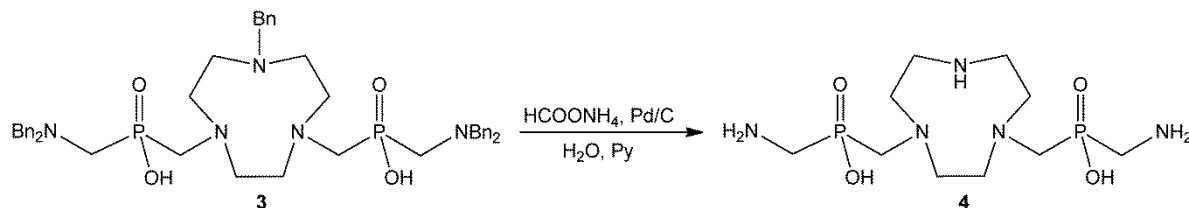
MS: (-) 792,9 [M-H]⁻; 814,9 [M-2H+Na]⁻; 830,2 [M-2H+K]⁻.

TLC (CH₂Cl₂-*i*PrOH 1:1): R_f = 0,7.

Kyselina 1,4,7-triazacyklononan-1,4-bis(methyl(aminomethylfosfinová)

(4)

(produkt byl získán ve formě **4**·4HCl·3H₂O)



Do baňky byl odvážen HCOONH₄ (1,02 g; 16,2 mmol), 10% Pd/C (184 mg, 173 μmol) a baňka byla dobře propláchnuta argonem. Do další baňky byl odvážen **3** (460 mg, 534 μmol) a přidána H₂O (9 mL). K takto vzniklé suspenzi byl přikápan pyridin, dokud nevznikl roztok, který byl následně přidán do směsi HCOONH₄ a Pd/C a reakční směs byla míchána při 60 °C. Po 3 h byl přidán další HCOONH₄ (630 mg, 10,0 mmol) a 10% Pd/C (110 mg, 103 μmol). Směs byla dále míchána 24 h. Po ochlazení na RT byly pevné složky odfiltrovány na fritě S4 a několikrát promyty H₂O (2 mL). Filtrát byl odpařen na RVO a dále opakovaně odpařen s H₂O. Surový produkt byl čištěn na silném anexu (Amberlite IRA 402, 50 mL, H₂O → 6M HCl). Frakce obsahující produkt byla několikrát odpařena s HCl (6M) a následně s H₂O. Odparek byl sušen ve vakuovém exsikátoru nad P₂O₅. Produkt **4** byl získán ve formě žlutého prášku (220 mg; 75 %).

NMR (D₂O, pD = 1): ¹H δ 3,23 (P—CH₂—NH₂, d, 4H, ²J_{HP} = 10 Hz); 3,41 (N—CH₂—P—CH₂—NH₂, d, 4H, ²J_{HP} = 6 Hz); 3,45 (CH₂-cyklus, s, 4H); 3,58 (CH₂-cyklus, m, 4H); 3,62 (CH₂-cyklus, m, 4H); ¹³C{¹H} δ 38,5 (P—CH₂—NH₂, d, ¹J_{CP} = 95 Hz); 43,8 (CH₂-cyklus, s); 52,3 (CH₂-cyklus, s); 53,2 (CH₂-cyklus, s); 55,9 (N—CH₂—P—CH₂—NH₂, d, ¹J_{CP} = 100 Hz); ³¹P{¹H} δ 24,6 (s).

EA (C₁₀H₂₇N₅O₄P₂·4HCl·3H₂O, M_R = 543,2): C 22,1 (22,2); H 6,9 (6,2); N 12,9 (12,7); Cl 26,1 (27,2).

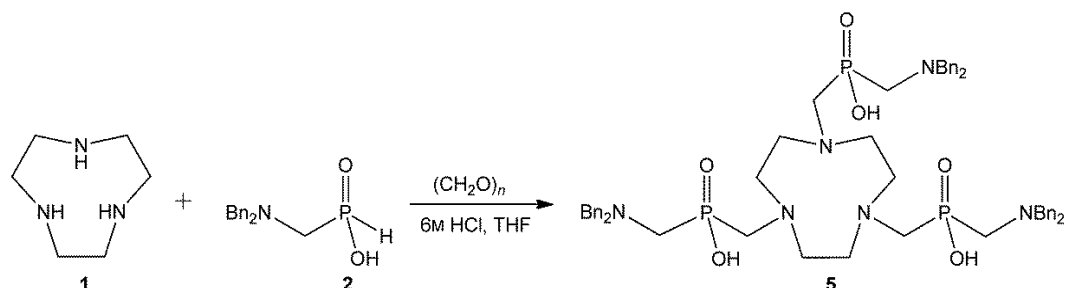
MS: (-) 341,8 [M-H]⁻.

(+) 343,7 [M+H]⁺.

TLC (iPrOH—NH₃—H₂O 7:3:3): R_f = 0,3.

Kyselina 1,4,7-triazacyklononan-1,4,7-tris(methyl(N,N-dibenzylaminomethyl)fosfinová) (5)

(produkt byl získán ve formě $5 \cdot 2\text{NH}_3$)



K roztoku TACN.3HCl (2,00 g; 8,44 mmol) a **2** (7,01 g; 25,1 mmol) v THF (50 mL) a HCl (6M; 50 mL) byl za stálého míchání přidán $(\text{CH}_2\text{O})_n$ (880 mg; 29,3 mmol). Reakční směs byla zahřívána 24 h při 40 °C. Průběh reakce byl sledován pomocí ^{31}P NMR. Po 24 h bylo do reakční směsi přidáno **2** (0,50 g; 1,79 mmol) a $(\text{CH}_2\text{O})_n$ (63,0 mg; 2,10 mmol). Směs byla míchána přes noc. Po 24 h bylo do reakční směsi přidán **2** (1,00 g; 3,57 mmol) a $(\text{CH}_2\text{O})_n$ (125 mg; 4,16 mmol) a po dalších 15 h $(\text{CH}_2\text{O})_n$ (126 mg; 4,20 mmol). Po 30 h byl roztok ochlazen na laboratorní teplotu a odpařen na RVO. Olejovitá látka byla rozpuštěna ve směsi H_2O (350 mL), NH_4OH (25 %, 100 mL) a CH_2Cl_2 (400 mL). Frakce s CH_2Cl_2 byla oddělena, zfiltrována s aktivním uhlím a odpařena na RVO. Oparek byl rozpuštěn v 200 ml CH_2Cl_2 a stáním v lednici se vyloučily krystaly. Pevná látka byla odfiltrována na fritě S3 a promyta Et_2O . Opakovanou krystalizací byl získán další podíl. Obě frakce byly spojeny a dosušeny ve vakuovém exsikátoru nad P_2O_5 . Produkt **5** byl získán ve formě bílého mikrokrystalického prášku (5,39 g; 62 %).

NMR (CD_3OD): ^1H δ 2,62 ($\text{CH}_2\text{-N-Bn}$, d, 6H, $^2J_{\text{HP}} = 10$ Hz); 2,88 ($\text{CH}_2\text{-cyklus}$, s, 12H); 2,92 ($\text{N-CH}_2\text{-P-CH}_2\text{-N-Bn}_2$, d, 6H, $^2J_{\text{HP}} = 7$ Hz); 3,78 ($\text{CH}_2\text{-Ph}$, s, 12H); 7,25 (CH- arom. , t, 6H, $^3J_{\text{HH}} = 7$ Hz); 7,34 (CH- arom. , t, 12H, $^3J_{\text{HH}} = 7$ Hz); 7,41 (CH- arom. , d, 12H, $^3J_{\text{HH}} = 7$ Hz); $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ δ 54,9 ($\text{CH}_2\text{-N-Bn}$, d, $^1J_{\text{CP}} = 108$ Hz); 56,6 ($\text{N-CH}_2\text{-P-CH}_2\text{-N-Bn}_2$, d, $^1J_{\text{CP}} = 99$ Hz); 57,3 ($\text{CH}_2\text{-cyklus}$, m); 60,7 ($\text{CH}_2\text{-Ph}$, d, $^3J_{\text{CP}} = 7$ Hz); 128,4 (CH- arom. , s); 129,4 (CH- arom. , s); 130,7 (CH- arom. , s); 140,0 ($\text{CH}_2\text{-C-CH}$, s); ^{31}P δ 31,8 (s).

