

<i>C07F 9/30</i>	(2006.01)
<i>C07F 9/38</i>	(2006.01)
<i>C07D 257/02</i>	(2006.01)
<i>A61K 31/663</i>	(2006.01)
<i>A61K 31/395</i>	(2006.01)
<i>A61K 31/28</i>	(2006.01)
<i>A61K 31/29</i>	(2006.01)
<i>A61K 31/30</i>	(2006.01)
<i>A61K 51/04</i>	(2006.01)
<i>A61K 38/03</i>	(2006.01)
<i>A61K 39/00</i>	(2006.01)
<i>A61K 49/00</i>	(2006.01)
<i>A61P 35/00</i>	(2006.01)
<i>A61P 29/00</i>	(2006.01)
<i>A61P 9/10</i>	(2006.01)

 (19)
ČESKÁ
REPUBLIKA

 ÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

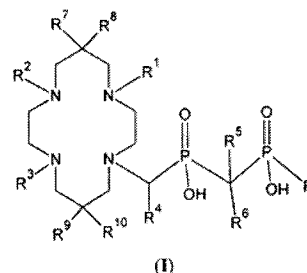
(21) Číslo přihlášky: **2015-825**
 (22) Přihlášeno: **20.11.2015**
 (40) Zveřejněno: **31.05.2017**
(Věstník č. 22/2017)
 (47) Uděleno: **29.08.2018**
 (24) Oznámení o udělení ve věstníku: **10.10.2018**
(Věstník č. 41/2018)

(56) Relevantní dokumenty:

DELGADO, Rita, et al. Metal complexes of cyclen and cyclam derivatives useful for medical applications: a discussion based on thermodynamic stability constants and structural data. Dalton Transactions, 2007, 26: 2734-2745.; VIITHA, Tomáš, et al. Gd (III) complex of a monophosphinate-bis (phosphonate) DOTA analogue with a high relaxivity; lanthanide (III) complexes for imaging and radiotherapy of calcified tissues. Dalton Transactions, 2009, 17: 3204-3214.; C. King et al. Synthesis and structural characterisation of methylenebisphosphinic acid. Inorganic Chemistry 25, 1290-1292, 1986; ŠEVČÍK, Radek, et al. Formation and dissociation kinetics of copper (II) complexes with tetraphosphorus acid DOTA analogs. Polyhedron, 2014, 67: 449-455.; FŮZEROVÁ, Silvia, a kol., Cyclam (1, 4, 8, 11-tetraazacyclotetradecane) with one methylphosphonate pendant arm: a new ligand for selective copper (II) binding. Dalton transactions, 2005, 17: 2908-2915.; Kotek, J., a kol., High Thermodynamic Stability and Extraordinary Kinetic Inertness of Copper(II) Complexes with 1,4,8,11-Tetraazacyclotetradecane-1,8-bis(methylphosphonic acid): Example of a Rare Isomerism between Kinetically Inert Penta- and Hexacoordinated Copper(II) Complexes. Chemistry—A European Journal., 2003, 233-248..
 WO 02/087498 A2; WO 2005/062828 A2.

 (73) Majitel patentu:
 Univerzita Karlova v Praze, Praha 1, CZ

 (72) Původce:
 Mgr. Tomáš David, Ph.D., Hovorčovice, Praha-
 východ, CZ
 prof. RNDr. Petr Hermann, Dr., Praha-Letňany, CZ
 doc. RNDr. Vojtěch Kubíček, Ph.D., Praha 8, CZ

 (74) Zástupce:
 HARBER IP s.r.o., Na bělidle 64/3, 150 00 Praha 5,
 Smíchov


(54) Název vynálezu:

Sloučeniny na bázi cyklamů, jejich konjugáty, cílicí konjugáty, koordinační sloučeniny, farmaceutický přípravek je obsahující, způsob jejich přípravy a jejich použití

(57) Anotace:

Předmětem předkládaného řešení jsou sloučeniny na bázi cyklamů obecného vzorce I, konjugáty těchto sloučenin a konjugáční skupiny, jejich koordinační sloučeniny, cílicí konjugáty, způsob přípravy sloučenin na bázi cyklamů, meziproducty pro přípravu sloučenin na bázi cyklamů, farmaceutický přípravek je obsahující a jejich použití.

Sloučeniny na bázi cyklamu, jejich konjugáty, cílicí konjugáty, koordinační sloučeniny, farmaceutický přípravek je obsahující, způsob jejich přípravy a jejich použití

5 Oblast techniky

Předkládaný vynález se týká sloučenin na bázi cyklámu, obsahujících tetraazamakrocyklus a bisfosforovou kyselinu, konjugátů těchto sloučenin a konjugáční skupiny, jejich koordinačních sloučenin, cílicího konjugátů, způsobu přípravy sloučenin na bázi cyklámu, meziproductů pro
10 přípravu sloučenin na bázi cyklámu, farmaceutického přípravku je obsahujícího a jejich použití.

Dosavadní stav techniky

15 Polyazamakrocykly s koordinujícími postranními řetězci tvoří termodynamicky velmi stabilní komplexy s širokou škálou iontů kovů, jež jsou často také kineticky vysoce inertní. Tyto jejich vlastnosti jsou velice žádané pro aplikace v medicíně a molekulární biologii. Proto jsou tyto ligandy a jejich komplexy široce studovány a jejich vlastnosti přizpůsobovány konkrétnímu
20 použití, např. jako MRI kontrastní látky, nosiče radionuklidů kovů v diagnostických nebo terapeutických metodách, cílená léčiva či luminiscenční sondy.

Velmi mocné diagnostické metody moderní medicíny jsou pozitronová emisní tomografie (PET) nebo tomografická scintigrafie (single-photon emission tomography – SPECT), které jsou
25 založeny na aplikaci radioizotopů, tj. protony-bohatých izotopů prvků, které podléhají β^+ rozpadu (pro PET) nebo vyzařujících gamma-záření (pro SPECT). Pro PET, kolize emitovaného pozitronu s elektronem z okolní tkáně vede ke vzniku páru kolineárních γ -fotonů (majících energii 512 keV), které umožňují přesné zjištění anihilačního místa a tím pádem i distribuce radioizotopu v těle. PET vyžaduje použití radioizotopů s vhodným poločasem rozpadu, nízkou
30 energií emitovaných pozitronů a dobrou dostupností (např. nekovové radioizotopy ^{18}F , ^{11}C , ^{15}O nebo radioizotopy kovů jako ^{68}Ga , ^{44}Sc , ^{89}Zr). *Velký zájem vzbudil radioizotop mědi ^{64}Cu (61 % β^-) díky svému dlouhému poločasu rozpadu ($\tau_{1/2}$ 12,8 h) a nízké energii pozitronů (E_{av} 0,65 MeV), což vede k velkému rozlišení v PET. Další radioizotopy mědi, pozitron emitující ^{60}Cu ($\tau_{1/2}$ 23,7 min, 100 % β^+) a ^{61}Cu ($\tau_{1/2}$ 3,3 h, 100 % β^+), jsou v PET využívány také, a β^- -emitující ^{67}Cu ($\tau_{1/2}$ 61,8 h, 100 % β^-) je využíván v radionuklidové terapii. Radioizotopy ^{64}Cu a ^{67}Cu tvoří
35 zajímavý teranostický pár (jeden izotop je použit pro diagnózu a druhý izotop pro terapii).*

Radioizotopy kovů většinou nemohou být aplikovány ve formě volného iontu kvůli nescifickému ukládání v tkáních. Aby bylo dosaženo požadované biodistribuce, musí být ion
40 kovu vázán v termodynamicky stabilním a kineticky inertním komplexu a tento komplex je často konjugován k cílicímu vektoru. Existují různé chelátory pro tvorbu termodynamicky stabilních a kineticky inertních komplexů kovů, přičemž makrocyclické ligandy jsou preferovány. Pro komplexaci radioizotopů mědi jsou využívány acyklické i makrocyclické ligandy, např. kyselina diethyltriamin-pentaoctová (H_5dtpa), 1,4,8,11-tetraazacyklotetradekan (cyklam), kyselina 1,4,8,11-tetraazacyklotetradekan-1,4,8,11-tetraoctová (H_4teta), kyselina 1,4,7,10-tetraazacyklododekan-1,4,7,10-tetraoctová (H_4dota), jejich monoamidy a jiné deriváty. Jejich
45 vlastnosti však pro komplexaci iontů měďnatých nejsou optimální, zejména kvůli pomalé komplexaci, nízké kinetické inertnosti a nevhodnému redox potenciálu posunutému k měďným iontům, a proto byly zkoumány další ligandy, např. deriváty přemostěného cyklámu, které tvoří kineticky velmi inertní komplexy, jsou však zatíženy velmi pomalou komplexací.

50 Příprava různých makrocyclických ligandů na bázi cyklenu (1,4,7,10-tetraazacyklododekan) či cyklámu (1,4,8,11-tetraazacyklotetradekan), s pendantní skupinou obsahující fosfor, popř. arsen, je popsána např. v US 2008/0312430 A1 nebo WO2015/038968. Dokument Fuzerová S., Kotek J., Císařová I., Hermann P., Binnemans K., Lukeš I., Dalton Trans., 2005, 2908 – 2915, popisuje

syntézu, potenciometrické a NMR titrace a krystalografickou strukturu Ugandu na bázi cyklámu s pendantní fosfonovou kyselinou a jeho komplexů s mědí. Dokument Kotek J., Lubal P., Hermann P., Císařová I., Lukeš I., Godula T., Svobodová I., Táborský P., Havel J., Chem. Eur. J., 2003, 9, No. 1, 233 – 248, popisuje analogickou sloučeninu, která však obsahuje dvě pendantní fosfonové kyseliny v trans poloze. Také tato publikace se zabývá syntézou, potenciometrií a krystalografickou studií ligandu a jeho komplexů s mědí. Z obou posledně jmenovaných dokumentů vyplývá, že jedna fosfonová skupina se koordinuje na Cu^{II} a vytváří termodynamicky stabilní a kineticky inertní komplex. Druhá fosfonová skupina přítomná ve sloučenině studované v Kotek J., Lubal P., Hermann P., Císařová I., Lukeš I., Godula T., Svobodová I., Táborský P., Havel J., Chem. Eur. J., 2003, 9, No. 1, 233 – 248 se na měďnatý ion nekoordinuje a termodynamická stabilita měďnatých komplexů obou zmíněných ligandů je srovnatelná. Citované látky však nejsou bifunkční, nemohou tedy být navázány na cílicí vektor, díky kterému by se při biodistribuci dostaly selektivně do konkrétního místa v těle. Navíc, přestože citované látky tvoří stabilní komplexy s mědí, rychlost komplexace není dostatečná na to, aby se výsledný komplex vytvořil rychle a pokud možno za laboratorní teploty. Pro praktické použití v radiodiagnostice či radioterapii tedy tyto látky nejsou vhodné pro svou neselektivní biodistribuci a nízkou rychlost komplexace.

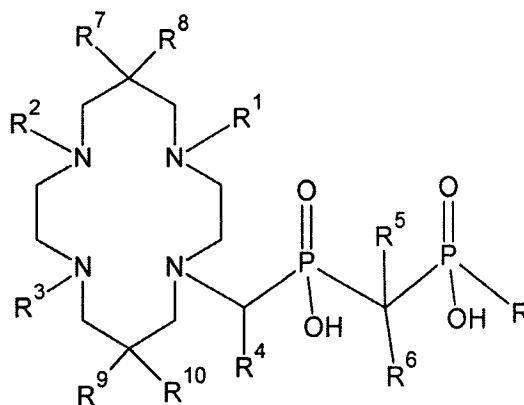
Pro cílenou biodistribuci a snížení aplikované dávky se využívá konjugace komplexu a cílicího vektoru. Cílicími vektory mohou být např. různé peptidy, protilátky a jejich fragmenty nebo deriváty, biotin, kyselina folová, cyklodextriny, dendrimery, polymery, polysacharidy.

Nevýhodou současného stavu techniky je absence látek o vysoké specifické aktivitě, což je veličina, udávající procentuální zastoupení komplexu radioizotopu v celkové dávce léčiva. Tato veličina úzce souvisí se schopností ligandů rychle a pokud možno za laboratorní teploty vytvořit termodynamicky stabilní a kineticky inertní koordinační sloučeninu s radionuklidem o vhodném poločasu rozpadu a které by zároveň obsahovaly cílicí vektor, a byly by tudíž vhodné pro aplikace při diagnostických (např. PET, SPECT) a terapeutických metodách. Existující ligandy efektivně komplexují radionuklidy až při teplotách kolem $80\text{ }^{\circ}\text{C}$ a vyšších, zatímco při laboratorní teplotě je jejich komplexace velice pomalá. S tím souvisí například ztráty komplexu radioizotopů s rychlým poločasem rozpadu, vysoké finanční náklady spojené s přípravou radioizotopových komplexů i zatížení pacienta, vystaveného aplikaci vysokých dávek léčiva pro dosažení kýženého efektu.

35 Podstata vynálezu

Předkládaný vynález se týká sloučenin na bázi cyklámu a/nebo přemostěného cyklámu pro terapii a diagnostiku, obsahujícího kyselinu bisfosforovou, které se vyznačují vysokou specifickou aktivitou. Tyto sloučeniny podle předkládaného vynálezu rychle a selektivně komplexují ionty kovů, zejména Cu^{2+} , a vyznačují se tvorbou termodynamicky stabilních a kineticky inertních koordinačních sloučenin. Sloučeniny podle předkládaného vynálezu mohou dále vytvářet konjugáty s konjugačními skupinami a dále cílicí konjugáty s cílicími vektory, které zajišťují jejich cílenou distribuci v organismu.

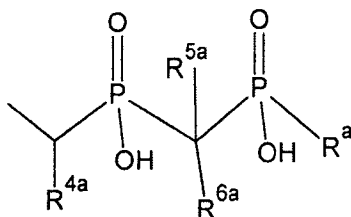
45 Předmětem předkládaného vynálezu jsou sloučeniny na bázi cyklámu pro terapii a diagnostiku obecného vzorce I,



(I)

kde

- 5 R, R^a, R¹, R², R³ jsou nezávisle vybrány ze skupiny zahrnující H, OH, (C1 až C6)alkyl, který může být lineární nebo rozvětvený, (C3 až C6)cykloalkyl, benzyl, fenylyl, (C5–C6) heterocyklus, obsahující alespoň jeden heteroatom N, S, O, a/nebo R¹ a/nebo R² a/nebo R³ je bisfosforová kyselina obecného vzorce II

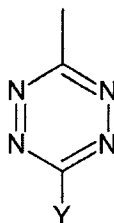


(II)

10

a/nebo dohromady R¹ a R³ tvoří (C2 až C3)alkylen, který může být substituovaný jedním nebo více lineárními nebo rozvětvenými (C1 až C6)alkyly,

- 15 přičemž (C1 až C6)alkyl, (C3 až C6)cykloalkyl, fenylyl, benzyl a (C5–C6)heterocyklus, obsahující alespoň jeden heteroatom N, S, O, mohou být nezávisle substituovány jednou nebo více skupinami vybranými z COOH; NH₂; NO₂; NX₂; C(O)NX₂; NHX; C(O)NHX; OH; SH; –NCS; tetrazin obecného vzorce III;



(III)

20

- 25 (C7 až C8)cykloalkenyl v *trans* konfiguraci, který může být popřípadě dále substituován jednou nebo více skupinami vybranými z COOH, NH₂, NO₂, –NCS, –NCO, N₃ a SH; norbornenyl, popřípadě substituovaný jednou nebo více skupinami vybranými z COOH, NH₂, NO₂, –NCS, –NCO, N₃ a SH; –N₃; (C2 až C6)alkynyl, popřípadě substituovaný jednou nebo více skupinami vybranými z COOH, NH₂, NO₂, –NCS, –NCO, N₃ a SH; cykloalkynyl, popřípadě substituovaný jednou nebo více skupinami vybranými z COOH, NH₂, NO₂, –NCS, –NCO, N₃ a SH; cykloazaoktynyl, popřípadě substituovaný jednou nebo více

- skupinami vybranými z COOH, NH₂, NO₂, -NCS, -NCO, N₃ a SH; maleinimid; fenyl; benzyl a -P(O)(OH)Z;
- a kde R⁴ a R^{4a} jsou nezávisle H, (C1 až C6)alkyl, který může být lineární nebo rozvětvený, (C3 až C6)cykloalkyl, benzyl;
- 5 a kde R⁵ a R^{5a} jsou nezávisle H, (C1 až C6)alkyl, který může být lineární nebo rozvětvený, (C3 až C6)cykloalkyl, benzyl, přičemž (C1 až C6)alkyl, (C3 až C6)cykloalkyl a benzyl mohou být nezávisle substituovány jednou nebo více skupinami vybranými z COOH; NH₂; NO₂; NX₂; C(O)NX₂; NHX; C(O)NHX; OH; SH; -NCS; tetrazin obecného vzorce III; (C7 až C8)cykloalkenyl v *trans* konfiguraci, který může být popřípadě dále substituován jednou nebo
- 10 více skupinami vybranými z COOH, NH₂, NO₂, -NCS, -NCO, N₃ a SH; norbornenyl, popřípadě substituovaný jednou nebo více skupinami vybranými z COOH, NH₂, NO₂, -NCS, -NCO, N₃ a SH; -N₃; (C2 až C6)alkynyl, popřípadě substituovaný jednou nebo více skupinami vybranými z COOH, NH₂, NO₂, -NCS, -NCO, N₃ a SH; cyklooktynyl, popřípadě substituovaný jednou nebo více skupinami vybranými z COOH, NH₂, NO₂, -NCS, -NCO, N₃ a SH; cykloazaoktynyl,
- 15 popřípadě substituovaný jednou nebo více skupinami vybranými z COOH, NH₂, NO₂, -NCS, -NCO, N₃ a SH; maleinimid; fenyl; benzyl a -P(O)(OH)Z;
- a kde R⁶ a R^{6a} je H;
- a kde R⁷, R⁸, R⁹ a R¹⁰ jsou nezávisle vybrané ze skupiny zahrnující H, (C1 až C6)alkyl, (C3 až C6)cykloalkyl, benzyl, NO₂ a/nebo dohromady R⁷ a R⁸ obsahují (C2 až C3)alkylen nebo vinylen
- 20 a/nebo dohromady R⁹ a R¹⁰ obsahují (C2 až C3)alkylen nebo vinylen,
- přičemž (C1 až C6)alkyl, (C3 až C6)cykloalkyl, benzyl, (C2 až C3)alkylen a vinylen mohou být nezávisle substituovány skupinou nebo skupinami vybranými z COOH; NH₂; NO₂; NX₂; C(O)NX₂; SH; tetrazin obecného vzorce III; (C7 až C8)cykloalkenyl v *trans* konfiguraci, popřípadě substituovaný jednou nebo více skupinami vybranými z COOH, NH₂, NO₂,
- 25 -NCS, -NCO, N₃ a SH; norbornenyl, popřípadě substituovaný jednou nebo více skupinami vybranými z COOH, NH₂, NO₂, -NCS, -NCO, N₃ a SH; -N₃; (C2 až C6)alkynyl, popřípadě substituovaný jednou nebo více skupinami vybranými z COOH, NH₂, NO₂, -NCS, -NCO, N₃ a SH; cyklooktynyl, popřípadě substituovaný jednou nebo více skupinami vybranými z COOH, NH₂, NO₂, -NCS, -NCO, N₃ a SH; cykloazaoktynyl, popřípadě substituovaný
- 30 jednou nebo více skupinami vybranými z COOH, NH₂, NO₂, -NCS, -NCO, N₃ a SH; maleinimid; fenyl; benzyl a -P(O)(OH)Z,
- kde Y je H, (C1 až C6)alkyl, -CH₂COOH, (C5 až C6)heterocyklus, obsahující alespoň jeden heteroatom N, S, O, nebo heteroaryl, obsahující alespoň jeden heteroatom N, S, O, s výhodou je Y atom vodíku, methyl nebo pyridyl; Z je H; OH; (C1 až C6)alkyl, který může být lineární nebo
- 35 rozvětvený; (C1 až C6)hydroxyalkyl; (C1 až C6)alkoxyl; fenyl nebo benzyl, přičemž fenyl nebo benzyl mohou být popřípadě substituovány jednou nebo více skupinami vybranými z COOH, NH₂, NO₂, N₃ a SH, s výhodou je substituent v para poloze; a X je nezávisle H; (C1 až C6)alkyl, který může být lineární nebo rozvětvený; (C3 až C6)cykloalkyl; fenyl a/nebo benzyl;
- přičemž (C1 až C6)alkyl, (C3 až C6)cykloalkyl, fenyl a/nebo benzyl mohou být nezávisle
- 40 substituovány jednou nebo více skupinami vybranými z COOH; NH₂; NO₂; NX₂; C(O)NX₂; NHX; C(O)NHX; SH; tetrazin obecného vzorce III; (C7 až C8)cykloalkenyl v *trans* konfiguraci, popřípadě substituovaný jednou nebo více skupinami vybranými z COOH, NH₂, NO₂, -NCS, -NCO, N₃ a SH; norbornenyl, popřípadě substituovaný jednou nebo více skupinami vybranými z COOH, NH₂, NO₂, -NCS, -NCO, N₃ a SH; -N₃; (C2 až C6)alkynyl,
- 45 popřípadě substituovaný jednou nebo více skupinami vybranými z COOH, NH₂, NO₂, -NCS, -NCO, N₃ a SH; cyklooktynyl, popřípadě substituovaný jednou nebo více skupinami vybranými z COOH, NH₂, NO₂, -NCS, -NCO, N₃ a SH; cykloazaoktynyl, popřípadě substituovaný jednou nebo více skupinami vybranými z COOH, NH₂, NO₂, -NCS, -NCO, N₃ a SH; maleinimid; fenyl; benzyl a -P(O)(OH)Z;
- 50 přičemž alespoň jedna ze skupin R, R^a, R¹, R², R³, R⁴, R^{4a}, R⁵, R^{5a}, R⁶, R^{6a}, R⁷, R⁸, R⁹ a R¹⁰ obsahuje alespoň jednu ze skupin -COOH; NH₂; NO₂; NX₂; NHX; C(O)NHX; N₃; SH; -NCS; tetrazin obecného vzorce III; (C7 až C8)cykloalkenyl v *trans* konfiguraci, popřípadě substituovaný jednou nebo více skupinami vybranými z COOH, NH₂, NO₂, NX₂, -NCS, -NCO, NHX; C(O)NHX; N₃ a SH; norbornenyl, popřípadě substituovaný jednou nebo více skupinami
- 55 vybranými z COOH, NH₂, NO₂, NX₂, -NCS, -NCO, NHX; C(O)NHX; N₃ a SH; -N₃, (C2 až

5 C6)alkynyl; cyklooktynyl, popřípadě substituovaný jednou nebo více skupinami vybranými z COOH, NH₂, NO₂, NX₂, -NCS, -NCO, NHX; C(O)NHX; N₃ a SH; cyklozaoktynyl, popřípadě substituovaný jednou nebo více skupinami vybranými z COOH, NH₂, NO₂, NX₂, -NCS, -NCO, NHX; C(O)NHX; N₃ a SH; maleinimid; fenyl, popřípadě substituovaný jednou nebo více skupinami vybranými z COOH, NH₂, NO₂, NX₂, -NCS, -NCO, NHX, C(O)NHX, N₃ a SH; benzyl, popřípadě substituovaný jednou nebo více skupinami vybranými z COOH, NH₂, NO₂, NX₂, -NCS, -NCO, NHX, C(O)NHX, N₃ a SH; (C1 až C6) alkyl, popřípadě substituovaný jednou nebo více skupinami vybranými z COOH, NH₂, NO₂, NX₂, -NCS, -NCO, NHX, C(O)NHX, N₃ a SH; a -P(O)(OH)Z.

10

V jednom provedení vynálezu R a R dohromady tvoří (C2 až C3)alkylen, který může být substituovaný (C1 až C6)alkylem, který může být lineární nebo rozvětvený.

15

V jiném provedení vynálezu jsou R, R^a, R¹, R², R³, R⁴, R^{4a}, R⁵, R^{5a}, R⁶ a R^{6a} nezávisle vybrány ze skupiny zahrnující H; (C1 až C6)alkyl, který může být lineární nebo rozvětvený; (C3 až C6)cykloalkyl; benzyl; fenyl; (C5–C6)heterocyklus, obsahující alespoň jeden heteroatom N, S, O;

20

a/nebo R¹ a/nebo R² a/nebo R³ je bisfosforová kyselina obecného vzorce II, s výhodou je alespoň jedna ze skupin R¹, R² a R³ bisfosforová kyselina obecného vzorce II, nejvýhodněji je R² bisfosforová kyselina obecného vzorce II.

25

Ve výhodném provedení je R² je vybrán ze skupiny zahrnující H; (C1 až C6)alkyl, který může být lineární nebo rozvětvený; (C3 až C6)cykloalkyl; benzyl; fenyl; (C5 až C6)heterocyklus, obsahující alespoň jeden heteroatom N, S, O; a bisfosforovou kyselinu obecného vzorce II.

V jiném výhodném provedení jsou sloučeniny na bázi cyklamu podle vynálezu vybrané ze skupiny zahrnující látky obecného vzorce I, jejichž substituenty jsou zastoupeny v následujících kombinacích:

Číslo sloučeniny	R	R ¹	R ³	R ²	R ⁴	R ⁵	R ⁶	R ⁷	R ⁸	R ⁹	R ¹⁰
1	H	H	H	H	CH ₃	H	H	H	H	H	H
2	H	CH ₃	CH ₃	CH ₃	CH ₃	H	H	H	H	H	H
3	H	CH ₃	CH ₃	H	H	H	H	H	H	H	H
4	H	CH ₃	CH ₃	CH ₃	H	H	H	H	H	H	H
5	OH	benzyl	benzyl	H	H	H	H	H	H	H	H
7	OH	H	benzyl	benzyl	H	H	H	H	H	H	H
8	<i>p</i> -nitrobenzyl	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
9	<i>p</i> -aminobenzylyl	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
10	<i>p</i> -SCN-benzyl	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
11	<i>p</i> -azidobenzylyl	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
12	-CH ₂ N(Bz) ₂	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
13	-CH ₂ NH ₂	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
14	-(CH ₂) ₂ COOH	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
15	H	H	H	H	H	-(CH ₂) ₄ COOH	H	H	H	H	H
16	H	H	H	H	H	H	H	CH ₃	NO ₂	NO ₂	CH ₃
22	H	CH ₃	CH ₃	kyselina vzorce II, kde R ^a = R, R ^{4a} až R ^{6a} = H	H	H	H	H	H	H	H

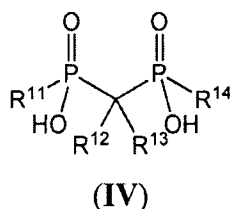
23	$-(\text{CH}_2)_2\text{COOH}$	CH_3	CH_3	H	H	H	H	H	H	H	H	H
24	OH	benzyl	benzyl	H	H	H	H	H	H	H	H	H
25	OH	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
26	OH	$-\text{CH}_2\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2$	benzyl	H	H	H	H	H	H	H	H	H
27	OH	$-\text{CH}_2\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2$	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
28	H	$-(\text{CH}_2)_2-$	$-(\text{CH}_2)_2-$	H	H	H	H	H	H	H	H	H
29	OH	$-(\text{CH}_2)_2-$	$-(\text{CH}_2)_2-$	H	H	H	H	H	H	H	H	H
30	H	$-(\text{CH}_2)_2-$	$-(\text{CH}_2)_2-$	CH_3	H	H	H	H	H	H	H	H
31	<i>p</i> -nitrobenzyl	$-(\text{CH}_2)_2-$	$-(\text{CH}_2)_2-$	H	H	H	H	H	H	H	H	H
32	H	$-(\text{CH}_2)_2-$	$-(\text{CH}_2)_2-$	H	H	H	H	H	H	H	H	H
33	$-\text{CH}_2\text{OH}$	$-(\text{CH}_2)_2-$	$-(\text{CH}_2)_2-$	H	H	H	H	H	H	H	H	H
34	OH	$-(\text{CH}_2)_2-$	$-(\text{CH}_2)_2-$	H	H	H	H	H	H	H	H	H
35	$-(\text{CH}_2)_2\text{COOH}$	$-(\text{CH}_2)_2-$	$-(\text{CH}_2)_2-$	H	H	H	H	H	H	H	H	H
36	H	$-(\text{CH}_2)_2-$	$-(\text{CH}_2)_2-$	H	H	H	H	H	H	H	H	H
37	<i>p</i> -nitrobenzyl	$-(\text{CH}_2)_2-$	$-(\text{CH}_2)_2-$	H	H	H	H	H	H	H	H	H

Předmětem předkládaného vynálezu je rovněž konjugát sloučeniny na bázi cyklamu podle předkládaného vynálezu a alespoň jedné konjugační skupiny, která je ke sloučenině na bázi cyklamu kovalentně vázána a která je vybraná ze skupiny obsahující OH, -COOH; NH₂; NX₂, NHX; C(O)NHX; tetrazin obecného vzorce **III** norbornenyl, popřípadě substituovaný jednou nebo více skupinami vybranými z COOH, NH₂, NO₂, NX₂, -NCS, -NCO, NHX; C(O)NHX; N₃ a SH; cyklozaoktynyl, popřípadě substituovaný jednou nebo více skupinami vybranými z COOH, -NCS, -NCO, C(O)NHX, (C1 až C6)alkyl, (C6)aryl; maleinimid; a -P(O)(OH)Z; přičemž konjugát může mezi sloučeninou na bázi cyklamu a konjugační skupinou a/nebo mezi dvěma konjugačními skupinami dále obsahovat spacer, vybraný ze skupiny obsahující (C1 až C6)*n*-alkyl, popřípadě substituovaný C=O a/nebo -NH- skupinou; fenylem; řetězce aminokyselin o délce 1 až 5 aminokyselin; polyethylenglykoly o 1 až 10 monomerních jednotkách.

Předmětem předkládaného vynálezu jsou rovněž koordinační sloučeniny sloučenin na bázi cyklamu obecného vzorce **I** nebo konjugátů podle předkládaného vynálezu s kationty kovů vybraných ze skupiny sestávající z Cu²⁺, Bi³⁺, kationty lanthanoidů, Sc³⁺, Y³⁺, Pb²⁺, Zr⁴⁺, Ac³⁺, Mn²⁺ a Mn³⁺, s výhodou kationty lanthanoidů, Bi³⁺, Y³⁺ a Cu²⁺, výhodněji Lu³⁺, Bi³⁺, Y³⁺ a Cu²⁺. Kationty kovů mohou být s výhodou radioizotopy kovů, zejména radioizotopy mědi, lutecia, bismutu a yttria.

Předmětem předkládaného vynálezu je rovněž cílicí konjugát, který obsahuje sloučeninu na bázi cyklamu obecného vzorce **I** a/nebo konjugát a/nebo koordinační sloučeninu podle předkládaného vynálezu a cílicí vektor, vybraný ze skupiny zahrnující bis(fosfonáty), fluorescein, oligopeptidy o 1 až 15 aminokyselinách, protilátky, s výhodou rituximab, kyselinu listovou, biotin, cyklodextriny, PAMAM dendrimery, hydrofilní polyakryláty a polyakrylamidy.

Předmětem vynálezu je rovněž způsob přípravy sloučenin na bázi cyklamu obecného vzorce **I** podle předkládaného vynálezu, kdy se meziproduct obecného vzorce **IV**,



kde R¹¹, R¹², R¹³ a R¹⁴ jsou v následujících kombinacích:

Meziproduct	R ¹¹	R ¹²	R ¹³	R ¹⁴
A	H	H	H	OH
B	H	H	H	<i>p</i> -nitrobenzyl
C	H	H	H	-CH ₂ N(benzyl) ₂
D	H	H	H	-(CH ₂) ₂ COOH
E	H	-(CH ₂) ₄ COOH	H	H
F	OH	-(CH ₂) ₃ NH(4-dibenzylcyklooktynamidobutoxyl)	OH	OH

nebo sloučenina, vybraná ze skupiny obsahující methylen-bis(fosfinovou kyselinu), kyselinu fosforitou, kyselinu hydroxymethylfosfinovou, podrobí reakci s derivátem cyklamu a aldehydem ve vodném roztoku kyseliny o koncentraci v rozmezí od 10 do 40 % hmotn. s výhodou v rozmezí od 18 do 36 % hmotn., při teplotě v rozmezí od 40 do 80 °C po dobu alespoň 12 hodin;

příčemž derivátem cyklámu je 1,4,8,11-tetraazacyklotetradekan a jeho deriváty a 1,4,8,11-tetraazabicyklo[6.6.2]hexadekan a jeho deriváty, s výhodou je derivát cyklámu vybraný ze skupiny zahrnující 1,4,8,11-tetraazacyklotetradekan, 1,4,8,11-tetraazabicyklo[6.6.2]hexadekan, 1,4,8-trimethyl-1,4,8,11-tetraazacyklotetradekan, 1,8-dimethyl-1,4,8,11-tetraazacyklotetradekan, 1,8-dibenzyl-1,4,8,11-tetraazacyklotetradekan, 1,4-dibenzyl-1,4,8,11-tetraazacyklotetradekan, 6,13-dimethyl-6,13-dinitro-1,4,8,11-tetraazacyklotetradekan; aldehyd je vybraný ze skupiny obsahující acetaldehyd, formaldehyd a para-formaldehyd, a kyselinou je s výhodou HCl a/nebo CF₃COOH; a přičemž reakci může předcházet krok přípravy meziprojektu.

V jednom provedení způsobu přípravy sloučenin na bázi cyklámu obecného vzorce I podle předkládaného vynálezu se výsledný produkt dále podrobí redukci.

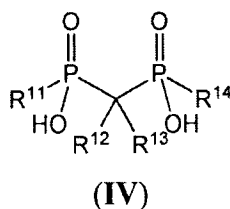
V jiném provedení způsobu přípravy sloučenin na bázi cyklámu obecného vzorce I podle předkládaného vynálezu se výsledný produkt dále podrobí oxidaci.

V jiném provedení způsobu přípravy sloučenin na bázi cyklámu obecného vzorce podle předkládaného vynálezu se výsledný produkt dále podrobí reakci s aldehydem; a popřípadě meziprojektu obecného vzorce nebo sloučeninou, vybranou ze skupiny obsahující methylen-bis(fosfinovou kyselinu), kyselinu fosforitou, kyselinu hydroxymethylfosfinovou; ve vodném roztoku kyseliny, s výhodou HCl nebo CF₃COOH.

