

CHELÁTÝ PRO VYUŽITÍ V BIOMEDICÍNSKÝCH OBORECH

JAN KOTEK* a IVAN LUKEŠ

Univerzita Karlova v Praze, Přírodovědecká fakulta, Katedra anorganické chemie, Hlavova 2030, 128 40 Praha 2
lukes@natur.cuni.cz

Došlo 1.7.10, přijato 6.9.10.

Klíčová slova: koordinační sloučeniny, ligandy, magnetická rezonance, radiomedicína, kontrastní látky, gadolinium, gallium, značení buněk

Obsah

1. Úvod
2. Kontrastní látky pro magnetickou rezonanci
3. Komplexace radionuklidů v PET
4. Duální kontrastní látky
5. Cílení (targeting) léčiv
6. Závěr

Koordinační chemie a chemie chelátů má na chemických katedrách Přírodovědecké fakulty Univerzity Karlovy v Praze velkou tradici. Je třeba vzpomenout doc. Rudolfa Přibila z ústavu analytické chemie, který záhy po představení kyseliny ethylendiamintetraoctové (EDTA) Geroldem Schwarzenbachem rozeznal rozsáhlé možnosti těchto látek a spolu se svými kolegy vypracoval celou řadu analytických metod. Na katedře anorganické chemie to byl prof. Stanislav Škramovský, první, kdo u nás zavedl koordinační chemii jako samostatný předmět do výuky studentů. V té novodobější historii lze připomenout prof. Jaroslava Podlahu, který syntetizoval řadu fosfanových analogů aminopolykarboxylových kyselin (tj. ligandů kombinujících tvrdé a měkké donorové atomy) s cílem připravit ligandy pro měkké Lewisovy kyseliny. Autoři chtějí uvedený článek věnovat těmto svým předchůdcům a ukázat na rozvoj oboru koordinační chemie a s ní související chemie chelátů v oblasti biomedicínských aplikací.

1. Úvod

Lékařská diagnostika a lékařský výzkum směřují stále více od čistě anatomického zobrazování k získávání informací o biochemickém stavu určité tkáně až na molekulární úrovni. Moderní diagnostické zobrazovací metody jsou

neinvasivní a jsou založeny na různých fyzikálně-chemických principech. Běžně používanou metodou je zobrazování magnetickou rezonancí (MR, v zahraničí označované též MRI z anglického magnetic resonance imaging). Je založeno na změně chování jader atomů vodíku ^1H (přítomných v molekule vody), umístěných v silném vnějším magnetickém poli. Absorpcí radiofrekvenčního záření se jádra vodíku dostanou do excitovaného stavu. Poté se díky relaxačním procesům vracejí do původního stavu a uvolňují přitom absorbovanou energii ve formě elektromagnetického záření, které je detegováno. Další dvě metody využívají radioaktivní záření – jednofotonová emisní počítačová tomografie (single-photon emission computed tomography, SPECT) a pozitronová emisní tomografie (positron emission tomography, PET). U obou se získává prostorová informace díky lokalizaci rozdílného množství radioaktivity v různých tkáních. Záření je detegováno pomocí detektorů umístěných okolo těla pacienta, podobně jako u prostorového zobrazování pomocí RTG záření, tj. počítačové tomografie (computed tomography, CT). Metoda SPECT snímá γ -záření přímo emitované radioizotopem, zatímco PET deteguje dva kolineární γ -fotony vzniklé anihilací pozitronu emitovaného radioizotopem. Metoda SPECT je schopna detegovat γ -záření různých energií emitované mnoha různými izotopy; nejčastěji se používá $^{99\text{m}}\text{Tc}$. Prostorové rozlišení metody je asi $0,5\text{ cm}^3$. V posledních letech se výrazně snížily ceny tomografů typu PET a tato metoda se stává metodou první volby v nukleární medicíně pro detekci nádorů a poškození tkání. Tato metoda má vysokou citlivost – je schopna detegovat už pikomolární koncentrace izotopu (tj. $10^{-12}\text{ mol l}^{-1}$) a má také vynikající prostorové rozlišení (v klinickém uspořádání až 1 mm^3). Proto se hodí i ke zviditelnění velice malých metastáz. Z izotopů vhodných pro PET je nejčastěji používán ^{18}F . Tento izotop je poměrně dost drahý, protože musí být připravován pomocí cyklotronu a jeho cena je v dnešní době hlavním faktorem určujícím cenu celé metody. V klinické praxi zatím okrajově, ale o to více v lékařském výzkumu a biologii, se využívá také optických metod (optical imaging, optical methods, OM), založených na luminiscenci/fluorescenci barviva, které je vpraveno do buněk a tkání. Optické metody detegují poměrně nízké koncentrace barviv (méně než mikromolární).