EA ($\text{C}_{54}\text{H}_{69}\text{N}_6\text{O}_6\text{P}_3 \cdot 2\text{NH}_3$, $M_{\text{R}} = 1025,1$): C 63,3 (63,0); H 7,4 (7,4); N 10,9 (10,7).

MS: (-) 989,9 $[\text{M-H}]^-$; 1011,8 $[\text{M-2H+Na}]^-$; 1027,8 $[\text{M-2H+K}]^-$.

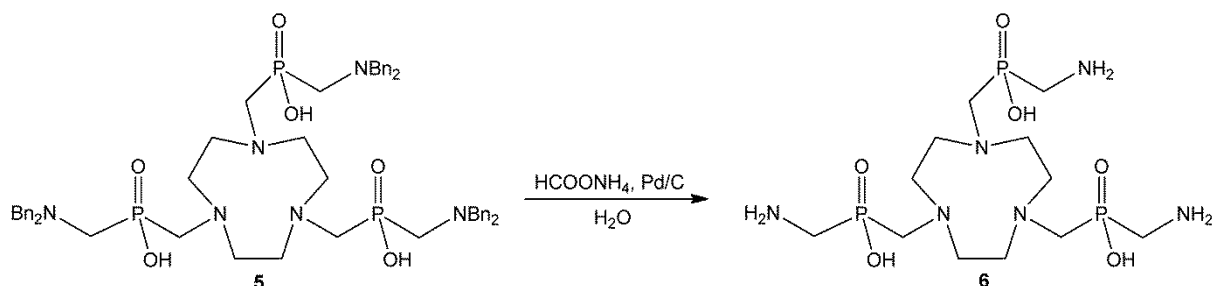
(+) 992,1 $[\text{M+H}]^+$; 1014,0 $[\text{M+Na}]^+$; 1030,0 $[\text{M+K}]^+$.

TLC ($i\text{PrOH-CH}_2\text{Cl}_2$ 1:5): $R_{\text{f}} = 0,4$.

Kyselina 1,4,7- triazacyklononan-1,4,7-tris(methyl(aminomethyl)fosfinová)

(6)

(produkt byl získán ve formě 6·0,5THF·3,5HCl·3H₂O)



Do 50 mL baňky byl odvážen **5** (1,00 g; 976 μ mol), HCOONH₄ (1,85 g; 29,3 mmol), 10% Pd/C (200 mg; 188 μ mol) a baňka byla dobře propláchnuta argonem. Směs byla suspendována v H₂O (20 mL) a míchána 24 h při 60 °C. Po ochlazení na RT byly pevné složky odfiltrovány na fritě S4 a několikrát promyty H₂O (5 mL). Filtrát byl odpařen na RVO, rozpuštěn v H₂O a znovu odpařen na RVO. Surový produkt byl dále čištěn na silném anexu (Dowex 1, 200 ml, H₂O → 6M HCl). Frakce obsahující produkt byla odpařena a odparek byl několikrát odpařen s HCl (6M) a následně s H₂O. Odparek byl rozpuštěn v HCl (6M; 5 mL) a za stálého míchání po kapkách přidáván do roztoku THF (200 mL) a EtOH (100 %; 200 mL). Sraženina byla odsáta na fritě a sušena ve vakuovém exsikátoru nad P₂O₅. Produkt **6** byl získán ve formě bílého prášku (521 mg; 80 %).

NMR (D₂O, pD = 9): ¹H δ 2,98 (P-CH₂-NH₂, d, 6H, ²J_{HP} = 9 Hz); 3,13 (CH₂-cyklus, s, 12H); 3,18 (N-CH₂-P-CH₂-NH₂, d, 6H, ²J_{HP} = 5 Hz); ¹³C{¹H} δ 39,6 (P-CH₂-NH₂, d, ¹J_{CP} = 92 Hz); 51,9 (CH₂-cyklus, s); 54,5 (N-CH₂-P-CH₂-NH₂, d, ¹J_{CP} = 97 Hz); ³¹P{¹H} δ 32,0 (s).

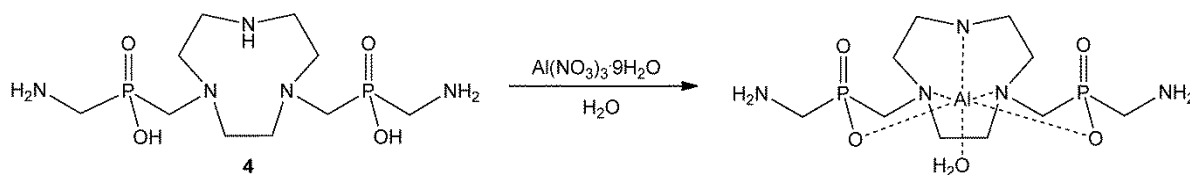
EA (C₁₂H₃₃N₆O₆P₃·0,5THF·3,5HCl·3H₂O, M_R = 668,1): C 25,2 (24,8); H 7,0 (6,7); N 12,6 (12,4); Cl 18,6 (18,1).

MS: (-) 449,6 [M-H]⁻; 471,6 [M-2H+Na]⁻; 487,5 [M-2H+K]⁻.

(+) 451,8 [M+H]⁺; 473,7 [M+Na]⁺; 489,7 [M+K]⁺.

TLC (iPrOH-NH₃-H₂O 7:3:3): R_f = 0,6.

Roztok komplexu [Al(**4**)H₂O]



V H₂O (0,75 mL) byl rozpuštěn ligand **4** (30,2 mg; 50,0 mmol) a Al(NO₃)₃·9H₂O (18,7 mg; 50,0 mmol). Hodnota pH roztoku byla upravena pomocí roztoku NaOH (1M) na 3,92. Reakční směs byla zahřívána při 110 °C v uzavřené vialce. Průběh reakce byl sledován pomocí ³¹P{¹H} NMR. Po 12 h bylo pH roztoku upraveno pomocí roztoku NaOH (1M) na 4,92 a směs byla zahřívána dalších 12 h při 110 °C. Konverze ligandu byla 100 % (³¹P{¹H} NMR).

NMR (H₂O, pH = 4,92): ²⁷Al δ 36 (s) (ω_{1/2} = 599 Hz)

NMR (D₂O, pD = 4,5): ³¹P{¹H} δ 29,6 (s); 33,6 (s); 34,6 (s); 35,0 (s); 35,5 (s).

MS: (+) 368,7 [Al(**4**)⁺]; 385,9 [Al(**4**)H₂O]⁺.

¹H, ¹³C NMR spektrum viz Diskuze

2.3. Studium koordinačních vlastností

2.3.1. Příprava pufřů a zásobních roztoků

Pufry 1,4-dimethylpiperazin (0,1M) o pH = 3,61, methylpiperazin (0,1M) o pH = 4,63 a piperazin (0,1M) o pH = 6,11 při 25 °C byly připraveny rozpuštěním navážky příslušné báze v H₂O (80 mL) a následnou neutralizací HClO₄ (70%) na přibližné pH. Roztoky byly převedeny do 100 mL odměrných baněk a doplněny H₂O po rysku. Po důkladném promíchání bylo změřeno pH při 25 °C.