V jiném provedení při způsobu přípravy sloučenin na bázi cyklámu obecného vzorce I podle předkládaného vynálezu po kroku redukce následuje krok, kdy se produkt redukce podrobí reakci s CSeCl₂ nebo COCl₂.

V jiném provedení při způsobu přípravy sloučenin na bázi cyklámu obecného vzorce I podle předkládaného vynálezu po kroku redukce následuje krok, kdy se výsledný produkt redukce podrobí reakci s NaN₃.

Předmětem předkládaného vynálezu je rovněž meziprojekt obecného vzorce IV,



kde R¹¹, R¹², R¹³ a R¹⁴ jsou v následujících kombinacích:

35

Meziprojekt	R ¹¹	R ¹²	R ¹³	R ¹⁴
B	H	H	H	<i>p</i> -nitrobenzyl
C	H	H	H	-CH ₂ N(benzyl) ₂
D	H	H	H	-(CH ₂) ₂ COOH
E	H	-(CH ₂) ₄ COOH	H	H
F	OH	-(CH ₂) ₃ NH(4-dibenzylcyklooktynamidobutoxyl)	OH	OH

Předmětem vynálezu je také farmaceutický přípravek, který obsahuje alespoň jednu sloučeninu na bázi cyklámu podle předkládaného vynálezu a/nebo alespoň jeden konjugát podle předkládaného vynálezu a/nebo alespoň jednu koordinační sloučeninu podle předkládaného vynálezu a/nebo alespoň jeden cílicí konjugát podle předkládaného vynálezu, a farmaceuticky přijatelný nosič.

Předmětem vynálezu je rovněž sloučenina na bázi cyklámu podle předkládaného vynálezu a/nebo alespoň jeden konjugát podle předkládaného vynálezu a/nebo alespoň jedna koordinační sloučenina podle předkládaného vynálezu a/nebo alespoň jeden cílicí konjugát podle předkládaného vynálezu a/nebo farmaceutický přípravek podle předkládaného vynálezu pro použití jako léčivo, s výhodou při léčbě nádorových onemocnění, zánětů a/nebo aterosklerózy. Zejména koordinační sloučeniny podle vynálezu s radioizotopy kovů, s výhodou radioizotopy mědi, lutecia, bismutu a yttria, jsou vhodné pro použití jako léčivo při radioterapii.

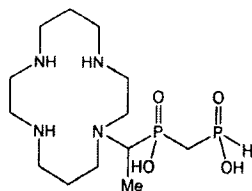
Předmětem vynálezu je sloučenina na bázi cyklámu podle kteréhokoli z nároků 1 až 5 a/nebo alespoň jeden konjugát podle předkládaného vynálezu a/nebo alespoň jedna koordinační sloučenina podle předkládaného vynálezu a/nebo alespoň jeden cílicí konjugát podle předkládaného vynálezu a/nebo farmaceutický přípravek podle předkládaného vynálezu pro použití jako kontrastní látky v lékařské diagnostice, s výhodou při diagnostice nádorových onemocnění, zánětů a/nebo aterosklerózy. Pro luminiscenční metody v lékařské diagnostice jsou zejména vhodné koordinační sloučeniny podle vynálezu s kationty troj mocných lanthanoidů, pro magnetickou nukleární resonanci (NMR, MRI) jsou vhodné koordinační sloučeniny gadolinia.

Předmětem vynálezu je použití sloučenin na bázi cyklámu podle předkládaného vynálezu a/nebo konjugátů podle předkládaného vynálezu a/nebo koordinační sloučeniny podle předkládaného vynálezu a/nebo cílicího konjugátů podle předkládaného vynálezu a/nebo farmaceutického přípravku podle předkládaného vynálezu v radiochemii jako značek nebo prekurzorů značek při značení pomocí radioizotopů mědi, lutecia, bismutu a yttria, s výhodou pomocí radioizotopů mědi, výhodněji ^{64}Cu .

Předmětem vynálezu je použití sloučenin na bázi cyklámu podle předkládaného vynálezu a/nebo konjugátů podle předkládaného vynálezu a/nebo koordinační sloučeniny podle předkládaného vynálezu a/nebo cílicího konjugátů podle předkládaného vynálezu ke komplexaci a/nebo čištění radioizotopů mědi.

Příklady uskutečnění vynálezu

40 *Příklad 1: Příprava látky I*



Do skleněné vialky (4 mL) byl navážen 1,4,8,11-tetraazacyclotetradekan (205 mg; 1,02 mmol; 5,0 ekviv.). Dále byly postupně přidány methylen-bis(fosfinová kyselina) (85,6 mg; 594 μmol ; 2,9 ekviv.), acetaldehyd (9,0 mg; 205 μmol ; 1,0 ekviv.) a vodná HCl (6 M; 2 mL). Vzniklá suspenze byla míchána přes noc při 80 °C. Druhý den byla směs odpařena do sucha a poté několikrát odpařena s H₂O. Surový produkt byl čištěn pomocí iontoměniče (DOWEX 50; H⁺-forma; H₂O → 10% vodný pyridin). Pyridinová frakce s produktem byla odpařena do sucha a poté několikrát odpařena s H₂O. Odparek byl rozpuštěn v H₂O (25 mL) a vzniklý roztok byl

lyofilizován. Výsledný produkt byl získán jako bílá látka (35,0 mg; 40%; 1 krok; vztaženo na acetaldehyd).

NMR (D_2O): 1H δ 1,16 (CH_3 , dd, 3H, $^3J_{HP} = 15$ Hz, $^2J_{HH} = 7$ Hz); 1,73–2,00 ($P-CH_2-P$, $CH_2-CH_2-CH_2$, m, 5H); 2,08 ($P-CH_2-P$, dddd, 1H, $^2J_{HH} = 19$ Hz, $^2J_{HP} = 16$ Hz, $^2J_{HP} = 12$ Hz, $^3J_{HH} = 4$ Hz); 2,52–3,24 (CH_2-N , m, 16H); 3,37 ($CH-CH_3$, dq, 1H, $^2J_{HP} = 14$ Hz, $^2J_{HH} = 7$ Hz); 7,12 (PH , dd, $^1J_{HP} = 534$ Hz, $^2J_{HH} = 4$ Hz); $^{13}C\{^1H\}$ δ 6,3 (CH_3 , bm); 23,9 ($CH_2-CH_2-CH_2$, s); 26,2 ($CH_2-CH_2-CH_2$, s); 34,2 ($P-CH_2-P$, dd, $^1J_{CP} = 78$ Hz, $^1J_{CP} = 73$ Hz); 44,8 (*cyklus*, s); 46,4 (*cyklus*, s); 46,5 (*cyklus*, s); 46,7 (*cyklus*, s); 49,4 (*cyklus*, s); 49,6 (*cyklus*, d, $^3J_{CP} = 10$ Hz); 50,0 (*cyklus*, s); 50,6 (*cyklus*, s); 52,0 ($N-CH-P$, d, $^1J_{CP} = 109$ Hz); ^{31}P δ 19,1 (PH , dtd, 1P, $^1J_{PH} = 534$ Hz, $^2J_{PH} = 16$ Hz, $^2J_{PP} = 4$ Hz); 35,5 ($N-CH-P$, m, 1P).

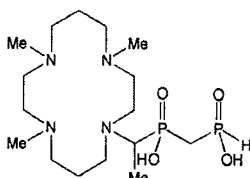
MS: (–) 368,8 [$M-H^+$][–]. (+) 371,0 [$M+H^+$]⁺; 392,9 [$M+Na^+$]⁺; 408,9 [$M+K^+$]⁺.

TLC (SiO_2 , *i*-PrOH–konc. NH_4OH-H_2O 7:3:3): $R_f = 0,7$.

EA ($C_{13}H_{32}N_4O_4P_2 \cdot 3,5H_2O$, $M_R = 433,4$): C 36,0 (35,6); H 9,1 (8,9); N 12,9 (13,2).

15

Příklad 2: Příprava látky 2



Do skleněné vialky (4 mL) byl navážen tetrahydrochlorid 1,4,8–trimethyl–1,4,8,11–tetraazacyclotetradekanu (65,2 mg; 168 μ mol; 1,0 ekviv.). Dále byly postupně přidány methylenbis(fosfinová kyselina) (73,2 mg; 508 μ mol; 3,0 ekviv.), acetaldehyd (8,1 mg; 184 μ mol; 1,1 ekviv.) a vodná HCl (6 M; 2 mL). Vzniklá suspenze byla míchána dva dny při 60 °C. Druhý den byla směs odpařena do sucha a poté několikrát odpařena s H_2O . Surový produkt byl čištěn pomocí iontoměniče (DOWEX 50; H^+ –forma; $H_2O \rightarrow 10\%$ vodný pyridin). Pyridinová frakce s produktem byla odpařena do sucha a poté několikrát odpařena s H_2O . Odparek byl následně znovu rozpuštěn v H_2O (50 mL). Takto vzniklý roztok byl lyofilizován. Výsledný produkt byl získán jako bílá látka (48,7 mg; 63%; 1 krok; vztaženo na acetaldehyd).

NMR (D_2O): 1H δ 1,19 (CH_3-C , dd, 3H, $^3J_{HP} = 16$ Hz, $^2J_{HH} = 7$ Hz); 1,68 ($CH_2-CH_2-CH_2$, m, 4H); 1,81 ($P-CH_2-P$, m, 1H); 1,98 ($P-CH_2-P$, m, 1H); 2,25 (CH_3-N , m, 3H); 2,27 (CH_3-N , s, 6H); 2,48–3,16 (CH_2-N , m, 16H); 3,41 ($CH-CH_3$, dq, 1H, $^2J_{HP} = 15$ Hz, $^2J_{HH} = 7$ Hz); 7,13 (PH , dm, $^1J_{HP} = 533$ Hz); $^{13}C\{^1H\}$ δ 7,1 (CH_3-C , s); 21,4 ($CH_2-CH_2-CH_2$, s); 22,7 ($CH_2-CH_2-CH_2$, s); 35,2 ($P-CH_2-P$, dd, $^1J_{CP} = 77$ Hz, $^1J_{CP} = 73$ Hz); 43,6 (CH_3-N , s); 43,7 (CH_3-N , s); 43,9 (CH_3-N , s); 46,2 (*cyklus*, s); 48,2 (*cyklus*, s); 50,0 (*cyklus*, s); 50,8 (*cyklus*, d, $^3J_{CP} = 8$ Hz); 51,3 (*cyklus*, d, $^3J_{CP} = 9$ Hz); 51,9 (*cyklus*, s); 53,5 (*cyklus*, s); 53,6 (*cyklus*, s); 56,5 ($N-CH_2-P$, d, $^1J_{CP} = 109$ Hz); ^{31}P δ 19,7 (PH , dtd, 1P, $^1J_{PH} = 533$ Hz, $^2J_{PH} = 16$ Hz, $^2J_{PP} = 3$ Hz); 32,1 ($N-CH-P$, m, 1P).

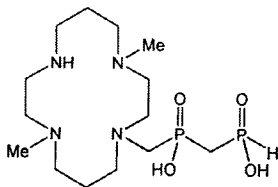
MS: (–) 410,9 [$M-H^+$][–]. (+) 413,1 [$M+H^+$]⁺; 435,1 [$M+Na^+$]⁺; 451,0 [$M+K^+$]⁺.

TLC (SiO_2 , EtOH–konc. NH_4OH 4:1): $R_f = 0,3$.

EA ($C_{16}H_{38}N_4O_4P_2 \cdot 2,5H_2O$, $M_R = 457,4$): C 42,0 (42,3); H 9,5 (9,1); N 12,3 (12,2).

40

Příklad 3: Příprava látky 3



Do skleněné baňky (25 mL) byl navážen tetrahydrochlorid 1,8-dimethyl-1,4,8,11-tetraazacyclotetradekanu (1,56 g; 4,17 mmol; 2,5 ekviv.). Dále byly postupně přidány methylen-
 5 bis(fosfinová kyselina) (480 mg; 3,33 mmol; 2,0 ekviv.), paraformaldehyd (50 mg; 1,67 mmol; 1,0 ekviv.) a vodná HCl (6 M; 5 mL). Vzniklá suspenze byla míchána přes noc při 80 °C. Druhý den byla směs odpařena do sucha a poté několikrát odpařena s H₂O. Surový produkt byl čištěn pomocí iontoměniče (DOWEX 50; H⁺-forma; H₂O → 10% vodný pyridin). Pyridinová frakce s produktem byla odpařena do sucha a poté několikrát odpařena s H₂O. Surový produkt byl čištěn
 10 sloupcovou chromatografií (SiO₂; EtOH-konc. NH₄OH 4:1; R_f = 0,4). Frakce s produktem byly spojeny a odpařeny do sucha. K odparku byla přidána H₂O (25 mL) a malé množství aktivního uhlí a vzniklá suspenze byla přefiltrována přes stříkačkový mikrofiltr (Millipore; 0,22 μm). Filtrát byl znovu čištěn pomocí iontoměniče (DOWEX 50; H⁺-forma; H₂O → 10% vodný pyridin). Pyridinová frakce s produktem byla odpařena do sucha a poté několikrát odpařena s
 15 H₂O. Odparek byl rozpuštěn v H₂O (25 mL) a vzniklý roztok byl lyofilizován. Výsledný produkt byl získán jako bílá látka (215 mg; 29 %; 1 krok; vztaženo na paraformaldehyd).

NMR (D₂O): ¹H δ 1,70 (CH₂—CH₂—CH₂, p, 2H, ³J_{HH} = 7 Hz); 1,76 (CH₂—CH₂—CH₂, p, 2H, ³J_{HH} = 7 Hz); 2,03 (P—CH₂—P, ddd, 2H, ²J_{HP} = 18 Hz, ²J_{HP} = 16 Hz, ³J_{HH} = 2 Hz); 2,24 (CH₃, s, 3H); 2,30 (CH₃, s, 3H); 2,50 (cyklus, t, 2H, ³J_{HH} = 7 Hz); 2,57 (cyklus, m, 4H); 2,66 (cyklus, t, 2H, ³J_{HH} = 7 Hz); 2,69–2,82 (cyklus, N—CH₂—P, m, 10H); 7,14 (PH, dt, ¹J_{HP} = 531 Hz, ³J_{HH} = 2 Hz); ¹³C{¹H} δ 23,0 (CH₂—CH₂—CH₂, s); 23,6 (CH₂—CH₂—CH₂, s); 35,9 (P—CH₂—P, dd, ¹J_{CP} = 77 Hz, ¹J_{CP} = 75 Hz); 43,5 (cyklus, s); 43,2 (CH₃, s); 43,8 (CH₃, s); 44,8 (cyklus, s); 51,1 (cyklus, d, ³J_{CP} = 8 Hz); 52,2 (cyklus, s); 53,1 (cyklus, s); 53,4 (cyklus, s); 53,5 (cyklus, d, ³J_{CP} = 6 Hz); 53,7 (cyklus, s); 56,1 (N—CH₂—P, d, ¹J_{CP} = 109 Hz); ³¹P δ 19,8 (PH, dtd, 1P, ¹J_{PH} = 531 Hz, ²J_{PH} = 18 Hz, ²J_{PP} = 3 Hz); 32,5 (N—CH—P, m, 1P).

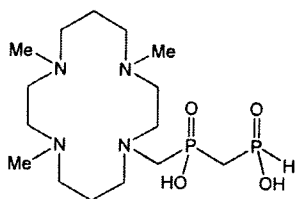
MS: (–) 382,6 [M–H]⁺. (+) 384,6 [M+H]⁺; 406,8 [M+Na]⁺.

TLC (SiO₂, EtOH-konc. NH₄OH 4:1): R_f = 0,4.

EA (C₁₄H₃₄N₄O₄P₂·3,5H₂O, M_R = 447,5): C 37,6 (37,5); H 9,2 (9,0); N 12,5 (12,4).

30

Příklad 4: Příprava látky 4

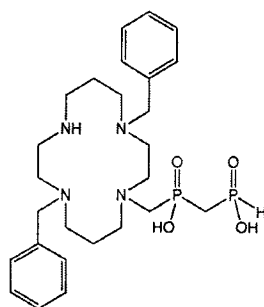


Do skleněné vialky (4 mL) byl navážen tetrahydrochlorid 1,4,8-trimethyl-1,4,8,11-tetraazacyclotetradekanu (37,8 mg; 99,7 μmol; 1,0 ekviv.). Dále byly postupně přidány methylen-
 35 bis(fosfinová kyselina) (55,6 mg; 386 μmol; 3,9 ekviv.), paraformaldehyd (5,6 mg; 210 μmol; 2,1 ekviv.) a vodná HCl (6 M; 2 mL). Vzniklá suspenze byla míchána dva dny při 60 °C. Druhý den byla směs odpařena do sucha a poté několikrát odpařena s H₂O. Surový produkt byl čištěn pomocí iontoměniče (DOWEX 50; H⁺-forma; H₂O → 10% vodný pyridin). Pyridinová frakce s produktem byla odpařena do sucha a poté několikrát odpařena s H₂O. Odparek byl následně znovu rozpuštěn v H₂O (25 mL). Takto vzniklý roztok byl lyofilizován. Výsledný produkt byl získán jako bílá látka (35,4 mg; 82%; 1 krok; vztaženo na paraformaldehyd).

40

NMR (D₂O): ¹H δ 1,71 (CH₂—CH₂—CH₂, m, 4H); 2,04 (P—CH₂—P, ddd, 2H, ²J_{HP} = 18 Hz, ²J_{HP} = 16 Hz, ³J_{HH} = 2 Hz); 2,24 (CH₃, m, 6H); 2,27 (CH₃, s, 3H); 2,47–2,64 (cyklus, m, 12H); 2,75 (cyklus, m, 2H); 2,81 (N—CH₂—P, d, 2H, ³J_{HH} = 9 Hz); 2,84 (cyklus, m, 2H); 7,14 (PH, dt, ¹J_{HP} = 531 Hz, ³J_{HH} = 2 Hz); ¹³C {¹H} δ 20,2 (CH₂—CH₂—CH₂, s); 20,6 (CH₂—CH₂—CH₂, s); 35,4 (P—CH₂—P, t, ¹J_{CP} = 77 Hz); 43,5 (CH₃, s); 43,7 (CH₃, s); 43,8 (CH₃, s); 49,0 (cyklus, s); 49,2 (cyklus, s); 49,6 (cyklus, s); 50,0 (cyklus, d, ³J_{CP} = 8 Hz); 52,1 (cyklus, d, ³J_{CP} = 8 Hz); 52,2 (cyklus, s); 53,4 (cyklus, s); 53,5 (cyklus, s); 56,7 (N—CH₂—P, d, ¹J_{CP} = 109 Hz); ³¹P δ 19,7 (PH, dtd, 1P, ¹J_{PH} = 531 Hz, ²J_{PH} = 18 Hz, ²J_{PP} = 3 Hz); 32,1 (N—CH—P, m, 1P).
MS: (–) 396,8 [M–H][–]. (+) 399,0 [M+H]⁺; 421,0 [M+Na]⁺; 437,0 [M+K]⁺.
TLC (SiO₂, EtOH–konc. NH₄OH 4:1): R_f = 0,2.
EA (C₁₄H₃₄N₄O₄P₂·2H₂O, M_R = 434,5): C 41,5 (41,8); H 9,3 (9,1); N 12,9 (12,9).

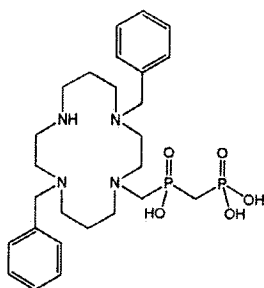
Příklad 5: Příprava látky 5



Do skleněné vialky (20 mL) byl navážen tetrahydrochlorid 1,8–dibenzyl–1,4,8,11–tetraazacyclotetradekanu (506 mg; 959 μmol; 2,0 ekviv.) a methylen–bis(fosfinová kyselina) (136 mg; 944 μmol; 2,0 ekviv.). Dále byla postupně přidána CF₃COOH (5 mL) a vodná HCl (12 M, 5 mL). K vzniklé suspenzi byl přidán paraformaldehyd (20,9 mg; 474 μmol; 1,0 ekviv.) a směs byla poté zahřívána při 80 °C dva dny. Poté byla směs odpařena do sucha a poté několikrát odpařena s H₂O. Surový produkt byl čištěn sloupcovou chromatografií (SiO₂; EtOH–konc. NH₄OH 5:1; R_f = 0,6). Frakce s produktem byly spojeny a odpařeny do sucha. K odparku byla přidána H₂O (25 mL) a malé množství aktivního uhlí a vzniklá suspenze byla přefiltrována přes stříkačkový mikrofiltér (Millipore; 0,22 μm). Filtrát byl čištěn pomocí iontoměniče (DOWEX 50; 50 mL; H⁺–forma; voda → 10% vodný pyridin). Pyridinová frakce s produktem byla odpařena do sucha a poté několikrát odpařena s H₂O. Odparek byl následně znovu rozpuštěn v H₂O (100 mL) a takto vzniklý roztok byl lyofilizován. Výsledný produkt byl získán jako bílá látka (146 mg; 54%; 1 krok; vztaženo na paraformaldehyd).

NMR (D₂O): δ 1,82 (CH₂—CH₂—CH₂, m, 4H); 2,05 (P—CH₂—P, dd, 2H, ²J_{HP} = 18 Hz, ²J_{HP} = 15 Hz); 2,46–2,61 (cyklus, m, 6H); 2,74–3,12 (cyklus, N—CH₂—P, m, 10H); 3,68 (CH₂—Ph, s, 2H); 3,75 (CH₂—Ph, s, 2H); 7,14 (PH, d, ¹J_{HP} = 529 Hz); 7,22–7,35 (Ph, m, 10H); ¹³C {¹H} δ 24,1 (CH₂—CH₂—CH₂, s); 27,2 (CH₂—CH₂—CH₂, s); 37,1 (P—CH₂—P, dd, ¹J_{CP} = 79 Hz, ¹J_{CP} = 71 Hz); 41,6 (cyklus, s); 42,2 (cyklus, s); 50,1 (cyklus, d, ³J_{CP} = 7 Hz); 52,2 (cyklus, s); 53,3 (cyklus, s); 53,4 (cyklus, s); 53,8 (cyklus, d, ³J_{CP} = 9 Hz); 54,2 (cyklus, s); 56,2 (CH₂—Ph, s); 58,8 (N—CH₂—P, d, ¹J_{CP} = 105 Hz); 59,1 (CH₂—Ph, s); 124,1 (Ph, s); 126,4 (Ph, s); 128,1 (Ph, s); 128,3 (Ph, s); 128,9 (Ph, s); 130,8 (Ph, s); 138,1 (Ph, s); 139,1 (Ph, s); ³¹P δ 26,4 (PH, dm, 1P, ¹J_{PH} = 529 Hz); 34,3 (N—CH—P, m, 1P).
MS: (–) 535,1 [M–H][–]. (+) 537,1 [M+H]⁺; 559,2 [M+Na]⁺; 581,4 [M–H⁺+2Na]⁺.
TLC (SiO₂, EtOH–konc. NH₄OH 5:1): R_f = 0,6.
EA (C₂₆H₄₂N₄O₄P₂·2H₂O, M_R = 572,6): C 54,5 (54,7); H 8,1 (7,7); N 9,8 (10,0).

Příklad 6: Příprava látky 6



5 Ve skleněné baňce (50 mL) byla rozpuštěna navážka látky $5 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (103 mg; 180 μmol ; 1,0 ekvív.) ve vodné HCl (1%; 10 mL). Následně byl přidán roztok HgCl_2 (83,1 mg; 306 μmol ; 1,7 ekvív.) v H_2O (10 mL) a vzniklá směs byla míchána přes noc při 60 °C. Druhý den byla vzniklá sraženina odfiltrována a promyta H_2O . Do matečného louhu pak byl zaváděn plynný H_2S . Vzniklá sraženina byla odfiltrována a promyta vodou a filtrát byl následně odpařen do sucha. Odparek byl dále dosušen pomocí vakuové pumpy a následně v evakuovaném exsíkátoru nad P_2O_5 . Výsledný produkt byl získán jako bílá látka (106 mg; 84%; 1 krok; vztaženo na látku $5 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$).

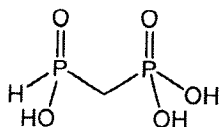
15 **NMR** (D_2O): ^1H δ 1,76 ($\text{CH}_2\text{—CH}_2\text{—CH}_2$, p, 2H, $^3J_{\text{HH}} = 4$ Hz), 1,88 ($\text{CH}_2\text{—CH}_2\text{—CH}_2$, m 2H); 2,03 (P— CH_2 —P, dd, 2H, $^2J_{\text{HP}} = 18$ Hz, $^2J_{\text{HP}} = 14$ Hz); 2,44 (cyklus, m, 2H); 2,51–2,63 (cyklus, m, 4H); 2,69–3,30 (cyklus, N— CH_2 —P, m, 10H); 3,72 ($\text{CH}_2\text{—Ph}$, s, 2H); 3,74 ($\text{CH}_2\text{—Ph}$, s, 2H); 7,16 (Ph, m, 2H); 7,25–7,34 (Ph, m, 8H); $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ δ 24,9 ($\text{CH}_2\text{—CH}_2\text{—CH}_2$, s); 26,9 ($\text{CH}_2\text{—CH}_2\text{—CH}_2$, s); 36,6 (P— CH_2 —P, dd, $^1J_{\text{CP}} = 114$ Hz, $^1J_{\text{CP}} = 70$ Hz); 40,8 (cyklus, s); 42,2 (cyklus, s); 50,3 (cyklus, d, $^3J_{\text{CP}} = 7$ Hz); 52,8 (cyklus, s); 53,5 (cyklus, s); 53,6 (cyklus, s); 53,8 (cyklus, d, $^3J_{\text{CP}} = 9$ Hz); 54,8 (cyklus, s); 55,3 ($\text{CH}_2\text{—Ph}$, s); 58,8 ($\text{CH}_2\text{—Ph}$, s); 60,1 (N— CH_2 —P, d, $^1J_{\text{CP}} = 106$ Hz); 125,2 (Ph, s); 125,9 (Ph, s); 128,1 (Ph, s); 128,3 (Ph, s); 130,0 (Ph, s); 130,2 (Ph, s); 138,5 (Ph, s); 140,3 (Ph, s); $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ δ 21,4 (HO—P—OH, d, 1P, $^2J_{\text{PP}} = 9$ Hz); 33,3 (N—CH—P, d, 1P, $^2J_{\text{PP}} = 9$ Hz).

20 **MS**: (–) 551,1 [M—H^+].

TLC (SiO_2 , EtOH–konc. NH_4OH 5:1): $R_f = 0,2$.

25 **EA** ($\text{C}_{26}\text{H}_{42}\text{N}_4\text{O}_5\text{P}_2 \cdot 3,5\text{HCl} \cdot \text{H}_2\text{O}$, $M_R = 698,2$): C 44,7 (45,0); H 6,9 (6,7); N 8,0 (8,1).

Příklad 7: Příprava meziprojektu A



30 Ve skleněné baňce byla rozpuštěna navážka methylen–bis(fosfinové) kyseliny (2,50 g; 17,4 mmol; 1,0 ekvív.) v H_2O (50 mL). Následně byl přidán roztok HgCl_2 (5,90 g; 21,7 mmol; 1,2 ekvív.) v H_2O (50 mL) a vzniklá směs byla míchána 3 dny při 60 °C. Následně byla vzniklá sraženina odfiltrována a promyta H_2O . Do matečného louhu pak byl zaváděn plynný H_2S . Vzniklá sraženina byla odfiltrována a promyta vodou a filtrát byl následně odpařen do sucha. Surový produkt byl čištěn sloupcovou chromatografií (SiO_2 ; *i*PrOH–konc. $\text{NH}_4\text{OH—H}_2\text{O}$ 7:3:3; $R_f = 0,2$). Frakce s produktem byly spojeny a odpařeny do sucha. K odparku byla přidána H_2O (100 mL) a malé množství aktivního uhlí a vzniklá suspenze byla přefiltrována přes stříkačkový mikrofiltr (Millipore; 0,22 μm). Filtrát byl čištěn pomocí iontoměniče (DOWEX 50; H^+ –forma; H_2O). Vodná frakce byla odpařena do sucha a odparek byl dále dosušen pomocí vakuové pumpy a následně v evakuovaném exsíkátoru nad P_2O_5 . Výsledný produkt byl získán jako bílá látka (1,24 g; 42%; 1 krok; vztaženo na methylen–bis(fosfinovou kyselinu)).

Do skleněné baňky (100 mL) byl k suspenzi methylen-bis(fosfinové) kyseliny (1,04 g; 7,22 mol; 1,0 ekviv.) v suchém CH_2Cl_2 ; (25 mL) přidán *N,N*-diisopropylethylamin (9,90 mL; 57,8 mmol; 8,0 ekviv.) a baňka byla mírně propláchnuta proudem argonu. Následně byl přidán trimethylsilylchlorid (5,50 mL; 43,5 mmol; 6,0 ekviv.) a výsledná směs byla míchána 1 hodinu při laboratorní teplotě. Poté byl přidán roztok 4-nitrobenzylbromidu (1,87 g; 8,66 mmol; 1,2 ekviv.) v suchém CH_2Cl_2 (20 mL) a vzniklá směs byla míchána 3 dny při laboratorní teplotě. Reakce byla zastavena přidáním EtOH (25 mL). Směs byla odpařena do sucha a několikrát odpařena s EtOH. K odparku byla přidána H_2O (100 mL) a vzniklá suspenze byla přefiltrována na fritě S3. Filtrát byl odpařen do sucha. Surový produkt byl čištěn pomocí iontoměniče (DOWEX 1; OH^- -forma; $\text{H}_2\text{O} \rightarrow 50\% \text{ AcOH} \rightarrow 3\% \text{ HCl}$). Frakce vymytá pomocí HCl byla odpařena do sucha a dále čištěna pomocí iontoměniče (Amberlite CG50; H^+ -forma; H_2O). Frakce s čistým produktem byly spojeny a odpařeny do sucha. Odparek byl dále dosušen pomocí vakuové pumpy a následně v evakuovaném exsikatoru nad P_2O_5 . Výsledný produkt byl získán jako žlutá látka (1,40 g; 69%; 1 krok; vztaženo na methylen-bis(fosfinovou kyselinu)).

NMR (D_2O): ^1H δ 2,28 (P— CH_2 —P, m, 2H); 3,29 (CH_2 —C, d, 2H, $^2J_{\text{HP}} = 17$ Hz); 7,16 (PH, d, 1H, $^1J_{\text{HP}} = 532$ Hz); 7,53 (CH—C— CH_2 , d, 2H, $^2J_{\text{HH}} = 9$ Hz); 8,21 (CH—C—N, d, 2H, $^2J_{\text{HH}} = 9$ Hz); $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ δ 35,3 (P— CH_2 —P, t, $^1J_{\text{CP}} = 78$ Hz); 40,4 (P— CH_2 —C, d, $^1J_{\text{CP}} = 86$ Hz); 124,3 (CH—C—N, s); 131,3 (CH—C— CH_2 , d, $^3J_{\text{CP}} = 4$ Hz); 144,0 (CH—C— CH_2 , d, $^2J_{\text{CP}} = 8$ Hz); 146,7 (CH—C—N, s); ^{31}P δ 18,7 (PH, dt, 1P, $^1J_{\text{PH}} = 532$ Hz; $^2J_{\text{PH}} = 18$ Hz); 30,5 (CH_2 —P— CH_2 , p, 1P, $^2J_{\text{PH}} = 17$ Hz).

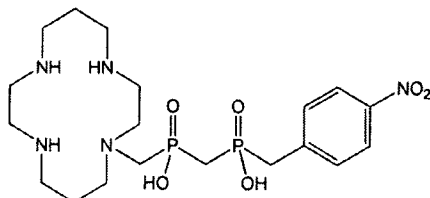
MS: (–) 277,5 [$\text{M}-\text{H}^+$].

TLC (SiO_2 , EtOH-konc. NH_4OH 5:1): $R_f = 0,5$.

EA ($\text{C}_8\text{H}_{11}\text{NO}_6\text{P}_2$, $M_R = 279,1$): C 34,4 (34,2); H 4,0 (3,9); N 5,0 (4,8).

25

Příklad 10: Příprava látky 8



Do skleněné baňky (100 mL) byl navážen 1,4,8,11-tetraazacyclotetradekan (3,38 g; 16,9 mmol; 3,6 ekviv.). Dále byly postupně přidány látka **B** (1,31 g; 4,69 mmol; 1,0 ekviv.), paraformaldehyd (169 mg; 5,63 mmol; 1,2 ekviv.) a vodná HCl (6 M; 60 mL). Vzniklá suspenze byla míchána přes noc při 80 °C. Druhý den byla směs odpařena do sucha a poté několikrát odpařena s H_2O . Surový produkt byl čištěn pomocí iontoměniče (DOWEX 50; H^+ -forma; $\text{H}_2\text{O} \rightarrow 10\%$ vodný pyridin). Pyridinová frakce s produktem byla odpařena do sucha a poté několikrát odpařena s H_2O . Surový produkt byl čištěn pomocí iontoměniče (DOWEX 1; OH^- -forma; $\text{H}_2\text{O} \rightarrow 10\%$ vodná AcOH). Acetátová frakce s produktem byla odpařena do sucha a poté několikrát odpařena s H_2O . Odparek byl dále dosušen pomocí vakuové pumpy a následně v evakuovaném exsikatoru nad P_2O_5 . Výsledný produkt byl získán jako žlutá látka (1,67 g; 71%; 1 krok; vztaženo na látku **B**).

