

**Univerzita Karlova**  
**Přírodovědecká fakulta**

Studijní obor: Chemie



# **BAKALÁŘSKÁ PRÁCE**

Michaela Rusnáková

Nesymetricky substituované makrocyclické ligandy  
Nonsymmetrically substituted macrocyclic ligands

Vedoucí závěrečné práce:  
Prof. RNDr. Petr Hermann, Dr.

Praha, 2024

**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.

V Praze, dne 22.5.2024

Michaela Rusnáková

## **Abstrakt**

Komplexy iónov kovov s derivátmi 1,4,7,10-tetraazacyklododekánu (cyklénu) sú využívané v rôznych aplikáciách, napríklad ako kontrastné látky pre magnetickú rezonančnú tomografiu (MRI). Termodynamické, kinetické a relaxačné vlastnosti komplexov ovplyvňuje štruktúra ich ligandov. Z hľadiska týchto vlastností je zaujímavým ligandom nesymetricky substituovaný monoamid DO3AP. Na syntézu nesymetricky substituovaných derivátov cyklénu je potrebné využiť ortogonálne chránenie cyklénu. So zámerom syntetizovať monoamid DO3AP bol v rámci tejto práce pripravený monochránený cyklén, dva typy ortogonálneho chránenia cyklénu, a chránený cyklén bol substituovaný acetátovými pendantnými ramenami.

### **Kľúčové slová:**

Komplexy, ligandy, makrocikly, chrániace skupiny, syntéza

## **Abstract**

Complexes of metal ions with derivatives of 1,4,7,10-tetraazacyclododecane (cyclen) are used in various applications, such as contrast agents for magnetic resonance imaging (MRI). The structure of ligands affects the thermodynamic, kinetic, and relaxation properties of the complexes. The unsymmetrically substituted monoamide DO3AP is particularly interesting from this perspective. Synthesis of non-symmetrically substituted cyclen derivatives requires the use of orthogonal protection of cyclen. With intention to synthesize monoamide DO3AP, this thesis presents the preparation of a monoprotected cyclen, two types of orthogonal protection of cyclen, and a substitution of the protected cyclen with acetate pendant arms.

### **Key words:**

Complexes, ligands, macrocycles, protection groups, synthesis

## Pod'akovanie

V prvom rade ďakujem môjmu školiteľovi prof. Petrovi Hermannovi a kolektívu nášho Labu, hlavne Kubovi Obuchovi a Petrovi Urbanovskému, vďaka ktorým viem všetko, čo sa nachádza v tejto práci. Ďakujem spolužiakom a vyučujúcim, ktorí v škole vytvorili a tvoria také prostredie, že by som si bez váhania tieto roky znova zopakovala a mladším ich úprimne odporúčam.

Ďakujem Laure Džuganovej, mojej najlepšej kamarátke, za to, že to celé prežila so mnou. Jej názory, rady, milé slová, úprimnosť, humor a talent sú niečo, čo ma každý deň inšpiruje a skvelo dopĺňa. Som veľmi vďačná, že toto priateľstvo rastie a dospieva spolu s nami.

Ďakujem Verči Kod'ousovej, najlepšej spolubývajúcej, za to, že je pre mňa oveľa viac ako iba najlepšou spolubývajúcou. Jej svet humanitných vied nenávratne obohatil ten môj a úspešne ma nakazila svojím nadhľadom na život, ktorý som tak veľmi potrebovala. Thanks to Drew Glauberg for bringing smiles across continents. Since he lives in a different time zone, he was literally there for me during the moments when no one else was. Ďakujem kamarátom a spolužiakom z rodných Košíc za nezabudnuteľné večery, ktoré sme si museli ráno pripomenúť a dlhotrvajúce priateľstvá. Ďakujem Adamovi Šántovi, Peťovi Dupejovi, Renke Klimanovej, Kajke Pisoňovej a celej komunite P-matu za to, že sa v ich prítomnosti vždy cítim ako doma. Vďaka patrí Robovi Reibergerovi za to, že pevne veril v moju úspešnú cestu štúdiom chémie od momentu, keď som sa rozhodla podať naň prihlášku a bol tu hocikedy pre mňa, aby mi to pripomenul.

# Obsah

1	Teoretický úvod .....	3
1.1	Magnetická rezonančná tomografia .....	3
1.1.1	Kontrastné zvýraznenie .....	3
1.2	Kontrastné látky s makrocyclickým ligandom .....	5
1.3	Komplexy makrocyclických ligandov .....	6
1.3.1	Komplexy s ligandom DOTA .....	6
1.3.2	Komplexy s ligandom DOTP .....	7
1.3.3	Komplexy s ligandmi s kombináciou acetátových a metylfosfonátových pendantských ramien .....	8
1.4	Nesymetricky substituované makrocycly .....	11
1.5	Syntéza substituovaných makrocyclov .....	11
1.5.1	Priama syntéza .....	11
1.5.2	Jednoduché chránenie cyklénu .....	13
1.5.3	Ortogonalne chránenie cyklénu .....	14
2	Ciele práce .....	17
3	Experimentálna časť .....	18
3.1	Všeobecné postupy a použité chemikálie .....	18
3.2	Metódy delenia a charakterizácie .....	18
3.2.1	Tenkovrstvová chromatografia (TLC) .....	18
3.2.2	Hmotnostná spektrometria (MS) a vysokoúčinná kvapalinová chromatografia (HPLC) .....	18
3.2.3	Chromatografia .....	19
3.2.4	Nukleárna magnetická rezonancia (NMR) .....	19
3.3	Syntetická časť .....	19
3.3.1	Syntéza látky <b>2</b> podľa publikovaného postupu .....	19
3.3.2	Syntéza látky <b>3</b> .....	20
3.3.3	Syntéza látky <b>2</b> alternatívnou cestou .....	22
3.3.4	Syntéza látky <b>3</b> .....	25
3.3.5	Syntéza látky <b>6</b> .....	25
4	Výsledky a diskusia .....	28
4.1	Návrh syntézy monoamidu DO3AP .....	28
4.2	Syntéza ortogonalne chráneného cyklénu .....	29
4.2.1	Syntéza formyl-cyklénu <b>2</b> publikovanou cestou .....	30
4.2.2	Syntéza formyl-cyklénu <b>2</b> alternatívnou cestou .....	30
4.2.3	Substitúcia skupiny Cbz do <i>trans</i> polohy za vzniku látky <b>3</b> .....	31

4.2.4	Porovnanie dvoch ciest syntézy ortogonálne chráneného cyklénu <b>3</b>	32
4.3	Alkylácia .....	32
4.4	Alternatívna syntéza monoamidu DO3AP.....	33
5	Záver .....	34
6	Zoznam použitých skratiek .....	35
7	Zoznam použitej literatúry .....	37

# 1 Teoretický úvod

## 1.1 Magnetická rezonančná tomografia

Od uvedenia v 80. rokoch minulého storočia sa magnetická rezonančná tomografia (MRI, z angl. magnetic resonance imaging) stala každodennou súčasťou diagnostiky ochorení rôzneho druhu. Čoraz viac dopĺňa staršie zobrazovacie metódy ako počítačovú tomografiu (CT, z angl. computational tomography), röntgenové žiarenie, jednofotónovú emisnú výpočtovú tomografiu (SPECT, z angl. single-photon emission computed tomography) alebo pozitronovú emisnú tomografiu (PET, z angl. positron emission tomography), ktoré prekonáva najmä absenciou škodlivého ionizujúceho žiarenia, rýchlosťou zobrazovania a vyššou kvalitou skenov.(1)

MRI je zobrazovacia metóda založená na nukleárnej magnetickej rezonancii (NMR, z angl. nuclear magnetic resonance). Pri tvorbe skenu je na skúmané tkanivo aplikované veľké magnetické pole (v súčasnosti 0,5 – 3 Tesla), ktoré indukuje usporiadanie magnetických momentov jadier atómov vodíka viazaných vo vode nachádzajúcej sa v pozorovanom tkanive. Po ožiarení tkaniva dochádza k relaxácii magnetických momentov jadier, pri ktorej sú uvoľnené rádiové impulzy zaznamenávané snímačom.(2) Vznik snímky je založený na sledovaní rozdielnej distribúcie a vlastností vody v zobrazovanom tkanive a zobrazuje kontrast medzi sledovanými vlastnosťami jadier vodíka v zdravom a patologicky poškodenom tkanive. Všetky ostatné diagnostické zobrazovacie metódy tvoria obraz iba na základe jednej vrodenej vlastnosti tkaniva, ako napríklad hustota alebo zvuková impedancia tkaniva.

### 1.1.1 Kontrastné zvýraznenie

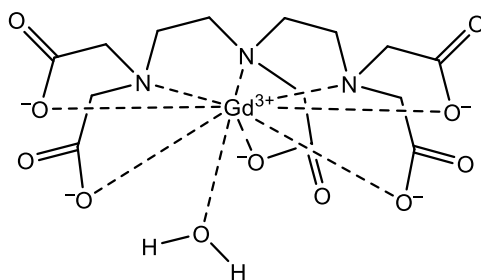
Desiatky miliónov skenov MRI ročne prebiehajú s kontrastným zvýraznením. Kontrastné látky slúžia na zlepšenie citlivosti a špecificity diagnostických obrazov zmenou obvyklých vlastností tkanív, ktoré ovplyvňujú základné mechanizmy vzniku kontrastu. Zvyčajne obsahujú trojmocný ión gadolína, ktorého prítomnosť efektívne znižuje relaxačný čas jadier vodíka vo vode a tým nepriamo zlepšuje kvalitu obrazu.(3) Vhodnosť gadolinitého kationu vychádza z jeho jedinečných magnetických vlastností, a to veľkého spinového momentu vytvoreného najväčším

možným počtom nepárových  $f$  elektrónov – sedem, a symetrického elektrónového stavu – základný stav je  $^8S_{7/2}$ .(4) Ročne sa tak do tiel pacientov s účelom zvýšiť prínos (rozlíšenie skenov) MRI uvedie takmer 50 ton gadolína.(3)

Voľné ióny gadolína(III) v ľudskom tele interferujú s vápnikovými iónovými kanálmi, čo značí ich veľkú toxicitu prejavovanú inhibíciou neurotransmiterov, sťahovaním svalov a dysfunkciou mitochondrií.(2) Na použitie *in vivo* je preto potrebné ióny gadolína(III) komplexovať s vhodným chelátorom (organickým ligandom). Ión kovu sa tak stáva nedostupným pre interakciu s tkanivami, je zrýchlená jeho eliminácia a znížená jeho biotransformácia a akumulácia.

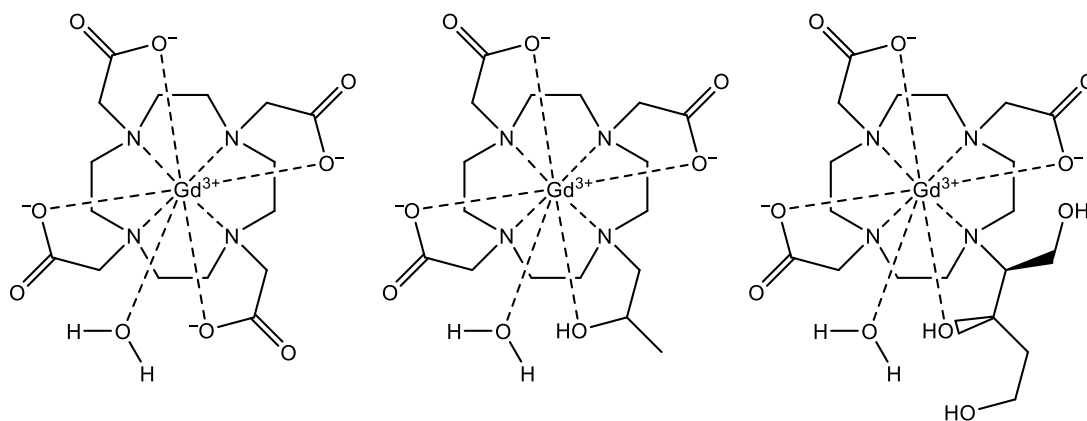
Komerčne dostupné kontrastné látky pozostávajú z gadolinitého katiónu s koordinačným číslom 9 chelatovaného organickým ligandom pomocou tvrdých O-donorových a stredne tvrdých N-donorových väzieb a s koordinovanou molekulou vody. Vymieňaním tejto koordinovanej molekuly vody je magnetická informácia prenášaná na príľahlú vodu, čo tvorí základ mechanizmu zvyšovania kontrastu. Charakter organického ligandu určuje kľúčové vlastnosti rozhodujúce o význame a bezpečnosti používania daných kontrastných látok. Štruktúra chelátora je rozhodujúcou pri efektívnom naviazaní sa na cieľovú štruktúru, ovplyvňuje relaxačný čas jadier vodíka vo vode, rýchlosť vymieňania koordinovanej molekuly vody a čas uvoľnenia toxického iónu.(3)

Medzi schválenými kontrastnými látkami sú látky s lineárnym chelátorom (príklad je na Obr. 1) a látky s makrocyclickým chelátorom (príklad je na Obr. 2). Prvou schválenou kontrastnou látkou pre MRI bola v roku 1988 molekula  $[\text{Gd}(\text{H}_2\text{O})(\text{dtpa})]^{2-}$  pod názvom Magnevist<sup>®</sup> (Obr. 1). V prípade tejto aj ostatných kontrastných látok s lineárnym ligandom sa dlhý a flexibilný ligand „zavinie“ okolo gadolinitého katiónu a vytvorí osem koordinačných väzieb. Deviatu koordinačnú väzbu katión vytvorí s vymeniteľnou molekulou vody.(3)



Obr. 1: Molekula látky  $[\text{Gd}(\text{H}_2\text{O})(\text{dtpa})]^{2-}$  (Magnevist<sup>®</sup>) zobrazená aj s koordinovanou vymeniteľnou molekulou vody



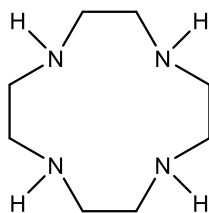


Obr. 2: Zľava látky Dotarem<sup>®</sup>, ProHance<sup>®</sup> a Gadovist<sup>®</sup> zobrazené aj s koordinovanou vymeniteľnou molekulou vody

## 1.2 Kontrastné látky s makrocyclickým ligandom

Napriek tomu, že je dostupných viacero rôznych kontrastných látok s lineárnym ligandom, v medicínskej praxi sú používané už len výnimočne a vhodnejšími ligandmi pre použitie ako chelátory gadolinitého katiónu sa ukázali byť makrocyclické ligandy. Dôvodom ich vhodnosti je zníženie toxicity oproti komplexom s lineárnym ligandom spôsobená ich vysokou termodynamickou a predovšetkým kinetickou stabilitou zapríčinenou chelátovým a makrocyclickým efektom, keďže gadolinitý katión je „vložený“ v „dutine“ ligandu.(5)

Ligand je definovaný ako makrocyclický, ak je v jeho cykle viac než osem atómov a aspoň tri z nich sú heteroatómy s voľným elektrónovým párom. Komerčne dostupné kontrastné látky s makrocyclickým ligandom sú založené na báze 1,4,7,10-tetraazacyklododekánu (cyklénu) (Obr. 3). Tento dvanásťčlenný makrocyclický ligand obsahuje štyri donorové dvakrát substituované atómy dusíka využívané na koordinačné väzby iónu kovu.