Zásobní roztok komplexu [Al(**4**)H₂O] byl připraven rozpuštěním ligandu **4** (27,4 mg; 45,3 μmol) a Al(NO₃)₃·9H₂O (20,6 mg; 54,9 μmol) v H₂O (680 μL). Hodnota pH roztoku byla upravena přidávkem NaOH (1M) na pH = 3,96 a roztok byl zahříván ve vialce při 110 °C. Po 12 h bylo pH roztoku upraveno pomocí NaOH (1M) na 4,23 a roztok byl dále zahříván při 110 °C. Po 7 h byla konverze ligandu **4** dle ³¹P{¹H} NMR spektra 90 %. Po ochlazení na RT byl roztok zředěn H₂O (10 mL) a míchán s Chelexem® 20 (42 mg) 1 h. Následně byl Chelex® 20 odfiltrován a filtrát odpařen na RVO. Ze změřeného ³¹P{¹H} NMR spektra bylo zjištěno, že v reakční směsi je 10 % volného ligandu. Dle ²⁷Al NMR spektra nebyly v roztoku přítomny žádné ionty

Al^{3+} ve formě $[\text{Al}(\text{H}_2\text{O})_6]^{3+}$. Roztok byl zředěn H_2O (4,00 mL) na požadovanou koncentraci komplexu 10mM, vypočtenou na 90 % konverzi ligandu.

Zásobní roztok ligandu **4** (10mM) byl připraven navážením ligandu **4** (10,9 mg; 20,1 μmol) a doplněním H_2O na celkový objem 2 mL.

Zásobní roztok hlinité soli (5mM) byl připraven navážením $\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ (18,8 mg; 50,1 μmol) a doplněním na celkový objem 10 mL.

2.3.2. Kinetické studie

Koordinace fluoridových aniontů na komplex $[\text{Al}(\mathbf{4})\text{H}_2\text{O}]$

Do asi přesně 10 mL pufru (0,1M methypiperazin/ HClO_4 ; pH = 4,63) byl odpipetován roztok NaF (0,1M; 100 μL) a do roztoku byly ponořeny elektrody. Po ustálení potenciálu byl do roztoku odpipetován roztok komplexu $[\text{Al}(\mathbf{4})\text{H}_2\text{O}]$ (0,01M; 255 μL) a byl měřen potenciál v závislosti na čase. Koncentrace F^- a $[\text{Al}(\mathbf{4})\text{H}_2\text{O}]^+$ v roztoku byly $c_{\text{F}^-} = 1 \text{ mM}$ a $c_{[\text{Al}(\mathbf{4})\text{H}_2\text{O}]} = 0,25 \text{ mM}$. Po ukončení měření byl proveden analogický experiment, kde bylo odpipetováno pouze poloviční množství NaF (0,1M; 50,0 μL). Koncentrace F^- a $[\text{Al}(\mathbf{4})\text{H}_2\text{O}]$ v roztoku tedy byly $c_{\text{F}^-} = 0,5 \text{ mM}$ a $c_{[\text{Al}(\mathbf{4})\text{H}_2\text{O}]} = 0,25 \text{ mM}$. Časová závislost počtu koordinovaných fluoridů byla vynesena do grafu.

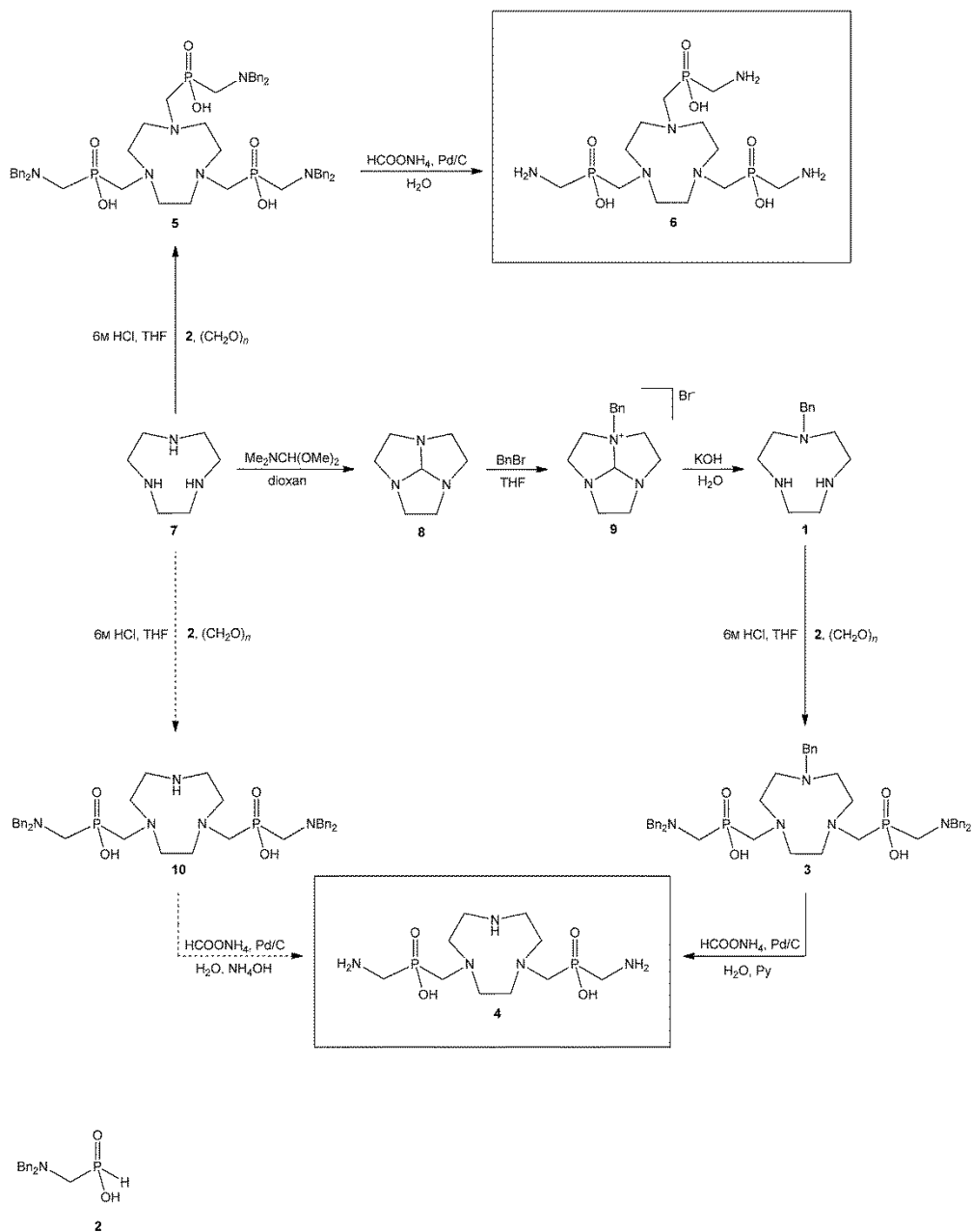
Komplexace fluorokomplexů $[\text{AlF}_x]^{3-x}$

Do asi přesně 10 mL pufru (0,1M piperazin/ HClO_4 ; pH = 6,11) byl odpipetován roztok NaF (0,1M; 50 μL) a do roztoku byly ponořeny elektrody. Po ustálení potenciálu byl do roztoku odpipetován roztok $\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ (5mM; 100 μL) a po ustálení rovnováhy byl změřen potenciál. Následně byl do roztoku přidán roztok ligandu **4** (10mM; 50 μL) a pomocí fluoridové iontově selektivní elektrody byl měřen elektrodový potenciál po dobu 15 min. Koncentrace F^- , Al^{3+} a ligandu **4** v roztoku byly $c_{\text{F}^-} = 0,5 \text{ mM}$, $c_{\text{Al}^{3+}} = 50 \mu\text{M}$ a $c_{\text{L}} = 50 \mu\text{M}$. Reakční směs byla převedena do plastové centrifugační zkumavky a zahřívána při 85 °C jeden týden. Po ukončení zahřívání byl znovu změřen potenciál. Stejný experiment byl proveden při pH = 3,61 (0,1M 1,4-dimethylpiperazin/ HClO_4).