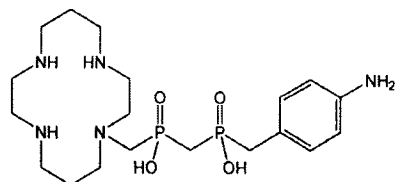
NMR (D_2O): ^1H δ 1,70 (CH_2 — CH_2 — CH_2 , p, 2H, $^3J_{\text{HH}} = 5$ Hz); 1,76 (CH_2 — CH_2 — CH_2 , p, 2H, $^3J_{\text{HH}} = 5$ Hz); 2,01 (P— CH_2 —P, t, 2H, $^2J_{\text{HP}} = 16$ Hz); 2,55–2,83 (cyklus, N— CH_2 —P, m, 18H); 3,32 (CH_2 —C—CH, d, 2H, $^2J_{\text{HP}} = 17$ Hz); 7,56 (CH—C— CH_2 , d, 2H, $^2J_{\text{HH}} = 9$ Hz); 8,21 (CH—C—N, d, 2H, $^2J_{\text{HH}} = 9$ Hz); $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ δ 25,4 (CH_2 — CH_2 — CH_2 , s); 27,0 (CH_2 — CH_2 — CH_2 , s); 33,2 (P— CH_2 —P, t, $^1J_{\text{CP}} = 79$ Hz); 40,8 (P— CH_2 —C, d, $^1J_{\text{CP}} = 86$ Hz); 46,0 (cyklus, s); 46,2 (cyklus, s); 46,7 (cyklus, s); 46,8 (cyklus, s); 47,9 (cyklus, s); 48,9 (cyklus, s); 54,8 (cyklus, s); 54,5 (cyklus, s); 55,2 (P— CH_2 —N, d, $^1J_{\text{CP}} = 110$ Hz); 124,3 (CH—C—N, s); 131,3 (CH—C— CH_2 , d, $^3J_{\text{CP}} = 4$ Hz); 144,6 (CH—C— CH_2 , s); 146,6 (CH—C—N, s); $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ δ 31,6 (CH_2 —P— CH_2 , d, 1P, $^2J_{\text{PP}} = 9$ Hz); 32,9 (CH_2 —P— CH_2 , d, 1P, $^2J_{\text{PP}} = 9$ Hz).

MS: (–) 489,7 [$\text{M}-\text{H}^+$]. (+) 491,9 [$\text{M}+\text{H}^+$]; 513,9 [$\text{M}+\text{Na}^+$]; 529,8 [$\text{M}+\text{K}^+$].

TLC (SiO₂, EtOH–konc. NH₄OH 1:1): $R_f = 0,7$.

EA (C₁₉H₃₅N₅O₆P₂·0,5H₂O, $M_R = 500,5$): C 45,6 (45,2); H 7,3 (7,6); N 14,0 (13,8).

5 **Příklad 11: Příprava látky 9**



10 Ve skleněné baňce (100 mL) byla rozpuštěna navážka látky **8**·0,5H₂O (512 mg; 1,02 mmol; 1,0 ekviv.) v H₂O (25 mL) a vzniklý roztok byl krátce promyt plynným argonem. Dále byly postupně přidány HCOONH₄ (1,98 g; 31,4 mmol; 31 ekviv.) a katalyzátor (Pd@C; 10%; 54 mg). Vzniklá suspenze byla míchána 3 hodiny při 60 °C. Poté byl přidán další HCOONH₄ (658 mg; 10,4 mmol; 10 ekviv.) a katalyzátor (Pd@C; 10%; 52 mg) a směs byla míchána další dva dny. Následně byla směs odpařena do sucha a poté několikrát odpařena s H₂O. Katalyzátor byl odfiltrován a filtrát byl odpařen do sucha. Surový produkt byl čištěn pomocí iontoměniče (DOWEX 1; OH⁻-forma; H₂O → 10% vodná AcOH). Acetátová frakce s produktem byla odpařena do sucha a poté několikrát odpařena s H₂O. Surový produkt byl čištěn pomocí iontoměniče (DOWEX 50; H⁺-forma; H₂O → 10% vodný pyridin). Pyridinová frakce s produktem byla odpařena do sucha a poté několikrát odpařena s H₂O. Odparek byl následně znovu rozpuštěn v H₂O (150 mL) a lyofilizován. Výsledný produkt byl získán jako nažloutlá látka (443 mg; 84%; 1 krok; vztaženo na látku **8**·0,5H₂O).

15 **NMR** (D₂O): ¹H δ 1,72 (CH₂—CH₂—CH₂, p, 2H, ³J_{HH} = 5 Hz); 1,79 (CH₂—CH₂—CH₂, p, 2H, ³J_{HH} = 5 Hz); 1,96 (P—CH₂—P, t, 2H, ²J_{HP} = 15 Hz); 2,62–2,88 (cyklus, N—CH₂—P, m, 18H); 3,02 (CH₂—C—CH, d, 2H, ²J_{HP} = 17 Hz); 6,82 (CH—C—CH₂, d, 2H, ²J_{HH} = 8 Hz); 7,18 (CH—C—N, d, 2H, ²J_{HH} = 8 Hz); ¹³C{¹H} 25,0 (CH₂—CH₂—CH₂, s); 26,7 (CH₂—CH₂—CH₂, s); 32,7 (P—CH₂—P, t, ¹J_{CP} = 78 Hz); 39,4 (P—CH₂—C, d, ¹J_{CP} = 91 Hz); 45,7 (cyklus, s); 46,2 (cyklus, s); 46,7 (cyklus, s); 46,8 (cyklus, s); 48,7 (cyklus, s); 49,4 (cyklus, s); 54,8 (cyklus, s); 54,9 (cyklus, s); 55,0 (P—CH₂—N, d, ¹J_{CP} = 109 Hz); 117,3 (CH—C—N, s); 126,4 (CH—C—CH₂, d, ³J_{CP} = 8 Hz); 131,4 (CH—C—CH₂, s); 144,8 (CH—C—N, s); ³¹P{¹H} δ 33,7 (CH₂—P—CH₂, d, 1P, ²J_{PP} = 9 Hz); 34,6 (CH₂—P—CH₂, d, 1P, ²J_{PP} = 9 Hz).

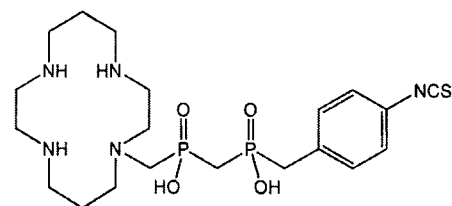
20 **MS**: (–) 459,8 [M–H⁺]⁻. (+) 461,9 [M+H⁺]⁺; 483,9 [M+Na⁺]⁺; 499,9 [M+K⁺]⁺.

TLC (SiO₂, EtOH–konc. NH₄OH 1:1): $R_f = 0,6$.

EA (C₁₉H₃₇N₅O₄P₂·3H₂O, $M_R = 515,5$): C 44,3 (44,4); H 8,4 (8,6); N 13,6 (13,6).

35

Příklad 12: Příprava látky 10



40 Ve skleněné vialce (20 mL) byla rozpuštěna navážka látky **9**·3H₂O (53,4 mg; 104 μmol; 1,0 ekviv.) v H₂O. Poté byl roztok okyselen pomocí vodné HCl (1,12 M; 185 μL; 207 μmol; 2,0 ekviv.). Následně byl jednorázově přidán čerstvě připravený roztok CSCl₂ (16 μL; 209 μmol; 2,0 ekviv.) v CCl₄ (5 mL). Reakční směs byla prudce míchána při laboratorní teplotě přes noc. Organická fáze byla oddělena a vodná fáze byla následně extrahována CCl₄ (2x20 mL) a Et₂O

(1x20 mL). Vodná fáze byla odpařena do sucha. Surový produkt byl čištěn pomocí preparativní HPLC (C8; gradientová eluce H₂O–0,1% TFA–MeCN). Frakce s produktem byla lyofilizována. Výsledný produkt byl získán jako bílá látka (70,9 mg; 79%; 1 krok; vztaženo na látku 9·3H₂O).

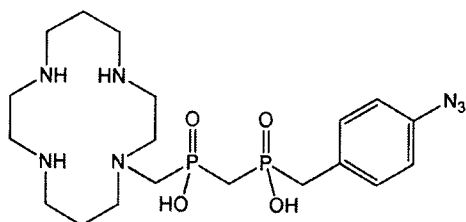
NMR (D₂O): ¹H δ 2,19 (CH₂–CH₂–CH₂, m, 4H); 2,40 (P–CH₂–P, t, 2H, ²J_{HP} = 16 Hz); 3,13–3,60 (cyklus, N–CH₂–P, P–CH₂–C, m, 20H); 7,36 (CH, m, 4H); ¹³C{¹H} δ 21,1 (CH₂–CH₂–CH₂, s); 21,7 (CH₂–CH₂–CH₂, s); 32,8 (P–CH₂–P, t, ¹J_{CP} = 81 Hz); 38,8 (P–CH₂–C, d, ¹J_{CP} = 91 Hz); 40,5 (cyklus, s); 41,4 (cyklus, s); 42,8 (cyklus, s); 43,1 (cyklus, s); 43,9 (cyklus, s); 44,3 (cyklus, s); 52,9 (cyklus, s); 54,3 (P–CH₂–N, d, ¹J_{CP} = 100 Hz); 54,4 (cyklus, s); 126,7 (CH–C–N, s); 130,1 (CH–C–N, s); 131,6 (CH–C–CH₂, d, ³J_{CP} = 5 Hz); 132,9 (CH–C–CH₂, d, ²J_{CP} = 8 Hz); 134,8 (NCS, s); ³¹P{¹H} δ 27,0 (CH₂–P–CH₂, bm, 1P); 39,1 (CH₂–P–CH₂, d, 1P, ²J_{PP} = 7 Hz).

MS: (–) 501,8 [M–H⁺][–]. (+) 504,0 [M+H⁺]⁺.

EA (C₂₀H₃₅N₅O₄P₂S·TFA·3,5H₂O, M_R = 863,3): C 30,6 (30,8); H 5,0 (4,8); N 8,1 (8,0).

15

Příklad 13: Příprava látky 11



20 Ve skleněné vialce (4 mL) byla rozpuštěna navážka 9·3H₂O (40,2 mg; 78,0 μmol; 1,3 ekvív.) ve vodné HCl (243,8 mM; 962 μL; 235 μmol; 4,0 ekvív.) a vzniklá směs byla vychlazena v ledové lázni na 1 °C. Poté byl postupně přidáván (20 μL každé tři minuty) čerstvě připravený vodný roztok NaNO₂ (290 mM; 200 μL; 58,0 μmol; 1,0 ekvív.). Poté byl jednorázově přidán čerstvě připravený vodný roztok NaN₃ (580 mM; 200 μL; 116 μmol; 2,0 ekvív.). Reakční směs byla dále

25 míchána při laboratorní teplotě 3 hodiny. Surový produkt byl čištěn pomocí preparativní HPLC (C8; gradientová eluce H₂O–0,1% TFA–MeCN). Frakce s produktem byla lyofilizována. Výsledný produkt byl získán jako bílá látka (29,5 mg; 57%; 1 krok; vztaženo na látku 9·3H₂O).
NMR (D₂O): ¹H δ 2,07 (CH₂–CH₂–CH₂, p, 2H, ³J_{HH} = 6 Hz); 2,13 (CH₂–CH₂–CH₂, p, 2H, ³J_{HH} = 7 Hz); 2,20 (P–CH₂–P, t, 2H, ²J_{HP} = 16 Hz); 2,80–3,57 (cyklus, N–CH₂–P, P–CH₂–C, bm, 20H); 7,11 (CH–C–N, d, 2H, ³J_{HH} = 8 Hz); 7,34 (CH–C–CH₂, d, 2H, ³J_{HH} = 8 Hz); ¹³C{¹H} δ 22,4 (CH₂–CH₂–CH₂, s); 22,7 (CH₂–CH₂–CH₂, s); 32,3 (P–CH₂–P, t, ¹J_{CP} = 80 Hz); 39,3 (P–CH₂–C, d, ¹J_{CP} = 91 Hz); 42,4 (cyklus, s); 43,5 (cyklus, s); 44,3 (cyklus, s); 45,1 (cyklus, s); 45,4 (cyklus, s); 46,0 (cyklus, s); 53,7 (P–CH₂–N, d, ¹J_{CP} = 105 Hz); 54,6 (cyklus, s); 55,6 (cyklus, s); 119,9 (CH–C–N, s); 130,9 (CH–C–CH₂, d, ²J_{CP} = 8 Hz); 131,8 (CH–C–CH₂, d, ³J_{CP} = 5 Hz); 139,0 (CH–C–N, s); ³¹P{¹H} δ 29,6 (CH₂–P–CH₂, bm, 1P); 37,1 (CH₂–P–CH₂, d, 1P, ²J_{PP} = 9 Hz).

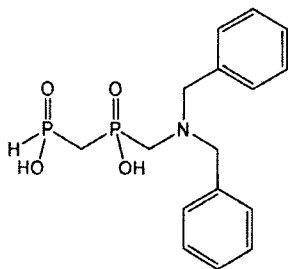
MS: (–) 485,8 [M–H⁺][–]. (+) 488,0 [M+H⁺]⁺; 509,9 [M+Na⁺]⁺; 531,9 [M+K⁺]⁺.

TLC (SiO₂, EtOH–konc. NH₄OH 2:1): R_f = 0,7.

EA (C₁₉H₃₅N₇O₄P₂·0,5TFA·1,5H₂O, M_R = 662,9): C 36,2 (36,4); H 5,9 (5,6); N 14,8 (15,0).

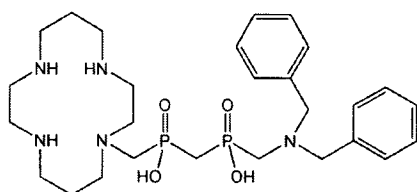
40

Příklad 14: Příprava meziprojektu C



- Do skleněné baňky (100 mL) byl k suspenzi methylen-bis(fosfinové) kyseliny (2,32 g; 16,1 mol; 1,0 ekvív.) a dibenzylaminu (4,03 mL; 21,0 mmol; 1,3 ekvív.) ve směsi 6 M vodná HCl-THF (1:1; 50 mL) přidán paraformaldehyd (726 mg; 24,2 mmol; 1,5 ekvív.) a baňka byla rychle uzavřena špuntem. Směs byla následně ponechána reagovat při 80 °C přes noc. Po ochlazení na laboratorní teplotu byla směs odpařena do sucha. Odparek byl rozpuštěn v H₂O a promyt CH₂Cl₂. Vodná fáze byla odpařena do sucha a čistěna chromatograficky (C18; gradientová eluce H₂O-0,1% TFA-MeCN). Frakce s čistým produktem byly spojeny a odpařeny do sucha. Odparek byl rozpuštěn v minimálním množství MeOH a následně byl přidáván Et₂O do vytvoření zákalu. Druhý den byl vzniklý precipitát zachycen na fritě S3 a promyt Et₂O. Výsledný produkt byl získán jako bílá látka (2,27 g; 37%; 1 krok; vztaženo na methylen-bis(fosfinovou kyselinu)).
- NMR** (D₂O): ¹H δ 2,02 (P-CH₂-P, t, 2H, ²J_{HP} = 17 Hz); 3,25 (P-CH₂-N, d, 2H, ²J_{HP} = 11 Hz); 4,46 (CH₂-Ph, m, 4H); 7,15 (PH, d, 1H, ¹J_{HP} = 562 Hz); 7,52 (Ph, m, 10H); ¹³C {¹H} δ 35,8 (P-CH₂-P, t, ¹J_{CP} = 81 Hz); 51,7 (P-CH₂-N, d, ¹J_{CP} = 92 Hz); 59,4 (CH₂-Ph, s); 129,8 (C-CH₂, s); 129,9 (Ph, s); 130,8 (Ph, s); 132,1 (Ph, s); ³¹P δ 20,9 (P-CH₂-N, m, 1P); 22,1 (PH, dm, 1P, ¹J_{PH} = 562 Hz).
- MS**: (-) 351,6 [M-H]⁺. (+) 353,7 [M+H]⁺; 391,7 [M+K]⁺.
- TLC** (SiO₂, MeOH): R_f = 0,6.
- EA** (C₁₆H₂₁NO₄P₂·MeOH, M_R = 385,3): C 53,0 (53,1); H 6,5 (6,2); N 3,6 (3,9).

Příklad 15: Příprava látky 12



- Do skleněné baňky (100 mL) byl navážen 1,4,8,11-tetraazacyklotetradekan (3,26 g; 16,3 mmol; 5,5 ekvív.). Dále byly postupně přidány surová látka C·MeOH (1,15 g; 2,99 mmol; 1,0 ekvív.), paraformaldehyd (160 mg; 5,33 mmol; 1,8 ekvív.) a vodná HCl (6 M; 60 mL). Vzniklá suspenze byla míchána přes noc při 80 °C. Druhý den byla směs odpařena do sucha a poté několikrát odpařena s H₂O. Surový produkt byl čistěn pomocí iontoměniče (DOWEX 50; H⁻-forma; H₂O → 5% vodný amoniak). Amoniakální frakce s produktem byla odpařena do sucha a poté několikrát odpařena s H₂O. Surový produkt byl znovu čistěn pomocí iontoměniče (DOWEX 1; OH⁻-forma; H₂O → 10% vodná AcOH). Acetátová frakce s produktem byla odpařena do sucha a poté několikrát odpařena s H₂O. Odparek byl dále dosušen pomocí vakuové pumpy a následně v evakuovaném exsikatoru nad P₂O₅. Výsledný produkt byl získán jako bílá látka (1,46 g; 74%; 1 krok; vztaženo na látku C·MeOH).
- NMR** (D₂O): ¹H δ 1,67 (CH₂-CH₂-CH₂, p, 2H, ³J_{HH} = 5 Hz); 1,71 (CH₂-CH₂-CH₂, p, 2H, ³J_{HH} = 5 Hz); 2,07 (P-CH₂-P, t, 2H, ²J_{HP} = 15 Hz); 2,55-2,73 (N-CH₂-P, cyklus, m, 18H); 2,76 (N-CH₂-P, d, 2H, ²J_{HP} = 9 Hz); 3,79 (CH₂-Ph, s, 4H); 7,32-7,49 (Ph, m, 10H); ¹³C {¹H} δ 25,1 (CH₂-CH₂-CH₂, s); 27,0 (CH₂-CH₂-CH₂, s); 33,5 (P-CH₂-P, t, ¹J_{CP} = 77 Hz); 45,7 (cyklus, s); 45,9 (cyklus, s); 46,3 (cyklus, s); 46,4 (cyklus, s); 53,7 (cyklus, s); 54,6 (cyklus, s);

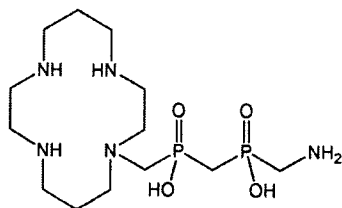
54,9 (P—CH₂—N, d, ¹J_{CP} = 107 Hz); 55,2 (P—CH₂—N, d, ¹J_{CP} = 109 Hz); 58,9 (CH₂—Ph, d, ³J_{CP} = 6 Hz); 127,8 (*Ph*, s); 128,9 (*Ph*, s); 130,3 (*Ph*, s); 139,0 (*Ph*, s); ³¹P{¹H} δ 33,1 (P—CH₂—N, d, 1P, ²J_{PP} = 12 Hz) 33,6 (P—CH₂—N, d, 1P, ²J_{PP} = 12 Hz).

MS: (–) 563,8 [M–H⁺][–]. (+) 566,0 [M+H⁺]⁺; 588,0 [M+Na⁺]⁺; 604,0 [M+K⁺]⁺.

5 **TLC** (SiO₂, EtOH–konc. NH₄OH 2:1): R_f = 0,8.

EA (C₂₇H₄₅N₅O₄P₂·AcOH·1,5H₂O, M_R = 657,2): C 53,4 (53,4); H 8,0 (7,7); N 10,7 (10,6).

10 **Příklad 16: Příprava látky 13**



15 Ve skleněné baňce (250 mL) byla rozpuštěna navážka látky 12·AcOH·1,5H₂O (1,55 g; 2,36 mmol) v H₂O (125 mL) a vzniklý roztok byl krátce promyt plynným argonem. Dále byly postupně přidány HCOONH₄ (4,45 g; 70,5 mmol; 30 ekviv.) a katalyzátor (10% Pd@C; 113 mg). Vzniklá suspenze byla míchána 3 hodiny při 60 °C. Poté byl přidán další HCOONH₄ (1,48 g; 23,5 mmol; 10 ekviv.) a katalyzátor (10% Pd@C; 41 mg) a směs byla míchána další dva dny. Následně byla směs odpařena do sucha a poté několikrát odpařena s H₂O. Katalyzátor byl odfiltrován a filtrát byl odpařen do sucha. Surový produkt byl čištěn pomocí iontoměniče (DOWEX 50; H⁺–forma; H₂O → 5% vodný amoniak). Amoniakální frakce s produktem byla odpařena do sucha a poté několikrát odpařena s H₂O. Odparek byl následně znovu rozpuštěn v H₂O (150 mL) a lyofilizován. Výsledný produkt byl získán jako nažloutlá látka (720 mg; 74%; 1 krok; vztaženo na látku 13·AcOH·1,5H₂O).

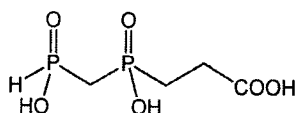
20 **NMR** (D₂O): ¹H δ 1,69 (CH₂—CH₂—CH₂, p, 2H, ³J_{HH} = 6 Hz); 1,81 (CH₂—CH₂—CH₂, m, 2H); 2,11 (P—CH₂—P, dd, 2H, ²J_{HP} = 17 Hz, ²J_{HP} = 15 Hz); 2,61–3,32 (N—CH₂—P, *cyklus*, m, 20H); ¹³C{¹H} δ 29,2 (CH₂—CH₂—CH₂, s); 30,1 (CH₂—CH₂—CH₂, s); 36,4 (P—CH₂—P, t, ¹J_{CP} = 78 Hz); 39,9 (*cyklus*, s); 42,2 (*cyklus*, s); 43,3 (*cyklus*, s); 44,3 (*cyklus*, s); 45,8 (*cyklus*, s); 51,1 (*cyklus*, s); 51,8 (P—CH₂—N, d, ¹J_{CP} = 105 Hz); 57,8 (P—CH₂—N, d, ¹J_{CP} = 102 Hz); ³¹P{¹H} δ 24,0 (P—CH₂—NH₂, d, 1P, ²J_{PP} = 5 Hz); 31,3 (C—N—CH₂—P, d, 1P, ²J_{PP} = 5 Hz).

30 **MS:** (–) 383,9 [M–H⁺][–]. (+) 385,7 [M+H⁺]⁺; 407,9 [M+Na⁺]⁺.

TLC (SiO₂, EtOH–konc. NH₄OH 1:1): R_f = 0,6.

EA (C₁₃H₃₃N₅O₄P₂·2,5H₂O, M_R = 412,4): C 40,5 (40,3); H 8,6 (8,9); N 18,2 (18,4).

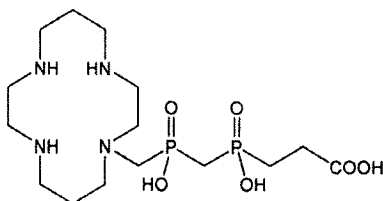
35 **Příklad 17: Příprava meziprojektu D**



40 V sekurované (argon) tříhrdlé baňce (1000 mL) byla suspendována methylen–bis(fosfinová kyselina) (2,50 g; 17,4 mol; 1,0 ekviv.) v hexamethyldisilazanu (150 mL; 716 mmol; 41 ekviv.) a vzniklá směs byla zahřívána přes noc při 110 °C v mírném proudu argonu. Následně byla směs ochlazená na laboratorní teplotu a do reakční směsi byl přidán suchý CH₂Cl₂ (100 mL). Dále byl přidán roztok *t*butyl akrylátu (5,00 mL; 34,2 mmol; 2,0 ekviv.) v suchém CH₂Cl₂ (100 mL) a směs byla míchána přes noc při laboratorní teplotě. Reakce byla zastavena přidáním EtOH (150 mL). Vzniklá směs byla odpařena do sucha a následně několikrát odpařena s H₂O. Surový produkt byl čištěn chromatograficky (C18; gradientova eluce H₂O–0,1% TFA–MeCN). Frakce s

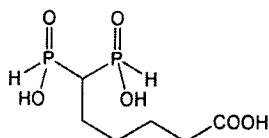
- čistým produktem byly spojeny a odpařeny do sucha. Odparek byl dále čištěn na iontoměniči (Amberlite CG50; H⁺-forma; H₂O). Vodná fáze byla odpařena do sucha a poté několikrát odpařena s CH₂Cl₂. Odparek byl následně rozpuštěn ve směsi CH₂Cl₂-TFA (1:1; 200 mL) a vzniklá směs byla míchána přes noc při laboratorní teplotě za nepřístupu světla. Reakční směs byla následně odpařena do sucha a odparek byl čištěn pomocí iontoměniče (DOWEX 50; H⁺-forma; H₂O). Frakce obsahující produkt byly spojeny a odpařeny do sucha. Odparek byl dále dosušen pomocí vakuové pumpy a následně v evakuovaném exsikátoru nad P₂O₅. Výsledný produkt byl získán jako bílá látka (1,41 g; 38%; 2 kroky; vztaženo na methylen-bis(fosfinovou kyselinu)).
- NMR** (D₂O): ¹H δ 1,97 (P—CH₂—CH₂, m, 2H); 2,21 (P—CH₂—P, t, 2H, ²J_{HP} = 17 Hz); 2,46 (P—CH₂—CH₂, m, 2H); 7,01 (PH, 1H, d, ¹J_{HP} = 560 Hz); ¹³C{¹H} 26,2 (P—CH₂—CH₂, d, ¹J_{CP} = 98 Hz); 27,1 (P—CH₂—CH₂, s); 33,0 (P—CH₂—P, t, ¹J_{CP} = 79 Hz); 177,2 (CO, d, ³J_{CP} = 16 Hz); ³¹P δ 19,2 (PH, d, 1P, ¹J_{PH} = 544 Hz); 44,5 (P—CH₂—CH₂, m, 1P).
- MS**: (–) 196,6 [M–H₃O⁺]; 214,5 [M–H⁺]. (+) 216,7 [M+H⁺]⁺.
- TLC** (SiO₂, EtOH–konc. NH₄OH 1:1): R_f = 0,6.
- EA** (C₄H₁₀O₆P₂, M_R = 216,1): C 22,2 (21,9); H 4,7 (5,0).

20 **Příklad 18: Příprava látky 14**



- Do skleněné vialky (20 mL) byl navážen 1,4,8,11-tetraazacyclotetradekan (1,19 g; 5,95 mmol; 3,8 ekviv.). Dále byly postupně přidány látka **D** (340 mg; 1,57 mmol; 1,0 ekviv.), paraformaldehyd (58 mg; 1,93 mmol; 1,2 ekviv.) a vodná HCl (6 M; 10 mL). Vzniklá suspenze byla míchána přes noc při 60 °C. Druhý den byla směs odpařena do sucha a poté několikrát odpařena s H₂O. Surový produkt byl znovu čištěn pomocí iontoměniče (IRA 402; OH[–]-forma; H₂O → 10% vodná AcOH). Acetátová frakce s produktem byla odpařena do sucha a poté několikrát odpařena s H₂O. Surový produkt byl čištěn pomocí iontoměniče (DOWEX 50; H⁺-forma; H₂O → 10% vodný pyridin). Pyridinová frakce s produktem byla odpařena do sucha a poté několikrát odpařena s H₂O. Odparek byl následně znovu rozpuštěn v H₂O (50 mL) a lyofilizován. Výsledný produkt byl získán jako bílá látka (459 mg; 61%; 1 krok; vztaženo na látku **D**).
- NMR** (D₂O): ¹H δ 1,71 (CH₂—CH₂—CH₂, p, 2H, ³J_{HH} = 5 Hz); 1,76 (CH₂—CH₂—CH₂, p, 2H, ³J_{HH} = 5 Hz); 1,91 (P—CH₂—C, m, 2H); 2,05 (P—CH₂—P, t, 2H, ²J_{HP} = 16 Hz); 2,37 (CH₂—CO, m, 2H); 2,65 (cyklus, t, 2H, ³J_{HH} = 5 Hz); 2,69–2,79 (cyklus, N—CH₂—P, m, 16H); ¹³C{¹H} δ 25,6 (CH₂—CH₂—CH₂, s); 27,2 (CH₂—CH₂—CH₂, s); 29,7 (P—CH₂—C, d, ¹J_{CP} = 96 Hz); 31,2 (CH₂—CO, s); 33,5 (P—CH₂—P, t, ¹J_{CP} = 77 Hz); 46,2 (cyklus, s); 46,3 (cyklus, s); 46,8 (cyklus, s); 46,9 (cyklus, s); 47,6 (cyklus, s); 48,8 (cyklus, s); 54,4 (cyklus, s); 54,8 (cyklus, s); 55,2 (N—CH₂—P, d, ¹J_{CP} = 109 Hz); 183,2 (CO, d, ³J_{CP} = 19 Hz); ³¹P{¹H} δ 33,4 (P—CH₂—N, d, 1P, ²J_{PP} = 10 Hz); 36,6 (P—CH₂—CH₂, d, 1P, ²J_{PP} = 10 Hz).
- MS**: (–) 402,8 [M–H₃O⁺]; 426,7 [M–H⁺]. (+) 428,9 [M+H⁺]⁺; 450,8 [M+Na⁺]⁺; 466,8 [M+K⁺]⁺.
- TLC** (SiO₂, *i*PrOH–konc. NH₄OH–H₂O 7:1:1): R_f = 0,5.
- EA** (C₁₅H₃₄N₄O₆P₂·4H₂O, M_R = 500,5): C 36,0 (36,0); H 8,5 (8,8); N 11,2 (11,2).
- 45

Příklad 19: Příprava meziprojektu E



V kádince (1000 mL) byl rozpuštěn $\text{NaH}_2\text{PO}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (28,6 g; 270 mmol; 6,0 ekviv.) ve směsi MeOH (500 mL) a nestabilizovaného dioxanu (75 mL). Dále byla postupně přidána 5-hexynová kyselina (5,00 mL; 45,3 mmol; 1,0 ekviv.) a roztok Et_3B v hexanech (1,0 M; 45 mL; 45,0 mmol; 1,0 ekviv.) a výsledná směs byla intenzivně míchána za přítomnosti vzduchu 4 hodiny. Vzniklý precipitát byl odfiltrován na fritě S3 a několikrát promyt studeným MeOH a poté vysušen prosáváním vzduchu. Surový produkt byl čištěn sloupcovou chromatografií (SiO_2 ; EtOH-konc. NH_4OH 2:1; $R_f = 0,4$). Frakce s produktem byly spojeny a odpařeny do sucha. K odparku byla přidána H_2O (150 mL) a malé množství aktivního uhlí a vzniklá suspenze byla přefiltrována přes stříkačkový mikrofiltr (Millipore; 0,22 μm). Filtrát byl dále čištěn pomocí iontoměniče (DOWEX 50; H^+ -forma; H_2O). Vodná frakce byla odpařena do sucha, rozpuštěna v H_2O a následně lyofilizována. Výsledný produkt byl získán jako bílá látka (4,31 g; 32%; 1 krok; vztaženo na Et_3B).

NMR (D_2O): ^1H δ 1,57 (CH_2 , m, 2H); 1,64 (CH_2 , m, 2H); 1,74 (CH_2 , m, 2H); 1,87 (P-CH-P, m, 1H); 2,38 (CH_2 -CO, t, 2H, $^3J_{\text{HH}} = 8$ Hz); 7,04 (PH, dm, 2H, $^1J_{\text{HP}} = 526$ Hz); $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ δ 21,7 (P-CH- CH_2 - CH_2 , t, $^3J_{\text{CP}} = 3$ Hz); 25,6 (CH_2 - CH_2 -CO, s); 29,4 (P-CH- CH_2 , t, $^2J_{\text{CP}} = 7$ Hz); 35,2 (CH_2 -CO, s); 44,8 (P-CH-P, t, $^1J_{\text{CP}} = 78$ Hz); 180,9 (CO, s); ^{31}P δ 25,8 (dm, $^1J_{\text{PH}} = 526$ Hz).

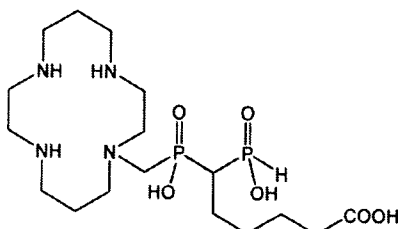
MS: (-) 242,5 [$\text{M}-\text{H}^+$] $^-$; 264,5 [$\text{M}-2\text{H}^++\text{Na}^+$] $^-$; 286,5 [$\text{M}-3\text{H}^++2\text{Na}^+$] $^-$. (+) 310,8 [$\text{M}-2\text{H}^++3\text{Na}^+$] $^+$.

TLC (SiO_2 , EtOH-konc. NH_4OH 2:1): $R_f = 0,4$.

EA ($\text{C}_6\text{H}_{14}\text{O}_6\text{P}_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, $M_R = 298,2$): C 24,2 (24,1); H 6,8 (6,5).

25

Příklad 20: Příprava látky 15



Do skleněné vialky (20 mL) byl navážen 1,4,8,11-tetraazacyclotetradecan (1,50 g; 7,50 mmol; 3,8 ekviv.). Dále byly postupně přidány $\text{E} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (1,51 g; 5,08 mmol; 2,6 ekviv.), paraformaldehyd (59,2 mg; 1,97 mmol; 1,0 ekviv.) a vodná HCl (6 M; 10 mL). Vzniklá suspenze byla míchána přes noc při 70 $^\circ\text{C}$. Druhý den byla směs odpařena do sucha a poté několikrát odpařena s H_2O . Surový produkt byl čištěn pomocí iontoměniče (DOWEX 50; H^+ -forma; $\text{H}_2\text{O} \rightarrow 10\%$ vodný pyridin). Pyridinová frakce s produktem byla odpařena do sucha a poté několikrát odpařena s H_2O . Surový produkt byl čištěn sloupcovou chromatografií (SiO_2 ; *i*PrOH-konc. $\text{NH}_4\text{OH}-\text{H}_2\text{O}$ 7:3:3; $R_f = 0,5$). Frakce s produktem byly spojeny a odpařeny do sucha. K odparku byla přidána H_2O (50 mL) a malé množství aktivního uhlí a vzniklá suspenze byla přefiltrována přes stříkačkový mikrofiltr (Millipore; 0,22 μm). Filtrát byl znovu čištěn pomocí iontoměniče (IRA 402; OH^- -forma; $\text{H}_2\text{O} \rightarrow 10\%$ vodná AcOH). Acetátová frakce s produktem byla odpařena do sucha a poté několikrát odpařena s H_2O . Odparek byl následně znovu rozpuštěn v H_2O (50 mL) a lyofilizován. Výsledný produkt byl získán jako bílá látka (621 mg; 61%; 1 krok; vztaženo na paraformaldehyd).