Obr. 3: 1,4,7,10-tetraazacyklododekán (cyklén)

Gadolinitý katión má obvykle koordinačné číslo deväť, takže samotný cyklén nie je postačujúcim chelátorom. Deriváty cyklénu sú tvorené substitúciou atómu vodíka na amínové skupiny vhodnými pendantnými ramenami, ktoré obsahujú

donorové heteroatómy určujúce koordináciu iónu kovu v dutine makrocyklu, zvyšujú celkovú stabilitu a znižujú toxicitu.

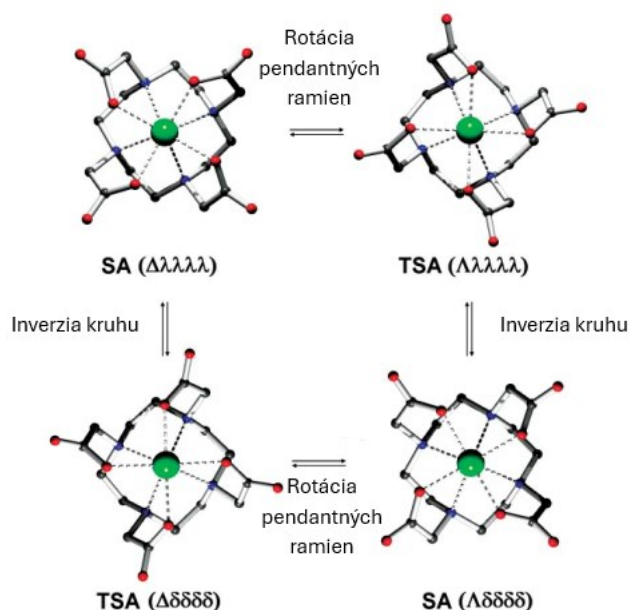
Medzi komerčne používané kontrastné látky patria komplexy troch derivátov cyklénu (Obr.2). Najstaršou z nich je Dotarem<sup>®</sup>, ktorého organickým ligandom je DOTA (1,4,7,10-tetraazacyklododekán-1,4,7,10-tetraoctová kyselina), teda derivát cyklénu so štyrmi acetátovými pendantnými ramenami. Každé acetátové rameno poskytuje jeden atóm kyslíku, s ktorým gadolinitý ión vytvára koordinačnú väzbu. Modifikáciou štruktúry tohto ligandu vznikli ďalšie kontrastné látky – ProHance<sup>®</sup> a Gadovist<sup>®</sup>. Ich tri acetátové pendantné ramená a jedno modifikované pendantné rameno taktiež poskytujú po jednom atóme kyslíka na tvorbu koordinačnej väzby.(3)

## 1.3 Komplexy makrocyclických ligandov

### 1.3.1 Komplexy s ligandom DOTA

Základom pre skúmanie mechanizmu koordinácie iónov lantanoidov s makrocyclickými ligandmi je derivát cyklénu so štyrmi acetátovými pendantnými ramenami (DOTA). Tento ligand oktaedritne koordinuje ión v dvoch planárnych, navzájom paralelných rovinách. Prvá je tvorená štyrmi atómami dusíka v štruktúre makrocyklu. Druhú rovinu tvoria štyri atómy kyslíka patriace acetátovým pendantným ramenám a nad touto rovinou je umiestnený atóm kyslíka patriaci vymeniteľnej molekule vody, ktorý tvorí zároveň deviatu koordinačnú väzbu.

Štyri etyléndiamínové skupiny v makrocyclickej ligandu DOTA tvoria s iónom lantanoidu chelátové päťčlenné kruhy, ktoré existujú buď v  $\lambda$ , alebo  $\delta$  konformácii. Celková konformácia makrocyklu potom je, v snahe minimalizovať vnútorné pnutie, vždy „štvorec“ s konformáciami kruhov  $\lambda\lambda\lambda\lambda$  alebo  $\delta\delta\delta\delta$ . Acetátové pendantné ramená môžu mať vzhľadom na chelátové kruhy makrocyklu pozíciu  $\Lambda$  alebo  $\Delta$ . Súhrnne tak vďaka kruhovej interkonvencii ( $\delta \rightleftharpoons \lambda$ ) a rotácii acetátových ramien ( $\Delta \rightleftharpoons \Lambda$ ) existujú v roztoku komplexu jeho štyri možné izoméry – dve diastereoizomérne dvojice enantiomérov  $\Delta\delta\delta\delta/\Lambda\lambda\lambda\lambda$  a  $\Delta\lambda\lambda\lambda/\Lambda\delta\delta\delta$  (Obr. 4).(5)



Obr. 4: Existujúce izoméry komplexu DOTA s iónom lantanoidu a prechody medzi nimi (obrázok prevzatý z literatúry(5))

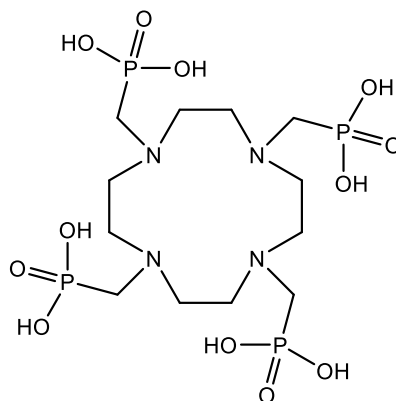
Oba diastereoizoméry sa odlišujú uhlom  $\omega$ , ktorý spolu zvierajú roviny obsahujúce atómy kyslíka a atómy dusíka. Izoméry  $\Delta\lambda\lambda\lambda\lambda/\Lambda\delta\delta\delta\delta$  vykazujú uhol  $\omega$  približne  $40^\circ$ , čo odpovedá priestorovému usporiadaniu štvorcovej antiprizmy (SA, z angl. square-antiprismatic). Enantioméry  $\Delta\delta\delta\delta\delta/\Lambda\lambda\lambda\lambda\lambda$  majú uhol  $\omega$  približne  $24^\circ$ , čo odpovedá priestorovému usporiadaniu skrútenej štvorcovej antiprizmy (TSA, z angl. twisted square-antiprismatic).

V roztoku sa komplex gadolína(III) s ligandom DOTA, teda ión  $[\text{Gd}(\text{dota})(\text{H}_2\text{O})]^-$ , vyskytuje častejšie v priestorovom usporiadaní SA. Diastereoizoméry SA a TSA majú rôzne vlastnosti, výrazne odlišná je napríklad rýchlosť vymieňania koordinovanej molekuly vody. Pre priestorové usporiadanie TSA je charakteristická niekoľkonásobne rýchlejšia výmena tejto molekuly vody. Pomer zastúpenia izomérov (SA/TSA) v roztoku závisí na veľkosti iónu lantanoidu a tvaru dutiny ligandu. Tvar a veľkosť dutiny komplexov tvorených ligandmi odvodenými od DOTA sú prevažne ovplyvňované pendentnými ramenami. Rôzne typy pendentných ramien vedú k rôznym vzdialenostiam medzi rovinami atómov dusíka a atómov kyslíka.(5)

### 1.3.2 Komplexy s ligandom DOTP

Ďalším základným ligandom pre štúdium koordinácie iónov lantanoidov v komplexoch s makrocyclickými ligandmi je DOTP

(1,4,7,10-tetraazacyklododekán-1,4,7,10-tetrakis(metylfosfónová) kyselina), teda derivát cyklénu so štyrmi metylfosfonátovými pendantnými ramenami (Obr. 5).



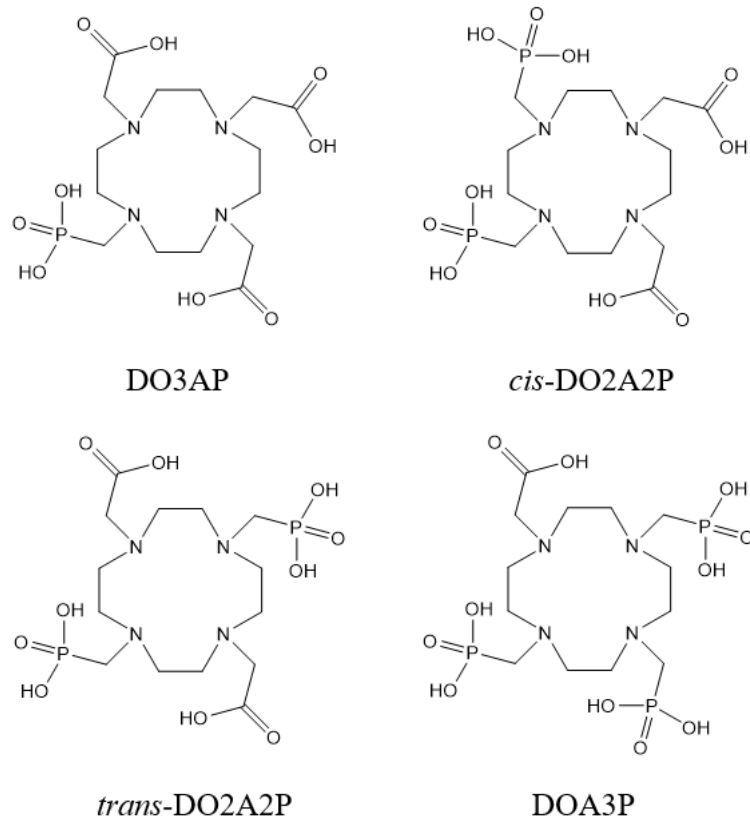
Obr. 5: DOTP

Komplexy tohto ligandu v pevnom skupenstve nadobúdajú naprieč celou lantanoidovou sériou iba priestorové usporiadanie TSA. Priestorové usporiadanie TSA s koordinovanou molekulou vody bolo nájdené iba u komplexov veľkých iónov  $\text{La}^{3+}$  a  $\text{Ce}^{3+}$ . Komplexy ostatných, menších iónov, nemali koordinovanú molekulu vody.(6) Neprítomnosť koordinovanej molekuly vody je pravdepodobne spôsobená veľkými metylfosfonátovými pendantnými ramenami a tetraedrickým usporiadaním väzieb atómov fosforu.(5)

### 1.3.3 Komplexy s ligandmi s kombináciou acetátových a metylfosfonátových pendantných ramien

Uvedené zistenia boli motiváciou pre ďalšie skúmanie mechanizmu tvorby komplexov iónov lantanoidov s derivátmi cyklénu s rôznymi kombináciami acetátových a metylfosfonátových pendantných ramien. Primárnou snahou bolo vytvoriť komplex, ktorý má vysokú rýchlosť výmeny koordinovanej molekuly vody charakteristickú pre priestorové usporiadanie TSA, ktoré je preferované pri prítomnosti jedného alebo viacerých veľkých fosfonátových pendantných ramien. Ale zároveň je v tomto komplexe dosť priestoru na to, aby koordinovanú molekulu vody obsahoval.

S týmto zámerom boli skúmané komplexy s tromi acetátovými a jedným metylfosfonátovým pendantným ramenom – DO3AP, s dvomi acetátovými a dvomi fosfonátovými pendantnými ramenami v polohe *cis* aj *trans* – *cis*-DO2A2P a *trans*-DO2A2P a s jedným acetátovým a tromi metylfosfonátovými pendantnými ramenami – DOA3P (Obr. 6).