3. Diskuze

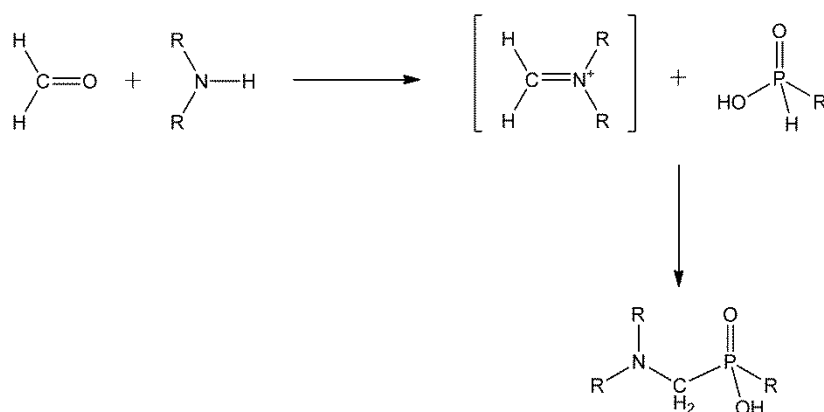
3.1. Syntéza

Příprava ligandů **4** a **6**



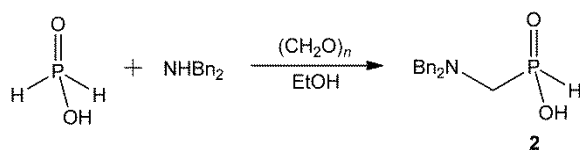
Obr. 17 – Schéma syntézy ligandů **4**, **6**. Syntéza trisubstituovaného derivátu **6** z nechráněného TACN **7** a syntéza disubstituovaného derivátu **4** z chráněného TACN **1**. Schéma popisuje také alternativní syntézu **4** z nechráněného TACN **7**.

Aminomethylfosfináty jsou nejčastěji připravovány reakcí Mannichova typu³⁹ (viz Obr. 18).



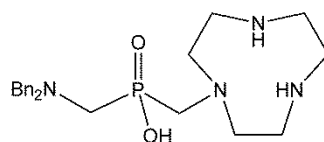
Obr. 18 – Reakce Mannichova typu. Touto reakcí byly připraveny meziprodukty **3**, **5** a meziprodukt alternativní syntézy **10**.

Jde o kondenzační reakci, kde prvním krokem je nukleofilní adice primárního či sekundárního aminu na karbonylovou skupinu paraformaldehydu, za vzniku tzv. Schiffovy báze. Následnou reakcí je elektrofilní adice. Sloučenina obsahující vodík vázaný na atomu fosforu reaguje s Schiffovou bází jako elektrofilem.³⁹ Výsledkem je tzv. Mannichova báze.⁴⁰ Z důvodu reaktivity všech aminových skupin musí reakci Mannichova typu předcházet chránění. Při syntéze prekurzorů bylo nutné ochránit nejen makrocyklus, ale i aminové skupiny na konci pendantních ramen. Proto byla aminomethylfosfinová kyselina **2** připravena reakcí s dibenzylaminem, dle publikované syntézy³⁶ (viz Obr. 19). Podařilo se ji reprodukovat s výtěžkem 84 %.



Obr. 19 – Příprava **2**, prekurzoru pro syntézu **4** a **6**. Reakce Mannichova typu.

Vycházíme-li při reakci Mannichova typu z nechráněného 1,4,7-triazacyklononanu **7**, získáme směs mono- (viz Obr. 20), di- (**10**) a trisubstituovaných (**5**) derivátů triazacyklononanu dle poměru látkových množství reaktantů (viz. Tab. 5).



Obr. 20 – Monosubstituovaný derivát triazacyklononanu (**11**). Vedlejší produkt alternativní syntézy ligandu **4**.

Tab. 5 – Molární poměry reaktantů a procentuální zastoupení produktů v reakční směsi dle ^{31}P NMR.

| poměr látkových množství | | | procentuální zastoupení (%) | | |
|--------------------------|----------|---------------------------|-----------------------------|----------|----------|
| 7 | 2 | $(\text{CH}_2\text{O})_n$ | 11 | 3 | 5 |
| 1 | 2 | 2,25 | 20 | 50 | 30 |
| 1 | 2,5 | 2,5 | 15 | 40 | 45 |
| 1 | 3 | 3 | – | – | 95 |

Touto cestou lze při mírném nadbytku reaktantu **2** a $(\text{CH}_2\text{O})_n$ kvantitativně získat meziprodukt **5**. Příprava disubstituovaného triazacyklononanu **10** je však obtížná, právě kvůli vzniku směsi všech tří derivátů. Proto se využívá benzylem chráněného 1,4,7-triazacyklononanu **1**, který byl připraven dle optimalizované syntézy.^{37,38} Můstkem chráněný 1,4,7-triazacyklononan **8** reagoval s BnBr za vzniku kvarterní soli **9**, která se vylučovala z roztoku v podobě pevné fáze. Můstek byl odbourán hydrolyzou hydroxidem draselným na produkt **1**. Reakcí Mannichova typu benzylovaného 1,4,7-triazacyklononanu **1** s mírným nadbytkem derivátu fosfinové kyseliny **2** a $(\text{CH}_2\text{O})_n$ vznikl meziprodukt **3**. Směs benzylovaného disubstituovaného triazacyklononanu **3** a nadbytek reaktantu **2** bylo nutné oddělit. Rozpustnost směsi však byla limitujícím faktorem pro sloupcovou chromatografii. Extrakcí s CH_2Cl_2 a přidavkem NH_3 se rozpustnost zvýšila a směs byla přečištěna sloupcovou chromatografií. Na koloně byl meziprodukt **3** více zadržován než reaktant **2**, což bylo pravděpodobně způsobeno její nízkou rozpustností. Proto byl benzylovaný derivát triazacyklononanu **3** získán elucí polárnější mobilní fází.

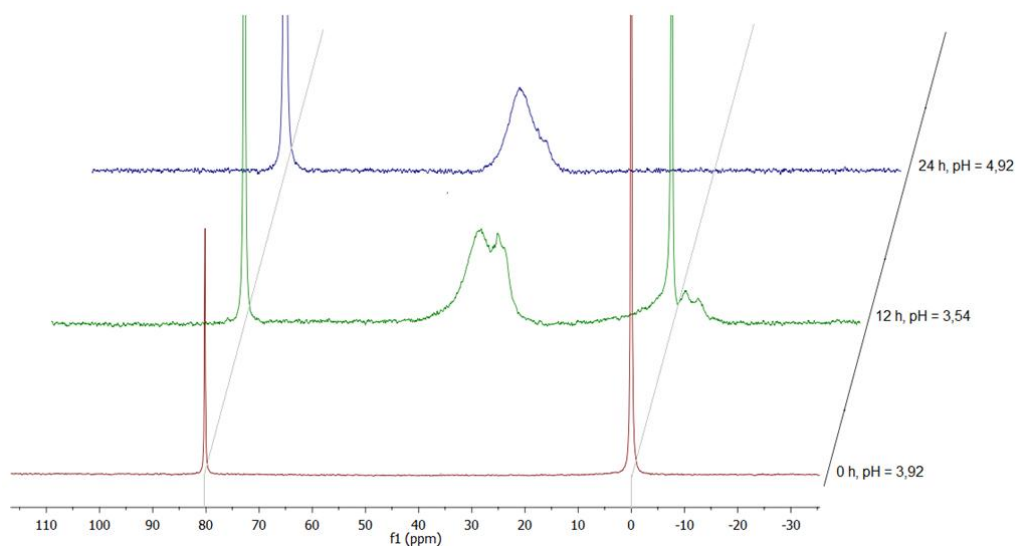
Posledním krokem syntézy bylo odstranění chránících skupin, debenzylace. Byla testována hydrogenace plynným vodíkem, ale i reakce s mravenčanem amonným s Pd/C jako katalyzátorem při různých reakčních podmínkách. Ukázalo se, že debenzylace mravenčanem amonným je značně závislá na rozpustnosti meziproduktů i produktů. Ta byla dostatečná ve vodném prostředí, v případě hydrogenace benzylovaného meziproduktu **3** s přidavkem pyridinu pro zvýšení jeho

rozpustnosti. Mravenčan amonný se během reakce rozkládal na plynné produkty amoniak, vodík a oxid uhličitý. Amoniak alkalizoval reakční směs, čímž zvyšoval rozpustnost reaktantu i produktu v roztoku, díky tvorbě amonné soli.