NMR (D_2O): ^1H δ 1,39 (CH_2 - CH_2 - CH_2 , m, 1H); 1,50 (CH_2 - CH_2 - CH_2 , m, 3H); 1,57-1,77 (CH_2 - CH_2 - CH_2 , CH_2 -CH-P, P-CH-P, m, 7H); 2,12 (CH_2 -COOH, t, 2H, $^3J_{\text{HH}} = 7$ Hz);

45

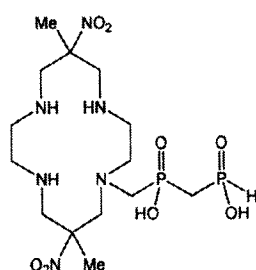
2,51–2,79 (cyklus, N—CH₂—P, m, 18H); 7,05 (PH, d, ¹J_{HP} = 525 Hz); ¹³C {¹H} δ 23,8 (CH₂—CH₂—CH—P, t, ³J_{CP} = 3 Hz); 25,6 (CH₂—CH₂—CH₂, s); 26,9 (CH₂—CH₂—CH₂, s); 27,2 (CH₂—CH₂—CH₂, s); 30,8 (CH₂—CH—P, dd, ²J_{CP} = 8 Hz, ²J_{CP} = 4 Hz); 38,3 (CH₂—CO, s); 45,0 (P—CH—P, dd, ¹J_{CP} = 79 Hz, ¹J_{CP} = 73 Hz); 45,8 (cyklus, s); 46,1 (cyklus, s); 46,4 (cyklus, s); 46,7 (cyklus, s); 47,3 (cyklus, s); 48,2 (cyklus, s); 53,3 (N—CH₂—P, d, ¹J_{CP} = 103 Hz); 54,1 (cyklus, d, ³J_{CP} = 7 Hz); 54,7 (cyklus, d, ³J_{CP} = 6 Hz); 184,6 (CO, s); ³¹P δ 25,7 (PH, dm, 1P, ¹J_{HP} = 525 Hz); 36,3 (P—CH₂—N, m, 1P).

MS: (–) 454,7 [M–H][–]. (+) 457,0 [M+H]⁺.

TLC (SiO₂, iPrOH–konc. NH₄OH–H₂O 7:1:1): R_f = 0,5.

EA C₁₄H₃₂N₄O₅P₂·AcOH, M_R = 516,5): C 44,2 (44,1); H 8,2 (8,5); N 10,9 (10,7).

Příklad 21: Příprava látky 16



15

Do skleněné baňky (25 mL) byl navážen tetrahydrochlorid 6,13–dimethyl–6,13–dinitro–1,4,8,11–tetraazacyclotetradekanu (411 mg; 885 μmol; 4,7 ekviv.), methylen–bis(fosfinová kyselina) (61,3 mg; 426 μmol; 2,3 ekviv.) a paraformaldehyd (5,6 mg; 187 μmol; 1,0 ekviv.). Dále byla přidána vodná HCl (6 M; 10 mL) a vzniklá směs byla míchána dva dny při 60 °C. Poté byla směs odpařena do sucha a poté několikrát odpařena s H₂O. Surový produkt byl čištěn pomocí iontoměniče (DOWEX 50; 200 mL; H⁺–forma; H₂O → 10% vodný pyridin). Pyridinová frakce s produktem byla odpařena do sucha a poté několikrát odpařena s H₂O. Odparek byl dále dosušen pomocí vakuové pumpy a následně v evakuovaném exsikatoru nad P₂O₅. Výsledný produkt byl získán jako nažloutlá látka (92,2 mg; 82%; 1 krok; vztaženo na methylen–bis(fosfinovou kyselinu)).

20

25

NMR (D₂O): ¹H δ 1,65 (CH₃, s, 3H); 1,74 (CH₃, s, 3H); 2,12 (P—CH₂—P, dd, 2H, ²J_{HP} = 18 Hz, ²J_{HP} = 16 Hz); 2,69–2,94 (cyklus, N—CH₂—P m, 8H); 3,03–3,41 (cyklus, m, 10H); 7,14 (PH, d, 1H, ¹J_{HP} = 530 Hz); ¹³C {¹H} δ 24,2 (CH₃, s); 25,2 (CH₃, s); 35,5 (P—CH₂—P, dd, ¹J_{CP} = 79 Hz, ¹J_{CP} = 76 Hz); 48,2 (cyklus, s); 48,8 (cyklus, s); 49,2 (cyklus, s); 50,1 (cyklus, s); 52,3 (cyklus, s); 52,4 (cyklus, s); 55,2 (cyklus, s); 57,6 (N—CH₂—P, d, ¹J_{CP} = 104 Hz); 58,2 (cyklus, d, ³J_{CP} = 10 Hz); 89,9 (C—NO₂, s); 91,8 (C—NO₂, s); ³¹P δ 16,2 (PH, dt, 1P, ¹J_{PH} = 530 Hz, ²J_{PH} = 18 Hz); 36,9 (N—CH₂—P, m, 1P).

30

MS: (–) 473,3 [M–H][–]. (+) 475,1 [M+H]⁺; 513,4 [M+K]⁺.

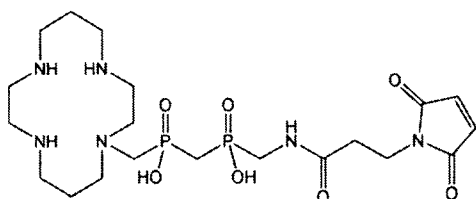
35

TLC (SiO₂, EtOH–konc. NH₄OH 1:1): R_f = 0,8.

EA (C₁₄H₃₂N₆O₈P₂·3HCl·H₂O, M_R = 601,8): C 27,9 (27,7); H 6,2 (6,5); N 14,0 (14,3).

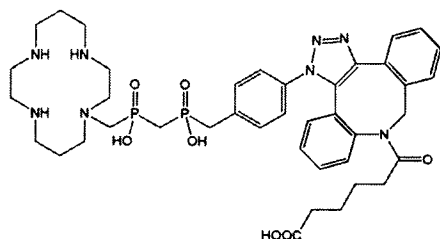
Příklad 22: Příprava konjugátu 17

40



- Ve skleněné vialce (4 mL) byla rozpuštěna navážka **13**·1,5H₂O (14,1 mg; 34,2 μmol; 1,0 ekviv.) a *N*-hydroxysukcinimidesteru kyseliny 3-(maleimido)propanové (10,0 mg; 37,6 μmol; 1,1 ekviv.) ve vodném roztoku pufru H₃PO₄-NaOH (1,0 M pH = 8,1; 1,00 mL; 1,0 mmol; 29 ekviv.). Vzniklá směs byla míchána při laboratorní teplotě přes noc. Surový produkt byl čištěn pomocí preparativní HPLC (C8; H₂O-0,1% TFA-MeCN). Frakce s produktem byla lyofilizována. Výsledný produkt byl získán jako bílá látka (13,4 mg; 45%, 1 krok, vztaženo na **13**·1,5H₂O).
- NMR** (D₂O): ¹H δ 1,99 (CH₂-CH₂-CH₂, p, 2H, ³J_{HH} = 7 Hz); 2,12 (CH₂-CH₂-CH₂, m, 2H); 2,18 (P-CH₂-P, t, 2H, ²J_{HP} = 16 Hz); 2,48-3,11 (CH₂-CO, N-CH₂-P, *cyklus*, m, 20H); 4,21 (CH₂-N-CO, t, ³J_{HH} = 9 Hz); 6,82 (CH, s, 2H); ¹³C{¹H} δ 22,1 (CH₂-CH₂-CH₂, s); 23,4 (CH₂-CH₂-CH₂, s); 29,8 (CH₂-CO, s); 34,1 (P-CH₂-P, t, ¹J_{CP} = 79 Hz); 43,1 (CH₂-N-CO, s); 41,9 (*cyklus*, s); 43,6 (*cyklus*, s); 43,9 (*cyklus*, s); 44,3 (*cyklus*, s); 46,8 (*cyklus*, s); 47,2 (*cyklus*, s); 53,4 (P-CH₂-N, d, ¹J_{CP} = 96 Hz); 53,6 (*cyklus*, s); 55,1 (*cyklus*, s); 55,2 (P-CH₂-N, d, ¹J_{CP} = 108 Hz); 133,7 (CH, s); 169,8 (CO-N-CO, s); 174,5 (CH₂-CO-N, d, ³J_{CP} = 5 Hz). ³¹P{¹H} δ 32,8 (P-CH₂-N, d, 1P, ²J_{PP} = 11 Hz); 35,2 (P-CH₂-N, d, 1P, ²J_{PP} = 11 Hz).
- MS**: (-) 535,0 [M-H]⁻. (+) 537,1 [M+H]⁺; 559,1 [M+Na]⁺; 575,1 [M+K]⁺.
- TLC** (SiO₂, EtOH-konc. NH₄OH 2:1): R_f = 0,5.
- EA** (C₂₀H₃₈N₆O₇P₂·TFA·2H₂O, M_R = 869,3): C 30,4 (30,7); H 5,0 (4,7); N 9,7 (9,5).

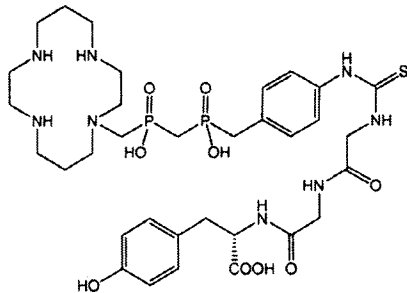
20 **Příklad 23: Příprava konjugátu 18**



- Do skleněné vialky (4 mL) byl napipetován roztok **11**·0,5TFA·1,5H₂O (20,4 mM v D₂O; 420 μL; 8,57 μmol; 1,0 ekviv.) a následně byl přidán čerstvě připravený roztok 6-dibenzocyclooktynamidohexanové kyseliny (3,0 mg; 9,0 μmol; 1,1 ekviv.) ve směsi suchý DMSO-suchý MeCN (1:1; 500 μL). Směs byla míchána 2 hodiny při laboratorní teplotě. Surový produkt byl čištěn pomocí preparativní HPLC (C8; gradientová eluce H₂O-0,1% TFA-MeCN). Frakce s produkty byly lyofilizovány. Výsledný produkt byl získán ve formě dvou regioisomerů jako bílá látka (2 x ≈3 mg).
- NMR** (D₂O): ¹H δ 1,18 (CH₂, m, 2H); 1,32 (CH₂, m, 2H); 2,04 (*cyklus*, p, ³J_{HH} = 6 Hz); 2,15 (*cyklus*, P-CH₂-P, CH₂, m, 6H); 2,36 (CH₂, m, 1H); 2,56 (CH₂, m, 1H); 2,67-3,63 (*cyklus*, N-CH₂-P, P-CH₂-C, m, 20H); 5,07 (CH₂-N-CO, d, 1H, ²J_{HH} = 18 Hz); 5,67 (CH₂-N-CO, d, 1H, ²J_{HH} = 18 Hz); 6,89 (CH, d, 1H, ³J_{HH} = 8 Hz); 7,21 (CH, t, 1H, ³J_{HH} = 8 Hz); 7,29 (CH, d, 1H, ³J_{HH} = 8 Hz); 7,39 (CH, m, 1H); 7,42 (CH, m, 1H); 7,45 (CH-C-CH₂-P, d, 2H, ³J_{HH} = 8 Hz); 7,50 (CH-C-N₃, CH, m, 3H); 7,55 (CH, m, 2H); ¹³C{¹H} δ 23,0 (*cyklus*, s); 23,3 (*cyklus*, s); 24,3 (CH₂, s); 24,6 (CH₂, s); 32,4 (P-CH₂-P, t, ¹J_{CP} = 80 Hz); 33,3 (CH₂, s); 34,1 (CH₂, s); 40,2 (P-CH₂-P, d, ¹J_{CP} = 89 Hz); 42,9 (*cyklus*, s); 44,2 (*cyklus*, s); 44,9 (*cyklus*, s); 45,4 (*cyklus*, s); 46,0 (*cyklus*, s); 46,4 (*cyklus*, s); 53,6 (N-CH₂-P, d, ¹J_{CP} = 106 Hz); 55,0 (*cyklus*, s); 55,9 (*cyklus*, d, ³J_{CP} = 11 Hz); 55,9 (CH₂-N-CO, s); 116,1-145,2 (4 x *arom.*, 14 x *arom.*); 177,1 (CO-N, s); 178,9 (CO-O, s); ³¹P{¹H} δ 30,9 (CH₂-P-CH₂, m, 1P); 34,5 (CH₂-P-CH₂, d, 1P, ²J_{PP} = 10 Hz).
- MS**: (-) 818,8 [M-H]⁻. (+) 821,1 [M+H]⁺; 843,0 [M+Na]⁺; 859,0 [M+K]⁺.

45

Příklad 24: Příprava cílicího konjugátu 19

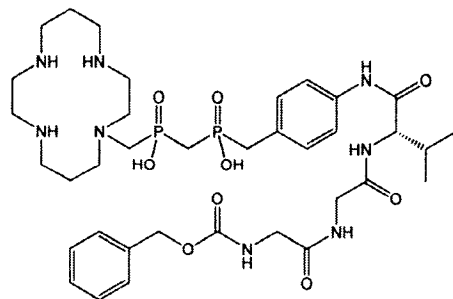


V NMR kyvetě byla rozpuštěna navážka **10**-TFA·3,5H₂O (3,4 mg; 3,9 μmol; 1,0 ekviv.) v D₂O (500 μL). K takto vzniklému roztoku byly postupně přidány tripeptid HGlyGlyTyrOH (1,9 mg; 6,2 μmol; 1,6 ekviv.) a vodný pufr H₃BO₃-LiOH (750 mM v D₂O; pD = 9,3; 413 μL; 310 μmol; 80 ekviv.). Vzniklá směs byla míchána při laboratorní teplotě přes noc. Surový produkt byl čištěn pomocí preparativní HPLC (C8; gradientová eluce H₂O-0,1% TFA-MeCN). Frakce s produktem byla lyofilizována. Výsledný produkt byl získán jako bílá látka (≈1 mg).

NMR (D₂O): ¹H δ 2,01 (CH₂-CH₂-CH₂, m, 2H); 2,06 (CH₂-CH₂-CH₂, m, 2H); 2,12 (P-CH₂-P, t, 2H, ²J_{HP} = 15 Hz); 2,58-3,56 (cyklus, N-CH₂-P, P-CH₂-C, CH₂, m, 22H); 3,90 (CH₂, m, 2H); 4,21 (CH₂, m, 2H); 4,64 (CH-N, dd, 1H, ³J_{HH} = 9 Hz, ³J_{HH} = 5 Hz); 6,85 (CH-C-OH, d, 2H, ³J_{HH} = 8 Hz); 7,16 (CH-CH-CH₂, d, 2H, ³J_{HH} = 8 Hz); 7,32 (CH-C-NH, d, 2H, ³J_{HH} = 8 Hz); 7,38 (CH-C-CH₂, d, 2H, ³J_{HH} = 8 Hz); ¹³C{¹H} δ 23,0 (CH₂-CH₂-CH₂, s); 23,8 (CH₂-CH₂-CH₂, s); 32,4 (P-CH₂-P, t, ¹J_{CP} = 80 Hz); 36,5 (CH₂, s); 40,1 (P-CH₂-C, d, ¹J_{CP} = 89 Hz); 42,9 (CH₂, s); 43,3 (cyklus, s); 44,8 (cyklus, s); 45,6 (cyklus, s); 46,0 (cyklus, s); 46,4 (cyklus, s); 47,0 (cyklus, s); 48,2 (CH₂, s); 53,5 (P-CH₂-N, d, ¹J_{CP} = 107 Hz); 54,9 (cyklus, s); 55,1 (CH-N, s); 55,8 (cyklus, d, ³J_{CP} = 11 Hz); 116,1 (CH-C-OH, s); 126,8 (CH-C-NH, s); 129,2 (C-CH₂, s); 131,3 (CH-C-CH₂, s); 131,5 (CH-C-CH₂, s); 134,3 (C-CH₂-P, d, ²J_{CP} = 6 Hz); 135,8 (C-NH, s); 155,1 (C-OH, s); 171,9 (CO, s); 173,1 (CO, s); 175,7 (CO, s); 182,3 (CS, s); ³¹P{¹H} δ 31,2 (N-CH₂-P, m, 1P); 34,2 (P-CH₂-Cd, 1P, ²J_{PP} = 8 Hz).

MS: (-) 796,8 [M-HT⁺]⁻ (+) 799,0 [M+H⁺]⁺.

25 Příklad 25: Příprava cílicího konjugátu **20**

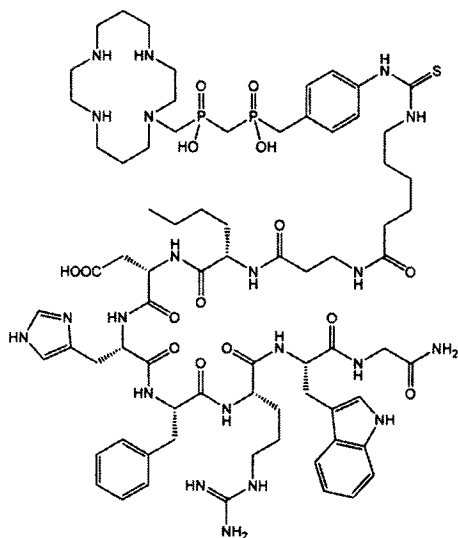


Ve skleněné vialce (4 mL) byla rozpuštěna navážka tripeptidu HOValGlyGlyCbz (9,6 mg; 26 μmol; 3,0 ekviv.) ve směsi H₂O-MeCN (2:3; 1,0 mL). Dále byly postupně přidány trichlortriazin (1,6 mg; 8,7 μmol; 1,0 ekviv.) a pyridin (21,2 μL; 0,26 mmol; 30 ekviv.). Výsledná směs byla míchána 1 hodinu při laboratorní teplotě. Do směsi byl poté jednorázově přidán roztok **9**·3H₂O (17,4 mg; 33,8 μmol; 3,9 ekviv.) ve směsi H₂O-MeCN (2:3; 1,0 mL) a vzniklá směs byla míchána při laboratorní teplotě přes noc. Surový produkt byl čištěn pomocí preparativní HPLC (C8; gradientová eluce H₂O-0,1% TFA-MeCN). Frakce s produktem byla lyofilizována. Výsledný produkt byl získán jako bílá látka (≈1 mg).

NMR (D₂O): ¹H δ 1,02 (CH₃, m, 6H); 2,02 (CH₂-CH₂-CH₂, p, 2H, ³J_{HH} = 6 Hz); 2,07 (CH₂-CH₂-CH₂, p, 2H, ³J_{HH} = 6 Hz); 2,16 (P-CH₂-P, t, 2H, ²J_{HP} = 16 Hz); 2,20 (CH₃-CH-CH₃,

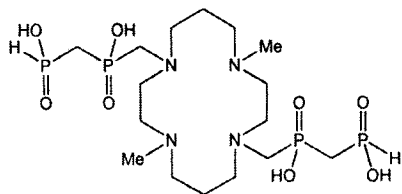
m, 1H); 2,34–3,52 (*cyklus*, N—CH₂—P, P—CH₂—C, bm, 20H); 3,91 (CH₂, s, 2H); 4,02 (CH₂, s, 2H); 4,23 (CH—CO, d, 1H, ³J_{HH} = 8 Hz); 5,15 (Ph—CH₂—O, s, 2H); 7,29–7,51 (CH—C—N, CH—C—CH₂, *Ph*, bm, 9H); ¹³C{¹H} δ 18,5 (CH₃, s); 19,1 (CH₃, s); 23,0 (CH₂—CH₂—CH₂, s); 23,6 (CH₂—CH₂—CH₂, s); 31,0 (CH₃—CH—CH₃, s); 32,5 (P—CH₂—P, t, ¹J_{CP} = 80 Hz); 40,0 (P—CH₂—C, d, ¹J_{CP} = 90 Hz); 43,1 (CH₂, s); 43,2 (*cyklus*, s); 44,5 (CH₂, s); 44,6 (*cyklus*, s); 45,4 (*cyklus*, s); 45,6 (*cyklus*, s); 46,3 (*cyklus*, s); 46,6 (*cyklus*, s); 53,5 (P—CH₂—N, d, ¹J_{CP} = 107 Hz); 54,8 (*cyklus*, s); 55,8 (*cyklus*, d, ³J_{CP} = 10 Hz); 61,1 (CH—CO, s); 68,1 (Ph—CH₂—O, s); 123,3 (*Ph*, s); 128,5 (CH—C—NH, s); 129,2 (*Ph*, s); 129,6 (*Ph*, s); 131,2 (CH—C—CH₂, d, ³J_{CP} = 6 Hz); 132,5 (C—CH₂—P, d, ²J_{CP} = 8 Hz); 135,4 (C—NH, s); 137,0 (*Ph*, s); 159,4 (CO—O, s); 172,3 (CO, s); 173,0 (CO, s); 173,9 (CO, s); ³¹P{¹H} δ 30,1 (N—CH₂—P, m, 1P); 34,4 (P—CH₂—C, d, 1P, ²J_{PP} = 9 Hz).
MS: (–) 806,9 [M–H][–]. (+) 809,1 [M+H]⁺; 831,0 [M+Na]⁺.

15 **Příklad 26: Příprava cílicího konjugátu 21**



20 Do skleněné vialky (4 mL) byl navážen 10·TFA·3,5H₂O (13,2 mg; 18,5 μmol; 1,7 ekviv.). Dále byly postupně přidány peptid NH₂(CH₂)₅CONH(CH₂)₂CONleAspHisD–PheArgTrpGlyNH₂ (12,0 mg; 10,8 μmol; 1,0 ekviv.) a vodný pufr H₃BO₃–LiOH (750 mM v D₂O; pD = 9,3; 3,5 mL; 2,63 mmol; 240 ekviv.). Vzniklá směs byla míchána při laboratorní teplotě přes noc. Surový produkt byl čištěn pomocí preparativní HPLC (C8; gradientová eluce H₂O–0,1% TFA–MeCN). Frakce s produktem byla lyofilizována. Výsledný produkt byl získán jako bílá látka (≈2 mg).
 25 **NMR** (D₂O): ¹H δ 0,83 (CH₃, t, 3H, ³J_{HH} = 7 Hz); 1,04 (CH₂, bm, 2H); 1,21–1,72 (CH₂, bm, 10H); 1,82–2,23 (P—CH₂—P, CH₂, *cyklus*, bm, 8H); 2,35–3,54 (*cyklus*, CH₂, P—CH₂—N, P—CH₂—C, bm, 38H); 3,80 (CH₂, m, 2H); 4,12 (CH, m, 1H); 4,16 (CH, m, 1H); 4,51 (CH, m, 1H); 4,55 (CH, m, 1H); 4,59 (CH, m, 1H); 4,69 (CH, m, 1H); 7,06 (CH₂—C—CH—N, s, 1H); 7,10–7,27 (*arom.*, m, 7H); 7,28–7,39 (*arom.*, m, 5H); 7,46 (CH, d, 1H, ³J_{HH} = 7 Hz); 7,63 (CH, d, 1H, ³J_{HH} = 8 Hz); 8,53 (N—CH—N, s, 1H); ³¹P{¹H} δ 32,5 (CH₂—P—CH₂, m, 1P); 35,4 (CH₂—P—CH₂, m, 1P).
 30 **MS:** (–) 1614,5 [M–H][–]. (+) 1616,4 [M+H]⁺.

35 **Příklad 27: Příprava látky 22**



Do skleněné vialky (4 mL) byl navážen 3·3,5H₂O (35,6 mg; 79,6 μmol; 1,0 ekvív.). Dále byly postupně přidány methylen-bis(fosfinová kyselina) (27,6 mg; 192 μmol; 2,4 ekvív.), paraformaldehyd (5,8 mg; 193 μmol; 2,4 ekvív.) a vodná HCl (6 M; 1 mL). Vzniklá suspenze byla míchána přes noc při 80 °C. Druhý den byla směs odpařena do sucha a poté několikrát odpařena s H₂O. Surový produkt byl čištěn pomocí iontoměniče (DOWEX 50; H⁺-forma; H₂O). Frakce s produktem byly spojeny a odpařeny do sucha. Odparek byl dále několikrát odpařen s H₂O a následně znovu rozpuštěn v H₂O (50 mL). Takto vzniklý roztok byl lyofilizován.

Výsledný produkt byl získán jako bílá látka (21,2 mg; 47%; 1 krok; vztaženo na 3·3,5H₂O).

NMR (D₂O): ¹H δ 1,71 (CH₂—CH₂—CH₂, p, 4H, ³J_{HH} = 7 Hz); 2,04 (P—CH₂—P, dd, 2H, ²J_{HP} = 18 Hz, ²J_{HP} = 16 Hz); 2,23 (CH₃, s, 6H); 2,51 (cyklus, t, 4H, ³J_{HH} = 7 Hz); 2,57 (cyklus, m, 4H); 2,75 (cyklus, m, 4H); 2,81 (N—CH₂—P, d, 2H, ²J_{HP} = 9 Hz); 2,86 (cyklus, m, 4H); 7,13 (PH, d, ¹J_{HP} = 531 Hz); ¹³C{¹H} δ 20,2 (CH₂—CH₂—CH₂, s); 35,7 (P—CH₂—P, t, ¹J_{CP} = 77 Hz); 44,0 (CH₃, s); 48,7 (cyklus, s); 49,9 (cyklus, d, ³J_{CP} = 7 Hz); 51,9 (cyklus, d, ³J_{CP} = 7 Hz); 53,8 (cyklus, s); 57,0 (N—CH₂—P, d, ¹J_{CP} = 110 Hz); ³¹P δ 19,8 (PH, dtd, 2P, ¹J_{PH} = 531 Hz, ²J_{PH} = 18 Hz, ²J_{PP} = 3 Hz); 32,0 (N—CH—P, m, 2P).

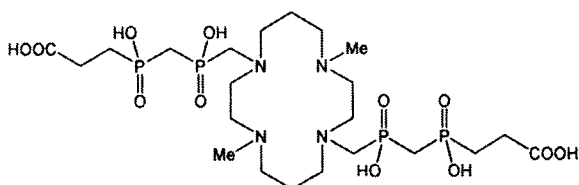
MS: (–) 539,3 [M–H⁺]⁺. (+) 541,4 [M+H⁺]⁺; 563,4 [M+Na⁺]⁺; 585,4 [M–H⁺+2Na⁺]⁺; 607,4 [M–2H⁺+3Na⁺]⁺.

TLC (SiO₂, *i*-PrOH–konc. NH₄OH–H₂O 7:3:3): R_f = 0,7.

EA (C₁₆H₄₀N₄O₈P₄·1,5H₂O, M_R = 567,4): C 33,9 (33,8); H 7,6 (7,2); N 9,9 (9,6).

Příklad 28: Příprava látky 23

25



Do skleněné vialky (20 mL) byl navážen tetrahydrochlorid 1,8-dimethyl-1,4,8,11-tetraazacyklotetradekanu (295 mg; 788 μmol; 1,0 ekvív.). Dále byly postupně přidány látka **D** (792 mg; 3,66 mmol; 4,6 ekvív.), paraformaldehyd (49,7 mg; 1,66 mmol; 2,1 ekvív.) a vodná HCl (6 M; 15 mL). Vzniklá suspenze byla míchána 3 dny při 80 °C. Následně byla směs odpařena do sucha a poté několikrát odpařena s H₂O. Surový produkt byl čištěn sloupcovou chromatografií (SiO₂; EtOH–konc. NH₄OH 1:1; R_f = 0,5). Frakce s produktem byly spojeny a odpařeny do sucha. K odparku byla přidána H₂O (25 mL) a malé množství aktivního uhlí a vzniklá suspenze byla přefiltrována přes stříkačkový mikrofiltr (Millipore; 0,22 μm). Filtrát byl dále čištěn pomocí iontoměniče (DOWEX 50; H⁺-forma; H₂O). Frakce s produktem byly spojeny a odpařeny do sucha. Odparek byl následně znovu rozpuštěn v H₂O (500 mL) a lyofilizován. Výsledný produkt byl získán jako bílá látka (392 mg; 62%; 1 krok; vztaženo na tetrahydrochlorid 1,8-dimethyl-1,4,8,11-tetraazacyklotetradekanu).

NMR (D₂O): ¹H δ 1,80 (CH₂—CH₂—CH₂, p, 4H, ³J_{HH} = 6 Hz); 1,95 (P—CH₂—C, m, 4H); 2,10 (P—CH₂—P, dd, 4H, ²J_{HP} = 17 Hz, ²J_{HP} = 15 Hz); 2,25 (CH₃, s, 6H); 2,35 (CH₂—CO, tm, 4H, ³J_{HH} = 8 Hz); 2,49 (cyklus, t, 4H, ³J_{HH} = 7 Hz); 2,51 (cyklus, m, 2H); 2,58 (cyklus, m, 4H); 2,63–2,79 (cyklus, N—CH₂—P, m, 10H); ¹³C{¹H} δ 23,2 (CH₂—CH₂—CH₂, s); 29,2 (P—CH₂—C, d, ¹J_{CP} = 97 Hz); 30,8 (CH₂—CO, s); 31,0 (P—CH₂—P, dd, ¹J_{CP} = 79; ¹J_{CP} = 76 Hz); 43,8 (CH₃, s);

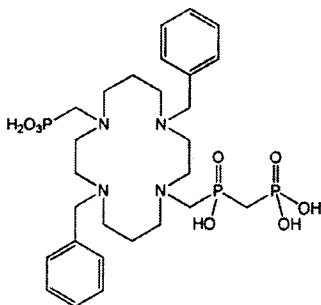
50,2 (cyklus, d, $^3J_{CP} = 6$ Hz); 50,6 (cyklus, s); 52,6 (cyklus, s); 54,2 (cyklus, s); 55,5 (N—CH₂—P, d, $^1J_{CP} = 110$ Hz); 184,1 (CO, d, $^3J_{CP} = 17$ Hz); $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ δ 33,8 (CH₂—P—CH₂, d, 1P, $^2J_{PP} = 9$ Hz); 34,8 (CH₂—P—CH₂, d, 1P, $^2J_{PP} = 9$ Hz).

MS: (–) 665,2 [M—H₃O⁺][–]; 683,3 [M—H⁺][–]. (+) 685,2 [M+H⁺]⁺; 707,2 [M+Na⁺]⁺; 729,2 [M—H⁺+2Na⁺]⁺; 751,1 [M—2H⁺+3Na⁺]⁺.

TLC (SiO₂, EtOH–konc. NH₄OH 1:1): $R_f = 0,5$.

EA (C₂₂H₄₈N₄O₁₂P₄·3H₂O, $M_R = 738,6$): C 35,8 (35,5); H 7,6 (8,0); N 7,6 (7,7).

10 **Příklad 29: Příprava látky 24**



Do skleněné vialky (4 mL) byla navážena látka 6·3,5HCl·H₂O (81,3 mg; 116 μmol ; 1,0 ekviv.).
 15 Dále byly postupně přidány kyselina fosforitá (90,2 mg; 1,10 mmol; 9,5 ekviv.), paraformaldehyd (8,2 mg; 273 μmol ; 2,4 ekviv.) a vodná HCl (12 M; 1 mL). Vzniklá suspenze byla míchána 5 dní při 40 °C. Následně byla směs odpařena do sucha a poté několikrát odpařena s H₂O. Surový produkt byl čištěn pomocí iontoměniče (DOWEX 50; H⁺–forma; H₂O). Frakce s produktem byly spojeny a odpařeny do sucha. Odparek byl dále několikrát odpařen s H₂O a následně znovu rozpuštěn v H₂O (50 mL). Takto vzniklý roztok byl lyofilizován. Výsledný produkt byl získán jako bílá látka (40,4 mg; 51%; 1 krok; vztaženo na látku 6·3,5HCl·H₂O).

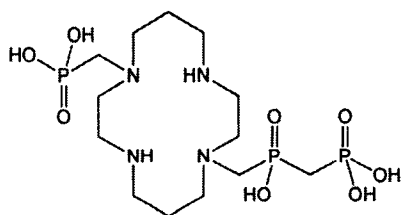
NMR (D₂O): ^1H δ 1,78–1,94 (CH₂—CH₂—CH₂, bm, 4H); 2,12 (P—CH₂—P, dd, 2H, $^2J_{HP} = 19$ Hz, $^2J_{HP} = 17$ Hz); 2,51–2,60 (cyklus, m, 2H); 2,63–2,81 (cyklus, bm, 4H); 2,88–2,98 (cyklus, N—CH₂—P, m, 4H); 3,03–3,44 (cyklus, N—CH₂—P, m, 10H); 3,94 (CH₂—Ph, bm, 2H); 4,02 (CH₂—Ph, bm, 2H); 6,99–7,30 (Ph, m, 8H); $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ δ 22,6 (CH₂—CH₂—CH₂, s); 27,6 (CH₂—CH₂—CH₂, s); 34,8 (P—CH₂—P, dd, $^1J_{CP} = 117$ Hz, $^1J_{CP} = 75$ Hz); 41,5 (cyklus, s); 42,4 (cyklus, s); 50,4 (cyklus, s); 51,3 (cyklus, s); 52,3 (cyklus, s); 52,9 (N—CH₂—P, d, $^1J_{CP} = 104$ Hz); 53,3 (cyklus, s); 54,8 (cyklus, s); 56,2 (CH₂—Ph, s); 56,9 (cyklus, d, $^3J_{CP} = 8$ Hz); 58,9 (CH₂—Ph, s); 59,0 (N—CH₂—P, d, $^1J_{CP} = 110$ Hz); 123,3 (Ph, s); 124,5 (Ph, s); 129,0 (Ph, s); 129,2 (Ph, s); 130,3 (Ph, s); 131,4 (Ph, s); 137,2 (Ph, s); 142,8 (Ph, s); $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ δ 19,2 (HO—P—OH, m, 1P); 26,9 (HO—P—OH, d, 1P, $^2J_{PP} = 9$ Hz); 34,5 (N—CH—P, bm, 1P).

MS: (–) 645,0 [M—H⁺][–]. (+) 647,1 [M+H⁺]⁺; 669,2 [M+Na⁺]⁺; 685,2 [M+K⁺]⁺.