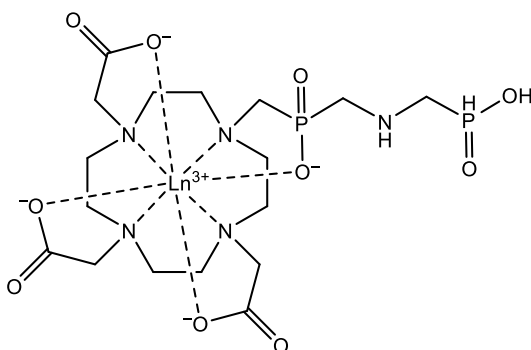


Obr. 6: Deriváty cyklénu s kombináciou acetátových a metylfosfonátových pendantných ramien

Pre ligand DO3AP boli študované jeho komplexy s  $\text{Ln}^{3+}$ , ktoré sa vyskytujú prevažne v priestorovej orientácii TSA vďaka prítomnosti jedného veľkého metylfosfonátového pendantného ramena. V jeho komplexoch s iónmi gadolína(III) vytvára prítomnosť troch menších acetátových pendantných ramien dost' priestoru na koordináciu molekuly vody.(7) Komplexy ligandu *trans*-DO2A2P sa vyskytujú prevažne v priestorovom usporiadaní TSA. Komplex s gadolinitým kationom nemá koordinovanú molekulu vody.(8) Komplexy ligandu *cis*-DO2A2P s trojmocnými iónmi lantanoidov sú taktiež väčšinou v priestorovej orientácii TSA. V skúmaných vlastnostiach, ako je konštanta stability, sú zrovnateľné s komplexmi ligandu *trans*-DO2A2P a patria do rozmedzia medzi DOTA a DOTP.(9) Pre ligand DOA3P boli skúmané jeho med'naté komplexy, pri ktorých bola nameraná vysoká rýchlosť ich komplexácie, čo však vedie aj k jednoduchej dekomplexácii. Med'naté komplexy tohto ligandu preto nie sú kvôli vysokej toxicite vhodnými kandidátmi na medicínske využitie.(10) Komplexy DOA3P s iónmi lantanoidov neboli detailne skúmané. Z týchto zistení vyplýva, že už prítomnosť jedného metylfosfonátového ramena

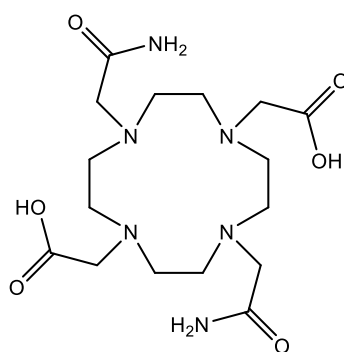
priaznivo ovplyvňuje pomer zastúpenia izomérov a prevláda priestorové usporiadanie TSA.

Na základe štúdia kinetických vlastností symetricky substituovaných komplexov s fosfinátovými pendantnými ramenami bola vyslovená hypotéza, že prítomnosť aminoskupiny by mohla pozitívne ovplyvniť rýchlosť komplexácie s iónmi  $\text{Ln}^{3+}$ .(11) S touto motiváciou boli skúmané vlastnosti komplexu s makrocyclickým ligandom obsahujúcim amino-bis(fosfinátové) pendantné ramená (Obr. 7). Tento komplex však pri meraniach vykazoval pomalšiu komplexáciu aj dekomplexáciu než komplex rovnakého iónu s ligandom DOTA.(12)



Obr. 7: Príklad skúmaného nesymetricky substituovaného makrocyclického komplexu

Bol pripravený aj derivát DOTA s dvomi amidovými skupinami v *trans* polohe (*t*DOTAM) (Obr. 8) a bol skúmaný jeho komplex s iónom céru(III).(13) Z nameraných dát bolo zistené, že tvorba tohto komplexu prebieha rýchlejšie ako komplexu iónu céru(III) s ligandom odvodeným od DOTA so štyrmi amidovými ramenami –  $[\text{Ce}(\text{dotam})(\text{H}_2\text{O})]^{3+}$ , ale pomalšie ako komplexu toho istého iónu s ligandom DOTA –  $[\text{Ce}(\text{dota})(\text{H}_2\text{O})]^-$ .(5) Dôvodom je klesajúca stabilita „out-of-cage“ komplexov v poradí DOTA > *t*DOTAM > DOTAM. V rovnakom trende klesá aj schopnosť protonácie týchto komplexov, pričom pri DOTAM nebola zaznamenaná už žiadna protonácia a ligand priamo reaguje s iónom kovu bez tvorby „out-of-cage“ komplexu.(13)

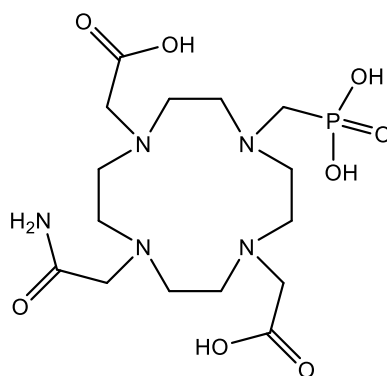


Obr. 8: *t*DOTAM

## 1.4 Nesymetricky substituované makrocykly

V snahe optimalizovať rôzne vlastnosti komplexov začínajú byť skúmané aj úplne nesymetricky substituované makrocyclické ligandy, ktoré okrem acetátových a metylfosfonátových pendentných ramien obsahujú aj pendentné ramená s inými funkčnými skupinami, ako sú napríklad amidová, alkoholová alebo fenolová.(5)

Úplné informácie o vlastnostiach komplexov s nesymetricky substituovanými makrocyclickými ligandmi a ich potenciálnom využití v medicínskych aplikáciách zatiaľ chýbajú. Naviazaním na popísané poznatky o vplyvoch prítomnosti rôznych skupín by bolo zaujímavé preskúmať komplexy ligandu s jedným metylfosfonátovým, jedným amidovým a dvomi acetátovými pendentnými ramenami (Obr. 9). Pri monoamide DO3AP necháva prítomnosť dvoch acetátových ramien dost' priestoru na priamu koordináciu molekuly vody na centrálny ión, prítomnosť metylfosfonátového ramena pozitívne ovplyvňuje celkové priestorové usporiadanie komplexu v prospech TSA izoméru a súbežná prítomnosť amidového a metylfosfonátového ramena by mohla pozitívne ovplyvniť kinetické vlastnosti, čo bolo hlavnou motiváciou pre dizajn tohto ligandu.



Obr. 9: Monoamid DO3AP

## 1.5 Syntéza substituovaných makrocyclov

### 1.5.1 Priama syntéza

Syntéza základných derivátov cyklénu je možná priamou cestou. Ligand DOTA bol pripravený reakciou cyklénu s rôznymi halogénderivátmi kyseliny octovej v zásaditom prostredí. Prvou použitou bola reakcia s kyselinou chlóractovou (Schéma 1).(14) Rovnako v jednom kroku bol pripravený aj ligand DOTP

a to Mannichovou reakciou cyklénu s paraformaldehydom a kyselinou fosfórnou.(15)

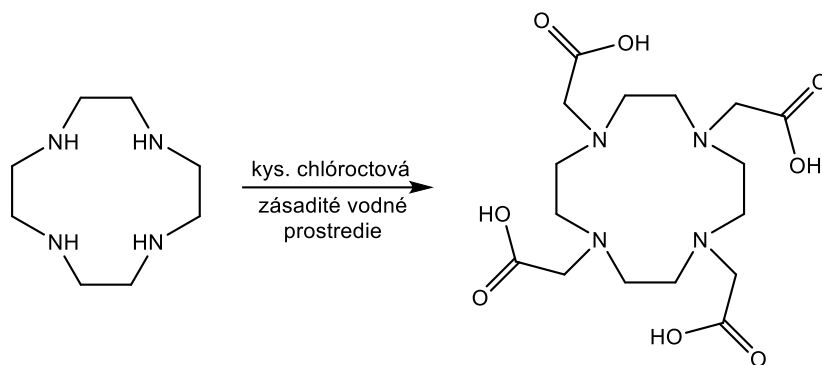


Schéma 1

Ligand DO3AP bol pripravený v troch krokoch. Medziproduktom po prvých dvoch krokoch bol makrocyklus s tromi acetátovými ramenami (DO3A), vznikol reakciou cyklénu s *t*-butylbromoacetátom a diizopropyl-etylaminom v prostredí chloroformu a následnou reakciou s trifluóroctovou kyselinou.(16) V treťom kroku vznikol finálny produkt DO3AP reakciou DO3A s dietylfosfitom a paraformaldehydom v prostredí koncentrovaného vodného roztoku kyseliny chlorovodíkovej za zvýšenej teploty spojenou so súčasnou hydrolýzou esterových skupín (Schéma 2).(17) Modifikáciou tretieho kroku sú z DO3A pripravované aj ďalšie deriváty DOTA s tromi acetátovými pendantnými ramenami, pričom ako štvrté rameno sú využívané rôzne pendantné ramená, napríklad amidové.



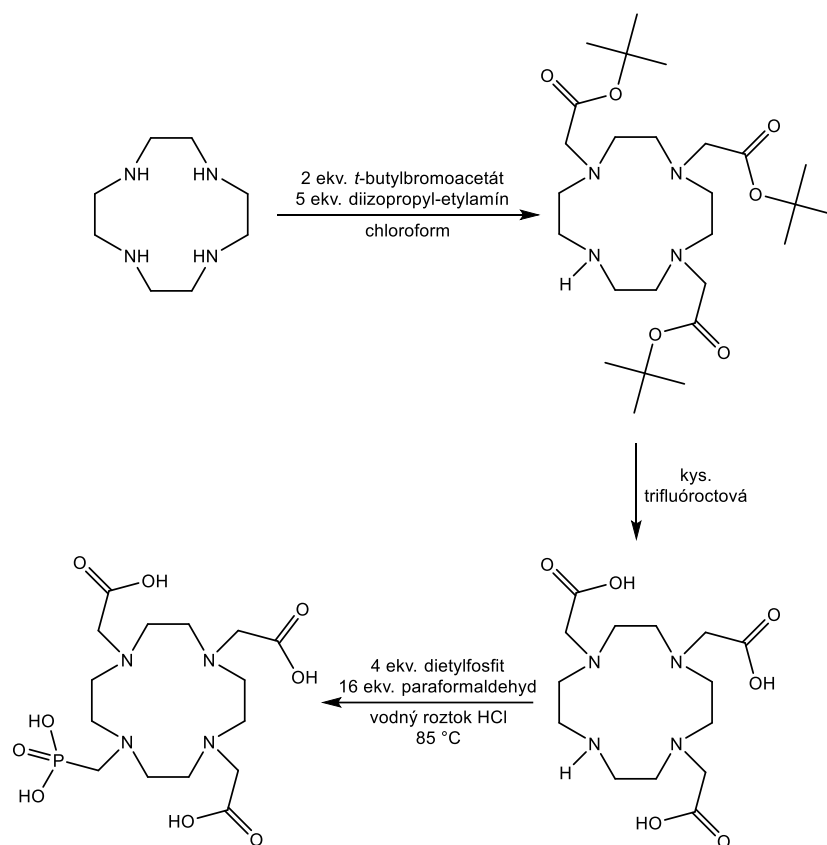


Schéma 2

### 1.5.2 Jednoduché chránenie cyklénu

Alternatívnou možnosťou pri postupe prípravy derivátov cyklénu je najprv chrániť jednu alebo viac amínových skupín makrocyklu. Cyklén obsahuje štyri ekvivalentné sekundárne amíny, čo výrazne komplikuje syntézu zložitejších derivátov. Pri príprave ostatných ligandov z vyššie uvedenej série (obe formy DO2A2P a DOA3P) bola preto použitá syntézná cesta zahŕňajúca chránenie amínových skupín. Pri chránení cyklénu sú niektoré z ekvivalentných sekundárnych amínov makrocyklu substituované chrániacimi skupinami, napríklad formylovou, benzylovou (Bn), benzyloxykarbonylovou (Cbz) alebo *t*-butyloxykarbonylovou (Boc). Po následnej substitúcii nechránených sekundárnych amínov je ďalším krokom odstránenie chrániacich skupín a následné substituovanie voľných sekundárnych amínov.

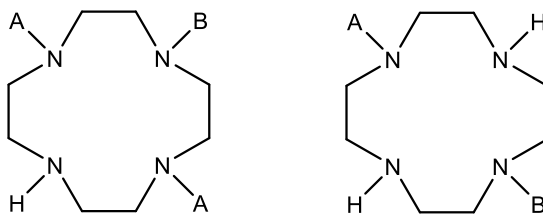
Ligandy DO3AP a *trans*-DO2A2P boli syntetizované s využitím chránenia sekundárnych amínov v makrocykle skupinou Boc.(18,19) Pri syntéze ligandu DO3AP je možné chrániť jednu amínovú skupinu makrocyklu reakciou elektrofilnej formy príslušnej chrániacej skupiny s nadmerným množstvom cyklénu.(20) Vo všeobecnosti jednoduchší postup pre syntézu DO3AP je chránenie troch amínov

makrocyklu, keďže menej reaktívne chrániace skupiny reagujú s posledným amínom často veľmi pomaly alebo vôbec, čoho výsledkom sú väčšie výťažky reakcií.(21) Nepreferovaná substitúcia štvrtej amínovej skupiny je spôsobená jej vysokou disociačnou konštantou a priestorovým usporiadaním už naviazaných pendantných ramien. Pri syntéze *trans*-DO2A2P bolo využité chránenie dvoch amínov v polohe *trans*, ktoré je ľahko dosiahnuteľné priamou reakciou v kyslom vodnom roztoku, keďže pri hodnote pH 3–5 sú efektívne protonované práve dve najvzdialenejšie amínové skupiny.(22) Ligand *cis*-DO2A2P bol syntetizovaný využitím zložitejšieho chránenia.(23) Použitie chránenie dvoch amínových skupín makrocyklu v polohe *cis* benzylovými skupinami je nutné zaviesť tromi syntéznymi krokmi. V experimentálnej časti tejto práce toto chránenie nebolo využité, a preto nie sú uvedené detaily tejto syntézy, ktoré sa však dajú dohľadať v literatúre.(23,24)

### 1.5.3 Ortogonálne chránenie cyklénu

Syntéza úplne nesymetricky substituovaných ligandov prináša ďalšie výzvy. Keďže tieto ligandy obsahujú viac ako dva rôzne substituenty, amínové skupiny v makrocykle je v priebehu syntézy nevyhnutné chrániť viacerými rôznymi chrániacimi skupinami – ortogonálne. Princíp ortogonálneho chránenia je v možnosti odstrániť jednotlivé chrániace skupiny postupne rôznymi spôsobmi, a teda aj postupne substituovať jednotlivé amíny.