Příprava komplexu $[Al(\mathbf{4})H_2O]$

Jelikož nebyly zatím zjištěny hodnoty pK_a ligandu, nelze jednoznačně určit náboj komplexních částic, a proto není v textu uveden.

Komplexace hlinitých iontů ligandem **4** probíhala v rozmezí pH 4 až 5. Téměř kvantitativní komplexace je závislá na dodržení poměrně úzkého rozmezí pH. Při $pH < 3$ nedochází ke komplexaci hlinitých iontů. Při $pH > 5$ se z roztoku začala vylučovat nerozpustná fáze hydroxidu hlinitého. Samotná komplexace je při laboratorní teplotě velice pomalá a proto bylo nutné urychlit reakci zahříváním ($110\text{ }^\circ\text{C}$). Průběh reakce byl sledován pomocí $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ a ^{27}Al NMR spektroskopie. Po 24 hodinách proběhla komplexace kvantitativně (viz Obr. 21, 22). Byla také provedena reakce v nadbytku hlinitých iontů ($\text{Al}^{3+}:\mathbf{4}$ 2:1). Volné hlinité ionty byly odstraněny reakcí s Chelexem® 20 (kopolymer styrenu a divinylbenzenu obsahující imidodioctové skupiny komplexující ionty kovů).



Obr. 21 – ^{27}Al NMR spektrum dokumentující vznik komplexu $[Al(\mathbf{4})H_2O]$. Signál δ 80 ppm odpovídá externímu standardu $[Al(OH)_4]^-$, signál δ 0 ppm odpovídá $[Al(H_2O)_6]^{3+}$.

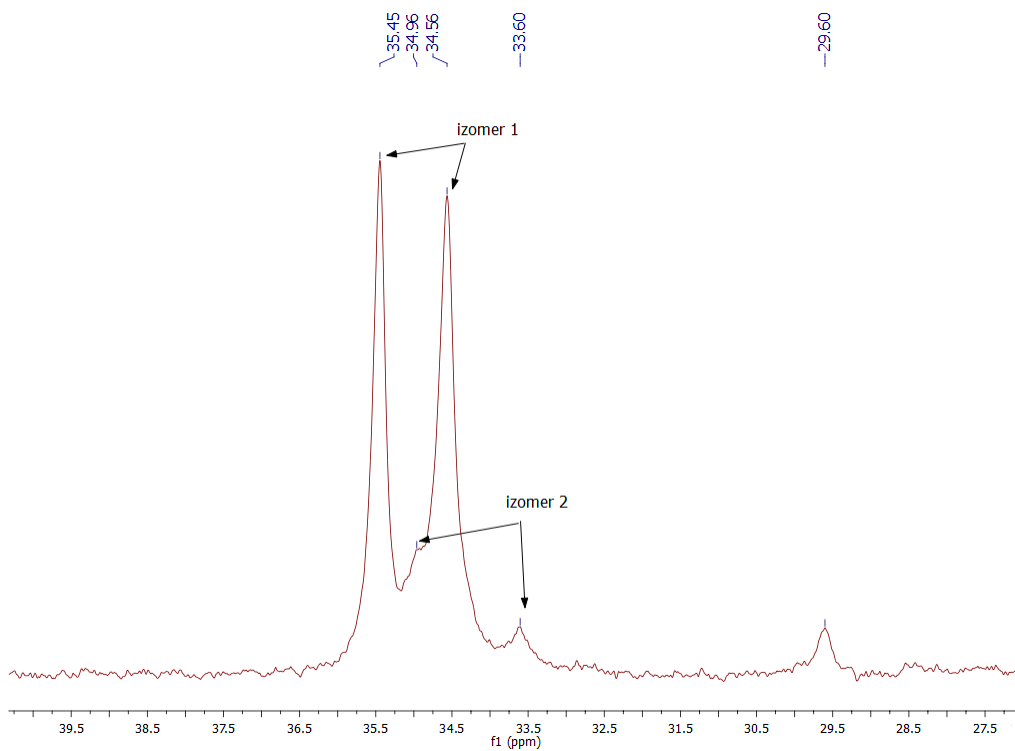
Komplex $[Al(\mathbf{4})H_2O]$ byl charakterizován pomocí ^{27}Al , $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$, ^1H , $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ NMR spektroskopie a hmotnostní spektrometrie. Průběh komplexace dokumentují ^{27}Al

NMR spektra (viz Obr. 21). Všechna ^{27}Al NMR spektra byla referencována na externí standard $[\text{Al}(\text{OH})_4]^-$ (80,0 ppm). Na začátku komplexace byl v roztoku přítomen pouze $[\text{Al}(\text{H}_2\text{O})_6]^{3+}$ (0,0 ppm). Po dvanácti hodinách zahřívání při 110 °C došlo ke snížení intenzity tohoto signálu a ve spektru se objevily další signály. Komplexace pravděpodobně probíhá přes kinetický intermediát, ve kterém je ligand koordinovaný pouze fosfináty. Tomuto tzv. out-of-cage komplexu mohou odpovídat signály při $\delta -2,5$ ppm a $\delta -5,0$ ppm. Signály při $\delta 33$ ppm a 36 ppm odpovídají pravděpodobně acidobazické rovnováze komplexních částic $[\text{Al}(\mathbf{4})\text{H}_2\text{O}]$ a $[\text{Al}(\mathbf{4})\text{OH}]$. Po 24 h hodinách byla v reakční směsi detekována pouze částice $[\text{Al}(\mathbf{4})\text{H}_2\text{O}]$, respektive $[\text{Al}(\mathbf{4})\text{OH}]$. Velká pološířka signálu komplexu ($\omega_{1/2} = 599$ Hz) je způsobena málo symetrickým koordinačním okolím hlinitého iontu ve srovnání s pološířkou $[\text{Al}(\text{OH})_4]^-$ či $[\text{Al}(\text{H}_2\text{O})_6]^{3+}$ ($\omega_{1/2} = 26$ Hz, $\omega_{1/2} = 37$ Hz).