TLC (SiO₂, *i*PrOH–konc. NH₄OH–H₂O 7:3:3): $R_f = 0,8$.

EA (C₂₇H₄₅N₄O₈P₃·2H₂O, $M_R = 682,6$): C 47,5 (47,6); H 7,2 (7,2); N 8,2 (8,2).

35 **Příklad 30: Příprava látky 25**



40

Ve skleněné baňce (50 mL) byla rozpuštěna navážka látky **24**·2H₂O (26,3 mg; 38,5 μmol; 1,0 ekviv.) v H₂O (25 mL) a vzniklý roztok byl krátce promyt plynným argonem. Dále byly postupně přidány HCOONH₄ (98,2 mg; 1,56 mmol; 41 ekviv.) a katalyzátor (10% Pd@C; 9,1 mg). Vzniklá suspenze byla míchána přes noc při 60 °C. Následně byla směs odpařena do sucha a poté

5

několikrát odpařena s H₂O. Katalyzátor byl odfiltrován a několikrát promyt H₂O. Filtrát byl odpařen do sucha a odparek byl poté čištěn pomocí iontoměniče (DOWEX 50; H⁺-forma; H₂O). Vodná frakce s produktem byla odpařena do sucha a poté několikrát odpařena s H₂O. Odparek byl následně znovu rozpuštěn v H₂O (50 mL) a lyofilizován. Výsledný produkt byl získán jako bílá látka (15,4 mg; 76%; 1 krok; vztaženo na látku **24**·2H₂O).

10

15

NMR (D₂O): ¹H δ 1,85–1,98 (CH₂—CH₂—CH₂, bm, 4H); 2,11 (P—CH₂—P, dd, 2H, ²J_{HP} = 18 Hz, ²J_{HP} = 15 Hz); 2,48–2,84 (cyklus, bm, 6H); 2,88 (cyklus, m, 2H); 3,01 (N—CH₂—P, d, 2H, ²J_{HP} = 12 Hz); 3,08–3,38 (cyklus, N—CH₂—P, m, 10H); ¹³C {¹H} δ 23,1 (CH₂—CH₂—CH₂, s); 27,4 (CH₂—CH₂—CH₂, s); 34,2 (P—CH₂—P, dd, ¹J_{CP} = 117 Hz, ¹J_{CP} = 76 Hz); 43,8 (cyklus, s); 42,4 (cyklus, s); 50,4 (cyklus, s); 51,3 (cyklus, s); 52,6 (cyklus, s); 52,8 (N—CH₂—P, d, ¹J_{CP} = 107 Hz); 54,1 (cyklus, s); 55,2 (cyklus, s); 57,6 (N—CH₂—P, d, ¹J_{CP} = 111 Hz); 58,2 (cyklus, d, ³J_{CP} = 8 Hz); ³¹P {¹H} 28,3 (HO—P—OH, d, 1P, ²J_{PP} = 10 Hz); 32,6 (N—CH—P, d, 1P, ²J_{PP} = 10 Hz).

MS: (–) 465,2 [M–H⁺][–]. (+) 467,3 [M+H⁺]⁺; 489,2 [M+Na⁺]⁺; 505,2 [M+K⁺]⁺; 511,2 [M–H⁺+2Na⁺]⁺.

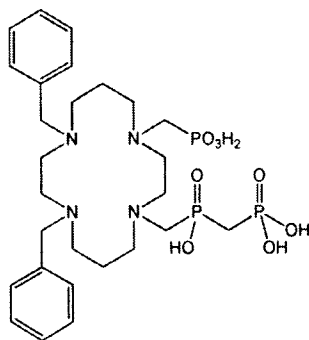
20

TLC (SiO₂, *i*PrOH–konc. NH₄OH–H₂O 7:3:3): R_f = 0,4.

EA (C₁₃H₃₃N₄O₈P₃·3,5H₂O, M_R = 529,4): C 29,5 (29,3); H 7,6 (7,9); N 10,6 (10,7).

Příklad 31: Příprava látky **26**

25



Do skleněné vialky (4 mL) byla navážena látka **7**·4H₂O (91,3 mg; 150 μmol; 1,0 ekviv.). Dále byly postupně přidány kyselina fosforitá (123 mg; 1,5 mmol; 10 ekviv.), paraformaldehyd (10,8 mg; 360 μmol; 2,4 ekviv.) a vodná HCl (12 M; 1 mL). Vzniklá suspenze byla míchána 5 dní při 40 °C. Následně byla směs odpařena do sucha a poté několikrát odpařena s H₂O. Surový produkt byl čištěn pomocí iontoměniče (DOWEX 50; H⁺-forma; H₂O). Frakce s produktem byly spojeny a odpařeny do sucha. Odparek byl dále několikrát odpařen s H₂O a následně znovu rozpuštěn v H₂O (50 mL). Takto vzniklý roztok byl lyofilizován. Výsledný produkt byl získán jako bílá látka (59,4 mg; 58%; 1 krok; vztaženo na látku **7**·4H₂O).

30

35

NMR (D₂O): 1,72–1,84 (CH₂—CH₂—CH₂, bm, 2H); 1,92 (CH₂—CH₂—CH₂, m, 1H); 2,05–2,33 (CH₂—CH₂—CH₂, P—CH₂—P, bm, 3H); 2,49–3,24 (cyklus, N—CH₂—P, bm, 20H); 3,82 (CH₂—Ph, m, 2H); 4,07 (CH₂—Ph, m, 2H); 6,83–6,92 (Ph, bm, 3H); 6,98–7,22 (Ph, bm, 8H); ³¹P {¹H} 18,3 (HO—P—OH, s, 1P); 22,9 (HO—P—OH, d, 1P, ²J_{PP} = 9 Hz); 32,4 (N—CH—P, bm, 1P).

40

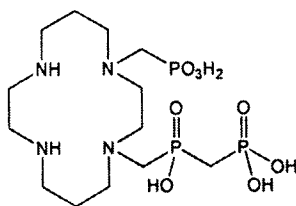
MS: (–) 645,1 [M–H⁺][–]. (+) 647,4 [M+H⁺]⁺; 669,5 [M+Na⁺]⁺; 685,4 [M+K⁺]⁺.

TLC (SiO₂, *i*PrOH–konc. NH₄OH–H₂O 7:3:3): R_f = 0,8.

EA (C₂₇H₄₅N₄O₈P₃·2H₂O, M_R = 682,6): C 47,2 (47,6); H 7,3 (7,2); N 8,0 (8,2).

45

Příklad 32: Příprava látky **27**



5 Ve skleněné baňce (50 mL) byla rozpuštěna navážka látky **26**·2H₂O (28 mg; 41 μmol; ekviv.) v H₂O (25 mL) a vzniklý roztok byl krátce promyt plynným argonem. Dále byly postupně přidány HCOONH₄ (107,8 mg; 1,71 mmol; 45 ekviv.) a katalyzátor (10% Pd@C; mg). Vzniklá suspenze byla míchána přes noc při 60 °C. Následně byla směs odpařena do sucha a poté několikrát odpařena s H₂O. Katalyzátor byl odfiltrován a několikrát promyt H₂O. Filtrát byl odpařen do sucha a odparek byl poté čištěn pomocí iontoměniče (DOWEX 50; H⁺-forma; H₂O). Vodná frakce s produktem byla odpařena do sucha a poté několikrát odpařena s H₂O. Odparek byl následně znovu rozpuštěn v H₂O (50 mL) a lyofilizován. Výsledný produkt byl získán jako bílá látka (15,4 mg; 82%; 1 krok; vztaženo na látku **26**·2H₂O).

15 **NMR** (D₂O): **NMR** (D₂O): ¹H δ 1,88 (CH₂—CH₂—CH₂, m, 1H); 1,97–2,08 (CH₂—CH₂—CH₂, bm, 2H); 2,13–2,35 (P—CH₂—P, CH₂—CH₂—CH₂, bm, 3H); 2,44–3,38 (cyklus, N—CH₂—P, m, 20H); ¹³C{¹H} δ 22,8 (CH₂—CH₂—CH₂, s); 25,2 (CH₂—CH₂—CH₂, s); 33,1 (P—CH₂—P, dd, ¹J_{CP} = 114 Hz, ¹J_{CP} = 80 Hz); 42,1 (cyklus, s); 45,5 (cyklus, s); 49,9 (cyklus, s); 51,1 (cyklus, s); 51,5 (cyklus, s); 53,9 (N—CH₂—P, d, ¹J_{CP} = 109 Hz); 54,6 (cyklus, s); 54,8 (cyklus, s); 57,6 (cyklus, s); 59,2 (N—CH₂—P, d, ¹J_{CP} = 108 Hz); ³¹P{¹H} 21,3 (HO—P—OH, m, 1P); 28,3 (HO—P—OH, d, 1P, ²J_{PP} = 10 Hz); 32,2 (N—CH—P, d, 1P, ²J_{PP} = 10 Hz).

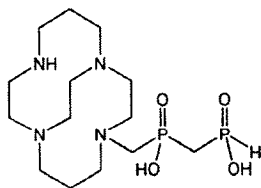
20 **MS**: (–) 465,4 [M–HT⁺]. (+) 467,2 [M+H⁺]; 489,5 [M+Na⁺]; 505,5 [M+K⁺]; 511,6 [M–H⁺+2Na⁺].

TLC (SiO₂, *i*PrOH–konc. NH₄OH–H₂O 7:3:3): R_f = 0,4.

EA (C₁₃H₃₃N₄O₈P₃·5H₂O, M_R = 556,4): C 28,3 (28,1); H 8,6 (8,8); N 9,8 (10,1).

25

Příklad 33: Příprava látky **28**



30 Do skleněné vialky (20 mL) byl navážen 1,4,8,11–tetraazabicyklo[6.6.2]hexadekan (1,17 g; 5,16 mmol; 2,4 ekviv.). Dále byly postupně přidány methylen–bis(fosfinová kyselina) (633 mg; 4,40 mmol; 2,0 ekviv.), paraformaldehyd (65,3 mg; 2,17 mmol; 1,0 ekviv.) a vodná HCl (5 M; 20 mL). Vzniklá suspenze byla míchána přes noc při 80 °C. Druhý den byla směs odpařena do sucha a poté několikrát odpařena s H₂O. Surový produkt byl čištěn pomocí iontoměniče (Amberlite IRA 402; OH[–]-forma; H₂O → 10% vodná AcOH). Acetátová frakce s produktem byla odpařena do sucha a poté několikrát odpařena s H₂O. Odparek byl rozpuštěn ve vodné HCl (5 M; 10 mL) a vzniklý roztok byl odpařen do sucha. Odparek byl dále dosušen pomocí vakuové pumpy a následně v evakuovaném exsikátoru nad P₂O₅. Výsledný produkt byl získán jako bílá látka (668 mg; 63%; 1 krok; vztaženo na paraformaldehyd).

40 **NMR** (D₂O): ¹H δ 1,70 (CH₂—CH₂—CH₂, dm, 1H, ¹J_{HH} = 17 Hz); 1,76 (CH₂—CH₂—CH₂, dm, 1H, ¹J_{HH} = 17 Hz); 2,12 (P—CH₂—P, m, 2H); 2,30 (CH₂—CH₂—CH₂, m, 1H); 2,30 (CH₂—CH₂—CH₂, m, 1H); 2,56 (cyklus, m, 2H); 2,63 (cyklus, m, 2H); 2,92 (cyklus, m, 3H); 3,05 (cyklus, m, 2H); 3,14 (cyklus, m, 2H); 3,17 (N—CH₂—P, 1H); 3,22 (cyklus, m, 1H); 3,30 (cyklus, m, 3H); 3,44 (cyklus, m, 2H); 3,62 (cyklus, m, 1H); 3,73 (N—CH₂—P, m, 1H); 3,78 (cyklus, m,

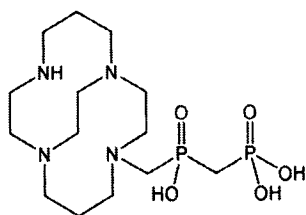
2H); 7,13 (PH, d, 1H, $^1J_{HP} = 533$ Hz); $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ δ 18,9 (CH₂—CH₂—CH₂, s); 20,1 (CH₂—CH₂—CH₂, s); 36,0 (P—CH₂—P, dd, $^1J_{CP} = 84$ Hz; $^1J_{CP} = 77$ Hz); 42,2 (cyklus, s); 47,7 (cyklus, s); 49,5 (cyklus, s); 49,9 (cyklus, s); 51,7 (CH₂—N—CH₂—P, d, $^3J_{CP} = 6$ Hz); 54,0 (N—CH₂—P, d, $^1J_{CP} = 91$ Hz); 54,4 (cyklus, s); 56,2 (cyklus, s); 58,2 (cyklus, s); 58,4 (cyklus, s); 59,5 (cyklus, s); ^{31}P δ 20,6 (PH, dtd, 1P, $^1J_{PH} = 533$ Hz, $^2J_{PH} = 17$ Hz, $^2J_{PP} = 6$ Hz); 25,7 (P—CH₂—N, m, 1P).

MS: (–) 381,2 [M–H⁺]; 402,9 [M–2H⁺+Na⁺]. (+) 383,3 [M+H⁺]; 405,3 [M+Na⁺]; 421,2 [M+K⁺].

TLC (SiO₂, *i*PrOH–konc. NH₄OH–H₂O 7:3:3): $R_f = 0,7$.

EA (C₁₄H₃₂N₄O₄P₂·2,5HCl·H₂O, $M_R = 491,5$): C 34,2 (34,4); H 7,5 (7,7); N 11,4 (11,0).

Příklad 34: Příprava látky 29



Do skleněné baňky (50 mL) byl navážen 1,4,8,11–tetraazabicyklo[6.6.2]hexadekan (954 mg; 4,22 mmol; 2,0 ekviv.). Dále byly postupně přidány látka A·0,5H₂O (360 mg; 2,13 mmol; 1,0 ekviv.), paraformaldehyd (81,9 mg; 2,73 mmol; 1,3 ekviv.) a vodná HCl (5 M; 20 mL). Vzniklá suspenze byla míchána přes noc při 80 °C. Druhý den byla směs odpařena do sucha a poté několikrát odpařena s H₂O. Surový produkt byl čištěn pomocí iontoměniče (DOWEX 1; OH[–]–forma; H₂O → 10% vodná AcOH). Acetátová frakce s produktem byla odpařena do sucha a poté několikrát odpařena s H₂O. Odparek byl rozpuštěn v HCl (6 M; 10 mL) a vzniklý roztok byl odpařen do sucha. Odparek byl dále dosušen pomocí vakuové pumpy a následně v evakuovaném exsikatoru nad P₂O₅. Výsledný produkt byl získán jako nažloutlá látka (571 mg; 58%; 1 krok; vztaženo na látku A·0,5H₂O).

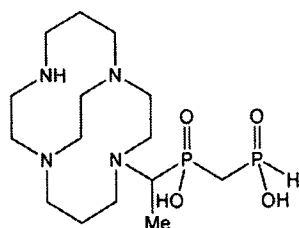
NMR (D₂O): ^1H δ 1,66 (CH₂—CH₂—CH₂, dm, 1H, $^1J_{HH} = 17$ Hz); 1,75 (CH₂—CH₂—CH₂, dm, 1H, $^1J_{HH} = 17$ Hz); 1,92 (P—CH₂—P, m, 2H); 2,20 (CH₂—CH₂—CH₂, m, 1H); 2,33 (CH₂—CH₂—CH₂, m, 1H); 2,60 (cyklus, m, 2H); 2,71 (cyklus, m, 2H); 2,91 (cyklus, m, 2H); 3,01 (cyklus, m, 6H); 3,03 (N—CH₂—P, 1H); 3,15 (cyklus, m, 1H); 3,29 (cyklus, m, 4H); 3,79 (cyklus, m, 3H); 4,24 (N—CH₂—P, m, 1H); $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ δ 19,5 (CH₂—CH₂—CH₂, s); 20,6 (CH₂—CH₂—CH₂, s); 33,7 (P—CH₂—P, dd, $^1J_{CP} = 115$ Hz; $^1J_{CP} = 88$ Hz); 42,3 (cyklus, s); 48,75 (cyklus, s); 50,0 (cyklus, s); 50,1 (cyklus, s); 52,3 (CH₂—N—CH₂—P, d, $^3J_{CP} = 7$ Hz); 53,2 (cyklus, s); 53,4 (N—CH₂—P, d, $^1J_{CP} = 87$ Hz); 55,0 (cyklus, s); 58,7 (cyklus, s); 59,1 (cyklus, s); 59,4 (cyklus, s); $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ δ 11,3 (HO—P—OH, m, 1P); 27,6 (P—CH₂—N, m, 1P).

MS: (+) 399,1 [M+H⁺]; 421,0 [M+Na⁺]; 437,2 [M+K⁺].

TLC (SiO₂, *i*PrOH–konc. NH₄OH–H₂O 7:3:3): $R_f = 0,2$.

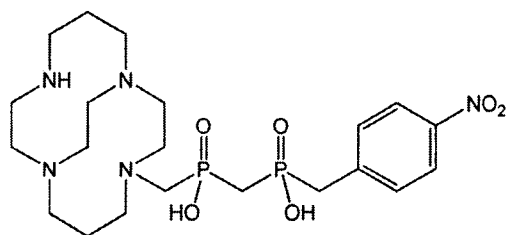
EA (C₁₄H₃₂N₄O₅P₂·1,5HCl·0,5H₂O, $M_R = 462,1$): C 36,4 (36,2); H 7,5 (7,5); N 12,1 (12,0).

Příklad 35: Příprava látky 30



- Do skleněné vialky (4 mL) byl navážen 1,4,8,11-tetraazabicyklo[6.6.2]hexadekan (298 mg; 1,32 mmol; 4,5 ekviv.). Dále byly postupně přidány methylen-bis(fosfinová kyselina) (93,5 mg; 649 μ mol; 2,2 ekviv.), acetaldehyd (13,0 mg; 295 μ mol; 1,0 ekviv.) a vodná HCl (6 M; 2 mL). Vzniklá suspenze byla míchána přes noc při 60 °C. Druhý den byla směs odpařena do sucha a poté několikrát odpařena s H₂O. Surový produkt byl čištěn pomocí iontoměniče (DOWEX 50; H⁺-forma; H₂O → 10% vodný pyridin). Pyridinová frakce s produktem byla odpařena do sucha a poté několikrát odpařena s H₂O. Odparek byl rozpuštěn v H₂O (50 mL) a vzniklý roztok byl lyofilizován. Výsledný produkt byl získán jako bílá látka (62,3 mg; 51%; 1 krok; vztaženo na acetaldehyd).
- NMR** (D₂O): ¹H δ 1,19 (CH₃, dd, 3H, ³J_{HP} = 15 Hz, ²J_{HH} = 6 Hz); 1,72 (CH₂—CH₂—CH₂, dm, 1H, ¹J_{HH} = 16 Hz); 1,80 (CH₂—CH₂—CH₂, dm, 1H, ¹J_{HH} = 17 Hz); 2,15 (P—CH₂—P, t, 2H, ²J_{HP} = 16 Hz); 2,27–2,39 (CH₂—CH₂—CH₂, m, 2H); 2,48 (cyklus, m, 2H); 2,68 (cyklus, m, 2H); 2,95–3,04 (cyklus, m, 4H); 3,21–3,37 (cyklus, bm, 11H) 3,51 (CH—CH₃, dq, 1H, ²J_{HP} = 14 Hz, ²J_{HH} = 6 Hz); 3,62 (cyklus, m, 2H); 3,78 (cyklus, m, 1H); 7,15 (PH, d, 1H, ¹J_{HP} = 533 Hz); ¹³C{¹H} δ 8,9 (CH₃, s); δ 22,1 (CH₂—CH₂—CH₂, s); 23,5 (CH₂—CH₂—CH₂, s); 36,7 (P—CH₂—P, dd, ¹J_{CP} = 81 Hz; ¹J_{CP} = 75 Hz); 41,6 (cyklus, s); 46,2 (cyklus, s); 49,7 (cyklus, s); 50,9 (cyklus, d, ³J_{CP} = 6 Hz); 51,2 (cyklus, s); 53,5 (N—CH₂—P, d, ¹J_{CP} = 92 Hz); 54,1 (cyklus, s); 55,5 (cyklus, s); 56,8 (cyklus, s); 57,2 (cyklus, s); 59,9 (cyklus, s); ³¹P δ 19,8 (PH, dtm, 1P, ¹J_{PH} = 533 Hz, ²J_{PH} = 16 Hz); 29,2 (P—CH₂—N, m, 1P).
- MS**: (–) 394,9 [M–H⁺][–]. (+) 396,9 [M+H⁺]⁺; 419,0 [M+Na⁺]⁺; 441,0 [M–H⁺+2Na⁺]⁺.
TLC (SiO₂, EtOH–konc. NH₄OH 2:1): R_f = 0,7.
EA (C₁₅H₃₄N₄O₄P₂·H₂O, M_R = 414,2): C 43,5 (43,8); H 8,8 (8,5); N 13,5 (13,5).

25 **Příklad 36: Příprava látky 31**



- Do skleněné vialky (20 mL) byl navážen 1,4,8,11-tetraazabicyklo[6.6.2]hexadekan (1,12 g; 4,97 μ mol; 1,6 ekviv.). Dále byly postupně přidány látka **B** (856 mg; 3,07 mmol; 1,0 ekviv.), paraformaldehyd (92,4 mg; 3,08 mmol; 1,0 ekviv.) a vodná HCl (6 M; 15 mL). Vzniklá suspenze byla míchána přes noc při 80 °C. Druhý den byla směs odpařena do sucha a poté několikrát odpařena s H₂O. Surový produkt byl čištěn pomocí iontoměniče (DOWEX 50; H⁺-forma; H₂O → 10% vodný pyridin). Pyridinová frakce s produktem byla odpařena do sucha a poté několikrát odpařena s H₂O. Surový produkt byl čištěn chromatograficky (C18; gradientová eluce H₂O–0,1% TFA–MeCN). Frakce s čistým produktem byly spojeny a odpařeny do sucha. Odparek byl následně znovu rozpuštěn v H₂O (250 mL) a lyofilizován. Výsledný produkt byl získán jako žlutá látka (1,04 g; 55%; 1 krok; vztaženo na látku **B**).
- NMR** (D₂O): ¹H δ 1,69 (CH₂—CH₂—CH₂, m, 1H); 1,77 (CH₂—CH₂—CH₂, m, 1H); 2,10 (P—CH₂—P, m, 2H); 2,27 (CH₂—CH₂—CH₂, m, 1H); 2,39 (CH₂—CH₂—CH₂, m, 1H); 2,59 (cyklus, m, 2H); 2,64 (cyklus, m, 2H); 2,85–3,07 (cyklus, m, 5H); 3,07–3,35 (cyklus, P—CH₂—C, N—CH₂—P, m, 9H); 3,38 (cyklus, m, 1H); 3,38 (cyklus, m, 1H); 3,68 (cyklus, m, 1H); 3,74–3,88 (cyklus, N—CH₂—P, m, 3H); 7,51 (CH—C—CH₂, dd, 2H, ²J_{HH} = 9 Hz, ⁴J_{HP} = 2 Hz); 8,19 (CH—C—N, d, 2H, ²J_{HH} = 9 Hz); ¹³C{¹H} δ 19,0 (CH₂—CH₂—CH₂, s); 20,2 (CH₂—CH₂—CH₂, s); 33,3 (P—CH₂—P, dd, ¹J_{CP} = 85 Hz, ¹J_{CP} = 82 Hz); 41,1 (P—CH₂—C, dd, ¹J_{CP} = 86 Hz, ³J_{CP} = 3 Hz); 42,2 (cyklus, s); 47,9 (cyklus, s); 49,6 (cyklus, s); 49,9 (cyklus, s); 51,8 (cyklus, d, ³J_{CP} = 7 Hz); 54,1 (cyklus, s); 55,2 (P—CH₂—N, d, ¹J_{CP} = 90 Hz); 58,4 (cyklus, s); 58,7 (cyklus, s); 59,5 (cyklus, s); 124,4 (CH—C—N, s); 131,3 (CH—C—CH₂, d, ³J_{CP} = 5 Hz); 143,9 (CH—C—CH₂,

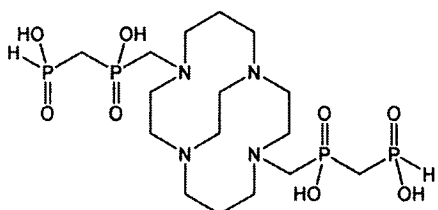
d, $^2J_{CP} = 8$ Hz); 146,8 (CH—C—N, s); $^{31}P\{^1H\}$ δ 23,3 (CH₂—P—CH₂, d, 1P, $^2J_{PP} = 11$ Hz); 31,1 (CH₂—P—CH₂, d, 1P, $^2J_{PP} = 11$ Hz).

MS: (-) 516,2 [M-H]⁺.

TLC (SiO₂, EtOH-konc. NH₄OH 4:1): $R_f = 0,6$.

5 **EA** (C₂₁H₃₇N₅O₆P₂·5,5H₂O, $M_R = 616,5$): C 40,9 (40,8); H 7,9 (7,6); N 11,4 (11,7).

Příklad 37: Příprava látky 32



10

Do skleněné baňky (25 mL) byl navážen 1,4,8,11-tetraazabicyklo[6.6.2]hexadekan (214 mg; 945 μ mol; 1,0 ekviv.). Dále byly postupně přidány methylen-bis(fosfinová kyselina) (835 mg; 5,80 mmol; 5,5 ekviv.), paraformaldehyd (63,5 mg; 2,12 mmol; 2,0 ekviv.) a vodná HCl (6 M; 5 mL). Vzniklá suspenze byla míchána dva dny při 80 °C. Následně byla směs odpařena do sucha a poté několikrát odpařena s H₂O. Surový produkt byl čištěn pomocí iontoměniče (DOWEX 50; H⁺-forma; H₂O). Frakce s produktem byly spojeny a odpařeny do sucha. Odparek byl následně znovu rozpuštěn v H₂O (200 mL) a lyofilizován. Výsledný produkt byl získán jako bílá látka (392 mg; 68%; 1 krok; vztaženo na 1,4,8,11-tetraazabicyklo[6.6.2]hexadekan).

15

20 **NMR** (D₂O): 1H δ 1,67 (CH₂—CH₂—CH₂, bm, 2H); 1,82 (CH₂—CH₂—CH₂, bm, 2H); 1,99 (P—CH₂—P, t, 4H, $^2J_{HP} = 17$ Hz); 2,78–3,19 (N—CH₂, bm, 20H); 3,26 (N—CH₂, bm, 2H); 3,62 (N—CH₂, bm, 2H); 7,14 (PH, d, 2H, $^1J_{HP} = 530$ Hz); $^{13}C\{^1H\}$ δ 24,4 (CH₂—CH₂—CH₂, s); 37,1 (P—CH₂—P, dd, $^1J_{CP} = 76$ Hz, $^1J_{CP} = 72$ Hz); 52,4 (cyklus, s); 52,8 (cyklus, s); 53,8 (CH₂—N—CH₂—P, d, $^3J_{CP} = 4$ Hz); 53,8 (N—CH₂—P, d, $^1J_{CP} = 100$ Hz); 56,5 (cyklus, s); 57,1 (cyklus, s); 25 $^{31}P\{^1H\}$ δ 19,8 (PH, dt, 2P, $^1J_{PH} = 530$ Hz, $^2J_{PH} = 18$ Hz); 32,5 (P—CH₂—N, t, 2P, $^2J_{PH} = 15$ Hz).

25

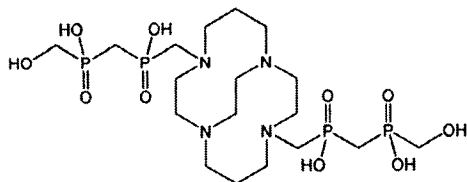
MS: (-) 536,7 [M-H]⁺.

TLC (SiO₂, *i*PrOH-konc. NH₄OH—H₂O 7:3:3): $R_f = 0,4$.

EA (C₁₆H₃₈N₄O₈P₄·4H₂O, $M_R = 610,5$): C 31,5 (31,3); H 7,6 (7,4); N 9,2 (9,2).

30

Příklad 38: Příprava látky 33



35 Do skleněné vialky (4 mL) byla navážena látka 32·4H₂O (59,8 mg; 98 μ mol; 1,0 ekviv.). Dále byl přidán paraformaldehyd (13,6 mg; 453 μ mol; 4,6 ekviv.) a vodná HCl (6 M; 10 mL). Vzniklá suspenze byla míchána přes noc při 80 °C. Druhý den byla směs odpařena do sucha a poté několikrát odpařena s H₂O. Surový produkt byl čištěn pomocí iontoměniče (DOWEX 50; H⁺-forma; H₂O). Frakce s produktem byly spojeny a odpařeny do sucha. Odparek byl rozpuštěn v H₂O (25 mL) a lyofilizován. Výsledný produkt byl získán jako bílá látka (51,3 mg; 80%; 1 krok, vztaženo na látku 32·4H₂O).

40

NMR (D₂O): 1H δ 1,82 (CH₂—CH₂—CH₂, m, 2H); 2,06 (CH₂—CH₂—CH₂, m, 2H); 2,30 (P—CH₂—P, t, 4H, $^2J_{HP} = 16$ Hz); 2,67–3,63 (cyklus, N—CH₂—P, bm, 24H); 3,67 (O—CH₂—P, d, 4H, $^2J_{HP} = 5$ Hz); $^{13}C\{^1H\}$ δ 22,1 (CH₂—CH₂—CH₂, s); 34,2 (P—CH₂—P, dd, $^1J_{CP} = 84$ Hz, $^1J_{CP}$

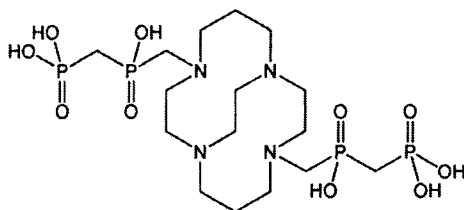
= 73 Hz); 51,4 (cyklus, s); 52,8 (cyklus, s); 53,6 (CH₂—N—CH₂—P, d, ³J_{CP} = 4 Hz); 54,9 (cyklus, s); 55,2 (N—CH₂—P, d, ¹J_{CP} = 98 Hz); 57,8 (cyklus, s); 61,3 (P—CH₂—O, d, ³J_{CP} = 108 Hz) ³¹P{¹H} δ 27,6 (P—CH₂—N, bm, 2P); 40,6 (P—CH₂—O, m, 2P).

MS: (-) 596,8 [M-H]⁻.

5 TLC (SiO₂, *i*PrOH-konc. NH₄OH-H₂O 7:3:3); R_f = 0,5.

EA (C₁₈H₄₂N₄O₁₀P₄·3H₂O, M_R = 652,5): C 33,1 (33,4); H 7,4 (7,5); N 8,6 (8,3).

10 Příklad 39: Příprava látky 34



15 Do skleněné vialky (20 mL) byla navážena látka 32·4H₂O (91,6 mg; 150 μmol; 1,0 ekviv.). Dále byl přidán roztok HgCl₂ (173 mg; 638 μmol; 4,3 ekviv.) ve vodné HCl (2 M; 5 mL) a vzniklá směs byla míchána dva dny při 60 °C. Druhý den byla vzniklá sraženina odcentrifugována. Do supernatantu byl pak zaváděn plynný H₂S. Vzniklá sraženina byla odcentrifugována a supernatant byl následně odpařen do sucha. Odparek byl rozpuštěn ve vodné HCl (3%; 300 μL) a k vzniklému roztoku byl přidán nadbytek *i*PrOH (25 mL). Druhý den byl matečný louh oddekantován. Olejovitý podíl byl opakovaně odpařen s H₂O. Odparek byl následně rozpuštěn v

20 H₂O (100 mL) a lyofilizován. Výsledný produkt byl získán jako bílá látka (68,4 mg; 68%; 1 krok; vztaženo na látku 32·4H₂O).

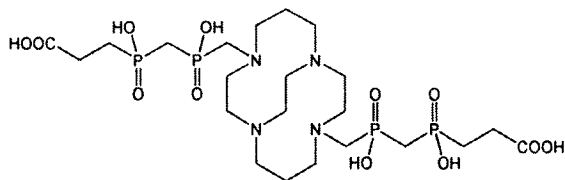
NMR (D₂O): ¹H δ 1,68 (CH₂—CH₂—CH₂, bm, 2H); 1,81 (CH₂—CH₂—CH₂, bm, 2H); 1,92 (P—CH₂—P, t, 4H, ²J_{HP} = 18 Hz); 2,75–3,21 (N—CH₂, bm, 20H); 3,27 (N—CH₂, bm, 2H); 3,66 (N—CH₂, bm, 2H); ¹³C{¹H} δ 24,5 (CH₂—CH₂—CH₂, s); 35,1 (P—CH₂—P, dd, ¹J_{CP} = 117 Hz, ¹J_{CP} = 75 Hz); 52,5 (cyklus, s); 52,9 (cyklus, s); 53,3 (N—CH₂—P, bm); 53,7 (CH₂—N—CH₂—P, bm); 56,7 (cyklus, s); 57,0 (cyklus, s); ³¹P{¹H} δ 12,4 (HO—P—OH, d, 2P, ²J_{PP} = 7 Hz); 36,7 (P—CH₂—N, d, 2P, ²J_{PP} = 7 Hz).

TLC (SiO₂, *i*PrOH-konc. NH₄OH-H₂O 7:3:3); R_f = 0,1.

MS: (-) 569,2 [M-H]⁻. (+) 571,4 [M+H]⁺; 593,4 [M+Na]⁺; 609,4 [M+K]⁺.