Ako už bolo spomínané, nesymetricky substituované makrocykly nie sú zatiaľ dostatočne preskúmané, čo platí aj o ortogonálnom chránení cyklénu. Typov ortogonálneho chránenia cyklénu je viacero. Medzi doposiaľ syntetizované patrí trisubstituovaný cyklén s dvomi rovnakými substituentmi v *cis* polohe a disubstituovaný cyklén s dvomi rôznymi substituentmi v *trans* polohe (Obr. 10).(21)



Obr. 10: Príklady ortogonálneho chránenia cyklénu (A, B reprezentujú rôzne chrániace skupiny)

Trisubstituovaný cyklén s dvomi rovnakými substituentmi v *cis* polohe bol syntetizovaný s využitím disubstitúcie skupinou Bn a monosubstitúcie formylovou

skupinou (Schéma 3).(25) Táto syntéza prebieha vo viacerých krokoch a samotná zahŕňa využitie chránenia a následne odstránenia chrániacej skupiny.

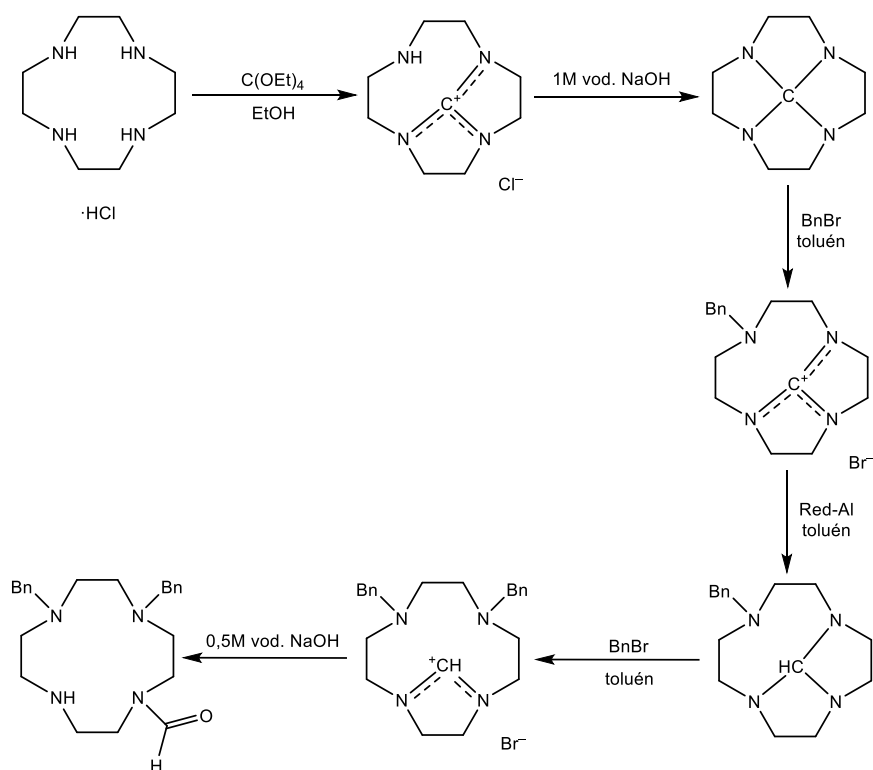
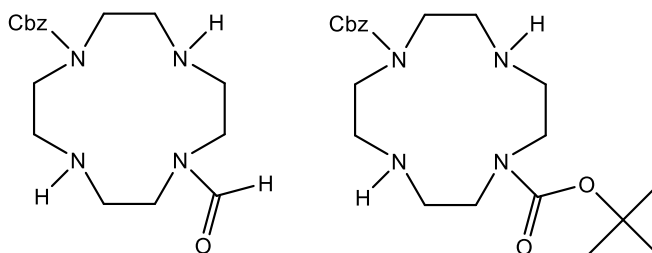


Schéma 3

V roku 2019 Travagin a kol. pripravili prvý disubstituovaný cyklén s dvomi rôznymi chrániacimi skupinami v *trans* polohe.(21) V tejto polohe substituovali sekundárne amíny cyklénu viacerými rôznymi dvojicami chrániacich skupín, medzi nimi aj skupinou Cbz a formylovou, a skupinou Cbz a Boc (Obr. 11). Cyklén chránený dvojicou skupín Cbz a formylovou pripravili s najväčším výťažkom.



Obr. 11: Príklady 1,7-disubstituovaného cyklénu

Ako východisková látka pri syntéze disubstituovaného cyklénu s ortogonálnym chránením bol doteraz väčšinou používaný 1-formyl-1,4,7,10-tetraazadodekán (formyl-cyklén). Výhodou formyl-cyklénu je jeho jednoduchá syntéza, veľký popísaný výťažok oproti syntézam iných

monosubstituovaných derivátov cyklénu a jeho stabilita vo vodnom roztoku pri pH 3, čo je potrebné pri substitúcii ďalšou chrániacou skupinou.(21) Formyl-cyklén bol pripravený v dvoch krokoch; reakciou cyklénu s DMFDMA (*N,N*-dimetylformamid dimetylacetal) a následnou jemnou hydrolyzou (Schéma 4).(26)

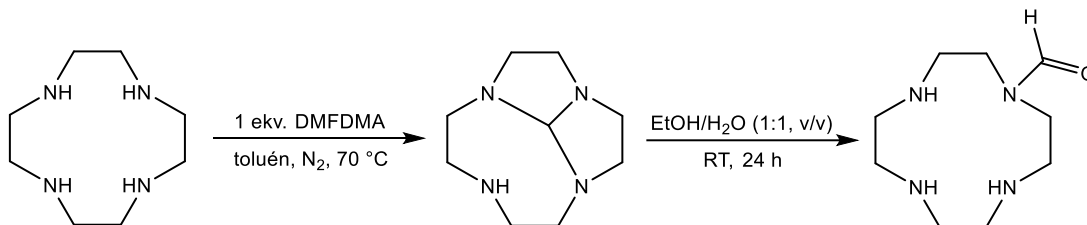


Schéma 4

Selektívna substitúcia druhej chrániacej skupiny do *trans* polohy je možná pri pH 3, v dôsledku protonácie najvzdialenejších amínových skupín makrocyklu spôsobenej elektrostatickou repulziou. Chrániacu skupinu Cbz je možné zaviesť do polohy *trans* reakciou formyl-cyklénu s elektrofilným derivátom danej chrániacej skupiny pri pH 3 v prostredí vody a tetrahydrofuránu (THF) (Schéma 5).(21)

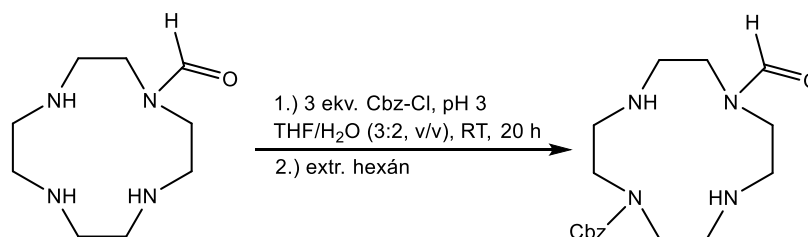


Schéma 5

Formylová chrániaca skupina sa dá jednoducho odstrániť pri bazických aj kyslých podmienkach. Na cykléne disubstituovanom skupinou Cbz a formylovou sa takto dá ďalšími syntetickými krokmi odstrániť formylový substituent a do *trans* polohy substituovať inú chrániacu skupinu podľa potrieb konkrétnej syntézy, príkladom je výmena formylovej skupiny za chrániacu skupinu Boc (Schéma 6).(27)

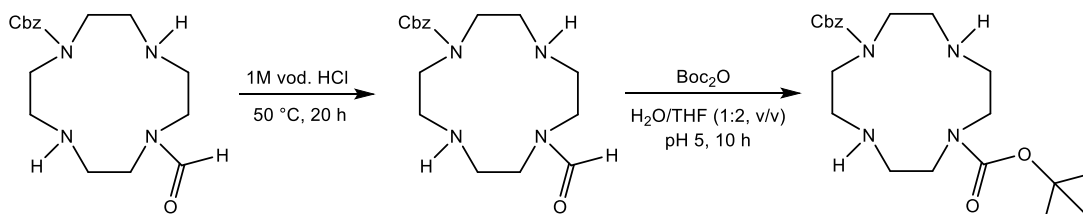
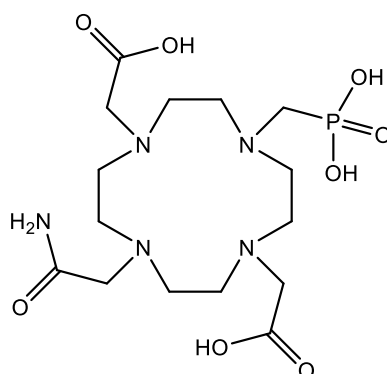


Schéma 6

## 2 Ciele práce

V teoretickom úvode práce bol popísaný princíp MRI s kontrastným zvýraznením a uvedené komplexy iónov gadolína s makrocyclickými ligandmi odvodenými od cyklénu, ktoré sú komerčne schválenými kontrastnými látkami. Uvedený prehľad aktuálne dostupných informácií o vplyve pendantných ramien cyklénu na termodynamické a kinetické vlastnosti ich komplexov s iónmi lantanoidov bol základom pre návrh nového ligandu – monoamidu DO3AP (Obr. 12). Tento ligand má metylfosfonátové pendantné rameno, ktoré spôsobuje preferenciu priestorového usporiadania TSA a zvýšenie rýchlosti výmeny vody. Prítomnosť amidového pendantného ramena naopak spôsobuje spomalenie rýchlosti výmeny vody, ale aj rýchlosti komplexácie a dekomplexácie. Dve acetátové pendantné ramená nechávajú dostatočný priestor na koordináciu vymieňateľnej molekuly vody. Komplexy iónov lantanoidov s týmto ligandom majú potenciál mať optimalizované fyzikálno-chemické vlastnosti, ako je relaxivita, rýchlosť komplexácie a disociácie tak, aby boli vhodné pre medicínske využitie.



Obr. 12: Monoamid DO3AP

Pri syntéze úplne nesymetricky substituovaného cyklénu je potrebné použiť ortogonálne chránenie jeho amínových skupín. Ako vhodná východisková látka pre túto syntézu bol určený cyklén chránený skupinou Cbz a formylovou v *trans* polohe, ktorého syntéza je popísaná v literatúre.(21,28,29) V syntéze ligandu nasleduje substitúcia voľných amínových skupín acetátovými pendantnými ramenami a následným postupným odstraňovaním chrániacich skupín a substitúciou metylfosfonátovým a amidovým pendantným ramenom.

## 3 Experimentálna časť

### 3.1 Všeobecné postupy a použité chemikálie

Použité chemikálie sú z komerčne dostupných zdrojov (napr. Fluorochem, Sigma-Aldrich, Thermo Fisher Scientific, Fluka). Rozpúšťadlá neboli pred použitím sušené ani čistené.

### 3.2 Metódy delenia a charakterizácie

#### 3.2.1 Tenkovrstvová chromatografia (TLC)

Priebeh reakcií a delenia bol sledovaný pomocou tenkovrstvovej chromatografie na chromatografických doštičkách Silica gel 60 F254 (VWR, Merck). Škrvny dusíkatých makrocyclov boli vizualizované pomocou Draggendorfovho činidla (roztok  $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3$  a KI v zmesi vody a kyseliny octovej (4:1)); škrvny látok obsahujúcich aminoskupiny boli detekované 0,5% roztokom ninhydrínu v etanole; škrvny látok dobre komplexujúcich meďnatý kation boli detekované 5% vodným roztokom  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ; škrvny látok s aromatickým kruhom boli vizualizované pomocou UV detekcie (vlnová dĺžka 254 nm).

#### 3.2.2 Hmotnostná spektrometria (MS) a vysokoúčinná kvapalinová chromatografia (HPLC)

Produkty reakcií boli charakterizované pomocou hmotnostných spektier v pozitívnom móde nameraných na spektrometre Waters ACQUITY QDa s quadrupólovým analyzátorom. HPLC bolo merané na rovnakom prístroji s použitím kolóny s reverznou fázou Cortecs C18 (2,7  $\mu\text{m}$ , 4,6 $\times$ 50 mm). Pri všetkých meraniach bol použitý rovnaký prietok (1,200 ml/min) a gradient dvoch mobilných fází (deionizovaná voda s 0,1 % TFA a acetonitril s 0,1 % TFA), ktorý je uvedený v Tab. 1.