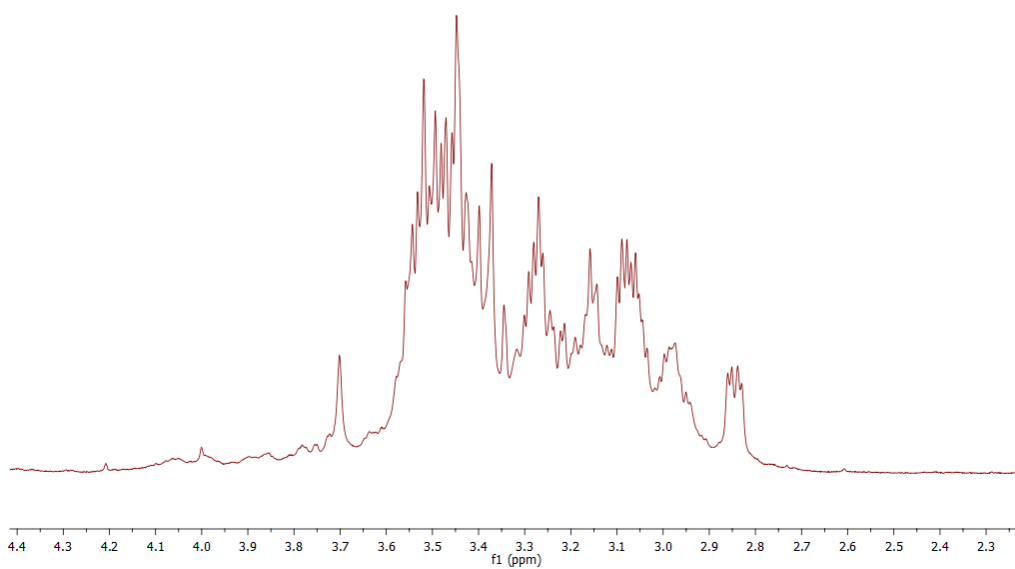
Dle publikace ⁴¹ nahrazení jedné molekuly vody v $[\text{Al}(\text{H}_2\text{O})_6]^{3+}$ kyslíkovým či dusíkovým donorovým atomem odpovídá změně chemického posunu přibližně 7 ppm a substituce jedné molekuly vody hydroxidovým aniontem přibližně 2 ppm v oktaedrickém okolí. Chemický posun vzniklého komplexu oproti $[\text{Al}(\text{H}_2\text{O})_6]^{3+}$ je přibližně 36 ppm, což se shoduje s předpokladem vzniku komplexu $[\text{Al}(\mathbf{4})\text{OH}]$, ve kterém je centrální atom koordinován třemi dusíkovými a dvěma kyslíkovými donorovými atomy. Šesté koordinační místo je v závislosti na pH obsazeno molekulou vody, popřípadě hydroxidovým aniontem.

Komplexace byla studována také pomocí ^{31}P NMR spektroskopie (viz Obr. 22), kde byly pozorovány dva páry singletů o stejné intenzitě v poměru 80:15. Signál při $\delta 29,6$ ppm nelze na základě dosud naměřených dat interpretovat. Díky konformaci makrocyclu ($\delta\delta\delta/\lambda\lambda\lambda$), helicitě pendantních ramen (Δ/Λ) a chiralitě koordinovaných fosforových atomů (R,S) jsou komplexy chirální. Z možných kombinací diastereoizomerních párů $\Lambda\delta\delta\delta\text{-RR}/\Delta\lambda\lambda\lambda\text{-SS}$, $\Lambda\delta\delta\delta\text{-RS}/\Delta\lambda\lambda\lambda\text{-SR}$, $\Lambda\delta\delta\delta\text{-SR}/\Delta\lambda\lambda\lambda\text{-RS}$, $\Lambda\delta\delta\delta\text{-SS}/\Delta\lambda\lambda\lambda\text{-RR}$ byly ve $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ NMR spektru pozorovány dva izomery.

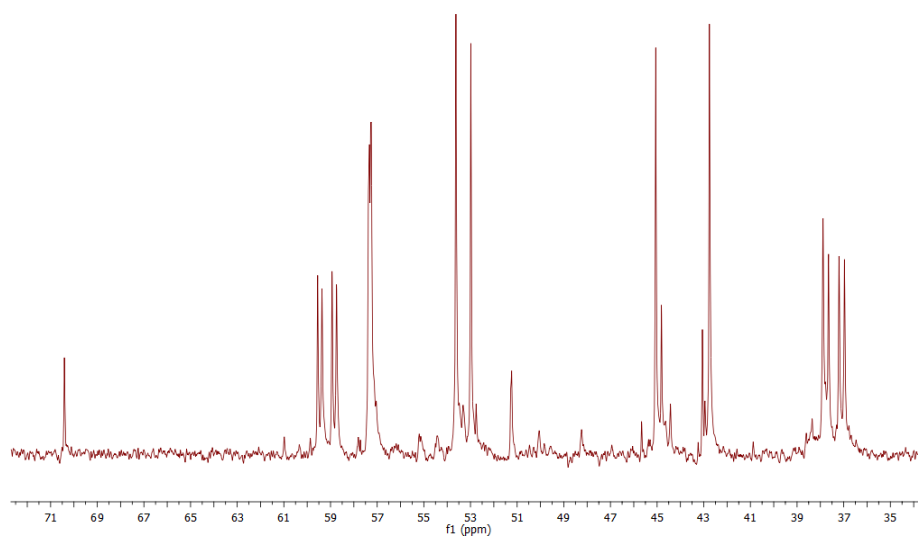
Spektra ^1H a $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ NMR nebyla kvůli velkému množství signálů přiřazena (viz Obr. 23, 24).



Obr. 22 – ^{31}P NMR spektrum kompleksu $[\text{Al}(\mathbf{4})\text{H}_2\text{O}]$.



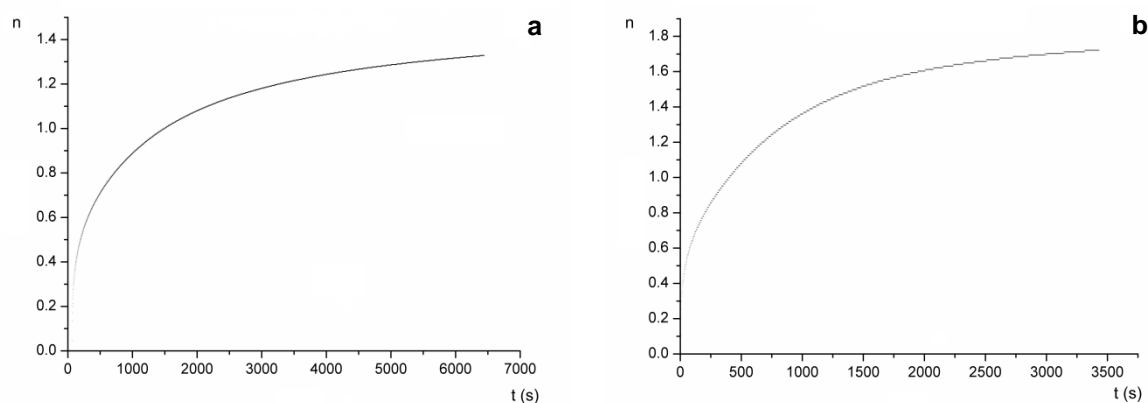
Obr. 23 – ^1H NMR spektrum kompleksu $[\text{Al}(\mathbf{4})\text{H}_2\text{O}]$.



Obr. 24 – ^{13}C NMR spektrum komplexu $[\text{Al}(\mathbf{4})\text{H}_2\text{O}]$.

3.2. Studium koordinačních vlastností

Pro studium koordinace fluoridových iontů na připravený hlinitý komplex byla použita fluoridová iontově selektivní elektroda. Byla studována časová závislost koordinace fluoridových iontů na komplex ve dvou molárních poměrech $[\text{Al}(\mathbf{4})\text{H}_2\text{O}]:\text{F}^-$, 1:2 a 1:4 (viz Obr. 25).



Obr. 25 – Časová závislost vzniku komplexu $[\text{Al}(\mathbf{4})\text{F}_n]$ v molárních poměrech $[\text{Al}(\mathbf{4})\text{H}_2\text{O}]:\text{F}^-$ a) 1:2 a b) 1:4.