30 EA (C₁₆H₃₈N₄O₁₀P₄·2,5HCl·H₂O, M_R = 679,6): C 28,3 (28,4); H 6,3 (6,2); N 8,2 (8,3).

Příklad 40: Příprava látky 35



35

40 Do skleněné vialky (20 mL) byl navážen 1,4,8,11-tetraazabicyklo[6.6.2]hexadecan (148 mg; 653 μmol; 1,0 ekviv.). Dále byly postupně přidány látka **D** (688 mg; 3,18 mmol; 4,9 ekviv.), paraformaldehyd (48,6 mg; 1,62 mmol; 2,5 ekviv.) a vodná HCl (12 M; 10 mL). Vzniklá suspenze byla míchána dva dny při 80 °C. Následně byla směs odpařena do sucha a poté několikrát odpařena s H₂O. Surový produkt byl čištěn sloupcovou chromatografií (SiO₂; EtOH-konc. NH₄OH 1:1; R_f = 0,4). Frakce s produktem byly spojeny a odpařeny do sucha. K odparku byla přidána H₂O (25 mL) a malé množství aktivního uhlí a vzniklá suspenze byla přefiltrována

přes stříkačkový mikrofiltr (Millipore; 0,22 μm). Filtrát byl dále čištěn pomocí iontoměniče (DOWEX 50; H^+ -forma; H_2O). Frakce s produktem byly spojeny a odpařeny do sucha. Odparek byl následně znovu rozpuštěn v H_2O (125 mL) a lyofilizován. Výsledný produkt byl získán jako bílá látka (272 mg; 58%; 1 krok; vztaženo na 1,4,8,11-tetraazabicyklo[6.6.2]hexadekan).

5 **NMR** (D_2O): ^1H δ 1,72 ($\text{CH}_2\text{—CH}_2\text{—CH}_2$, m, 2H); 1,74 ($\text{CH}_2\text{—CH}_2\text{—CH}_2$, m, 2H); 1,94 (P— $\text{CH}_2\text{—P}$, P— $\text{CH}_2\text{—C}$, m, 8H); 2,48 ($\text{CH}_2\text{—CO}$, t, 4H, $^3J_{\text{HH}} = 7$ Hz); 2,92–3,31 (cyklus, N— CH_2 , bm, 22H); 3,52 (N— CH_2 , bm, 2H); $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ δ 24,4 ($\text{CH}_2\text{—CH}_2\text{—CH}_2$, s); 26,8 (P— $\text{CH}_2\text{—C}$, d, $^1J_{\text{CP}} = 94$ Hz); 31,0 ($\text{CH}_2\text{—CO}$, s); 34,9 (P— $\text{CH}_2\text{—P}$, dd, $^1J_{\text{CP}} = 76$ Hz, $^1J_{\text{CP}} = 74$ Hz); 52,4 (cyklus, s); 52,8 (cyklus, s); 54,2 (N— $\text{CH}_2\text{—P}$, d, $^1J_{\text{CP}} = 102$ Hz); 54,4 (cyklus, d, $^3J_{\text{CP}} = 5$ Hz);
10 57,1 (cyklus, s); 57,3 (cyklus, s); 182,8 (CO, d, $^3J_{\text{CP}} = 15$ Hz); $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ δ 30,4 ($\text{CH}_2\text{—P—CH}_2$, d, 2P, $^2J_{\text{PP}} = 10$ Hz); 33,7 ($\text{CH}_2\text{—P—CH}_2$, d, 2P, $^2J_{\text{PP}} = 10$ Hz).

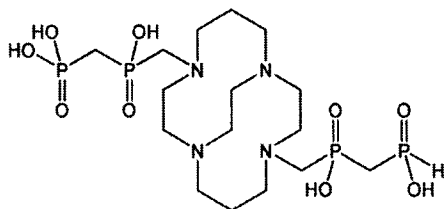
MS: (–) 663,3 [$\text{M—H}_3\text{O}^+$]; 681,3 [M—H^+]. (+) 683,2 [M+H^+]; 727,2 [$\text{M—H}^++2\text{Na}^+$].

TLC (SiO_2 , EtOH–konc. NH_4OH 1:1): $R_f = 0,3$.

EA ($\text{C}_{22}\text{H}_{46}\text{N}_4\text{O}_{12}\text{P}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $M_R = 718,6$): C 36,8 (36,9); H 7,0 (7,3); N 7,8 (7,5).

15

Příklad 41: Příprava látky 36



20

Do skleněné vialky (4 mL) byla navážena látka **29**·1,5HCl·0,5H₂O (51,3 mg; 111 μmol ; 1,0 ekviv.). Dále byly postupně přidány methylen-bis(fosfinová kyselina) (59,2 mg; 411 μmol ; 3,7 ekviv.), paraformaldehyd (4,9 mg; 163 μmol ; 1,5 ekviv.) a vodná HCl (12 M; 1 mL). Vzniklá suspenze byla míchána dva dny při 80 °C. Druhý den byla směs odpařena do sucha a poté několikrát odpařena s H_2O . Odparek byl dále čištěn pomocí iontoměniče (DOWEX 50; H^+ -forma; H_2O). Frakce s produktem byly spojeny a odpařeny do sucha. Odparek byl dále dosušen pomocí vakuové pumpy a následně v evakuovaném exsikatoru nad P_2O_5 . Výsledný produkt byl získán jako bílá látka (35,0 mg; 55 %; 1 krok; vztaženo na **29**·1,5HCl·0,5H₂O).

25

NMR (D_2O): ^1H δ 1,83–2,11 ($\text{CH}_2\text{—CH}_2\text{—CH}_2$, bm, 4H); 2,24 (P— $\text{CH}_2\text{—P}$, t, 2H, $^2J_{\text{HP}} = 15$ Hz); 2,37 ($\text{CH}_2\text{—CH}_2\text{—CH}_2$, dd, 2H, $^2J_{\text{HP}} = 18$ Hz, $^2J_{\text{HP}} = 16$ Hz); 2,64–3,44 (cyklus, N— $\text{CH}_2\text{—P}$, bm, 24H); $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ δ 22,2 ($\text{CH}_2\text{—CH}_2\text{—CH}_2$, s); 23,7 ($\text{CH}_2\text{—CH}_2\text{—CH}_2$, s); 34,2 (P— $\text{CH}_2\text{—P}$, dd, $^1J_{\text{CP}} = 122$ Hz, $^1J_{\text{CP}} = 82$ Hz); 36,3 (P— $\text{CH}_2\text{—P}$, t, $^1J_{\text{CP}} = 82$ Hz); 49,3–57,4 (12 x N— CH_2 , bm); ^{31}P δ 19,0 (HO—P—OH, m, 1P); 24,3 (PH, dm, 1P, $^1J_{\text{PH}} = 533$ Hz); 26,7 (P— $\text{CH}_2\text{—N}$, bm, 1P); 27,8 (P— $\text{CH}_2\text{—N}$, bm, 1P).

30

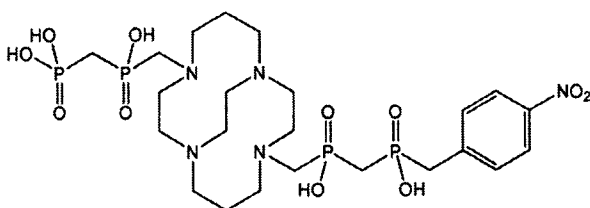
MS: (–) 553,1 [M—H^+]. (+) 555,2 [M+H^+]; 577,2 [M+Na^+].

35

TLC (SiO_2 , EtOH–konc. NH_4OH 1:1): $R_f = 0,3$.

EA ($\text{C}_{16}\text{H}_{38}\text{N}_4\text{O}_9\text{P}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, $M_R = 572,4$): C 33,6 (33,4); H 7,0 (6,7); N 9,8 (9,9).

40 Příklad 42: Příprava látky 37



Do skleněné vialky (4 mL) byla navážena látka **29**·1,5HCl·0,5H₂O (403 mg; 872 μmol; 1,0 ekviv.). Dále byly postupně přidány látka **B** (294 mg; 1,05 mmol; 1,2 ekviv.), paraformaldehyd (39,3 mg; 1,33 mmol; 1,5 ekviv.) a vodná HCl (12 M; 5 mL). Vzniklá suspenze byla míchána tři dny při 80 °C. Následně byla směs odpařena do sucha a poté několikrát odpařena s H₂O. Surový produkt byl čištěn chromatograficky (C18; gradientová eluce H₂O–0,1% TFA–MeCN). Frakce s produktem byly spojeny a odpařeny do sucha. Odparek byl následně znovu rozpuštěn v H₂O (250 mL) a lyofilizován. Výsledný produkt byl získán jako žlutá látka (417 mg; 62%; 1 krok; vztaženo na **29**·1,5HCl·0,5H₂O).

NMR (D₂O): ¹H δ 2,02 (CH₂—CH₂—CH₂, bm, 2H); 2,32 (CH₂—CH₂—CH₂, bm, 2H); 2,40 (P—CH₂—P, t, 2H, ²J_{HP} = 16 Hz); 2,48 (P—CH₂—P, dd, 2H, ²J_{HP} = 20 Hz, ²J_{HP} = 17 Hz); 2,79–3,98 (cyklus, N—CH₂—P, P—CH₂—C, bm, 26H); 7,57 (CH, dd, 2H, ³J_{HH} = 9 Hz, ⁴J_{HP} = 2 Hz); 8,24 (CH, d, 2H, ³J_{HH} = 9 Hz); ¹³C{¹H} δ 20,5 (CH₂—CH₂—CH₂, s); 21,0 (CH₂—CH₂—CH₂, s); 32,2 (P—CH₂—P, dd, ¹J_{CP} = 124 Hz, ¹J_{CP} = 84 Hz); 33,2 (P—CH₂—P, t, ¹J_{CP} = 82 Hz); 39,3 (P—CH₂—C, d, ¹J_{CP} = 89 Hz); 48,0–59,6 (12 x N—CH₂ bm); 124,5 (CH—C—N, d, ⁴J_{CP} = 3 Hz); 131,5 (CH—C—CH₂, d, ³J_{CP} = 6 Hz); 141,8 (CH—C—CH₂, d, ²J_{CP} = 9 Hz); 147,2 (CH—C—N, s); ³¹P{¹H} δ 18,0 (HO—P—OH, m, 1P); 24,0 (P—CH₂—N, bm, 1P); 25,6 (P—CH₂—N, bm, 1P); 39,0 (P—CH₂—C, m, 1P).

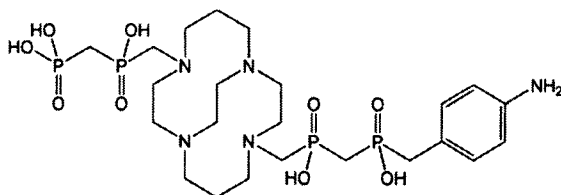
MS: (–) 687,8 [M–HT⁺][–]; 709,7 [M–2H⁺+Na⁺][–]; 725,7 [M–2H⁺+K⁺][–]. (+) 689,9 [M+H⁺]⁺; 711,9 [M+Na⁺]⁺; 727,8 [M+K⁺]⁺; 749,8 [M–H⁺+Na⁺+K⁺]⁺.

TLC (SiO₂, *i*PrOH–konc. NH₄OH–H₂O 7:3:3): R_f = 0,3.

EA (C₂₃H₄₃N₅O₁₁O₄·4,5H₂O, M_R = 77%,6): C 28,3 (28,4); H 6,3 (6,2); N 8,2 (8,3).

Příklad 43: Příprava látky **38**

25



Ve skleněné baňce (250 mL) byla rozpuštěna navážka látky **37**·4,5H₂O (288 mg; 374 μmol) v H₂O (100 mL) a vzniklý roztok byl krátce promyt plynným argonem. Dále byl přidán katalyzátor (10% Pd@C; 44 mg) a do vzniklé suspenze byl kontinuálně sycen plynným H₂ při 60 °C přes noc. Katalyzátor byl poté odfiltrován a filtrát byl odpařen do sucha. Odparek byl poté znovu rozpuštěn v H₂O (250 mL) a lyofilizován. Výsledný produkt byl získán jako nažloutlá látka (257 mg; 94%; 1 krok; vztaženo na **37**·4,5H₂O).

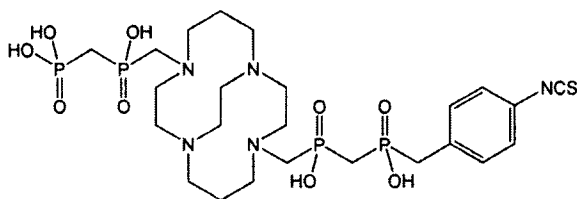
NMR (D₂O): ¹H δ 1,80 (CH₂—CH₂—CH₂, bm, 2H); 1,86 (CH₂—CH₂—CH₂, bm, 2H); 2,10 (P—CH₂—P, m, 2H); 2,21 (P—CH₂—P, m, 2H); 2,65–3,77 (cyklus, N—CH₂—P, P—CH₂—C, bm, 26H); 6,97 (CH, d, 2H, ³J_{HH} = 8 Hz); 7,25 (CH, d, 2H, ³J_{HH} = 8 Hz); ¹³C{¹H} δ 20,1 (CH₂—CH₂—CH₂, s); 20,5 (CH₂—CH₂—CH₂, s); 32,7 (P—CH₂—P, m); 33,4 (P—CH₂—P, m); 33,6 (P—CH₂—C, d, ¹J_{CP} = 91 Hz); 46,7–57,2 (12 x N—CH₂, bm); 123,0 (CH—C—N, s); 118,2 (CH—C—N, m); 130,8 (CH—C—CH₂, d, ³J_{CP} = 5 Hz); 140,3 (CH—C—CH₂, m); ³¹P{¹H} δ 13,5 (HO—P—OH, bm, 1P); 24,6 (P—CH₂—N, bm, 1P); 23,6 (P—CH₂—N, bm, 1P); 32,6 (P—CH₂—C, bm, 1P).

MS: (–) 658,0 [M–H⁺][–]; 679,9 [M–2H⁺+Na⁺][–]. (+) 659,9 [M+H⁺]⁺; 981,9 [M+Na⁺]⁺; 697,8 [M+K⁺]⁺.

TLC (SiO₂, *i*PrOH–konc. NH₄OH–H₂O 7:3:3): R_f = 0,3.

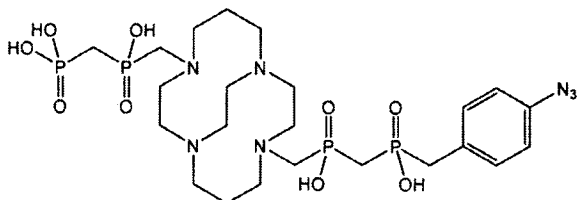
EA (C₂₃H₄₅N₅O₉P₄·4H₂O, M_R = 731,6): C 37,8 (37,6); H 7,3 (7,2); N 9,6 (9,5).

Příklad 44: Příprava látky **39**



- Ve skleněné baňce (100 mL) byla navážka **38**·4H₂O (48,3 mg; 66,0 μmol, 1,0 ekvív.) rozpuštěna v H₂O (20 mL). Následně byl jednorázově přidán čerstvě připravený roztok CSCI₂ (15 mM; 20 mL; 300 μmol; 4,5 ekvív.) v CCl₄. Reakční směs byla míchána při laboratorní teplotě přes noc. Organická fáze byla oddělena a vodná fáze byla odpařena do sucha. Surový produkt byl čišťen pomocí preparativní HPLC (C8; gradientová eluce H₂O–0,1% TFA–MeCN). Frakce s produktem byla lyofilizována. Výsledný produkt byl získán jako bílá látka (35,2 mg; 67%; 1 krok; vztaženo na **38**·4H₂O).
- NMR** (D₂O): ¹H δ 2,02 (CH₂—CH₂—CH₂, bm, 2H); 2,29 (P—CH₂—P, t, 2H, ²J_{HP} = 16 Hz); 2,32 (CH₂—CH₂—CH₂, bm, 2H); 2,37 (P—CH₂—P, t, 2H, ²J_{HP} = 19 Hz); 2,86–3,92 (cyklus, N—CH₂—P, P—CH₂—C, bm, 26H); 7,37 (CH, d, 2H, ³J_{HH} = 8 Hz); 7,39 (CH, m, 2H); ¹³C{¹H} δ 20,8 (CH₂—CH₂—CH₂, s); 21,3 (CH₂—CH₂—CH₂, s); 31,7 (P—CH₂—P, dd, ¹J_{CP} = 120 Hz, ¹J_{CP} = 83 Hz); 32,3 (P—CH₂—P, t, ¹J_{CP} = 82 Hz); 38,4 (P—CH₂—C, d, ¹J_{CP} = 91 Hz); 46,6–59,1 (12 x N—CH₂, bm); 126,7 (CH—C—N, s); 130,1 (CH—C—N, s); 131,8 (CH—C—CH₂, s); 132,2 (CH—C—CH₂, d, ²J_{CP} = 8 Hz); 134,8 (CS, s); ³¹P{¹H} δ 16,3 (HO—P—OH, m, 1P); 23,4 (P—CH₂—N, bm, 1P); 23,6 (P—CH₂—N, bm, 1P); 38,3 (P—CH₂—C, m, 1P).
- MS**: (–) 699,6 [M–H⁺][–]; 721,6 [M–2H⁺+Na⁺][–]; 737,6 [M–2H⁺+K⁺][–]. (+) 701,8 [M+H⁺]⁺; 723,8 [M+Na⁺]⁺; 739,8 [M+K⁺]⁺.
- EA** (C₂₄H₄₃N₅O₉P₄S·3,5H₂O, M_R = 796,1): C 36,2 (36,2); H 6,3 (6,3); N 8,8 (8,7).

Příklad 45: Příprava látky **40**



- Ve skleněné vialce (4 mL) byla rozpuštěna navážka látky **37**·4H₂O (161 mg; 220 μmol; 1,0 ekvív.) ve vodné HCl (243,8 mM; 1,800 μL; 440 μmol; 2,0 ekvív.) a vzniklá směs byla vychlazena v ledové lázni na 1 °C. Poté byl postupně přidáván (100 μL každé tři minuty) čerstvě připravený roztok vodný NaNO₂ (290 mM; 1,00 mL; 290,0 μmol; 1,3 ekvív.). Poté byl jednorázově přidán čerstvě připravený vodný roztok NaN₃ (580 mM; 760 μL; 441 μmol; 2,0 ekvív.). Reakční směs byla dále míchána při laboratorní teplotě po dobu 3 hodin. Surový produkt byl rozdělen na dvě části, které byly samostatně čištěny pomocí preparativní HPLC (C8; gradientová eluce H₂O–0,1% TFA–MeCN). Frakce s produkty byly následně spojeny a vzniklý roztok byl lyofilizován. Výsledný produkt byl získán jako bílá látka (29,5 mg; 57%; 1 krok; vztaženo na látku **37**·4H₂O).
- NMR** (D₂O): ¹H δ 2,07 (CH₂—CH₂—CH₂, m, 2H); 2,18 (CH₂—CH₂—CH₂, m); 2,28–2,41 (P—CH₂—P, m, 4H); 2,70–3,82 (cyklus, N—CH₂—P, P—CH₂—C, bm, 26H); 7,17 (CH—C—N, d, 2H, ³J_{HH} = 7 Hz); 7,31 (CH—C—CH₂, dd, 2H, ³J_{HH} = 7 Hz, ¹J_{HP} = 2 Hz); ¹³C{¹H} δ 20,5 (CH₂—CH₂—CH₂, s); 22,5 (CH₂—CH₂—CH₂, s); 32,2 (P—CH₂—P, dd, ¹J_{CP} = 121 Hz, ¹J_{CP} = 82 Hz); 32,3 (P—CH₂—P, dd, ¹J_{CP} = 82 Hz); 36,6 (P—CH₂—C, d, ¹J_{CP} = 93 Hz); 47,2–60,1 (12 x N—CH₂, bm); 123,5 (CH—C—N, s); 131,7 (CH—C—CH₂, d, ³J_{CP} = 4 Hz); 132,2 (CH—C—CH₂, d,

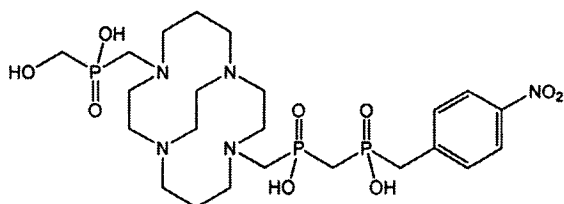
$^2J_{CP} = 7$ Hz); 141,0 (CH—C—N, s); $^{31}P\{^1H\}$ δ 17,5 (HO—P—OH, m, 1P); 22,2 (P—CH₂—N, bm, 1P); 24,0 (P—CH₂—N, bm, 1P); 36,8 (P—CH₂—C, m, 1P).

MS: (–) 666,0 [M—H₃O⁺]; 684,1 [M—H⁺]. (+) 688,1 [M+H⁺]⁺; 708,1 [M+Na⁺]⁺; 724,0 [M+K⁺]⁺; 730,1 [M—H⁺+2Na⁺]⁺.

5 **TLC** (SiO₂, EtOH–konc. NH₄OH 1:1): $R_f = 0,2$.

EA (C₂₃H₄₃N₇O₉P₄·3H₂O, $M_R = 739,6$): C 37,4 (37,2); H 6,7 (6,6); N 13,3 (13,3).

10 **Příklad 46: Příprava látky 41**



Do skleněné vialky (20 mL) byla navážena látka **31**·5,5H₂O (50,9 mg; 82,6 μ mol; 1,0 ekvív.). Dále byly postupně přidány paraformaldehyd (10,1 mg; 343 μ mol; 4,2 ekvív.) a hydroxymethylfosfinová kyselina (50,8 mg; 529 μ mol; 6,4 ekvív.) a HCl (6 M; 2 mL). Vzniklá suspenze byla míchána přes noc při 80 °C. Druhý den byla směs odpařena do sucha a poté několikrát odpařena s H₂O. Surový produkt byl čištěn pomocí iontoměniče (DOWEX 50; H⁺–forma; H₂O). Frakce s produkty byly spojeny, odpařeny do sucha a poté několikrát odpařeny s H₂O. Surový produkt byl čištěn pomocí preparativní HPLC (C8; gradientová eluce H₂O–0,1% TFA–MeCN). Frakce s produktem byla lyofilizována. Výsledný produkt byl získán jako nažloutlá látka (25,8 mg; 46%; 1 krok; vztaženo na látku **31**·5,5H₂O).

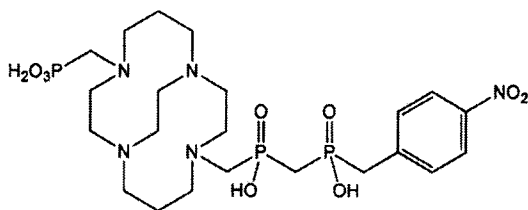
20 **NMR** (D₂O): 1H δ 1,84 (CH₂—CH₂—CH₂, m, 2H); 2,15–2,55 (CH₂—CH₂—CH₂, P—CH₂—P, m, 4H); 2,76 (cyklus, m, 4H); 2,98 (cyklus, m, 2H); 3,09 (cyklus, m, 2H); 3,18–3,84 (cyklus, N—CH₂—P, P—CH₂—C, O—CH₂—P, m, 20H); 7,57 (CH—C—CH₂, d, 2H, $^2J_{HH} = 8$ Hz); 8,25 (CH—C—N, d, 2H, $^2J_{HH} = 8$ Hz); $^{13}C\{^1H\}$ δ 20,7 (CH₂—CH₂—CH₂, s); 33,5 (P—CH₂—P, t, $^1J_{CP} = 81$ Hz); 39,5 (P—CH₂—C, dd, $^1J_{CP} = 88$ Hz); 49,1 (cyklus, s); 49,2 (cyklus, s); 50,2 (cyklus, s); 51,7 (P—CH₂—N, d, $^1J_{CP} = 84$ Hz); 54,6 (cyklus, s); 54,9 (cyklus, s); 58,3 (cyklus, s); 58,9 (P—CH₂—N, d, $^1J_{CP} = 83$ Hz); 58,9 (P—CH₂—O, d, $^1J_{CP} = 116$ Hz); 124,6 (CH—C—N, s); 131,6 (CH—C—CH₂, d, $^3J_{CP} = 5$ Hz); 142,3 (CH—C—CH₂, d, $^2J_{CP} = 8$ Hz); 147,2 (CH—C—N, s); $^{31}P\{^1H\}$ δ 23,6 (P—CH₂—P, bm, 1P); 29,7 (P—CH₂—P, bm, 1P); 37,3 (P—CH₂—O, m, 1P).

30 **MS:** (–) 623,5 [M—H⁺]⁺. (+) 625,4 [M+H⁺]⁺; 647,7 [M+Na⁺]⁺; 663,5 [M+K⁺]⁺.

TLC (SiO₂, EtOH–konc. NH₄OH 2:1): $R_f = 0,6$.

EA (C₂₃H₄₂N₅O₉P₃·3H₂O, $M_R = 679,6$): C 40,7 (40,6); H 7,1 (7,1); N 10,3 (10,5).

35 **Příklad 47: Příprava látky 42**



40 Do skleněné vialky (20 mL) byla navážena látka **31**·5,5H₂O (336 mg; 545 μ mol; 1,0 ekvív.). Dále byly postupně přidány paraformaldehyd (44,2 mg; 1,47 mmol; 2,7 ekvív.) a kyselina fosforitá (380 mg; 4,63 mmol; 8,5 ekvív.) a vodná HCl (12 M; 10 mL). Vzniklá suspenze byla míchána čtyři dny při 40 °C. Následně byla směs odpařena do sucha a poté několikrát odpařena s H₂O. Surový produkt byl čištěn pomocí iontoměniče (DOWEX 50; H⁺–forma; H₂O). Frakce obsahující

produkt byly spojeny a odpařeny do sucha. Surový produkt byl čištěn pomocí flash chromatografie (C18; gradientová eluce H₂O–0,1% TFA–MeCN). Frakce s produktem byly spojeny a odpařeny do sucha. Odparek byl následně znovu rozpuštěn v H₂O (250 mL) a lyofilizován. Výsledný produkt byl získán jako žlutá látka (194 mg; 54%; 1 krok; vztaženo na látka 31·5,5H₂O).

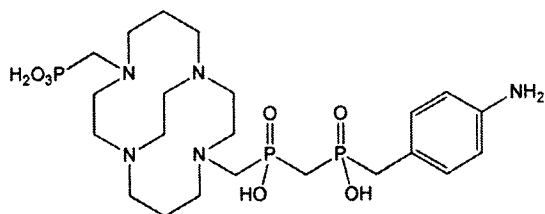
NMR (D₂O): ¹H δ 1,85 (CH₂—CH₂—CH₂, m, 2H); 2,12 (CH₂—CH₂—CH₂, m, 1H); 2,27 (P—CH₂—P, m, 4H); 2,35 (CH₂—CH₂—CH₂, m, 1H); 2,66–2,72 (cyklus, m, 3H); 2,89 (cyklus, m, 2H); 2,98–3,12 (cyklus, m, 3H); 3,14–3,60 (cyklus, N—CH₂—P, P—CH₂—C, m, 18H); 7,42 (CH—C—CH₂, d, 2H, ²J_{HH} = 8 Hz); 8,20 (CH—C—N, d, 2H, ²J_{HH} = 8 Hz); ³¹P{¹H} δ 21,2 (HO—P—OH, s, 1P); 23,6 (P—CH₂—P, d, 1P, ²J_{PP} = 8 Hz); 29,7 (P—CH₂—P, d, 1P, ²J_{PP} = 8 Hz).

MS: (–) 609,9 [M–H⁺][–]. (+) 612,1 [M+H⁺]⁺; 634,2 [M+Na⁺]⁺; 650,2 [M+K⁺]⁺.

TLC (SiO₂, EtOH–konc. NH₄OH 2:1): R_f = 0,4.

EA (C₂₂H₄₀N₅O₉P₃·2,5H₂O, M_R = 656,5): C 40,3 (40,5); H 6,9 (7,0); N 10,7 (10,4).

Příklad 48: Příprava látky 43



Ve skleněné baňce (100 mL) byla rozpuštěna navážka látky 42·2,5H₂O (185 mg; 0,28 mmol; 1,0 ekv.) v H₂O (10 mL) a vzniklý roztok byl krátce promyt plynným. Dále byl přidán katalyzátor (10% Pd@C; 54 mg) a vzniklá suspenze byla kontinuálně sycena plynným H₂ při 60 °C přes noc. Katalyzátor byl poté odfiltrován a filtrát byl odpařen do sucha. Odparek byl poté znovu rozpuštěn v H₂O (200 mL) a lyofilizován. Bylo získáno 158 mg (89%; 1 krok; vztaženo na 42·2,5H₂O).

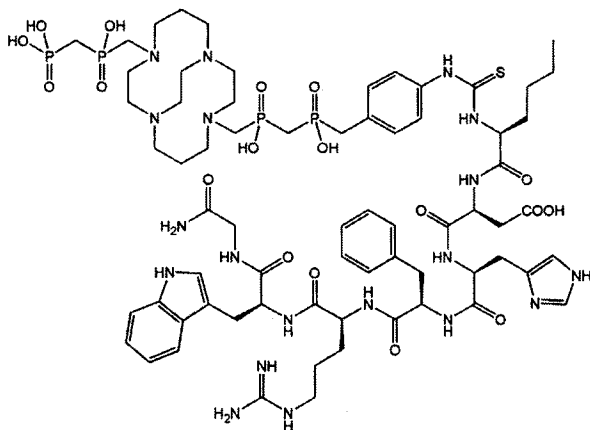
NMR (D₂O): ¹H δ 1,77 (CH₂—CH₂—CH₂, m, 1H); 1,87 (CH₂—CH₂—CH₂, m, 1H); 2,12 (CH₂—CH₂—CH₂, m, 1H); 2,22–2,40 (CH₂—CH₂—CH₂, P—CH₂—P, bm, 5H); 2,62–2,79 (cyklus, m, 2H); 2,91–3,02 (cyklus, m, 4H); 3,07–3,48 (cyklus, N—CH₂—P, P—CH₂—C, m, 20H); 6,89 (CH—C—N, d, 2H, ²J_{HH} = 8 Hz); 7,33 (CH—C—CH₂, d, 2H, ²J_{HH} = 8 Hz); ¹³C{¹H} δ 18,9 (CH₂—CH₂—CH₂, s); 22,3 (CH₂—CH₂—CH₂, s); 34,1 (P—CH₂—P, t, ¹J_{CP} = 83 Hz); 37,5 (P—CH₂—C, d, ¹J_{CP} = 90 Hz); 41,2–59,5 (12 x N—CH₂,bm); 120,1 (CH—C—N, s); 127,1 (CH—C—N, m); 129,3 (CH—C—CH₂, d, ³J_{CP} = 5 Hz); 134,5 (CH—C—CH₂, m); ³¹P{¹H} δ 19,3 (HO—P—OH, m, 1P); 22,4 (P—CH₂—P, d, 1P, ²J_{PP} = 9 Hz); 31,5 (P—CH₂—P, bm, 1P).

MS: (–) 580,2 [M–HT⁺][–]. (+) 582,8 [M+H⁺]⁺; 603,2 [M+Na⁺]⁺; 619,8 [M+K⁺]⁺.

TLC (SiO₂, EtOH–konc. NH₄OH 2:1): R_f = 0,3.

EA (C₂₂H₄₂N₅O₇P₃·3H₂O, M_R = 635,6): C 41,2 (41,6); H 6,8 (6,6); N 10,7 (11,0).

Příklad 49: Příprava cílicího konjugátu 44



Do skleněné vialky (4 mL) byla navážena látka **39**·3,5H₂O (5,3 mg; 6,7 μmol; 1,1 ekviv.). Dále byly postupně přidány peptid HNleAspHisD–PheArgTrpGlyNH₂ (5,9 mg; 6,4 μmol; 1,0 ekviv.), vodný pufr H₃BO₃–LiOH (750 mM v D₂O; pD = 10,1; 400 μL; 300 μmol; 50 ekviv.) a H₂O (600 μL). Vzniklá směs byla míchána při laboratorní teplotě přes noc. Surový produkt byl čištěn pomocí preparativní HPLC (C8; gradientová eluce H₂O–0,1% TFA–MeCN). Frakce s produkty byly lyofilizovány. Výsledný produkt byl získán jako bílá látka (5,7 mg; 55%; 1 krok; vztaženo na látku **39**·3,5H₂O).

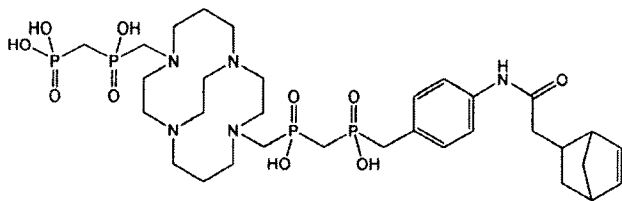
NMR (D₂O): ¹H δ 0,86 (CH₃, t, 3H, ³J_{HH} = 7 Hz); 1,01–1,53 (CH₂, bm, 10H); 1,68–2,29 (CH₂, P–CH₂–P, cyklus, bm, 8 H); 2,47–3,73 (cyklus, CH₂, P–CH₂–N, P–CH₂–C, bm, 36H); 3,80 (CH₂, m, 2H); 4,11 (CH, m, 1H); 4,45 (CH, m, 1H); 4,51 (CH, m, 1H); 4,55 (CH, m, 1H); 4,59 (CH, m, 1H); 4,69 (CH, m, 1H); 6,90 (CH₂–C–CH–N, s, 1H); 7,14 (CH, t, 1H, ³J_{HH} = 7 Hz); 7,14–7,27 (arom., m, 6H); 7,29–7,38 (arom., m, 5H); 7,46 (CH, d, 1H, ³J_{HH} = 8 Hz); 7,66 (CH, d, 1H, ³J_{HH} = 8 Hz); 8,03 (N–CH–N, s, 1H); ³¹P{¹H} δ 13,2 (HO–P–OH, bm, 1P); 25,3 (P–CH₂–N, bm, 1P); 27,4 (P–CH₂–N, bm, 1P); 32,3 (P–CH₂–C, bm, 1P).

MS: (–) 1628,2 [M–H][–]. (+) 1630,4 [M+H]⁺.

TLC (SiO₂, EtOH–konc. NH₄OH 1:1): R_f = 0,2.

20

Příklad 50: Příprava konjugátu **50**



Ve skleněné vialce (4 mL) byla rozpuštěna navážka látky **38**·4H₂O (28,6 mg; 39,1 μmol; 1,0 ekviv.) a *N*-hydroxysukcinimidesteru kyseliny 5–norbornen–2–octové (21,1 mg 84,6 μmol; 2,2 ekviv.) ve směsi vodného roztoku pufru H₃PO₄–NaOH (1,0 M pH = 8,1; 1,00 mL; 1,0 mmol; 26 ekviv.) a MeCN (0,5 mL). Vzniklá směs byla míchána při laboratorní teplotě přes noc. Surový produkt byl čištěn pomocí preparativní HPLC (C8; H₂O–0,1% TFA–MeCN). Frakce s produktem byla lyofilizována. Výsledný produkt byl získán jako bílá látka (26,1 mg; 71 %; 1 krok, vztaženo na látku **38**·4H₂O).