Tab. 1: Elučný gradient na meranie HPLC (A:  $\text{H}_2\text{O}$  + 0,1 % TFA, B: ACN + 0,1 % TFA)

$t$ (min)	A (%)	B (%)
0	95	5
3,5	0	100
5	95	5

### 3.2.3 Chromatografia

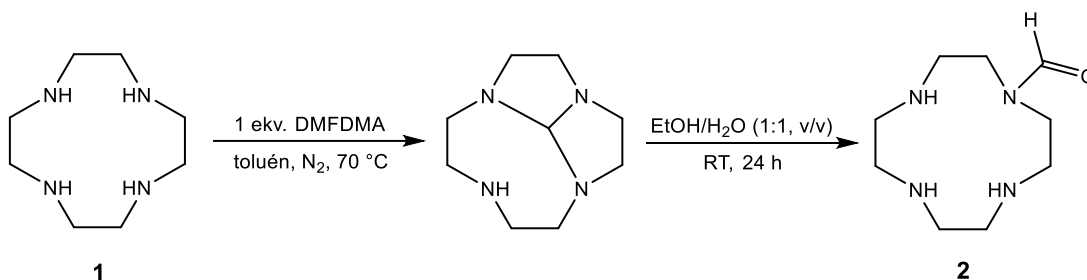
Produkty reakcie boli čistené pomocou chromatografického delenia na preparatívnom „flash“ chromatografe so systémom ECOM TOY18DAD800 zloženého z kolektoru frakcií ECF2096, dvoch púmp ECP2200 a UV detektoru TOY18DAD800L.

### 3.2.4 Nukleárna magnetická rezonancia (NMR)

Produkty reakcií boli charakterizované pomocou spektier nukleárnej magnetickej rezonancie s jadrami  $^1\text{H}$  a  $^{13}\text{C}$ . Na meranie boli použité spektrometre Bruker 400 MHz a Avance NEO 400 MHz. Spektrá boli referencované na tetrametylsilán (TMS,  $\delta_{\text{H}} = 0,00$ ;  $\delta_{\text{C}} = 0,00$  ppm v  $\text{CDCl}_3$ ) a spracované v programe MestReNova.

## 3.3 Syntetická časť

### 3.3.1 Syntéza látky 2 podľa publikovaného postupu



Formyl-cyklén 2 bol pripravovaný podľa publikovaného postupu (Schéma 7). (30) Cyklén (1,00 g, 5,8 mmol) 1 bol za stáleho miešania magnetickým miešadlom rozpustený v 250ml dvojhrdlej banke v toluéne (30 ml). Bol pridaný DMFDMA (*N,N*-dimetylformamid dimetylacetal, 1 ekv., 0,8 ml, 6,2 mmol). Do jedného hrdla banky bol vložený Deanov-Starkov nástavec a na druhé hrdlo bol napojený prívod dusíka. Celá aparatúra bola zabezpečená svorkami a bol cez ňu spustený malý prúd dusíka. Dvojhrdlá banka bola zahrievaná na 70 °C v olejovej lázni. Azeotrop metanolu a toluénu bol destilovaný do úplného oddestilovania toluénu. Toluén bol zbieraný do skúmaviiek cez vývod na opačnej strane Deanového-Starkového nástavca. Po oddestilovaní toluénu zostal v guľovej banke žltý olej, ktorý bol následne presunutý na hodinové sklíčko, prikrytý a sušený v pecke pri 70 °C po dobu 20 h.

Vysušený produkt bol presunutý do 100ml guľovej banky a ochladený na 0 °C v ľadovej lázni. Za stáleho chladenia a miešania magnetickým miešadlom bola do banky prikvapkaná zmes metanolu a destilovanej vody (1:1, v/v, 25 ml). Obsah banky bol miešaný po dobu 24 h za postupného oteplenia na laboratórnu teplotu. Rozpúšťadlá boli následne odparené na rotačnej vákuovej odparke (RVO). Odparok bol zbavovaný zvyšnej vody rozpustením v acetonitrile (8 ml) a následným odparením na RVO. Postup sušenia s acetonitrilom bol zopakovaný ešte dvakrát, čoho výsledkom bola žltkastá pevná látka (0,78 g).

Pomocou hmotnostného spektrometra bolo zistené, že získanou pevnou látkou je zmes nezreagovaného reaktantu (cyklén) **1**, želaného produktu (formyl-cyklén) **2** a vedľajšieho produktu s disubstituovanou formylovou skupinou pravdepodobne v *trans* polohe (*trans*-bis(formyl)-cyklén) v neznámom pomere. Tieto látky nie je možné efektívne oddeliť, takže bolo v ďalšom kroku plánovanej syntézy pokračované s touto zmesou.

### 3.3.2 Syntéza látky **3**

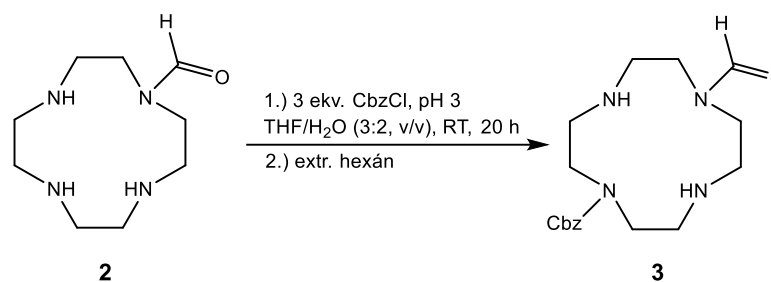


Schéma 8

Ďalším krokom plánovanej syntézy bola substitúcia sekundárneho amínu v polohe *trans* skupinou Cbz podľa publikovaného postupu za vzniku 1-benzyloxykarbonyl-7-formyl-1,4,7,10-tetraazacyklododekánu **3** (Schéma 8).(21) Namiesto reaktantu bola táto reakcia uskutočnená so zmesou cyklénu **1**, formyl-cyklénu **2** a bis(formyl)-cyklénu v neznámom pomere získanou v predchádzajúcom kroku. Do 250ml guľovej banky bolo umiestnených 0,50 g tejto zmesi. Pevná látka bola rozpustená v zmesi tetrahydrofuránu a destilovanej vody (5,0 ml, THF/H<sub>2</sub>O, 3:2, v/v). Roztok bol za stáleho miešania magnetickým miešadlom okyselený na pH 3 pomalým prikvapkávaním koncentrovaného vodného roztoku kyseliny chlorovodíkovej. Priebežná kontrola hodnoty pH bola prevádzaná pomocou pH papierikov. Vo vialke bol pripravený roztok benzyl-chlórformiátu



(CbzCl, 2,00 ml, 14,1 mmol) v THF (5,0 ml). Tento roztok bol postupne prikvpávaný do guľovej banky pomocou injekčnej striekačky v priebehu 30 minút. Počas prikvpávania bola hodnota pH opäť kontrolovaná pomocou pH papierikov a udržiavaná na hodnote 3 pridávaním 1M vodného roztoku NaHCO<sub>3</sub>. Roztok bol potom ponechaný miešať sa po dobu 24 hodín pri laboratórnej teplote.

Roztok bol premiestnený do deliaceho lievika a bol pridaný hexán (5,0 ml). Zmes bola extrahovaná, fáza s hexánom bola odpustená cez lievik a extrakcia bola zopakovaná ešte dvakrát. Do vodnej fázy boli následne pridávané kvapky 1M vodného roztoku NaHCO<sub>3</sub>, kým pH nemalo hodnotu približne 8. Do deliaceho lievika bola znovu presunutá vodná fáza a bol pridaný dichlórmetán (DCM, 5,0 ml). Roztok bol extrahovaný, fáza s DCM bola odpustená cez lievik a extrakcia s DCM bola zopakovaná ešte dvakrát. Organická fáza bola sušená pridaním malého množstva Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (1 g) a prefiltrovaná. Rozpúšťadlá boli následne odparené na RVO, čoho výsledkom bol žltý olej (1,21 g). Zmes bola delená pomocou „flash“ chromatografu na kolóne plnenej Silica gelom (120 g, 0,035 – 0,070 mm, 60 Å, Acros Organics) pri použití zmesi etanolu a hydroxidu amónneho (EtOH/NH<sub>4</sub>OH, 9:2, v/v) ako mobilnej fázy. Produkt bol jednoducho viditeľný pomocou UV detektora chromatografu pri vlnovej dĺžke 254 nm a na základe toho eluovaný do skúmaviek. Spojením roztokov s čistým produktom zo skúmaviek a odparením rozpúšťadiel na RVO bolo získaných 0,22 g látky **3** vo forme priehľadného oleja, čo zodpovedá 18 % súhrnného výťažku za oba kroky syntézy (vzhľadom na cyklén **1**). Pomocou HPLC/MS bolo zistené, že zvyšok zmesi tvorí cyklén **1**, bis(Cbz)-cyklén a bis(formyl)-cyklén, ktoré však neboli ďalej izolované.

Charakterizácia látky **3**:

**TLC:**  $R_f = 0,42$  (EtOH/NH<sub>4</sub>OH, 9:2, v/v)

**MS (+):** 335,1 ([M+H]<sup>+</sup>; teor. 335,2)

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta = 8,3$  (s, 1H), 7,4 (m, 5H), 5,2 (s, 2H), 3,9 (m, 2H), 3,7 (s, 2H), 3,6 (m, 4H), 3,2 (m, 8H) ppm

**<sup>13</sup>C {<sup>1</sup>H} NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta = 174$  (CH), 168 (C), 141 (C), 130 (3 CH), 69 (CH<sub>2</sub>), 50 (2 CH<sub>2</sub>), 49 (CH<sub>2</sub>), 46 (CH<sub>2</sub>), 44 (CH<sub>2</sub>), 43 (CH<sub>2</sub>), 42 (CH<sub>2</sub>), 37 (CH<sub>2</sub>) ppm

### 3.3.3 Syntéza látky 2 alternatívnou cestou

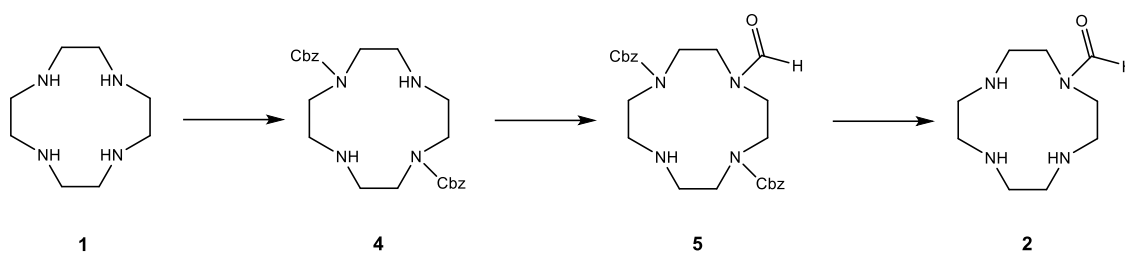


Schéma 9

#### 3.3.3.1 Syntéza látky 4

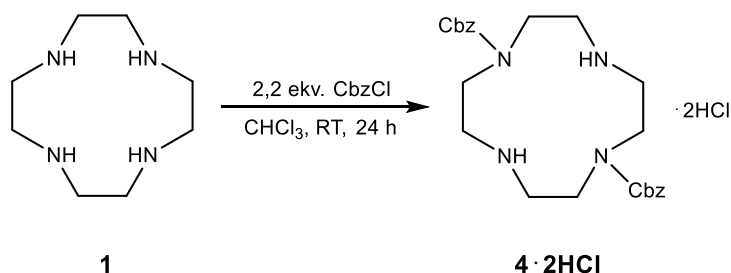


Schéma 10

Prvým krokom navrhnutej alternatívnej syntézy formyl-cyklénu **2** je substitúcia cyklénu dvomi chrániacimi skupinami Cbz do polohy *trans* publikovaným postupom za vzniku 1,7-bis(benzyloxykarbonyl)-1,4,7,10-tetraazacyklododekánu **4** (Schéma 10).<sup>(22)</sup> Cyklén (1,00 g, 5,8 mmol) **1** bol umiestnený do 250ml guľovej banky a rozpustený v chloroforme (30 ml) za stáleho miešania magnetickým miešadlom a chladenia na 0 °C v ľadovej lázni. Bol prikvapkaný benzyl-chlórformiát (CbzCl, 2,2 ekv., 1,9 ml, 13,2 mmol). Roztok bol ponechaný miešať sa 24 hodín pri laboratórnej teplote. Rozpúšťadlá boli odparené na RVO, čím bol izolovaný dihydrochlorid látky **4** (2,73 g) vo forme bielej pevnej látky. Hmotnosť produktu zodpovedá 92 % teoretického výťažku.

Charakterizácia látky **4**:

**MS (+):** 441,3 ([M+H]<sup>+</sup>; teor. 441,2)

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 7,5 (m, 10H), 5,4 (s, 4H), 3,6 (m, 8H), 2,6 (m, 8H) ppm

### 3.3.3.2 Syntéza látky 5

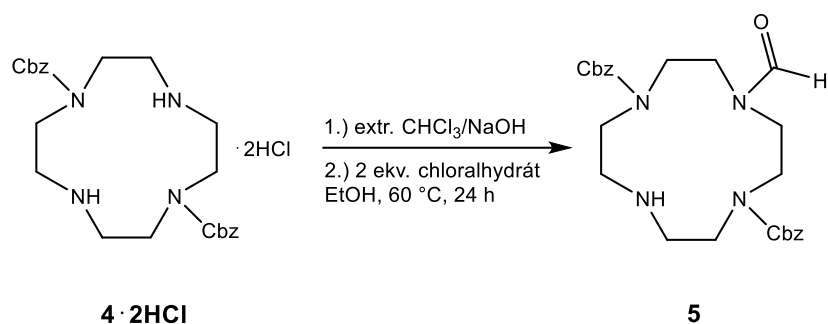


Schéma 11

Voľná báza látky **4** bola získaná extrakciou jej dihydrochloridu (Schéma 11). Dihydrochlorid látky **4** (2,73 g) bol v 250ml guľovej banke rozpustený v 1M vodnom roztoku hydroxidu sodného (15 ml). Roztok bol presunutý do deliaceho lievika a bol k nemu pridaný chloroform (15 ml). Po extrakcii bola organická fáza odliata a vodná fáza bola ešte dvakrát extrahovaná chloroformom. Organické fázy zo všetkých troch extrakcií boli spojené do 250ml guľovej banky a rozpúšťadlá boli odparené na RVO. Vzniknutý priehľadný olej bol rozpustený v chloroforme (20 ml) a sušený pridaním Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (2 g). Po odfiltrovaní sušidla cez vatú boli rozpúšťadlá znovu odparené na RVO. Takto bola získaná látka **4** (2,33 g) vo forme priehľadného oleja.