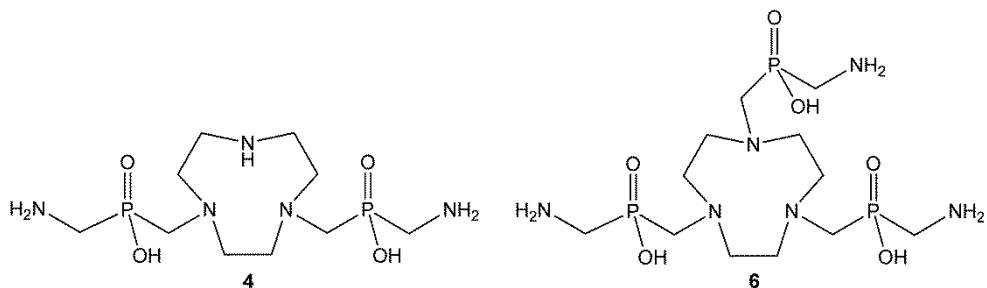
Bylo však zjištěno, že komplex koordinuje v obou případech více než jeden fluoridový anion již při RT. V případě molárního poměru $[\text{Al}(\mathbf{4})\text{H}_2\text{O}]:\text{F}^-$ 1:2 bylo za 120 minut navázáno 1,35 ekvivalentů fluoridových aniontů a při molárním poměru $[\text{Al}(\mathbf{4})\text{H}_2\text{O}]:\text{F}^-$ 1:4 bylo navázáno 1,70 ekvivalentů fluoridových aniontů za 90 minut. Jeden fluoridový anion s největší pravděpodobností substituuje molekulu vody či hydroxidový anion v komplexu. Možná koordinace dalšího fluoridového aniontu substitucí donorového atomu ligandu **4** byla vyloučena na základě $^{31}\text{P}\{\text{H}\}$ NMR spekter, kde nebyla pozorována žádná změna během koordinace fluoridů. Proto se jako možné vysvětlení nabízí vazba fluoridového aniontu na protonizované aminofosfinátové pendanty. Z literatury je známo, že protonizované aminové skupiny mohou koordinovat anionty relativně silnou nekovalentní interakcí.⁴² Tato domněnka nebyla zcela experimentálně potvrzena, nicméně pokud je správná, dochází ke zvýšení lokální koncentrace a tedy i rychlosti koordinace fluoridových aniontů na centrální ion, což je důležitým parametrem při reakcích za radiochemických podmínkách. Struktura ligandu **4** by tak přesně odpovídala funkci, pro kterou byl ligand **4** navržen.

V rámci matematického zpracování byl průběh reakce modelován jako reakce prvního nebo druhého řádu. Ani jeden z těchto modelů však reakčnímu průběhu neodpovídá. Tato skutečnost také ukazuje na složitost celého systému. Koordinace fluoridového aniontu však probíhá rychle. V molárním poměru $[\text{Al}(\mathbf{4})\text{H}_2\text{O}]:\text{F}^-$ 1:4 dojde k nakoordinování průměrně jednoho fluoridového aniontu za méně než 7 minut již při laboratorní teplotě. Dosud publikované systémy vyžadují k dosažení dostatečného výtěžku za radiochemických podmínek zahřívání na vysokou teplotu a reakční dobu 15 minut.^{6,12,20,21,26-30} Tyto výsledky ukazují, že navržený ligand je vhodným kandidátem pro následující radiochemické studie.

Pro srovnání byla studována komplexace částice $[\text{AlF}_x]^{3-x}$ ligandem **4**. Průběh reakce byl sledován pomocí fluoridové iontové selektivní elektrody. Ani po jednom týdnu zahřívání při 85 °C nebyly detekovány žádné uvolněné fluoridy z komplexu $[\text{AlF}_x]^{3-x}$, což potvrzuje, že nedocházelo ke komplexaci studovaným ligandem. Tento experiment jednoznačně potvrzuje nutnost přípravy hlinitého komplexu a až následnou koordinaci fluoridových aniontů.

4. Závěr

Byly připraveny a charakterizovány dva ligandy makrocyklu TACN s aminofosfinátovou pendentní skupinou (viz Obr. 26).



Obr. 26 – Studované ligandy **4** a **6**.

Byl připraven hlinitý komplex ligandu **4** [Al(**4**)H₂O], u kterého byla pomocí fluoridové iontové selektivní elektrody studována kinetika koordinace fluoridových aniontů. Naměřená data prokázala koordinaci více než jednoho aniontu. Zjištění struktury vzniklých fluorokomplexů vyžaduje další měření. K navázání fluoridových aniontů však dochází rychle, což ukazuje na vhodnost navrženého systému.

5. Literatura

1. Conrad, W. What is Radiology?
Dostupné z: <<http://www.news-medical.net/health/What-is-radiology.aspx>>
2. Basu, S., Kwee, T., Surti, S., Akin, E., Yoo, D. & Alavi, A. Fundamentals of PET and PET/CT imaging. *Annals of the New York Academy Sciences* **1228**, 1–18 (2011).
3. Phelps, M. E., Hoffman, E. J., Mullani, N. A. & Ter-pogossian, M. M. Application of annihilation detection to coincidence reconstruction. *Journal of Nuclear Medicine* **16**, 210–214 (1975).
4. Komar, G., Teräs, M., Seppänen, M., Hirvonen, J., Vahlberg, T., Bergman, J. & Minn, H. Comparison of 2D and 3D performance for FDG PET with different acquisition times in oncological patients. *Nuclear Medicine Communications* **30**, 16–24 (2009).
5. Positron emission tomography.
Dostupné z: <http://en.wikipedia.org/wiki/Positron_emission_tomography>
6. Smith, G. E., Sladen, H. L., Biagini, S. C. G. & Blower, P. J. Inorganic approaches for radiolabelling biomolecules with fluorine-18 for imaging with Positron Emission Tomography. *Dalton Transactions* **40**, 6196–6205 (2011).
7. Pacák, J. & Černý, M. Deoxyfluorglukosa, mezník ve vývoji pozitronové emisní tomografie (historie jednoho výzkumu). *Chemické Listy* **707**, 704–707 (2002).
8. Ido, T., Wan, C. N., Casella, W., Fowler, J. S., Wolf, A. P., Reivich, M., Kuhl, D. E. Labeled 2-deoxy-D-glucose analogs. ¹⁸F-labeled 2-deoxy-2-fluoro-D-glucose, 2-deoxy-2-fluoro-D-mannose and ¹⁴C-2-deoxy-2-fluoro-D-glucose. *Journal of Labelled Compounds and Radiopharmaceuticals* **14**, 175–183 (1978).
9. Kwee, T. C., Kwee, R. M. & Nievelstein, R. a J. Imaging in staging of malignant lymphoma: a systematic review. *Blood* **111**, 504–516 (2008).
10. Toorongian, S. A., Mulholland, G. K., Jewett, D. M., Bachelor, M. A. & Kilbourn, M. R. Routine production of 2-deoxy-2-[¹⁸F]fluoro-D-glucose by direct nucleophilic exchange on a quaternary 4-aminopyridinium resin. *Nuclear Medicine and Biology* **17**, 273–279 (1990).
11. American College of Radiology Imaging Network.
Dostupné z:
<<http://www.acrin.org/PATIENTS/ABOUTIMAGINGEXAMSANDAGENTS/ABOUTIMAGINGAGENTSORTRACERS.aspx>>
12. McBride, W. J., Sharkey, R. M., Karacay, H., D'Souza, Ch. A., Rossi, E. A., Laverman, P., Chang, Ch., Boerman, O. C. & Goldenberg, D. M. A novel method of ¹⁸F radiolabeling for PET. *Journal of Nuclear Medicine* **50**, 991–998 (2009).
13. Poethko, T., Schottelius, M., Thumshirn, G., Hersel, U., Herz, M., Henriksen, G., Kessler, H. & Schwaiger, M. Two-Step Methodology for High-Yield Routine Radiohalogenation of Peptides: ¹⁸F-Labeled RGD and Octreotide Analogs. *Journal of nuclear medicine* **45**, 892–902 (2004).
14. Guhlke, S., Coenen, H. & Gerhard, S. Fluoroacylation Agents Based on Small n.c.a. [¹⁸F]Fluorocarboxylic Acids. *Applied Radiation and Isotopes* **45**, 715–727 (1994).
15. Vaidyanathan, G. & Zalutsky, M. R. Improved synthesis of N-succinimidyl 4-[¹⁸F]fluorobenzoate and its application to the labeling of a monoclonal antibody fragment. *Bioconjugate Chemistry* **5**, 352–356 (1994).
16. Eckelman, W. C. & Lang, L. One-Step Synthesis of ¹⁸F Labeled [¹⁸F]-N-succinimidyl 4-(fluoromethyl)benzoate for Protein Labeling. *Applied Radiation and Isotopes* **45**, 1155–1163 (1994).