NMR (D₂O): ¹H δ 1,41–1,56 (CH–CH₂–CH, CH₂ bm, 2H); 1,62–1,75 (CH₂, CH–CH₂–CH, bm, 2H); 1,94–2,32 (P–CH₂–P, cyklus, bm, 6H); 2,44 (P–CH₂–P, t, 2H, ²J_{HP} = 17 Hz); 2,84–4,16 (cyklus, CH, N–CH₂–P, P–CH₂–C, bm, 31H); 5,96 (CH, dd, ³J_{HH} = 12 Hz, ³J_{HH} = 5 Hz); 6,32 (CH, dd, ³J_{HH} = 12 Hz, ³J_{HH} = 6 Hz); 6,98 (CH, d, 2H, ³J_{HH} = 8 Hz); 7,63 (CH, d, 2H, ³J_{HH} =

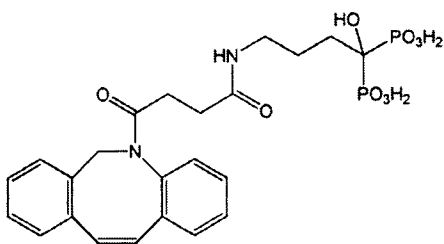
8 Hz); $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ δ 21,1 (HO—P—OH, bm, 1P); 23,5 (P—CH₂—N, bm, 1P); 24,9 (P—CH₂—N, bm, 1P); 29,3 (P—CH₂—C, bm, 1P).

MS: (–) 792,5 [M–H][–].

TLC (SiO₂, EtOH–konc. NH₄OH 1:1): R_f = 0,3.

5 **EA** (C₃₂H₅₅N₅O₁₀P₄·TFA·2H₂O, M_R = 943,3): C 43,3 (43,4); H 6,4 (6,2); N 7,4 (7,7).

Příklad 51: Příprava meziprojektu **F**



10

Ve skleněné vialce (4 mL) byla rozpuštěna navážka trihydrátu alendronátu sodného (21,0 mg; 64,6 μmol ; 1,4 ekviv.) ve vodném roztoku NaOH (250,6 mM; 773 μL ; 194 μmol ; 4,2 ekviv.) a vzniklá směs byla vychlazena v ledové lázni na 5 °C. Následně byl do směsi pomalu přikapán roztok *N*-hydroxysukcinimidesteru kyseliny 4-dibenzocyklooktynamidobutanové (18,4 mg; 45,7 μmol ; 1,0 ekviv.) v suchém DMSO (1,25 mL) a vzniklá směs byla míchána přes noc za nepřístupu světla. Druhý den byla směs čistěna pomocí preparativní HPLC (C8; gradientní eluce H₂O–0,1% TFA–MeCN). Frakce s produktem byla lyofilizována. Výsledný produkt byl získán jako bílá látka (16,3 mg; 66%; 1 krok; vztaženo na *N*-hydroxysukcinimidester kyseliny 4-dibenzocyklooktynamidobutanové). **NMR** (D₂O): ^1H δ 1,42 (CH₂—CH₂—CH₂, m, 2H); 1,77 (CH₂, m, 1H); 1,85 (CH₂—C—P, tm, $^3J_{\text{HP}}$ = 13 Hz); 1,96 (CH₂, t, 2H, $^3J_{\text{HH}}$ = 7 Hz); 2,16 (CH₂, m, 1H); 2,88 (CH₂—NH, t, $^3J_{\text{HH}}$ = 9 Hz); 3,61 (CH₂—N—CO, d, 1H, $^2J_{\text{HH}}$ = 14 Hz); 5,04 (CH₂—N—CO, d, 1H, $^2J_{\text{HH}}$ = 14 Hz); 7,29 (CH, d, 1H, $^3J_{\text{HH}}$ = 7 Hz); 7,35 (CH, t, 1H, $^3J_{\text{HH}}$ = 7 Hz); 7,39 (CH, t, 1H, $^3J_{\text{HH}}$ = 7 Hz); 7,42–7,53 (CH, m, 3H); 7,58 (CH, d, 1H, $^3J_{\text{HH}}$ = 7 Hz); 7,63 (CH, t, 1H, $^3J_{\text{HH}}$ = 7 Hz); $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ δ 21,2 (m, 1P).

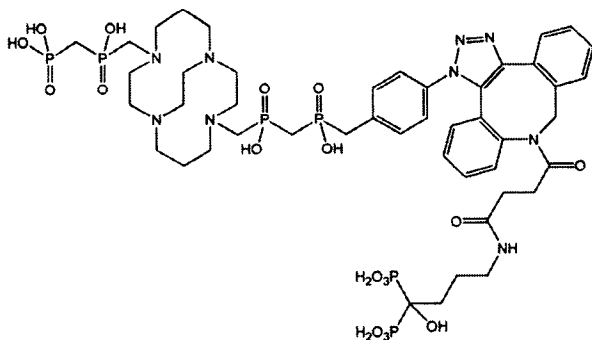
20

MS: (–) 516,9 [M–H₃O]⁺; 534,8 [M–H][–]. (+) 536,2 [M+H]⁺; 559,2 [M+Na]⁺; 581,1 [M–H⁺+2Na]⁺.

TLC (SiO₂, EtOH–konc. NH₄OH 1:1): R_f = start.

30

Příklad 52: Příprava konjugátu **46**



35

Ve skleněné vialce (4 mL) byla rozpuštěna navážka látky 40·3H₂O (14,1 mg; 19,1 μmol ; 1,0 ekviv.) ve vodném pufru AcOH–NH₃ (500 mM; 700 μL ; 350 μmol ; 18 ekviv.). Ke vzniklému roztoku byl přidán čerstvě připravený roztok látky **F** (11,6 mg; 21,6 μmol ; 1,1 ekviv.) ve směsi DMSO–MeCN–H₂O (1:1:1; 800 μL). Směs byla míchána tři hodiny při laboratorní teplotě.

Surový produkt byl čištěn pomocí preparativní HPLC (C8; gradientová eluce H₂O–0,1% TFA–MeCN). Frakce s produktem byla lyofilizována. Výsledný produkt (směs dvou regioisomerů) byl získán jako bílá látka (14,1 mg; 56 %; 1 krok, vztaženo na 40·3H₂O).

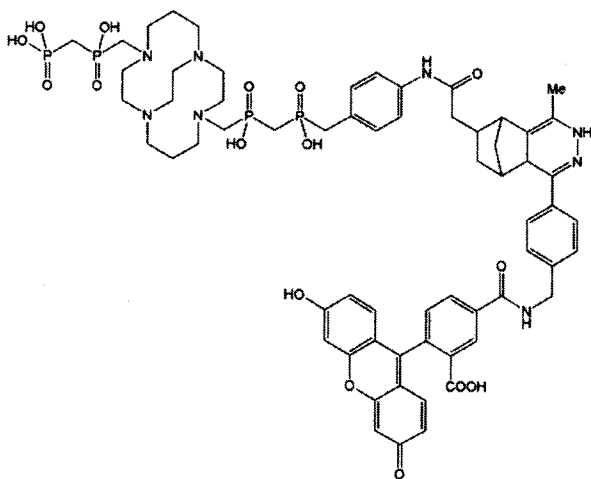
NMR (D₂O): ¹H δ 1,22–1,41 (CH₂, bm, 4H); 1,83–1,99 (CH₂–C–P, CH₂, bm, 6H); 2,05 (CH₂, m, 2H); 2,14–2,45 (P–CH₂–P, CH₂, bm, 6H); 2,63–3,68 (cyklus, P–CH₂–C, P–CH₂–N, bm, 26H); 4,52–5,07 (CH₂–N–CO, m, 1H); 5,63–5,79 (CH₂–N–CO, m, 1H); 6,94 (CH, d, 1H, ³J_{HH} = 8 Hz); 7,02–7,22 (CH, m, 1H); 7,02–7,22 (CH, m, 1H); 7,30 (CH, bm, 2H); 7,34–7,61 (CH, bm, 7H); ³¹P{¹H} δ 14,4 (HO–P–OH, bm, 1P); 18,4 (PO₃H₂, bm, 2P); 24,4–28,9 (P–CH₂–N, bm, 2P); 33,6–34,7 (P–CH₂–C, bm, 1P).

MS: (–) 1202,5 [M–H₃O⁺][–]; 1220,5 [M–H⁺][–]. (+) 1222,7 [M+H⁺]⁺.

TLC (SiO₂, EtOH–konc. NH₄OH 1:1): R_f = start.

EA (C₄₆H₆₉N₉O₁₈P₆·5,5H₂O, M_R = 1321,0): C 41,8 (41,8); H 6,1 (6,0); N 9,5 (9,5).

15 **Příklad 53: Příprava cílicího konjugátu 47**



Ve skleněné vialce (4 mL) byla rozpuštěna navážka konjugátů fluoresceinu a 6–methyl–tetrazinu (1,0 mg; 1,8 μmol; 1,0 ekviv.) v suchém DMSO (500 μL) a k vzniklému roztoku byl poté přidán čerstvě připravený roztok látky 45·TFA–2H₂O (2,5 mg; 2,7 μmol; 1,0 ekviv.) ve vodném pufru AcOH–NH₃ (100 mM; 500 μL; 50 μmol; 28 ekviv.). Směs byla míchána přes noc při laboratorní teplotě. Surový produkt byl čištěn pomocí preparativní HPLC (C8; gradientová eluce H₂O–0,1% TFA–MeCN). Frakce s produktem byla lyofilizována. Výsledný produkt byl získán jako hnědá látka (≈2 mg).

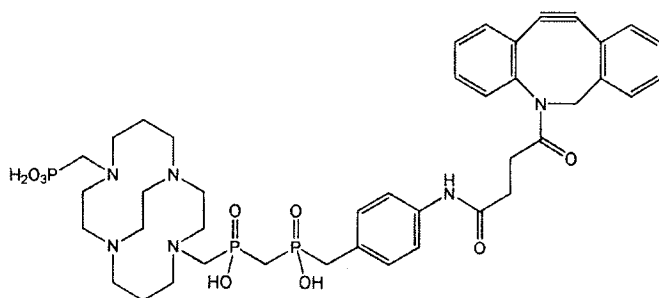
NMR (D₂O): ¹H δ 1,46 (CH–CH₂–CH, m, 1H); 1,62 (CH₂, bm, 1H); 1,88–1,96 (cyklus, CH–CH₂–CH, bm, 2H); 1,98–2,16 (P–CH₂–P, cyklus, bm, 3H); 2,25 (P–CH₂–P, dd, 2H, ²J_{HP} = 17 Hz, ²J_{HP} = 15 Hz); 2,32 (CH₃, s, 3H); 2,63–4,03 (cyklus, CH, N–CH₂–P, P–CH₂–C, bm, 33H); 6,66 (CH, m, 1H); 6,82–6,84 (CH, bm, 3H); 6,97 (CH, d, 2H, ³J_{HH} = 7 Hz); 7,12–7,23 (CH, bm, 3H); 7,29 (CH, d, 2H, ³J_{HH} = 9 Hz); 7,34 (CH, d, 1H, ³J_{HH} = 7 Hz); 8,03 (d, 2H, ³J_{HH} = 8 Hz); ³¹P{¹H} δ 14,8 (HO–P–OH, d, 1P, ²J_{PP} = 8 Hz); 28,9 (P–CH₂–N, m, 1P); 32,1 (P–CH₂–N, m, 1P); 36,2 (P–CH₂–C, d, 1P, ²J_{PP} = 10 Hz).

MS: (–) 1323,8 [M–H⁺][–]. (+) 1369,7 [M–H⁺+2Na⁺]⁺.

TLC (SiO₂, iPrOH–konc. NH₄OH–H₂O 7:3:3): R_f = 0,3.

35

Příklad 54: Příprava konjugátu 48



5 Ve skleněné vialce (4 mL) byla rozpuštěna navážka látky **43**·3H₂O (28,9 mg; 45,5 μmol; 1,0 ekvív.) ve směsi vodného roztoku pufru H₃PO₄-NaOH (1,0 M, pH = 8,1; 1,00 mL) a MeCN (0,5 mL) a roztok byl vychlazen v ledové lázni na 5 °C. Následně byl do směsi pomalu přikapán roztok *N*-hydroxysukcinimidesteru kyseliny 4-dibenzocyklooktynamidobutanové (36,2 mg; 90,0 μmol; 2,0 ekvív.) v suchém DMSO (1,7 mL) a vzniklá směs byla míchána přes noc za nepřístupu světla. Druhý den byla směs čištěna pomocí preparativní HPLC (C8; gradientní eluce H₂O-0,1% TFA-MeCN). Frakce s produktem byla lyofilizována. Výsledný produkt byl získán jako bílá látka (24,6 mg; 63%; 1 krok; vztaženo na látku **43**·3H₂O).

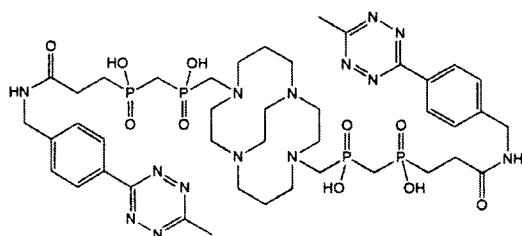
10 **NMR** (D₂O): ³¹P{¹H} δ 12,2 (HO-P-OH, s, 1P); 19,4 (P-CH₂-P, d, 1P, ²J_{PP} = 10 Hz); 38,2 (P-CH₂-P, d, 1P, ²J_{PP} = 10 Hz).

MS: (-) 867,6 [M-H]⁻. (+) 870,2 [M+H]⁺; 892,1 [M+Na]⁺; 907,7 [M+K]⁺.

TLC (SiO₂, EtOH-konc. NH₄OH 2:1): R_f = 0,4.

15 **EA** (C₄₁H₅₅N₆O₉P₃·2,5H₂O, M_R = 913,9): C 53,6 (53,9); H 6,8 (6,6); N 8,9 (9,2).

Příklad 55: Příprava konjugátu **49**



20

Látka **35**·2H₂O (108 mg; 150 μmol; 1,0 ekvív.) a *N*-hydroxysukcinimid (NHS; 69 mg; 600 μmol; 4,0 ekvív.) byly rozpuštěny ve vodném acetátovém pufru HOAc/NaOAc (pH 5,5; 0,5 M; 3 mL). Do tohoto roztoku byl přidán roztok EDC·HCl (186 mg; 1,20 mmol; 8 ekvív.) ve stejném pufru (1 mL). Karboxylové funkce byly aktivovány po dobu 30 min. pH tohoto roztoku bylo opatrně zvýšeno na 9 přidáváním vodného NaOH (0,05 M). Poté byl k tomuto roztoku přidán roztok hydrochloridu methyltetrazinaminu (78,4 mg; 330 μmol; 2,2 ekvív.) v suchém DMSO (2,0 mL), pH bylo upraveno na 8 pomocí vodného NaOH (0,05 M) a směs byla ponechána míchat 3 hodiny při laboratorní teplotě. Poté byla reakční směs zakoncentrována na objem 2 mL a následně čištěna pomocí preparativní HPLC (C8; gradientová eluce H₂O-0,1% TFA-MeCN). Frakce s produktem byla lyofilizována. Výsledný produkt byl získán jako bílá látka (121 mg; 75%; 1 krok; vztaženo na látku **35**·2H₂O).

25 **NMR** (D₂O): ¹H δ 1,82 (CH₂-CH₂-CH₂, m, 2H); 1,88 (CH₂-CH₂-CH₂, m, 2H); 1,99 (P-CH₂-C, m, 4H); 2,13 (P-CH₂-P, m, 4H); 2,34 (CH₃, s, 6H); 2,40 (CH₂-CO, t, 4H, ³J_{HH} = 7 Hz); 2,72-3,22 (cyklus, bm, 20H); 3,34 (N-CH₂-P, m, 4H); 4,31 (CH₂-NH-CO, s, 4H); 7,11 (CH, d, 2H, ³J_{HH} = 8 Hz); 8,11 (CH, d, 2H, ³J_{HH} = 8 Hz); ¹³C{¹H} δ 19,4 (CH₃, s); 22,1 (CH₂-CH₂-CH₂, s); 28,0 (P-CH₂-C, d, ¹J_{CP} = 93 Hz); 29,3 (CH₂-CO, s); 35,5 (P-CH₂-P, dd, ¹J_{CP} = 79 Hz, ¹J_{CP} = 75 Hz); 44,2 (CH₂-NH-CO, s); 50,1 (cyklus, s); 54,2 (cyklus, s); 55,8 (cyklus, d, ³J_{CP} = 5 Hz); 56,2 (N-CH₂-P, d, ¹J_{CP} = 102 Hz); 58,2 (cyklus, s); 59,0 (cyklus,

35

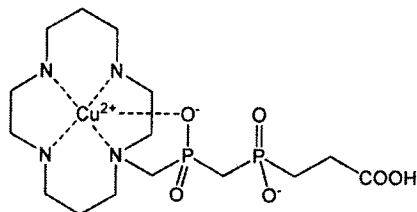
d, 3); 122,6 (*arom.*, s); 127,3 (*arom.*, s); 129,6 (*arom.*, s); 138,2 (*arom.*, s); 161,2 (*arom.*, s); 164,2 (*arom.*, s); 174,2 (CO, d, $^3J_{CP} = 17$ Hz); $^{31}\text{P}\{\text{H}\}$ δ 27,2 (CH₂—P—CH₂, bm, 2P); 36,1 (CH₂—P—CH₂, d, 2P, $^2J_{PP} = 8$ Hz).

MS: (–) 1048,1 [M–H⁺][–]. (+) 1050,3 [M+H⁺]⁺; 1072,2 [M+Na⁺]⁺; 1087,6 [M+K⁺]⁺.

5 **TLC** (SiO₂, EtOH–konc. NH₄OH 2:1): $R_f = 0,4$.

EA (C₄₂H₆₄N₁₄O₁₀P₄·1,5H₂O, $M_R = 1076,0$): C 46,6 (46,9); H 6,2 (6,0); N 17,8 (18,2).

10 **Příklad 56: Příprava měďnatého komplexu látky 14**



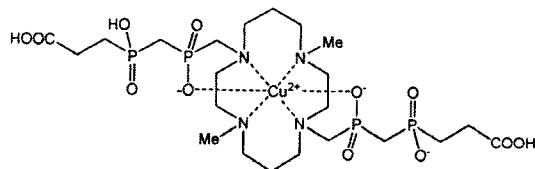
15 Ve skleněné vialce (4 mL) byla rozpuštěna navážka látky **14**·4H₂O (61,3 mg; 122 μmol; 1,0 ekviv.) a Cu(OAc)₂·H₂O (34,2 mg; 171 μmol; 1,4 ekviv.) ve vodném pyridinu (2 %; 3 mL) a vzniklá směs byla ponechána míchat 10 minut. Poté byla směs odpařena do sucha a následně několikrát odpařena s H₂O. Surový komplex byl čištěn pomocí iontoměniče (DOWEX 50; H⁺–forma; H₂O). Frakce s produktem byly spojeny a odpařeny do sucha. Odparek byl znovu rozpuštěn v H₂O (50 mL) a vzniklý roztok byl lyofilizován. Výsledný produkt byl získán jako tmavě modrá látka (51,4 mg; 83%; 1 krok; vztaženo na látku **14**·4H₂O).

20 **MS:** (–) 488,0 [M–H⁺][–]; 524,0 [M+Cl[–]][–]. (+) 449,0 [M+H⁺]⁺; 512,0 [M+Na⁺]⁺.

TLC (SiO₂, *i*PrOH–konc. NH₄OH–H₂O 7:3:3): $R_f = 0,4$.

EA (C₁₅H₃₂N₄O₆P₂Cu·H₂O, $M_R = 508,0$): C 35,5 (35,7); H 6,8 (6,6); N 11,0 (11,1).

25 **Příklad 57: Příprava měďnatého komplexu látky 23**



30 Ve skleněné vialce (4 mL) byla rozpuštěna navážka látky **23**·3H₂O (98,7 mg; 134 μmol; 1,0 ekviv.) a Cu(OAc)₂·H₂O (41,2 mg; 206 μmol; 1,5 ekviv.) ve vodném pyridinu (5%; 2 mL) a vzniklá směs byla ponechána míchat 10 minut. Poté byla směs odpařena do sucha a následně několikrát odpařena s H₂O. Surový komplex byl čištěn pomocí iontoměniče (DOWEX 50; H⁺–forma; H₂O). Frakce s produktem byly spojeny a odpařeny do sucha. Odparek byl znovu rozpuštěn v H₂O (100 mL) a vzniklý roztok byl lyofilizován. Výsledný produkt byl získán jako tmavě modrá látka (83,4 mg; 77%; 1 krok; vztaženo na látku **23**·3H₂O).

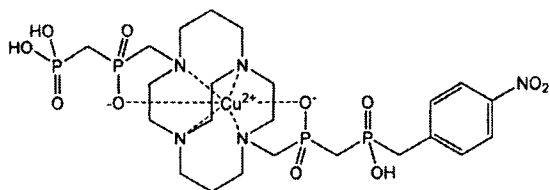
35 **MS:** (–) 743,2 [M–H⁺][–].

TLC (SiO₂, *i*PrOH–konc. NH₄OH–H₂O 7:3:3): $R_f = 0,2$.

EA (C₂₂H₄₅N₄O₁₂P₄Cu·0,5HCl·2,5H₂O, $M_R = 808,3$): C 29,5 (29,6); H 4,8 (4,9); N 7,8 (7,8).

40

Příklad 58: Příprava měďnatého komplexu látky 37



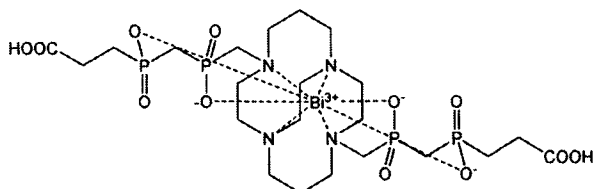
Ve skleněné vialce (4 mL) byla rozpuštěna navážka látky **37**·4,5H₂O (29,7 mg; 38,5 μmol; 1,0 ekviv.) ve vodném roztoku CuCl₂ (63 mM; 793 μL; 50,0 μmol; 1,3 ekviv.). Následně bylo pH vzniklého roztoku pomalu upraveno na 6 pomocí vodného roztoku NaOH. Surový produkt byl
 5 čištěn pomocí preparativní HPLC (C8; gradientní eluce H₂O–0,1% TFA–MeCN). Frakce s produktem byla lyofilizována. Výsledný produkt byl získán jako světle modrá látka (25,8 mg; 70%; 1 krok; vztaženo na látku **37**·4,5H₂O).

MS: (–) 749,1 [M–H][–]; 785,0 [M+CF][–]. (+) 751,1 [M+H]⁺; 774,1 [M+Na]⁺; 790,2 [M+K]⁺.

TLC (SiO₂, *i*PrOH–konc. NH₄OH–H₂O 7:3:3): R_f = 0,2.

EA (C₂₃H₄₁N₅O₁₁P₄Cu·0,5TFA·3H₂O, M_R = 953,5): C 30,2 (30,1); H 5,0 (5,0); N 7,3 (7,4).

Příklad 59: Příprava bismutitého komplexu látky **35**



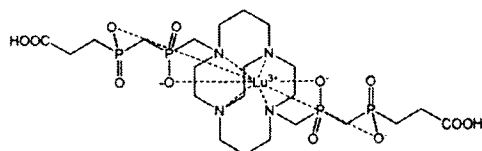
Ve skleněné vialce (4 mL) byla rozpuštěna navážka látky **35**·2H₂O (34,4 mg; 47,8 μmol; 1,0 ekviv.) ve vodném roztoku Bi(NO₃)₂ (50,5 mM; 947 μL; 47,8 μmol; 1,0 ekviv.). Následně bylo pH vzniklého roztoku bylo pomalu upraveno na 5 pomocí pevného urotropinu. Reakční směs
 20 byla poté zahřívána 2 hodiny při 90 °C. Poté bylo přidáno další množství pevného urotropinu na zvýšení pH na 5. Reakční směs byla zahřívána dalších 6 hodin při 90 °C. Po ochlazení byla reakční směs odpařena do sucha. Surový komplex byl čištěn pomocí iontoměniče (Amberlite CG50; H⁺–forma; H₂O). Frakce s produktem byly spojeny a odpařeny do sucha. Odparek byl
 25 znovu rozpuštěn v H₂O (50 mL) a vzniklý roztok byl lyofilizován. Výsledný produkt byl získán jako bílá látka (34,3 mg; 75%; 1 krok; vztaženo na látku **35**·2H₂O).

MS: (–) 887,2 [M–H][–]. (+) 889,2 [M+H]⁺.

TLC (SiO₂, *i*PrOH–konc. NH₄OH–H₂O 7:3:3): R_f = 0,4.

EA (C₂₂H₄₃N₄O₁₂P₄Bi·2H₂O, M_R = 955,5): C 28,6 (28,5); H 5,1 (4,9); N 6,1 (6,3).

Příklad 60: Příprava lutecitého komplexu látky **35**



Ve skleněné vialce (4 mL) byla rozpuštěna navážka látky **35**·2H₂O (44,1 mg; 61,4 μmol; 1,0 ekviv.) ve vodném roztoku LuCl₃ (50,1 mM; 1,23 mL; 61,6 μmol; 1,0 ekviv.). Následně bylo pH vzniklého roztoku pomalu upraveno na 7 pomocí vodného roztoku NaOH. Reakční směs byla
 35 poté zahřívána přes noc při 80 °C. Druhý den byla reakční směs odpařena do sucha a surový komplex byl čištěn pomocí iontoměniče (Amberlite CG50; H⁺–forma; H₂O). Frakce s produktem
 40

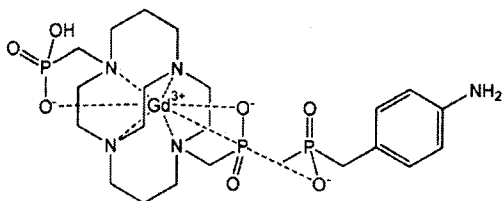
byly spojeny a odpařeny do sucha. Odparek byl znovu rozpuštěn v H₂O (50 mL) a vzniklý roztok byl lyofilizován. Výsledný produkt byl získán jako bílá látka (37,1 mg; 64%; 1 krok; vztaženo na látku 35·2H₂O).

MS: (-) 853,1 [M-H]⁻. (+) 855,1 [M+H]⁺; 893,1 [M+K]⁺.

5 **TLC** (SiO₂, EtOH-konc. NH₄OH 1:1): R_f = 0,6.

EA (C₂₂H₄₃N₄O₁₂P₄Lu·5H₂O, M_R = 944,5): C 28,0 (28,0); H 5,7 (5,9); N 5,9 (5,9).

10 **Příklad 61: Příprava gadolinitého komplexu látky 43**



15 Ve skleněné vialce (4 mL) byla rozpuštěna navážka látky 43·3H₂O (62,5 mg; 66,2 μmol; 1,0 ekviv.) ve vodném roztoku GdCl₃ (49,8 mM; 1,33 mL; 66,2 μmol; 1,0 ekviv.). Následně bylo pH vzniklého roztoku pomalu upraveno na 6 pomocí vodného roztoku NaOH. Reakční směs byla poté zahřívána 2 hodiny při 80 °C, pH bylo znovu zvýšeno na 6 pomocí vodného roztoku NaOH a pak byla směs zahřívána přes noc při 80 °C. Další den byla reakční směs odpařena do sucha a surový komplex byl čištěn pomocí iontoměniče (Amberlite CG50; H⁺-forma; eluce H₂O a poté 10% AcOH ve směsi H₂O:EtOH 1:1). Frakce s produktem byly spojeny a odpařeny do sucha.

20 Odparek byl znovu rozpuštěn v H₂O (50 mL), odpařen dosucha ve vakuu, znovu rozpuštěn ve vodě (50 mL) a vzniklý roztok byl lyofilizován. Výsledný produkt byl získán jako bílá látka (37,1 mg; 75%; 1 krok; vztaženo na látku 43·3H₂O).

MS: (-) 853,1 [M-H]⁻. (+) 855,1 [M+H]⁺; 893,1 [M+K]⁺.

25

Příklad 62: Srovnávací experiment: Značení látek pomocí ⁶⁴Cu

30 Do plastové mikronádobky Eppendorf (1,5 mL) byl přidán vodný roztok značené látky (1,0 mM; 1,0 μL) k vodnému roztoku pufru MES-NaOH (1,0 M; pH 6,2; 10,0 μL). Vzniklý roztok byl inkubován při 25,0 °C a mírném třepání (750 kmitů/min) po dobu 10 minut. Poté byl ke směsi přidán čerstvě připravený roztok [⁶⁴Cu]CuCl₂ (9–10 MBq; 6,0 μL) ve vodné HCl (10 mM). Reakční směs byla posléze inkubována při 25,0 °C a mírném třepání (750 kmitů/min) po dobu 10 minut. Po 10 minutách byla reakční směs analyzována pomocí TLC (SiO₂ 60 W F₂₅₄ S; vodný roztok EDTA-NaOH, pH 5; Povolná měď) = 0,8–0,9; R_f(komplex) = start). Příklady radiochemických výtěžků (určeno pomocí RitaStar; Raytest) vybraných látek včetně příkladů v současné době používaných ligandů (kurzíva) jsou uvedeny níže (pro každý ligand alespoň ze třech různých eluátů [⁶⁴Cu]CuCl₂):

Látka	Radiochemický výtěžek
40 1	71±10%
8	76±14%
14	83±8%
19	83±9%
32	83±3%
45 34	62±12%
41	66±8%
<i>NOTA</i>	18±11%
<i>DOTA</i>	9±1%
<i>cb-TE2A</i>	2±1%

Radiochemický výtěžek látek, které jsou předmětem předkládaného vynálezu, byl několiknásobný ve srovnání s běžně dostupnými komerčními ligandy NOTA, DOTA a cb-TE2A.

5

Příklad 63: Značení látky **34** pomocí ^{177}Lu

Vodný roztok beznosičového radioizotopu [^{177}Lu]LuCl₃ v 0,01 M HCl (50 μL, aktivita cca 12 MBq) byl přidán k vodnému roztoku NH₄OAc (0,2 mL pufru; pH 5,5; 1 M) ve vialce o objemu 1 mL. Do tohoto roztoku byl přidán roztok sloučeniny **34** v ultračisté H₂O (40 μL, *c* = 50 μM) a vzniklý roztok byl třepán při 90 °C po dobu 20 min. ITLC analýza (1 M vodný NH₄OAc a MeOH; 1:1 v/v) ukázala radiochemický čistý značený komplex (komplex má *R_f* ~0,9; volné ^{177}Lu má *R_f* = start).

15

Příklad 64: Značení látky **37** pomocí ^{213}Bi

K beznosičovému radioizotopu $^{213}\text{Bi}^{3+}$ ve formě roztoku v 0,15 M KI (1,4 mL) s nominální aktivitou cca 150 MBq (tj. cca 107 MBq/mL) byl přidán vodný roztok NaOAc (pH 5,5; 1 M; 1,6 mL). Do roztoku sloučeniny **37** v ultračisté vodě (10 μL, *c* = 100 μM) byl přidán roztok obsahující [^{213}Bi]Bi³⁺ (90 μL, cca 10 MBq) a roztok byl inkubován při 70 °C po dobu 10 min. Papírová LC (0,1 M vodný Na-citrát) ukázala kvantitativní vznik komplexu (*R_f* komplexu <0,5, ^{213}Bi -citrát se pohybuje s čelem rozpouštědla).

25

Příklad 65: Příprava cílicího konjugátů látky **39** a protilátky Rituximab

Voda pro roztoky použité v reakci a při čištění v tomto příkladu je deionizovaná voda zbavená možných kovových nečistot prolitím aktivovanou chelatační pryskyřicí Chelex 100, dále bylo používáno sterilní nádobí a použité komerční chemikálie měly nejvyšší dostupnou čistotu ohledně obsahu iontů kovů.

30

Vodný roztok (4 mL) protilátky Rituximab (0,14 μmol) o koncentraci 5,0 mg/mL byl zkoncentrován ultrafiltrací v nádobce Vivaspin 6 s MWCO 30 kDa na 1 mL (výsledná koncentrace 20 mg/mL). Zkoncentrovaný roztok protilátky byl inkubován s roztokem látky **39**·3,5H₂O (1,1 mg; 1,4 μmol, molární poměr protilátka:ligand 1:10) v bezvodém DMSO (200 μL; rozpuštěno pomocí ultrazvuku, sterilizace byla provedena filtrací přes stříkačkový mikrofiltr; Millipore; 0,22 μm). Ihned po přípravě reakční směsi bylo pH roztoku upraveno opatrným přidáváním roztoku 0,1 M vodného NaOH tak, aby bylo 8,2 až 8,6. Reakční směs byla třepána (Vortex, 450 ot/min.) po dobu 2 hodiny při laboratorní teplotě. Po 1 hodině od začátku reakce bylo pH znovu upraveno na 8,2 až 8,6 (0,1 M vodný NaOH). Konjugace byla ukončena přidáním vodného pufru TRIS-HCl (1,0 M; pH 8,8; 50 μL). Roztok konjugátů byl dále přečištěn od zbytků nezreagovaného ligandů a jiných nízkomolekulárních nečistot trojnásobnou ultrafiltrací ve Vivaspinu 6. Ultrafiltrace byla provedena následujícím způsobem. Směs byla převedena do promyté sterilizované zkumavky Vivaspin 6 a objem roztoku byl poté doplněn 0,1 M pufrům PBS (pH 8,5) na 6 mL. Horní díl Vivaspinu byl následně 5 minut inkubován na Vortexu při 1000 kmitech/min. Roztok byl dále centrifugován 45 min při 4000 ot/min. až objem v horní části Vivaspinu byl menší než 0,3 mL. Roztok protilátky (vrchní část) byla doplněn 0,05 M vodným NH₄OAc (pH 7,0) na objem 6 mL a byl opakován krok třepání a centrifugace (provedeno 2x). Po třetí centrifugaci byl roztok obsahující konjugát doplněn H₂O na konečný objem 3 mL. Čistota konjugátů byla kontrolována spektrofotometricky při vlnové délce 280 nm a rovněž pomocí analýzy HPLC (UV detekce; 280 nm); test degradace nebo výraznějších ztrát

35

40

45

50

protilátky. Přečištěný konjugát musí být uchováván v lednici při 4 až 8 °C. Průměrný počet ligandů na molekulu protilátky byl pomocí MS–MALDI/TOF určen na 3.