Ďalším krokom syntézy je substitúcia látky **4** formylovou chrániacou skupinou za vzniku 1,7-bis(benzyloxykarbonyl)-4-formyl-1,4,7,10-tetraazacyclododekánu **5** (Schéma 11). Látka **4** vo forme voľnej bázy (1,00 g, 2,2 mmol) bola vložená do 100ml guľovej banky a rozpustená v etanole (15 ml). Za stáleho miešania magnetickým miešadlom bol pridaný chloralhydrát (2 ekv., 0,38 g, 2,3 mmol). Guľová banka bola zahrievaná na 60 °C v olejovej lázni a zmes bola ponechaná miešať sa 24 h pri tejto teplote. Následne boli rozpúšťadlá odparené na RVO, čím vznikla látka **5** (0,98 g) vo forme priehľadného oleja. Hmotnosť produktu predstavuje 92 % teoretického výťažku tohto kroku.

Charakterizácia látky **5**:

**MS (+):** 469,3 ([M+H]<sup>+</sup>; teor. 469,2)

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 9,7 (m, 1H), 7,2 (m, 10H), 5,2 (s, 4H), 3,4 (m, 10H), 2,6 (m, 1H), 2,1 (d, 3H) ppm

### 3.3.3.3 Syntéza látky 2

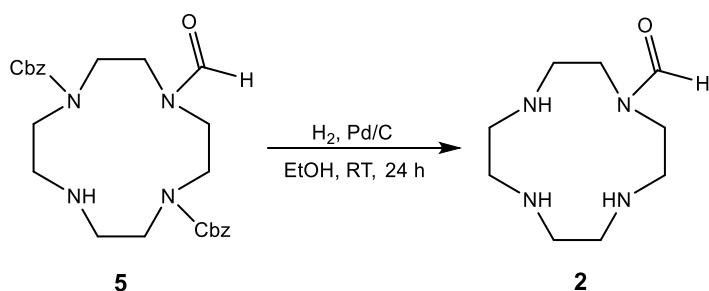


Schéma 12

Posledným krokom alternatívnej prípravy formyl-cyklénu **2** je odstránenie chrániacich skupín Cbz (Schéma 12). Látka **5** (0,50 g, 1,1 mmol) bola vložená do 100ml dvojhrdlej banky a miešaním pomocou magnetického miešadla rozpustená v etanole (15 ml). Do banky bolo pridané paládium na aktívnom uhlí (Pd/C, 0,10 g, 10 hmot. %). Hlavné hrdlo banky bolo zavreté špuntom. Na druhé hrdlo bol pripojený prívod plynného vodíka z balóniku. Zmes bola ponechaná miešať sa s jemným vychýlením banky pri laboratórnej teplote po dobu 48 h. Po 24 h bola odobratá vzorka na sledovanie priebehu reakcie pomocou HPLC/MS. Po 48 h bola reakčná zmes prefiltrovaná cez filtračný papier a rozpúšťadlá boli odparené na RVO. Vzniknutý olej bol čistený pomocou „flash“ chromatografu na kolóne plnenej Silica gelom (120 g, 0,035 – 0,070 mm, 60 Å, Acros Organics) s použitím zmesi etanolu a hydroxidu amónneho ako mobilnej fázy (EtOH/NH<sub>4</sub>OH, 5:1, v/v). Reaktant bol dobre viditeľný pomocou UV detektora pri 254 nm. Skúmavky obsahujúce čistý produkt boli spojené do 100ml guľovej banky a rozpúšťadlá boli odparené na RVO. Takto bola získaná látka **2** (0,19 g) vo forme priehľadného oleja, čo je 89 % teoretického výťažku tohto kroku. Hmotnosť produktu zodpovedá 74 % súhrnného teoretického výťažku všetkých krokov alternatívnej syntézy, teda vzhľadom na cyklén **1**.

Charakterizácia látky **2**:

**TLC:**  $R_f = 0,52$  (EtOH/NH<sub>4</sub>OH, 5:1, v/v)

**MS (+):** 201,2 ([M+H]<sup>+</sup>; teor. 201,3)

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta = 8,0$  (s, 1 H), 3,5 (m, 8 H), 2,9 (m, 8 H) ppm

**<sup>13</sup>C {<sup>1</sup>H} NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta = 161$  (CH), 51 (CH<sub>2</sub>), 43 (CH<sub>2</sub>), 42 (CH<sub>2</sub>), 41 (CH<sub>2</sub>) ppm

### 3.3.4 Syntéza látky 3

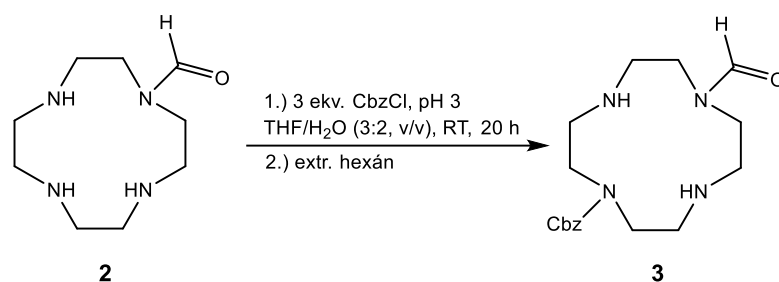


Schéma 13

Substitúcia sekundárneho amínu v polohe *trans* skupinou Cbz (Schéma 13) bola uskutočnená podľa literatúry(21) totožným postupom ako v pôvodnej ceste syntézy (Kapitola 3.3.2). Ako reaktant bola v tomto prípade použitá izolovaná látka **2** (0,50 g). Reakciou vznikla látka **3** (0,78 g) vo forme priehľadného oleja. Hmotnosť produktu zodpovedá 93 % teoretického výťažku tohto kroku a 69 % teoretického výťažku celej syntézy látky **3** (vzhľadom na cyklén **1**).

Charakterizácia látky **3**:

**MS (+):** 335,1 ([M+H]<sup>+</sup>; teor. 335,2)

**<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ = 8,2 (s, 1H), 7,4 (m, 5H), 5,0 (s, 2H), 3,9 (m, 2H), 3,8 (s, 2H), 3,7 (m, 4H), 2,9 (m, 8H) ppm

**<sup>13</sup>C {<sup>1</sup>H} NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ = 172 (CH), 165 (C), 140 (C), 130 (CH), 128 (CH), 127 (CH), 65 (CH<sub>2</sub>), 50 (CH<sub>2</sub>), 49 (CH<sub>2</sub>), 42 (CH<sub>2</sub>), 38 (CH<sub>2</sub>) ppm

### 3.3.5 Syntéza látky 6

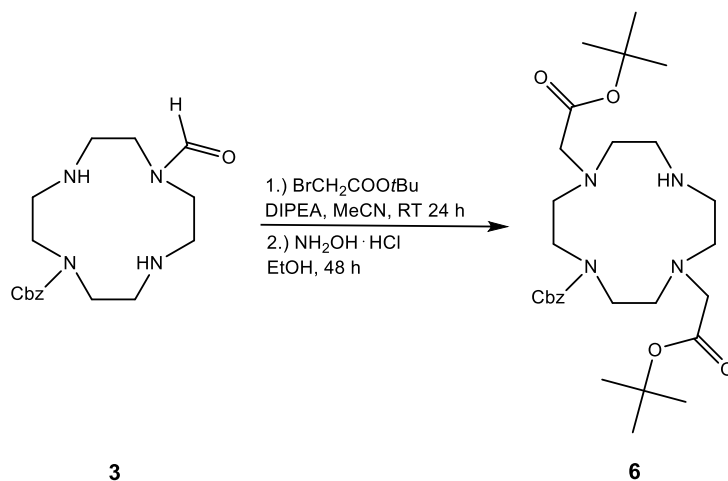


Schéma 14

Alkylácia látky **3** za vzniku di-*t*-butylesteru 4-benzyloxykarbonyl-1,4,7,10-tetraazacyklododekán-1,7-bis(octovej) kyseliny **6** bola uskutočnená podľa publikovaného postupu (Schéma 14).<sup>(28)</sup> Látka **3** (0,15 g, 0,45 mmol) bola vložená do 100ml guľovej banky spolu s magnetickým miešadlom a za stáleho miešania bola rozpustená v acetonitrile (5 ml). Bol pridaný DIPEA (*N,N*-diizopropyletylamín, 2,0 ml). Do miešajúceho sa roztoku bol pomaly prikvapávaný roztok *t*-butylbromoacetátu (0,21 g, 1,1 mmol, 2,4 ekv.) v acetonitrile (5 ml). Reakčná zmes bola ponechaná miešať sa počas 24 h pri laboratórnej teplote. Rozpúšťadlá boli následne odparené na RVO. Vzniknutý olej bol rozpustený v chloroforme (10 ml) a roztok bol extrahovaný s destilovanou vodou (10 ml). Organická fáza bola oddelená a extrakcia chloroformom bola zopakovaná ešte dvakrát. Organické fázy zo všetkých troch extrakcií boli spojené a vysušené pridaním Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (0,5 g). Sušidlo bolo odfiltrované cez vatú a rozpúšťadlá boli odparené na RVO.

Vzniknutý olej bol rozpustený v etanole (5 ml) a bol pridaný chlorid hydroxylamónny (0,10 g, 1,4 mmol). Reakčná zmes bola miešaná pri teplote 50 °C po dobu 48 hodín. Následne boli rozpúšťadlá odparené na RVO. Výsledný olej bol rozpustený v DCM (10 ml) a roztok bol presunutý do deliaceho lievika. Organická fáza bola trikrát extrahovaná s destilovanou vodou (10 ml) a trikrát s koncentrovaným roztokom NaCl (10 ml). Organická fáza bola vysušená pridaním Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (0,5 g). Sušidlo bolo odfiltrované cez vatú a rozpúšťadlá boli odparené na RVO. Vzniknutý bezfarebný olej bol čistený pomocou „flash“ chromatografu na kolóne plnenej Silica gelom (60 g, 0,035 – 0,070 mm, 60 Å, Acros Organics) s použitím zmesi chloroformu a metanolu ako mobilnej fázy (CHCl<sub>3</sub>/MeOH, 9:1, v/v). Obsah skúmaviek bol charakterizovaný pomocou MS. Obsahy skúmaviek s čistým produktom boli spojené do 100ml guľovej banky a rozpúšťadlá boli odparené na RVO. Odparok bol rozpustený v destilovanej vode (30 ml) a 1M vodnom roztoku NaOH (5 ml). Produkt vo forme voľnej bázy bol z roztoku izolovaný trojnásobnou extrakciou s chloroformom (10 ml). Organické fázy zo všetkých troch extrakcií boli spojené a vysušené pridaním Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (0,5 g). Sušidlo bolo odfiltrované cez vatú a rozpúšťadlá boli odparené na RVO. Látka **6** (0,17 g) bola získaná vo forme bezfarebného oleja. Hmotnosť produktu zodpovedá 72 % teoretického výťažku.

Charakterizácia látky **6**:

**TLC:**  $R_f = 0,38$  (CHCl<sub>3</sub>/MeOH, 9:1, v/v)

**MS (+):** 535,1 (100 %, [M+H]<sup>+</sup>; teor. 535,3)

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta = 7,4$  (m, 5H), 5,3 (s, 2H), 3,8 (m, 4H), 3,5 (s, 5H), 3,0 (m, 8H), 2,9 (m, 4H), 1,5 (s, 18H) ppm

## 4 Výsledky a diskusia

### 4.1 Návrh syntézy monoamidu DO3AP

So zámerom pripraviť ligand monoamid DO3AP bola navrhnutá cesta syntézy (Schéma 15). Cieľový ligand je nesymetricky substituovaný, z čoho vyplýva nutnosť niektoré amínové skupiny makrocyklu v priebehu syntézy chrániť. Vzhľadom na to, že je cyklén substituovaný tromi rôznymi pendatnými ramenami, je potrebné chrániť amínové skupiny ortogonálne, teda dvomi rôznymi chrániacimi skupinami, čo vytvára možnosť substituovať každý typ pendantného ramena postupne na voľné amínové skupiny. Z už popísaných typov ortogonálneho chránenia bolo vybrané ako vhodné ortogonálne chránenie dvomi rôznymi skupinami v *trans* polohe (1-Cbz-7-formyl-cyklén). V publikáciách je takto chránený cyklén pripravený priamo, substituovaním najprv formylovej skupiny a potom selektívnou substitúciou skupiny Cbz do *trans* polohy vďaka protonovaniu makrocyklu vo vodnom roztoku s pH 3.(21,29) Takto ortogonálne chránený cyklén má voľné dve amínové skupiny v polohe *trans*, ktoré je možné jednoducho alkylovať *t*-butylbromoacetátom. Po následnom odstránení formylovej skupiny je prístupná jedna amínová skupina na zavedenie metylfosfonátového ramena reakciou s trietylfosfitom.(28) Metylfosfonátové rameno je zavádzané v esterovej forme z dôvodu chránenia tejto skupiny pri ďalšej substitúcii. Toto chránenie je v poslednom kroku návrhu syntézy odstránené deesterifikáciou. Chrániaca skupina Cbz na makrocykle je ľahko odstraniteľná hydrogenáciou za prítomnosti paládia na aktívnom uhlí. Na finálne zavedenie amidového ramena bola navrhnutá alkylácia s 2-chlóracetamidom.