17. Vohlídal, J., Julák, A. & Štulík, K. *Chemické a analytické tabulky*. (Grada: 1999).
18. Martell, A. E., Hancock, R. D., Smith, R. M. & Motekaitis, R. J. Coordination of Al(III) in the environment and in biological systems. *Coordination Chemistry Reviews* **149**, 311–328 (1996).
19. Martell, A. E. & Hancock, R. D. *Coordination Chemistry* 240–254 (ACS Publications: 1994).
20. D'Souza, C. a, McBride, W. J., Sharkey, R. M., Todaro, L. J. & Goldenberg, D. M. High-yielding aqueous ^{18}F -labeling of peptides via Al^{18}F chelation. *Bioconjugate Chemistry* **22**, 1793–1803 (2011).
21. McBride, W. J., D'Souza, C. A., Karacay, H., Sharkey, R. M. & Goldenberg, D. M. New lyophilized kit for rapid radiofluorination of peptides. *Bioconjugate Chemistry* **23**, 538–547 (2012).
22. De Sá, A., Prata, M. I. M., Geraldés, C. F. G. C. & André, J. P. Triaza-based amphiphilic chelators: synthetic route, in vitro characterization and in vivo studies of their Ga(III) and Al(III) chelates. *Journal of Inorganic Biochemistry* **104**, 1051–1062 (2010).
23. NIST Standard Reference Database 46 Version 7.0 (Critically Selected Stability Constants of Metal Complexes). (2003).
24. Crisponi, G. & Nurchi, V. M. Thermodynamic remarks on chelating ligands for aluminium related diseases. *Journal of Inorganic Biochemistry* **105**, 1518–1522 (2011).
25. Yokel, R. A. Aluminum chelation principles and recent advances. *Coordination Chemistry Reviews* **228**, 97–113 (2002).
26. McBride, W. J., D'Souza, Ch. A., Sharkey, R. M., Karacay, H., Rossi, E. A., Chang, Ch. & Goldenberg, D. M. Improved ^{18}F labeling of peptides with a fluoride-aluminum-chelate complex. *Bioconjugate Chemistry* **21**, 1331–1340 (2010).
27. Laverman, P., McBride, W. J., Sharkey, R. M., Eek, A., Joosten, L., Oyen, W. J. G., Goldenberg, D. M. & Boerman, O. C. A novel facile method of labeling octreotide with (^{18}F) -fluorine. *Journal of Nuclear Medicine* **51**, 454–461 (2010).
28. Malik, N., Zlatopolskiy, B., Machulla, H.-J., Reske, S. N. & Solbach, C. One pot radiofluorination of a new potential PSMA ligand $[\text{Al}^{18}\text{F}]\text{NOTA-DUPA-Pep}$. *Journal of Labelled Compounds and Radiopharmaceuticals* **55**, 320–325 (2012).
29. Liu, S., Liu, H., Jiang, H., Xu, Y., Zhang, H. & Cheng, Z. One-step radiosynthesis of ^{18}F -AlF-NOTA-RGD for tumor angiogenesis PET imaging. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging* **38**, 1732–1741 (2011).
30. Laverman, P., D'Souza, Ch. A., Eek, A., McBride, W. J., Sharkey, R. M., Oyen, W. J. G., Goldenberg, D. M. & Boerman, O. C. Optimized labeling of NOTA-conjugated octreotide with F-18. *Tumour Biology* **33**, 427–434 (2012).
31. Cui, C., Giesbrecht, G. R., Schmidt, J. a. R. & Arnold, J. A cationic aluminum methyl complex supported by an anionic tacn ligand. *Inorganica Chimica Acta* **351**, 404–408 (2003).
32. Šimeček, J., Schulz, M., Notni, J., Plutnar, J., Kubíček, V., Havlíčková, J. & Hermann, P. Complexation of Metal Ions with TRAP (1,4,7-Triazacyclononane Phosphinic Acid) Ligands and 1,4,7-Triazacyclononane-1,4,7-triacetic Acid: Phosphinate-Containing Ligands as Unique Chelators for Trivalent Gallium. *Inorganic Chemistry* 577–590 (2012).
33. Clarke, E. T. & Martell, A. E. Stabilities of the Fe(III), Ga(III), and In(III) chelates of N,N',N'' - triazacyclononanetriacetic acid. *Inorganica Chimica Acta* **181**, 273–280 (1991).

34. Shetty, D., Choi, Y., Jeong, M., Lee, Y., Hoigebazar, L., Lee, Y., Lee, S., Chung, J. & Lee, Ch. Stable aluminium fluoride chelates with triazacyclononane derivatives proved by X-ray crystallography and ^{18}F -labeling study. *Chemical Communications* **47**, 9732–4 (2011).
35. Lukeš, I., Kotek, J., Vojtišek, P. & Hermann, P. Complexes of tetraazacycles bearing methylphosphinic/phosphonic acid pendant arms with copper(II), zinc(II) and lanthanides(III). A comparison with their acetic acid analogues. *Coordination Chemistry Reviews* **216-217**, 287–312 (2001).
36. Kotek, J., Lebdusková, P., Hermann, P., Vander Elst, L., Muller, R. N., Geraldes, C. F. G. C., Maschmeyer, T., Lukeš, I. & Peters, J. Lanthanide(III) complexes of novel mixed carboxylic-phosphorus acid derivatives of diethylenetriamine: a step towards more efficient MRI contrast agents. *Chemistry - A European Journal* **9**, 5899–5915 (2003).
37. Blake, A. J., Fallis, I. A., Gould, R. O., Parsons, S., Ross, S. A. & Schröder, M. Selective derivatisation of aza macrocycles. *Dalton Transactions* 4379–4387 (1996).
38. Holub, J. Diplomová práce UK. (2011).
39. Mannich reaction.
Dostupné z: <http://en.wikipedia.org/wiki/Mannich_reaction>
40. Mannich, C. & Krösche, W. “Ueber ein Kondensationsprodukt aus Formaldehyd, Ammoniak und Antipyrin”. *Archiv der Pharmazie* 647–667 (1912).
41. Iyer, R. K., Karweer, S. B. & Jain, V. K. Complexes of Aluminium with Aminopolycarboxylic Acids: ^{27}Al NMR and Potentiometric Studies. *Magnetic Resonance in Chemistry* **27**, 328–334 (1989).
42. Schmidtchen, F. P. & Berger, M. Artificial Organic Host Molecules for Anions. *Chemical Reviews* **97**, 1609–1646 (1997).

Poděkování

Ráda bych poděkovala svým rodičům, kteří mi umožnili plně se věnovat studiu a zároveň mě vždy trpělivě vyslechli v krušných chvílích.

Děkuji Vojtovi za ochotu vést moji bakalářskou práci, za čas strávený nad ní a zároveň za srozumitelné rady a trpělivá vysvětlování.

Děkuji Sandrovi, který mi pomáhal mimo jiné se syntézou. Díky němu se chemie „rukama“ stala přátelštější.

Děkuji Mírovi, který mi pomohl s kinetickými studiemi a vysvětlil nespočet věcí souvisejících s ^{18}F značením.

Oběma děkuji za trpělivé odpovědi na moje neustálé dotazy a za čas, který mi věnovali.

Děkuji všem, co přispěli úmyslně či neúmyslně, aktivně či pasivně ke vzniku této práce.