5 **Příklad 66: Značení cílicího konjugátů látky 39 a protilátky Rituximab pomocí 64–Cu**

Roztok konjugátů z příkladu 65 (0,5 mL) byl převeden do plastové mikronádobky Eppendorf o objemu 1,5 mL a popřípadě doplněn 0,5 M NH₄OAc (pH 6,0) tak, aby výsledný objem roztoku (včetně radionuklidu) činil 1 mL. Vzniklý roztok byl inkubován při teplotě 25,0 °C a mírném třepání (450 kmitů/min) po dobu 15 min. Ke směsi byl poté přidán radioaktivní beznosičový [64Cu]CuCl₂ v 0,01 M vodné HCl (0,12 mL; 200 MBq [64Cu]CuCl₂). Následně bylo zkontrolováno pH, jehož hodnota byla 6,0. Reakční směs byla posléze inkubována při teplotě 40 °C a mírném třepání (450 kmitů/min) po dobu 20 min. Po ukončení inkubace je přípravek sterilizován filtrací přes stříkačkový mikrofiltr (Millipore; 0,22 μm). ITLC analýza (1 M vodný NH₄OAc a MeOH; 1:1 v/v) po přidání vodného roztoku DTPA (komplexace volné 64–Cu) ke vzorku sterilního přípravku ukázala radiochemický čistý značený konjugát (R_f = start) a žádnou volnou 64–Cu (Cu–DTPA, R_f ~0,9).

20 **Příklad 67: Syntéza cílicího konjugátů látky 39 a dendrimery PAMAM druhé generace**

Komerční forma dendrimery G2–PAMAM (16 volných aminoskupin; 20% roztok v MeOH; 0,15 mL; 10 μmol) byla rozpuštěna v H₂O (5 mL) a v tomto roztoku byla rozpuštěna látka 39 (127 mg; 160 μmol), ekvivalentní množství na aminoskupiny dendrimery. pH roztoku bylo opatrně upraveno na 9 pomocí vodného roztoku KOH a vzniklý roztok byl míchán při teplotě 40 °C po dobu 12 hodin. Poté byla opět přidána látka 39 (63 mg; 0,5 molárního ekvivalentu na počet aminoskupin dendrimery), pH bylo pět upraveno 9 pomocí vodného roztoku KOH a roztok byl míchán při 40 °C po dobu 12 hodin. Poté byl roztok ochlazen, pH bylo sníženo na 7 pomocí zředěné vodné HCl a roztok byl přefiltrován přes stříkačkový mikrofiltr (Millipore; 0,22 μm) do ultrafiltrační cely. Ultrafiltrace (tlak 3 atm) byla provedena třikrát z objemu 50 mL na 10 mL s membránou 3kDa a poté probíhala kontinuální ultrafiltrace (4 atm), dokud nebylo získáno 800 mL eluátu. Zbývající roztok nad membránou byl lyofilizován za vzniku bílé pevné látky (167 mg, při obsahu účinné látky 72% je výtěžek cca 83 % na výchozí dendrimer). Počet ligandů na dendrimer (¹H NMR spektrum) byl 15,5.

35 **NMR** (D₂O): ¹H δ 1,88–3,72 (CH₂, bm, 39,44H); 7,11–7,33 (CH, bm, 4,00H); ³¹P{¹H} δ 19,0 (HO–P–OH, bm, 1P); 23,8 (P–CH₂–P, bm, 1P); 28,2 (P–CH₂–P, bm); 35,8 (P–CH₂–P, bm, 1P).

EA (M_w čistého konjugátů dendrimery 14482): 31,4% C, 8,0% H, 9,6%N, 2,5% S; tj. obsah konjugátů dendrimery 72%.

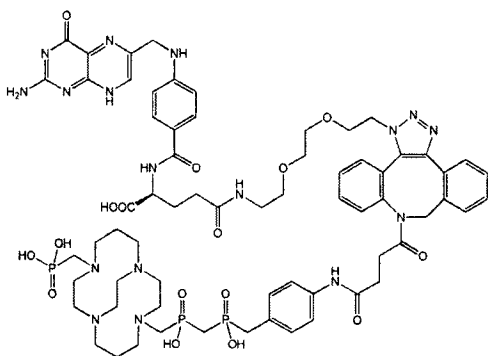
40

Příklad 68: Značení cílicího konjugátů látky 39 a dendrimery PAMAM druhé generace pomocí 64–Cu

45 Konjugát z příkladu 67 (5 mg, cca 0,25 μmol, cca 3,9 μmol makrocycly) byl rozpuštěn v ultračisté vodě (50 μL) v plastové mikronádobce Eppendorf (0,5 mL) a dále byl přidán vodný pufr 0,5 M HOAc/NaOAc (pH 5,8; 0,2 mL). Ke směsi byl přidán beznosičový [64Cu]CuCl₂ v 0,01 M vodné HCl (120 μL, 180–200 MBq [64Cu]CuCl₂). Následně bylo zkontrolováno pH roztoku, jehož hodnota byla 5,8. Reakční směs byla posléze inkubována při 50,0 °C a mírném třepání (450 kmitů/min) po dobu 20 minut. Byl získán roztok obsahující značený dendrimer. Produkt byl analyzován tenkovrstvou chromatografií (Instant Thin–Layer Chromatography, ITLC) na destičkách s impregnovanými skleněnými vlákny jako stacionární fází a s 10 mM EDTA v 0,1 M vodném NH₄OAc (pH 5,5) jako mobilní fází s R_f 0 až 0,1 a radioaktivita byla zjištěna pouze ve skvrně dendrimery.

50

Příklad 69: Příprava cílicího konjugátů s kyselinou listovou na bázi konjugátů 48

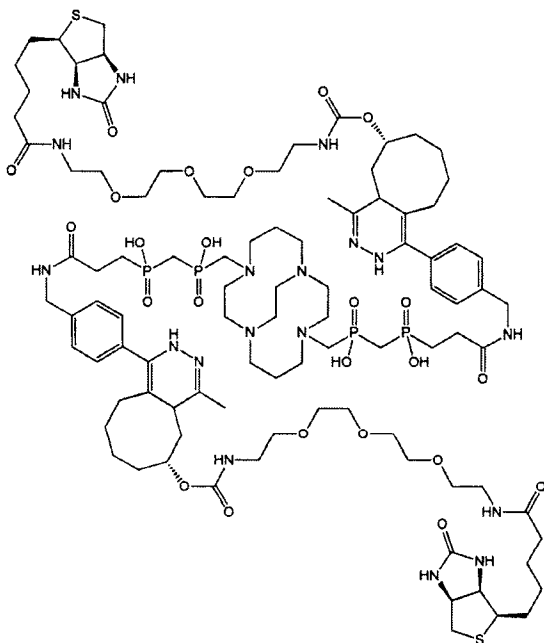


5

Ve skleněné vialce (4 mL) byla rozpuštěna navážka konjugátů 48·2,5H₂O (11 mg; 12 μmol; 1,0 ekviv.) ve vodném pufru NH₄OAc (500 mM; pH 5,0; 0,5 mL). Ke vzniklému roztoku byl přidán čerstvě připravený roztok δ-(1-azido-3,6-dioxaoktan-8-amidu) kyseliny listové (8,6 mg; 14,4 μmol; 1,2 ekviv.) v H₂O (0,3 mL). Směs byla míchána 4 hodiny při laboratorní teplotě. Surový produkt byl čištěn pomocí preparativní HPLC (C8; gradientová eluce H₂O–0,1% TFA–MeCN). Frakce s produktem byla lyofilizována. Výsledný produkt izolovaný jako směs regioisomerů byl získán jako bílá látka (11,4 mg).
MS: (+) 1467,6 [M+H]⁺, 1489,2 [M+Na]⁺.

15

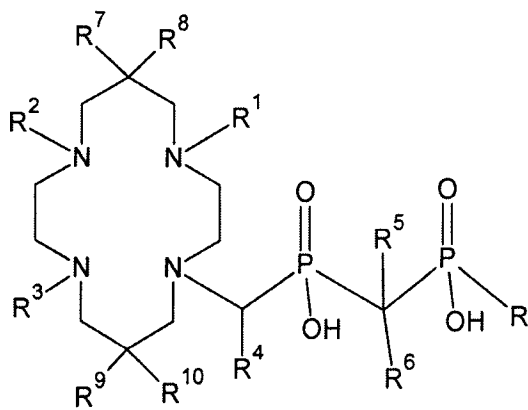
Příklad 70: Příprava cílicího konjugátu s biotinem na bázi konjugátu 49



20 Ve skleněné vialce (4 mL) byla rozpuštěna navážka konjugátů 49·1,5H₂O (11,8 mg; 11 μmol; 1,0 ekviv.) ve vodě (0,5 mL). Ke vzniklému roztoku byl přidán čerstvě připravený roztok komerčního derivátu biotinu TCO-PEG3-biotin (7,5 mg; 13,2 μmol; 1,2 ekviv.) v H₂O (0,4 mL). Směs byla míchána 30 min při laboratorní teplotě. Surový produkt byl čištěn pomocí preparativní HPLC (C8; gradientová eluce H₂O–0,1% TFA–MeCN). Frakce s produktem byla lyofilizována.
 25 Výsledný produkt izolovaný jako směs regioisomerů byl získán jako bílá látka (15,2 mg).
MS: (+) 1590,5 [M+H]⁺, 1612,8 [M+Na]⁺.

PATENTOVÉ NÁROKY

- 5 1. Sloučeniny na bázi cyklamů a/nebo konjugáty sloučenin na bázi cyklamů a/nebo koordinační sloučeniny sloučenin na bázi cyklamů a/nebo cílicí konjugát, přičemž sloučeniny na bázi cyklamů jsou obecného vzorce I



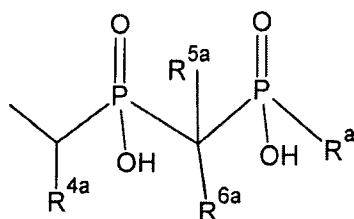
(I)

10

kde

R, R^a, R¹, R², R³ jsou nezávisle vybrány ze skupiny zahrnující

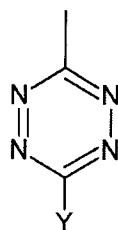
H, OH, (C1 až C6)alkyl, který může být lineární nebo rozvětvený, (C3 až C6)cykloalkyl, benzyl, fenylyl, (C5–C6) heterocyklus, obsahující alespoň jeden heteroatom N, S, O,

15 a/nebo R¹ a/nebo R² a/nebo R³ je bisfosforová kyselina obecného vzorce II

(II)

a/nebo dohromady R¹ a R³ tvoří (C2 až C3)alkylen, který může být substituovaný jedním nebo
20 více lineárními nebo rozvětvenými (C1 až C6)alkyly,
přičemž (C1 až C6)alkyl, (C3 až C6)cykloalkyl, fenylyl, benzyl a (C5 až C6)heterocyklus,
obsahující alespoň jeden heteroatom N, S, O, mohou být nezávisle substituovány jednou
nebo více skupinami vybranými z COOH; NH₂; NO₂; NX₂; C(O)NX₂; NHX; C(O)NHX;
OH; SH; –NCS; tetrazin obecného vzorce III

25



(III)

- (C7 až C8)cykloalkenyl v *trans* konfiguraci, který může být popřípadě dále substituován jednou nebo více skupinami vybranými z COOH, NH₂, NO₂, -NCS, -NCO, N₃ a SH; norbornenyl, popřípadě substituovaný jednou nebo více skupinami vybranými z COOH, NH₂, NO₂, -NCS, -NCO, N₃ a SH; -N₃; (C2 až C6)alkynyl, popřípadě substituovaný jednou nebo více skupinami vybranými z COOH, NH₂, NO₂, -NCS, -NCO, N₃ a SH; cyklooktynyl, popřípadě substituovaný jednou nebo více skupinami vybranými z COOH, NH₂, NO₂, -NCS, -NCO, N₃ a SH; cykloazaoktynyl, popřípadě substituovaný jednou nebo více skupinami vybranými z COOH, NH₂, NO₂, -NCS, -NCO, N₃ a SH; maleinimid; fenyl; benzyl a -P(O)(OH)Z;
- 5 a kde R⁴ a R^{4a} jsou nezávisle H, (C1 až C6)alkyl, který může být lineární nebo rozvětvený, (C3 až C6)cykloalkyl, benzyl;
- a kde R⁵ a R^{5a} jsou nezávisle H, (C1 až C6)alkyl, který může být lineární nebo rozvětvený, (C3 až C6)cykloalkyl, benzyl, přičemž (C1 až C6)alkyl, (C3 až C6)cykloalkyl a benzyl mohou být nezávisle substituovány jednou nebo více skupinami vybranými z COOH; NH₂; NO₂, NX₂; C(O)NX₂; NHX; C(O)NHX; OH; SH; -NCS; tetrazin obecného vzorce **III** (C7 až C8)cykloalkenyl v *trans* konfiguraci, který může být popřípadě dále substituován jednou nebo více skupinami vybranými z COOH, NH₂, NO₂, -NCS, -NCO, N₃ a SH; norbornenyl, popřípadě substituovaný jednou nebo více skupinami vybranými z COOH, NH₂, NO₂, -NCS, -NCO, N₃ a SH; -N₃; (C2 až C6)alkynyl, popřípadě substituovaný jednou nebo více skupinami vybranými z COOH, NH₂, NO₂, -NCS, -NCO, N₃ a SH; cyklooktynyl, popřípadě substituovaný jednou nebo více skupinami vybranými z COOH, NH₂, NO₂, -NCS, -NCO, N₃ a SH; cykloazaoktynyl, popřípadě substituovaný jednou nebo více skupinami vybranými z COOH, NH₂, NO₂, -NCS, -NCO, N₃ a SH; maleinimid; fenyl; benzyl a -P(O)(OH)Z;
- 10 a kde R⁶ a R^{6a} je H;
- a kde R⁷, R⁸, R⁹ a R¹⁰ jsou nezávisle vybrané ze skupiny zahrnující H, (C1 až C6)alkyl, (C3 až C6)cykloalkyl, benzyl, NO₂ a/nebo dohromady R⁷ a R⁸ obsahují (C2 až C3)alkylen nebo vinylen a/nebo dohromady R⁹ a R¹⁰ obsahují (C2 až C3)alkylen nebo vinylen,
- 15 přičemž (C1 až C6)alkyl, (C3 až C6)cykloalkyl, benzyl, (C2 až C3)alkylen a vinylen mohou být nezávisle substituovány skupinou nebo skupinami vybranými z COOH; NH₂; NO₂; NX₂; C(O)NX₂; SH; tetrazin obecného vzorce **III** (C7 až C8)cykloalkenyl v *trans* konfiguraci, popřípadě substituovaný jednou nebo více skupinami vybranými z COOH, NH₂, NO₂, -NCS, -NCO, N₃ a SH; norbornenyl, popřípadě substituovaný jednou nebo více skupinami vybranými z COOH, NH₂, NO₂, -NCS, -NCO, N₃ a SH; -N₃; (C2 až C6)alkynyl, popřípadě substituovaný jednou nebo více skupinami vybranými z COOH, NH₂, NO₂, -NCS, -NCO, N₃ a SH; cyklooktynyl, popřípadě substituovaný jednou nebo více skupinami vybranými z COOH, NH₂, NO₂, -NCS, -NCO, N₃ a SH; cykloazaoktynyl, popřípadě substituovaný jednou nebo více skupinami vybranými z COOH, NH₂, NO₂, -NCS, -NCO, N₃ a SH; maleinimid; fenyl; benzyl a -P(O)(OH)Z,
- 20 kde Y je H, (C1 až C6)alkyl, -CH₂COOH, (C5 až C6)heterocyklus, obsahující alespoň jeden heteroatom N, S, O, nebo heteroaryl, obsahující alespoň jeden heteroatom N, S, O, s výhodou je Y atom vodíku, methyl nebo pyridyl; Z je H; OH; (C1 až C6)alkyl, který může být lineární nebo rozvětvený; (C1 až C6)hydroxyalkyl; (C1 až C6)alkoxy; fenyl nebo benzyl, přičemž fenyl nebo benzyl mohou být popřípadě substituovány jednou nebo více skupinami vybranými z COOH, NH₂, NO₂, N₃ a SH, s výhodou je substituent v para poloze; a X je nezávisle H; (C1 až C6)alkyl, který může být lineární nebo rozvětvený; (C3 až C6)cykloalkyl; fenyl a/nebo benzyl;
- 25 přičemž (C1 až C6)alkyl, (C3 až C6)cykloalkyl, fenyl a/nebo benzyl mohou být nezávisle substituovány jednou nebo více skupinami vybranými z COOH; NH₂; NO₂, NX₂; C(O)NX₂; NHX; C(O)NHX; SH; tetrazin obecného vzorce **III**; (C7 až C8)cykloalkenyl v *trans* konfiguraci, popřípadě substituovaný jednou nebo více skupinami vybranými z COOH, NH₂, NO₂, -NCS, -NCO, N₃ a SH; norbornenyl, popřípadě substituovaný jednou nebo více skupinami vybranými z COOH, NH₂, NO₂, -NCS, -NCO, N₃ a SH; -N₃; (C2 až C6)alkynyl, popřípadě substituovaný jednou nebo více skupinami vybranými z COOH, NH₂, NO₂, -NCS, -NCO, N₃ a SH; cyklooktynyl, popřípadě substituovaný jednou nebo více skupinami vybranými z COOH, NH₂, NO₂, -NCS, -NCO, N₃ a SH; cykloazaoktynyl,
- 30
- 35
- 40
- 45
- 50

popřípadě substituovaný jednou nebo více skupinami vybranými z COOH, NH₂, NO₂, –NCS, –NCO, N₃ a SH; maleinimid; fenylyl; benzyl a –P(O)(OH)Z; přičemž alespoň jedna ze skupin R, R^a, R¹, R², R³, R⁴, R^{4a}, R⁵, R^{5a}, R⁶, R^{6a}, R⁷, R⁸, R⁹ a R¹⁰ obsahuje alespoň jednu ze skupin –COOH; NH₂; NO₂; NX₂; NHX; C(O)NHX; N₃; SH; –NCS; tetrazin obecného vzorce **III** (C7 až C8)cykloalkenyl v *trans* konfiguraci, popřípadě substituovaný jednou nebo více skupinami vybranými z COOH, NH₂, NO₂, NX₂, –NCS, –NCO, NHX, C(O)NHX, N₃ a SH; norbornenyl, popřípadě substituovaný jednou nebo více skupinami vybranými z COOH, NH₂, NO₂, NX₂, –NCS, –NCO, NHX; C(O)NHX; N₃ a SH; –N₃, (C2 až C6)alkynyl; cyklooktynyl, popřípadě substituovaný jednou nebo více skupinami vybranými z COOH, NH₂, NO₂, NX₂, –NCS, –NCO, NHX, C(O)NHX, N₃ a SH; cyklozaoktynyl, popřípadě substituovaný jednou nebo více skupinami vybranými z COOH, NH₂, NO₂, NX₂, –NCS, –NCO, NHX, C(O)NHX, N₃ a SH; maleinimid; fenylyl, popřípadě substituovaný jednou nebo více skupinami vybranými z COOH, NH₂, NO₂, NX₂, –NCS, –NCO, NHX, C(O)NHX, N₃ a SH; benzyl, popřípadě substituovaný jednou nebo více skupinami vybranými z COOH, NH₂, NO₂, NX₂, –NCS, –NCO, NHX, C(O)NHX, N₃ a SH; (C1 až C6) alkyl, popřípadě substituovaný jednou nebo více skupinami vybranými z COOH, NH₂, NO₂, NX₂, –NCS, –NCO, NHX, C(O)NHX, N₃ a SH; a –P(O)(OH)Z;

a přičemž konjugáty sloučeniny na bázi cyklamů jsou konjugáty sloučeniny na bázi cyklamů obecného vzorce **I** a alespoň jedné konjugační skupiny, která je ke sloučenině na bázi cyklamů kovalentně vázána a která je vybraná ze skupiny obsahující OH, –COOH; NH₂, NX₂, NHX; C(O)NHX; tetrazin obecného vzorce **III**; norbornenyl, popřípadě substituovaný jednou nebo více skupinami vybranými z COOH, NH₂, NO₂, NX₂, –NCS, –NCO, NHX; C(O)NHX; N₃ a SH; cyklozaoktynyl, popřípadě substituovaný jednou nebo více skupinami vybranými z COOH, –NCS, –NCO, C(O)NHX, (C1 až C6)alkyl, (C6)aryl; maleinimid; a –P(O)(OH)Z; přičemž konjugát může mezi sloučeninou na bázi cyklamů a konjugační skupinou a/nebo mezi dvěma konjugačními skupinami dále obsahovat spacer, vybraný ze skupiny obsahující (C1 až C6)*n*-alkyl, popřípadě substituovaný C=O a/nebo –NH– skupinou; fenylen; řetězce aminokyselin o délce 1 až 5 aminokyselin; polyethylenglykoly o 1 až 10 monomerních jednotkách;

a přičemž koordinační sloučeniny jsou koordinační sloučeniny sloučenin na bázi cyklamů obecného vzorce **I** nebo konjugátů sloučeniny na bázi cyklamů obecného vzorce **I** s kationty kovů vybraných ze skupiny sestávající z Cu²⁺, Bi³⁺, kationty lanthanoidů, Sc³⁺, Y³⁺, Pb²⁺, Zr⁴⁺, Ac³⁺, Mn²⁺ a Mn³⁺, s výhodou kationty lanthanoidů, Y³⁺ a Cu²⁺, výhodněji Lu³⁺, Y³⁺ a Cu²⁺;

a přičemž cílicí konjugát obsahuje sloučeninu na bázi cyklamů obecného vzorce **I** a/nebo konjugát sloučeniny na bázi cyklamů obecného vzorce **I** a/nebo koordinační sloučeninu definovanou výše; a cílicí vektor, vybraný ze skupiny zahrnující bis(fosfonáty), fluorescein, oligopeptidy o 1 až 15 aminokyselinách, protilátky, s výhodou rituximab, kyselinu listovou, biotin, cyklodextriny, PAMAM dendrimery, hydrofilní polyakryláty a polyakrylamidy.

2. Sloučeniny na bázi cyklamů podle nároku 1, kde R¹ a R³ dohromady tvoří (C2 až C3)alkylen, který může být substituovaný (C1 až C6)alkylem, který může být lineární nebo rozvětvený.

3. Sloučeniny na bázi cyklamů podle nároku 1, kde R, R^a, R¹, R², R³, R⁴, R^{4a}, R⁵, R^{5a}, R⁶ a R^{6a} jsou nezávisle vybrány ze skupiny zahrnující H; (C1 až C6)alkyl, který může být lineární nebo rozvětvený; (C3 až C6)cykloalkyl; benzyl; fenylyl; (C5–C6)heterocyklus, obsahující alespoň jeden heteroatom N, S, O;

a/nebo R¹ a/nebo R² a/nebo R³ je bisfosforová kyselina obecného vzorce **II**, s výhodou je alespoň jedna ze skupin R¹, R² a R³ bisfosforová kyselina obecného vzorce **II**, nejvýhodněji je R² bisfosforová kyselina obecného vzorce **II**.

4. Sloučeniny na bázi cyklamů podle nároku 1, kde R² je vybrán ze skupiny zahrnující H; (C1 až C6)alkyl, který může být lineární nebo rozvětvený; (C3 až C6)cykloalkyl; benzyl; fenylyl; (C5

až C6)heterocyklus, obsahující alespoň jeden heteroatom N, S, O; a bisfosforovou kyselinu obecného vzorce II.

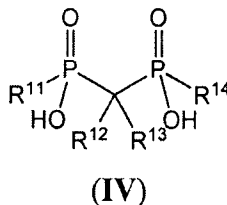
5. Sloučeniny na bázi cyklámu podle nároku 1, kde jsou vybrané ze skupiny zahrnující látky obecného vzorce I, jejichž substituenty jsou zastoupeny v následujících kombinacích:

Číslo sloučeniny	R	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	R ⁵	R ⁶	R ⁷	R ⁸	R ⁹	R ¹⁰
1	H	H	H	H	CH ₃	H	H	H	H	H	H
2	H	CH ₃	CH ₃	CH ₃	CH ₃	H	H	H	H	H	H
3	H	CH ₃	CH ₃	H	H	H	H	H	H	H	H
4	H	CH ₃	CH ₃	CH ₃	H	H	H	H	H	H	H
5	OH	benzyl	benzyl	H	H	H	H	H	H	H	H
7	OH	H	benzyl	benzyl	H	H	H	H	H	H	H
8	<i>p</i> -nitrobenzyl	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
9	<i>p</i> -aminobenzyl	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
10	<i>p</i> -SCN-benzyl	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
11	<i>p</i> -azidobenzyl	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
12	-CH ₂ N(Bz) ₂	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
13	-CH ₂ NH ₂	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
14	-(CH ₂) ₂ COOH	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
15	H	H	H	H	H	-(CH ₂) ₄ COOH	H	H	H	H	H
16	H	H	H	H	H	H	CH ₃	NO ₂	NO ₂	CH ₃	CH ₃
22	H	CH ₃	CH ₃	kyselina vzorce II, kde R ³ = R, R ^{4a} až R ^{6a} = H	H	H	H	H	H	H	H
23	-(CH ₂) ₂ COOH	CH ₃	CH ₃	kyselina vzorce II, kde R ³ = R, R ^{4a} až R ^{6a} = H	H	H	H	H	H	H	H
24	OH	benzyl	benzyl	-CH ₂ P(O)(OH) ₂	H	H	H	H	H	H	H
25	OH	H	H	-CH ₂ P(O)(OH) ₂	H	H	H	H	H	H	H
26	OH	-CH ₂ P(O)(OH) ₂	benzyl	benzyl	H	H	H	H	H	H	H
27	OH	-CH ₂ P(O)(OH) ₂	H	H	H	H	H	H	H	H	H
28	H	-(CH ₂) ₂ -		H	H	H	H	H	H	H	H
29	OH	-(CH ₂) ₂ -		H	H	H	H	H	H	H	H
30	H	-(CH ₂) ₂ -		H	CH ₃	H	H	H	H	H	H
31	<i>p</i> -nitrobenzyl	-(CH ₂) ₂ -		H	H	H	H	H	H	H	H
32	H	-(CH ₂) ₂ -		kyselina vzorce II, kde R ³ = R, R ^{4a} až R ^{6a} = H	H	H	H	H	H	H	H
33	-CH ₂ OH	-(CH ₂) ₂ -		kyselina vzorce II, kde R ³ = R, R ^{4a} až R ^{6a} = H	H	H	H	H	H	H	H
34	OH	-(CH ₂) ₂ -		kyselina vzorce II, kde R ³ = R, R ^{4a} až R ^{6a} = H	H	H	H	H	H	H	H
35	-(CH ₂) ₂ COOH	-(CH ₂) ₂ -		kyselina vzorce II, kde R ³ = R, R ^{4a} až R ^{6a} = H	H	H	H	H	H	H	H
36	H	-(CH ₂) ₂ -		kyselina vzorce II, kde R ³ = OH, R ^{4a} až R ^{6a} = H	H	H	H	H	H	H	H
37	<i>p</i> -nitrobenzyl	-(CH ₂) ₂ -		kyselina vzorce II, kde R ³ = OH, R ^{4a} až R ^{6a} = H	H	H	H	H	H	H	H
38	<i>p</i> -aminobenzyl	-(CH ₂) ₂ -		kyselina vzorce II, kde R ³ = OH, R ^{4a} až R ^{6a} = H	H	H	H	H	H	H	H

39	<i>p</i> -SCN-benzyl	-(CH ₂) ₂ -	kyselina vzorce II, kde R ^a = OH, R ^{4a} až R ^{6a} = H	H	H	H	H	H	H	H
40	<i>p</i> -azidobenzyl	-(CH ₂) ₂ -	kyselina vzorce II, kde R ^a = OH, R ^{4a} až R ^{6a} = H	H	H	H	H	H	H	H
41	<i>p</i> -nitrobenzyl	-(CH ₂) ₂ -	-CH ₂ P(O)(OH)(CH ₂ OH)	H	H	H	H	H	H	H
42	<i>p</i> -nitrobenzyl	-(CH ₂) ₂ -	-CH ₂ P(O)(OH) ₂	H	H	H	H	H	H	H
43	<i>p</i> -aminobenzyl	-(CH ₂) ₂ -	-CH ₂ P(O)(OH) ₂	H	H	H	H	H	H	H

6. Způsob přípravy sloučenin na bázi cyklamu obecného vzorce I podle kteréhokoliv z nároků 1 až 5, **vyznačený tím**, že se meziprodukt obecného vzorce IV,

5



kde R¹¹, R¹², R¹³ a R¹⁴ jsou v následujících kombinacích:

Meziprodukt	R ¹¹	R ¹²	R ¹³	R ¹⁴
A	H	H	H	OH
B	H	H	H	<i>p</i> -nitrobenzyl
C	H	H	H	-CH ₂ N(benzyl) ₂
D	H	H	H	-(CH ₂) ₂ COOH
E	H	-(CH ₂) ₄ COOH	H	H
F	OH	-(CH ₂) ₃ NH(4-dibenzylcyklooktynamidobutoxyl)	OH	OH

10

nebo sloučenina, vybraná ze skupiny obsahující methylen-bis(fosfinovou kyselinu), kyselinu fosforitou, kyselinu hydroxymethylfosfinovou, podrobí reakci s derivátem cyklamu a aldehydem ve vodném roztoku kyseliny o koncentraci v rozmezí od 10 do 40 % (hmotn.), s výhodou v rozmezí od 18 do 36 % (hmotn.), při teplotě v rozmezí od 40 do 80 °C po dobu alespoň 12 hodin; přičemž derivátem cyklamu je 1,4,8,11-tetraazacyklotetradekan a jeho deriváty a 1,4,8,11-tetraazabicyklo[6.6.2]hexadekan a jeho deriváty, s výhodou je derivát cyklamu vybraný ze skupiny zahrnující 1,4,8,11-tetraazacyklotetradekan, 1,4,8,11-tetraazabicyklo[6.6.2]hexadekan, 1,4,8-trimethyl-1,4,8,11-tetraazacyklotetradekan, 1,8-dimethyl-1,4,8,11-tetraazacyklotetradekan, 1,8-dibenzyl-1,4,8,11-tetraazacyklotetradekan, 1,4-dibenzyl-1,4,8,11-tetraazacyklotetradekan, 6,13-dimethyl-6,13-dinitro-1,4,8,11-tetraazacyklotetradekan; aldehyd je vybraný ze skupiny obsahující acetaldehyd, formaldehyd a para-formaldehyd, a kyselinou je s výhodou HCl a/nebo CF₃COOH; a přičemž reakci může předcházet krok přípravy meziproduktu.

7. Způsob přípravy sloučenin na bázi cyklamu podle nároku 6, **vyznačený tím**, že se výsledný produkt dále podrobí redukci.

8. Způsob přípravy sloučenin na bázi cyklamu podle nároku 6, **vyznačený tím**, že se výsledný produkt dále podrobí oxidaci.

30

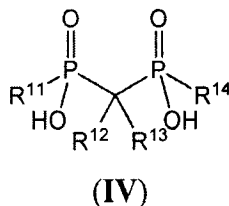
9. Způsob přípravy sloučenin na bázi cyklamu podle nároku 6, **vyznačený tím**, že se výsledný produkt dále podrobí reakci s aldehydem, a popřípadě meziproduktem obecného vzorce IV nebo sloučeninou, vybranou ze skupiny obsahující methylen-bis(fosfinovou kyselinu), kyselinu fosforitou, kyselinu hydroxymethylfosfinovou, ve vodném roztoku kyseliny.

10. Způsob přípravy sloučenin na bázi cyklamů podle nároku 7, **vyznačený tím**, že po kroku redukce následuje krok, kdy se produkt redukce podrobí reakci s CSCl_2 nebo COCl_2 .

5 11. Způsob přípravy sloučenin na bázi cyklamů podle nároku 10, **vyznačený tím**, že po kroku redukce následuje krok, kdy se výsledný produkt redukce podrobí reakci s NaN_3 .

12. Sloučenina obecného vzorce **IV** pro přípravu sloučenin na bázi cyklamů podle kteréhokoliv z nároků 1 až 5,

10



kde R^{11} , R^{12} , R^{13} a R^{14} jsou v následujících kombinacích:

Meziprodukt	R^{11}	R^{12}	R^{13}	R^{14}
B	H	H	H	<i>p</i> -nitrobenzyl
C	H	H	H	$-\text{CH}_2\text{N}(\text{benzyl})_2$
D	H	H	H	$-(\text{CH}_2)_2\text{COOH}$
E	H	$-(\text{CH}_2)_4\text{COOH}$	H	H
F	OH	$-(\text{CH}_2)_3\text{NH}(4\text{-dibenzylcyklooktynamidobutoxyl})$	OH	OH

15

13. Farmaceutický přípravek, **vyznačený tím**, že obsahuje alespoň jednu sloučeninu na bázi cyklamů podle kteréhokoliv z nároků 1 až 5, a farmaceuticky přijatelný nosič.

20 14. Sloučenina na bázi cyklamů podle kteréhokoliv z nároků 1 až 5 a/nebo farmaceutický přípravek podle nároku 13 pro použití jako léčivo, s výhodou při léčbě nádorových onemocnění, zánětů a/nebo aterosklerózy.

25 15. Sloučenina na bázi cyklamů podle kteréhokoliv z nároků 1 až 5 a/nebo farmaceutický přípravek podle nároku 13 pro použití jako kontrastní látka v lékařské diagnostice, s výhodou při diagnostice nádorových onemocnění, zánětů a/nebo aterosklerózy.

30 16. Použití sloučenin na bázi cyklamů podle kteréhokoliv z nároků 1 až 5 a/nebo farmaceutického přípravku podle nároku 13 v radiochemii pro přípravu značek nebo prekurzorů značek při značení pomocí radioizotopů mědi, lutecia, bismutu a yttria.

17. Použití sloučenin na bázi cyklamů podle kteréhokoliv z nároků 1 až 5 pro přípravu přípravku ke komplexaci a/nebo čištění radioizotopů mědi.

35

Konec dokumentu

40