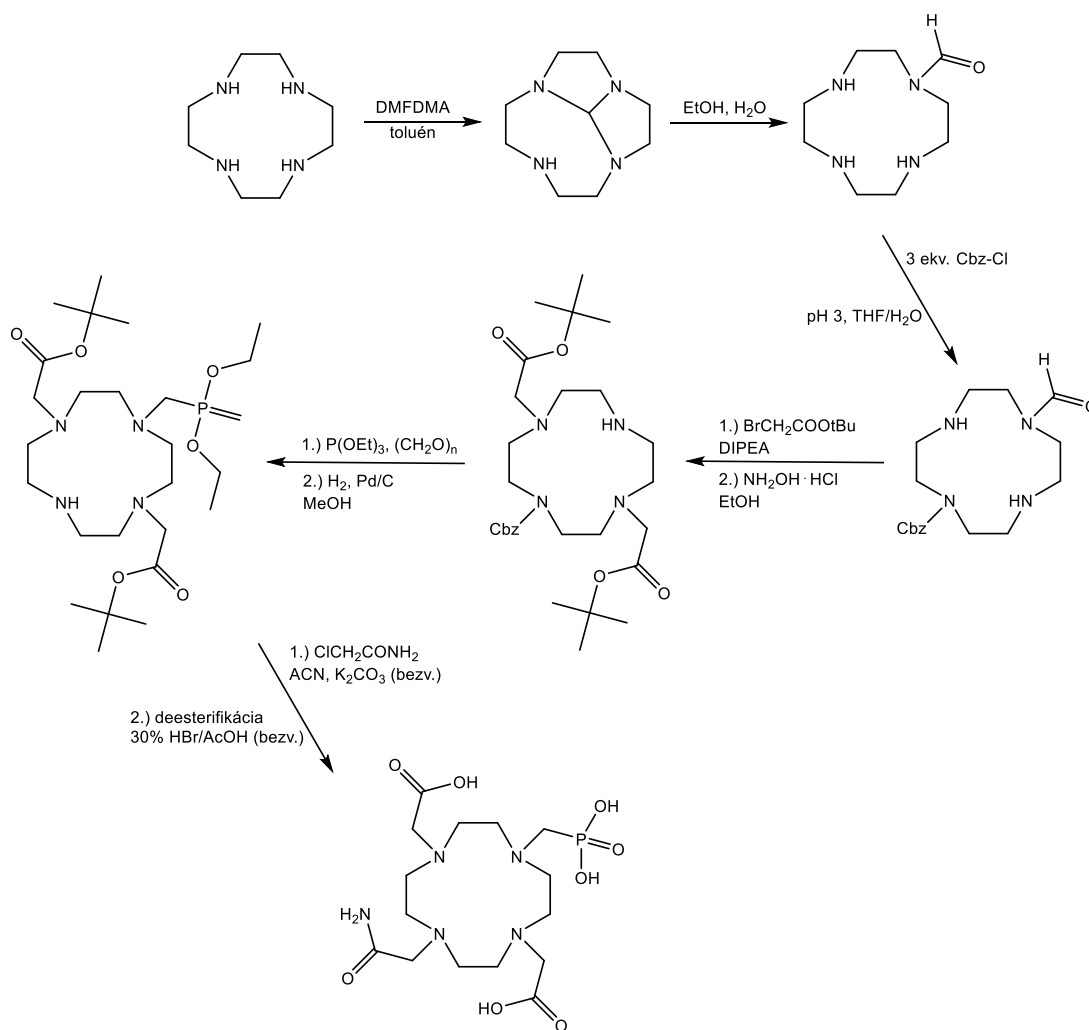


Schéma 15

## 4.2 Syntéza ortogonálne chráneného cyklénu

Ortogonalne chránený cyklén s dvomi rôznymi chrániacimi skupinami v *trans* polohe pripravili v roku 2019 Travagin a kol. s viacerými kombináciami chrániacich skupín.(21) Pre účely tejto syntézy bola vybraná kombinácia chrániacich skupín Cbz a formylová, keďže bola pripravená najjednoduchšou syntézou a s najvyšším výťažkom. Ich vlastnému syntéznemu kroku predchádzalo zavedenie formylovej chrániacej skupiny na jednu z amínových skupín makrocyklu podľa práce Ferrand a kol. v roku 2007.(29) Potom selektívne substituovali chrániacu skupinu Cbz do polohy *trans* využitím protonácie makrocyklu okyselením jeho vodného roztoku na pH 3.(21,28)

#### 4.2.1 Syntéza formyl-cyklénu **2** publikovanou cestou

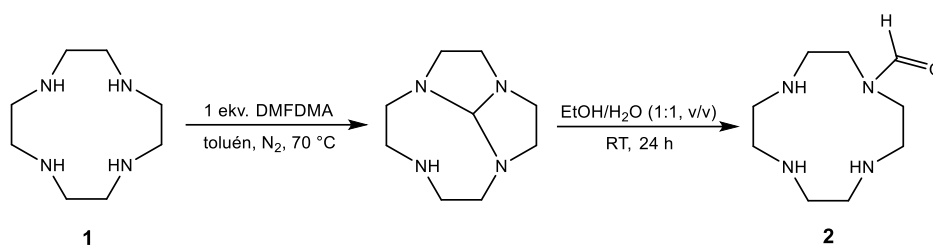


Schéma 16

Formyl-cyklén bol pripravený Deanovou-Starkovou destiláciou zmesi cyklénu a *N,N*-dimetylformamid dimetylacetalu a následnou jemnou hydrolyzou podľa publikovaného postupu.(29) Teoretický výťažok produktu uvedený v publikácii je 95 %. Pri reprodukcii publikovaného postupu vznikla zmes cyklénu, formyl-cyklénu a cyklénu disubstituovaného formylovou skupinou s malým teoretickým výťažkom žiadaného produktu. Táto zmes nie je jednoducho deliteľná. Produkt preto nebol čistený a celá zmes bola použitá v ďalšom kroku syntézy, keďže po zavedení hydrofóbnej skupiny Cbz bude zmes lepšie deliteľná. Dôvodom vzniku tejto zmesi pravdepodobne bolo nedostatočné odstránenie *N,N*-dimetylformamid dimetylacetalu po prvom kroku, čím na makrocykle pribudol druhý substituent. Malý výťažok produktu oproti publikácii bol pravdepodobne spôsobený nepresnou replikáciou Deanovej-Starkovej destilácie, keďže publikácia neobsahuje detailné informácie o podmienkach priebehu reakcie, ako je napríklad teplota a čas. Reakčná zmes bola čistená po zavedení chrániacej skupiny Cbz v ďalšom kroku, súhrnný výťažok želaného produktu vzťahnutý na cyklén **1** bol však malý (Kapitola 4.2.3.).

#### 4.2.2 Syntéza formyl-cyklénu **2** alternatívnou cestou

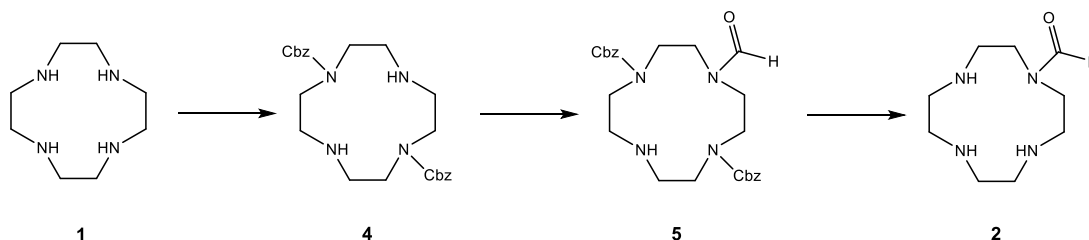


Schéma 17

Keďže syntéza formyl-cyklénu replikáciou publikovaného postupu(29) poskytovala malý výťažok a ťažko deliteľnú zmes, bola navrhnutá alternatívna cesta syntézy. Táto syntéza zahŕňa prípravu nového typu ortogónálneho chránenia cyklénu s disubstituovanou chrániacou skupinou v polohe *trans* a monosubstituovanou inou

chrániacou skupinou. V prvom kroku sú publikovaným postupom reakciou cyklénu s benzyl-chlórformiátom substituované dve chrániace skupiny Cbz do polohy *trans*.(22) Produkt prvého kroku je izolovaný vo forme hydrochloridu. Extrakciou do chloroformu je získaná jeho voľná báza, na ktorú sa reakciou s chloralhydrátom zavedie formylová skupina. Formyl-cyklén vznikol odstránením skupín Cbz hydrogenáciou v prítomnosti paládia na aktívnom uhlí.

Všetky reakčné kroky prebehli bez väčších problémov s veľkými výťažkami produktov aj v gramovej škále. Súhrnný výťažok všetkých krokov (vzhľadom na cyklén) bol 74 %.

#### 4.2.3 Substitúcia skupiny Cbz do *trans* polohy za vzniku látky 3

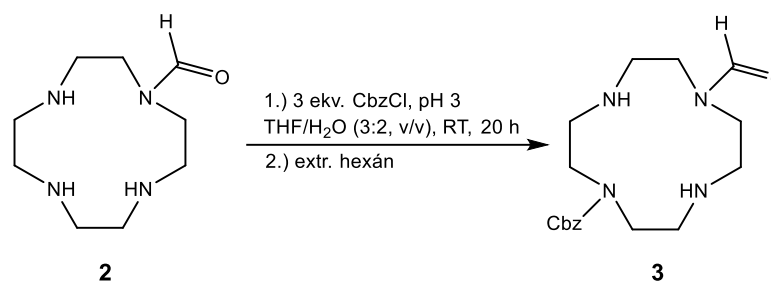


Schéma 18

Zavedenie skupiny Cbz do *trans* polohy prebehlo bez problémov aj v gramovej škále. V publikácii(21) je uvedený 93% teoretický výťažok, replikáciou postupu bol najväčší získaný výťažok po optimalizácii 93 %. Travagin a kol. publikovali túto syntézu prvýkrát v roku 2019 (21) a opäť v roku 2020 (28) s inými reakčnými podmienkami. Otestované boli obe možnosti. V prvej možnosti bol formyl-cyklén rozpustený v zmesi destilovanej vody a tetrahydrofuránu (H<sub>2</sub>O/THF, 2:3, v/v) a následne bol roztok okyselený koncentrovaným vodným roztokom HCl na pH 3. Do roztoku bol pridaný benzyl-chlórformiát rozpustený v THF a pH bolo udržiavané na hodnote 3 pridávaním vodného roztoku NaHCO<sub>3</sub>.(21) V druhej možnosti bol formyl-cyklén rozpustený v destilovanej vode a okyselený koncentrovaným vodným roztokom HCl. Následne bolo do vodného roztoku pridané väčšie množstvo 1,4-dioxánu a benzyl-chlórformiátu rozpusteného v menšom množstve 1,4-dioxánu. Hodnota pH bola udržiavaná na hodnote 3 pridávaním koncentrovaného vodného roztoku NaOH.(28) Prvá možnosť sa ukázala ako bezproblémová a bola použitá pri opakovaných syntézach. Pri druhej možnosti bola hodnota pH menej stabilná, čo viedlo k potrebe pridávať v priebehu reakcie viac koncentrovaného vodného

roztoku HCl alebo neskôr NaOH, čo viedlo aj k menej selektívnej substitúcii a zníženiu výťažku hlavného produktu.

#### 4.2.4 Porovnanie dvoch ciest syntézy ortogónálne chráneného cyklénu **3**

Pri príprave formyl-cyklénu replikáciou publikovaného postupu(29) sa produkt nepodarilo izolovať. Po zavedení skupiny Cbz do polohy *trans* bol súhrnný výťažok na cyklén 18 %. Príprava formyl-cyklénu navrhnutou alternatívnou cestou obsahuje viac krokov, takže je časovo náročnejšia. Všetky syntézne kroky boli reprodukované aj v gramovej škále a ich použitím bol efektívne izolovaný formyl-cyklén s celkovým výťažkom 74 %. Po zavedení skupiny Cbz do polohy *trans* bol súhrnný výťažok ortogónálne chráneného cyklénu 69 % (na cyklén).

Alternatívna cesty ponúka flexibilitu pri výbere typu zavádzanej skupiny. Publikovaná cesta syntézy je špecifická pre formylovú skupinu. V alternatívnej syntéze sa formylová chrániaca skupina zavádza na dichránený cyklén, čo umožňuje pohodlne zaviesť aj inú chrániacu skupinu než formylovú.

### 4.3 Alkylácia

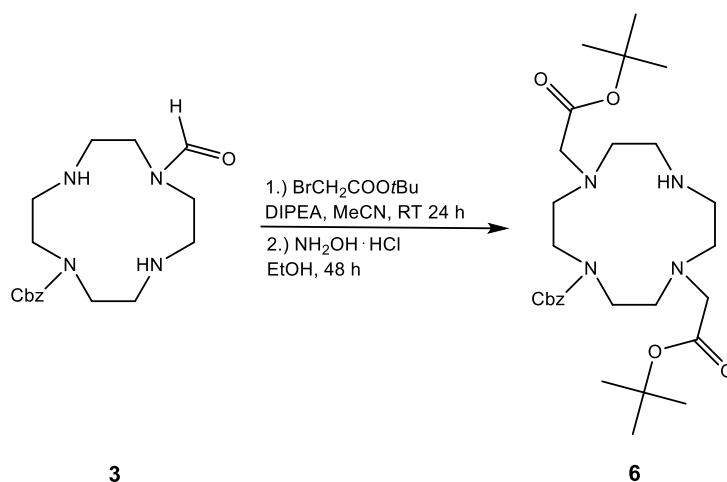


Schéma 19

Produkt sa podarilo pripraviť reprodukováním publikovaného postupu(28) bez väčších problémov. V publikácii je uvedený teoretický výťažok 88 %, pri replikácii uvedeného postupu v malej škále bol dosiahnutý výťažok 72 %. Táto reakcia nebola otestovaná vo väčšej škále.

## 4.4 Alternatívna syntéza monoamidu DO3AP

Navrhnutá alternatívna cesta syntézy formyl-cyklénu umožňuje skrátiť a zjednodušiť pôvodne navrhovanú syntézu cieľového ligandu – monoamidu DO3AP (Schéma 20). Zmena spočíva vo vynechaní izolácie formyl-cyklénu a v použití priamo pripraveného ortogonálne chráneného cyklénu (1,7-bis(benzyloxykarbonyl)-4-formyl-cyklén). Táto syntézná cesta ponúka už spomínanú flexibilitu alternatívnej cesty prípravy formyl-cyklénu, teda je možné použiť podľa potreby aj iné chrániace skupiny.

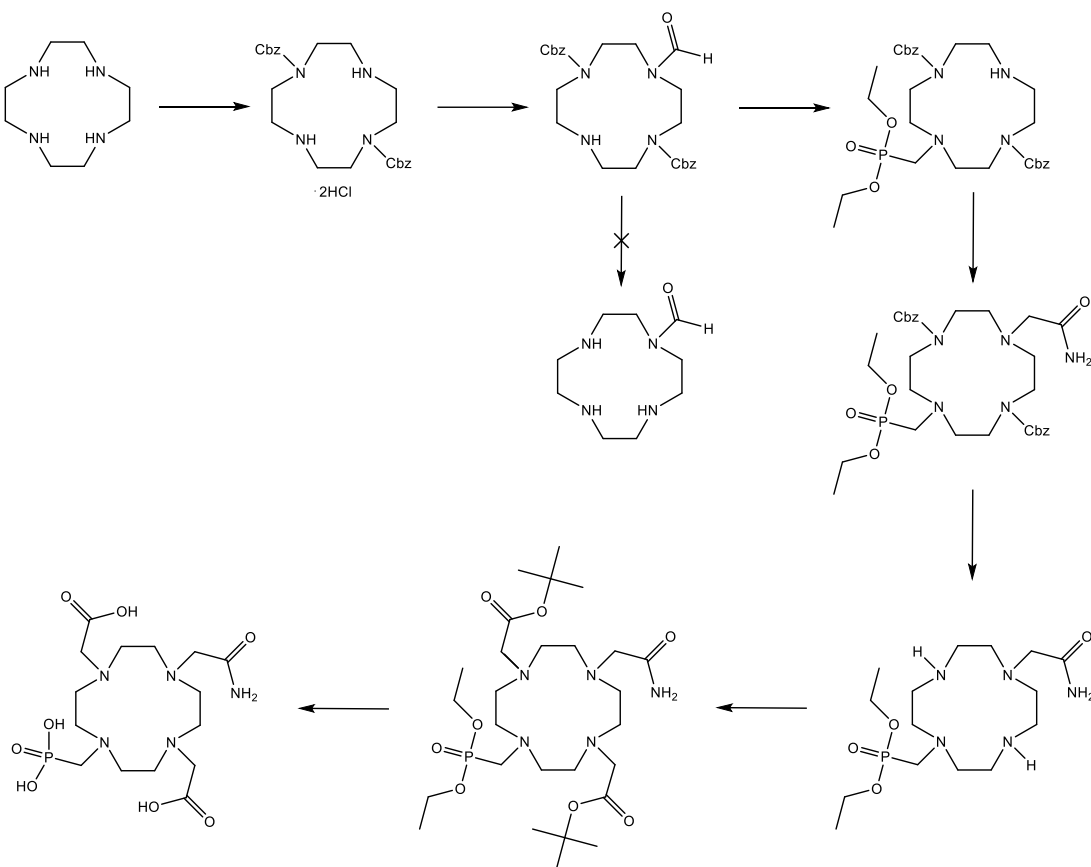


Schéma 20

## 5 Záver

V rámci tejto bakalárskej práce bol pripravený nový typ ortogonálneho chránenia cyklénu – 1,7-bis(Cbz)-4-formyl-cyklén reakciou cyklénu s benzyl-chlórformiátom a následnou reakciou medziproduktu s chloralhydrátom pri zvýšenej teplote. Odstránením chrániacej skupiny Cbz hydrogenáciou za prítomnosti paládia na aktívnom uhlí bol novým spôsobom pripravený formyl-cyklén. Reakcia je dobre reprodukovateľná aj v gramovej škále a poskytuje produkt s vysokým výťažkom. Publikovaný postup prípravy formyl-cyklénu bol reprodukován s malým výťažkom a produkt sa nepodarilo izolovať.

Reprodukovaním publikovanej cesty bol z formyl-cyklénu pripravený ortogonálne chránený 1-Cbz-7-formyl-cyklén. Reakcia prebiehala s veľkým výťažkom aj v gramovej škále. Následnou alkyláciou voľných sekundárnych amínov makrocyklu *t*-butylbromoacetátom a odstránením formylovej chrániacej skupiny chloridom hydroxyamónnym bol pripravený chránený cyklén so substituovanými dvomi acetátovými ramenami – 1,7-acetát-4-Cbz-cyklén. Reakcia viedla k veľkému výťažku produktu. S využitím získaných poznatkov bola navrhnutá syntéza pre nový nesymetricky substituovaný makrocyclický ligand monoamid DO3AP.

## 6 Zoznam použitých skratiek

<b>Ac</b>	– acetyl
<b>Angl.</b>	– anglický
<b>Bn</b>	– benzylová chrániaca skupina
<b>Boc</b>	– <i>t</i> -butyloxykarbonylová chrániaca skupina
<b>Cbz</b>	– benzyloxykarbonylová chrániaca skupina
<b>DCM</b>	– dichlórmetán
<b>DMF</b>	– <i>N,N</i> -dimetylformamid
<b>DMFDMA</b>	– <i>N,N</i> -dimetylformamid dimetylacetal
<b><i>cis</i>-DO2A2P</b>	– 1,4,7,10-tetraazacyklododekán-7,10-bis(karboxymetyl)-1,4-bis(metylfosfónová) kyselina
<b><i>trans</i>-DO2A2P</b>	– 1,4,7,10-tetraazacyklododekán-4,10-bis(karboxymetyl)-1,7-bis(metylfosfónová) kyselina
<b>DO3AP</b>	– 1,4,7,10-tetraazacyklododekán-4,7,10-tris(karboxymetyl)-1-(metylfosfónová) kyselina
<b>DOA3P</b>	– 1,4,7,10-tetraazacyklododekán-10-(karboxymetyl)-1,4,7-tris(metylfosfónová) kyselina
<b>DOTA</b>	– 1,4,7,10-tetraazacyklododekán-1,4,7,10-tetraoctová kyselina
<b>DTPA</b>	– 1,4,7,10-tetraazacyklododekán-1,4,7,10-tetrakis(metylfosfónová) kyselina
<b>Et</b>	– etyl
<b>Extr.</b>	– extrakcia
<b>HPLC</b>	– vysokoúčinná kvapalinová chromatografia (high-performance liquid chromatography)
<b>Me</b>	– metyl
<b>MRI</b>	– magnetická rezonančná tomografia (magnetic resonance imaging)
<b>MS</b>	– hmotnostná spektrometria (mass spectrometry)
<b>NMR</b>	– nukleárna magnetická rezonancia
<b>Obr.</b>	– obrázok
<b><i>R<sub>f</sub></i></b>	– retenčný faktor
<b>RT</b>	– laboratórna teplota (room temperature)

<b>RVO</b>	– rotačná vákuová odparka
<b>SA</b>	– štvorcová antiprizma (square-antiprism)
<b>THF</b>	– tetrahydrofurán
<b>TFA</b>	– trifluóroctová kyselina
<b>TLC</b>	– tenkovrstvová chromatografia (thin-layer chromatography)
<b>TMS</b>	– tetrametylsilán
<b>TSA</b>	– skrútená štvorcová antiprizma (twisted square-antiprism)
<b>Vod.</b>	– vodný



## 7 Zoznam použitej literatúry

- (1) Van Beek, E. Jr., Hoffman, E. A. *Clin. Chest. Med.* 2008. 29:195–197.
- (2) Davies, J., Siebenhandl-Wolff, P., Tranquart, F., Jones, P., Evans, P. *Arch. Toxicol.* 2022. 96:403–429.
- (3) Washner, J., Gale, E. M., Rodriguez-Rodriguez, A., Caravan, P. *Chem. Rev.* 2019. 119:957–1057.
- (4) Vlaardingerbroek, M. T., den Boer, J. A. *Magnetic Resonance Imaging.* Springer, Berlin. 1996.
- (5) Hermann, P., Kotek, J., Kubíček, V., Lukeš, I. *Dalton Trans.* 2008. 23:3027–3047.
- (6) Rohovec, J., Vojtíšek, P., Hermann, P., Mosinger, J., Žák, Z., Lukeš, I. *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* 1999. 3585–3592.
- (7) Vojtíšek, P., Cígler, P., Kotek, J., Rudovský, J., Hermann, P., Lukeš, I. *Inorg. Chem.* 2005. 44:5591–5599.
- (8) Kálmán, F. K., Baranyai, Z., Tóth, I., Bányai, I., Király, R., Brücher, E., Aime, S., Sun, X., Dean Sherry, A., Kovács, Z. *Inorg. Chem.* 2008. 47:3851–3862.
- (9) Buziková, M. *Diplomová práce.* PřF UK, Praha. 2019.
- (10) Ševčík, R., Vaněk, J., Michalicová, R., Lubal, P., Hermann, P., Santos, I. C., Santos, I., Campello, M. P. C. *Dalton Trans.* 2016. 45:12723–12733.
- (11) Procházková, S., Kubíček, V., Kotek, J., Vágner, A., Notni, J., Hermann, P. *Dalton Trans.* 2018. 47:13006–13015.
- (12) Obuch, J. *Diploma Thesis.* PřF UK, Praha. 2021.
- (13) Obuch, J. *Bachelor Thesis.* PřF UK, Praha. 2019.
- (14) Stteter, H., Frank, W. *J. Am. Chem. Soc.* 1976. 88: 760.
- (15) Bazakas, K., Lukeš, I. *J. Chem. Soc.* 1995. 5:1133–1137.
- (16) Ke, T., Feng, Y., Guo, J., Parker, D. L., Lu, Z. R. *Magn. Reson. Imaging.* 2006. 24:931–940.
- (17) Rudovský, J., Cígler, P., Kotek, J., Hermann, P., Vojtíšek, P., Lukeš, I., Peters, J. A., Elst, L. V., Muller, R. N. *Chem. Eur. J.* 2005. 11:2373–2384.
- (18) Campello, M. P., Marques, F., Gano, L., Lacerda, S., Santos, I. *Radiochim. Acta.* 2007. 95:329–334.
- (19) Ye, F., Ke, T., Jeong, K. E., Wang, X., Sun, Y., Johnson, M., Lu, Z. R. *Mol. Pharm.* 2006. 3:507–515.

- (20) Li, C., Wong, W. T. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I.* 1991. 33:2956–2959.
- (21) Travagin F, Lattuada, L., Giovenzana, G. B. *Org. Chem. Front.* 2019. 6:1387–1390.
- (22) Kovacs, Z., Sherry, A. D. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* 1995. 185–186.
- (23) Bellouard, F., Chuburu, F., Kervarec, N., Toupet, L., Triki, S., Le Mest, Y., Handel, H. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I.* 1999. 3499–3505.
- (24) Bárta, J. *Diplomová práce.* PŘF UK, Praha. 2010.
- (25) Hermann, P., Kotek, J. *Comprehensive Heterocyclic Chemistry III.* Elsevier. 2008. 14:614–666.
- (26) Dischino, D. D., Delaney, E. J., Emswiler, J. E., Gaughan, G. T., Prasad, J. S., Srivastava, S. K., Tweedle, M. F. *Inorg. Chem.* 1991. 30:1265–1269.
- (27) Hermann, P., Kotek, J., Kubiček, V. *Comprehensive Heterocyclic Chemistry IV.* Elsevier. 2022. 14:591–683.
- (28) Ferrand, A. C., Imbert, D., Chauvin, A. S., Vandevyver, C. D. B., Bünzli, J. C. G. *Chem. Eur. J.* 2007. 13:8678–87.
- (29) Travagin, F., Biondi, L., Lattuada, L., Giovenzana, G. B. *Synlett.* 2020. 31:1291–1294.
- (30) Ferrand, A. C., Imbert, D., Chauvin, A. S., Vandevyver, C. D. B., Bünzli, J. C. G. *Chem. Eur. J.* 2007. 13:8678–87.