U všech výše zmíněných diagnostických metod se používají tzv. kontrastní látky (contrast agents, CA). U SPECT a PET jsou nezbytné, protože v nich přítomné radioizotopy jsou zdrojem radioaktivního záření. Stejně tak u optických metod je zapotřebí fluoreskující barvivo. Metody CT a MR poskytují obrazy i bez aplikace kontrast-

* Autor je laureátem ceny Alfreda Badera za chemii bioorganickou a bioanorganickou pro rok 2009.

ních látek; použití CA však podstatně zlepšuje kontrast určitých tkání nebo patologií, a tím i detegovatelnost patologických tkání. Výhodou MR je, že nepoužívá škodlivé ionizující záření a poskytuje nejenom anatomickou informaci, ale i data o funkčním stavu organismu. Obdobně i radioizotopové metody umožňují sledovat fyziologický stav organismu (nejznámějším příkladem je používání glukosy značené izotopem ^{18}F ke sledování metabolické aktivity tkání pomocí PET).

Pokud jsou tímto způsobem získávány informace o stavu organismu nebo tkáně až na buněčné (např. přítomnost určitého typu buněk) nebo dokonce molekulární úrovni, užívá se v současné době pro tyto metody souhrnný název molekulární zobrazování (molecular imaging, MI). Metody molekulárního zobrazování se používají nejen v medicíně a preklinickém výzkumu, ale i v molekulární biologii.

Dnes používané kontrastní látky jsou buď málo účinné (MR), nebo drahé (PET), a hlavně nesledují moderní vývoj, který směřuje ke kombinaci používaných metod. Současné používání různých zobrazovacích metod totiž vyžaduje multimodální kontrastní látky. Vzhledem k vývoji nových přístrojů pro klinickou praxi budou tyto látky zapotřebí během několika málo let.

V uvedených kontrastních látkách je nositelem efektu ion kovu, ať již se jedná o stabilní izotop Gd^{3+} pro MR nebo o různé radionuklidy kovů. Jedno mají společné – pro použití *in vivo* musí být tyto ionty pevně vázány v komplexu tak, aby nedošlo k jejich uvolnění působením látek přítomných v organismu. Rozklad komplexu *in vivo* může probíhat transchelatací (vytržením centrálního iontu působením dalších ligandů, kterými mohou být např. aminokyseliny nebo oligopeptidy) nebo transmetalací (nahrazením centrálního iontu jiným (biogenním) iontem, např. Ca^{2+} , Mg^{2+} , Zn^{2+} apod). Proto musí používaný komplex vykazovat vysokou termodynamickou stabilitu (tj. mít vysokou hodnotu konstanty stability), a zároveň být kineticky inertní (tj. mít velkou aktivační bariéru vedoucí k disociaci, a nerozložit se tak ani za podmínek, za kterých by z termodynamického hlediska neměl existovat). Právě kinetická inertnost je zvláště v případě radiofarmak nejdůležitějším parametrem – je třeba si uvědomit, že vzhledem k extrémně nízkým koncentracím používaných radiofarmak jsou ostatní látky v organismu přítomné v obrovském nadbytku, což usnadňuje možnou transchelataci i transmetalaci. Vedle těchto základních podmínek musí mít kontrastní látky vhodnou distribuci v organismu. U kontrastních látek pro MR jsou ještě další faktory, převážně struktura komplexu, které ovlivňují jejich účinnost. Hledání nových a efektivnějších kontrastních látek je velká výzva pro koordinační chemiky v oblasti designu nových ligandů a studia jejich komplexů.

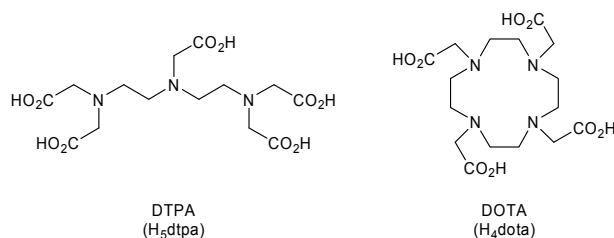
2. Kontrastní látky pro magnetickou rezonanci

Fyzikální princip MR vychází z monitorování rozdílné distribuce a vlastností vody ve zkoumaných tkáních

a z prostorové variace magnetických relaxačních časů protonů (času longitudinální – podélné relaxace T_1 , a času transverzální – příčné relaxace T_2). Relaxační časy lze významně ovlivnit (zkrátit) přítomností magneticky aktivních sloučenin nebo částic. Různé relaxační časy pak zvyšují kontrast mezi tkáněmi s různou distribucí vody a zlepšují rozlišení vnitřní struktury orgánů. Z fyzikálního hlediska existují dvě skupiny těchto tzv. kontrastních látek (CA) podle procesů, které urychlují. T_1 relaxační časy jsou zkracovány paramagnetickými CA a vytváří tzv. pozitivní kontrast, tj. při použití vhodné pulzní sekvence zvyšují intenzitu detegovaného signálu a „zesvětlují“ tkáň, v nichž je přítomná kontrastní látka. T_2 relaxační časy jsou zkracovány superparamagnetickými CA a vytváří tzv. negativní kontrast, tj. tkáň s jejich výskytem poskytuje nižší signál a jsou „tmavé“¹. Za první moderní používanou CA je považován gadolinový komplex kyseliny diethylenetriaminpentaoctové (DTPA, viz obr. 1), který byl schválen pro klinické použití v roce 1988. Na druhé straně, T_2 -CA byly vyvinuty později a jsou koncepčně založeny na nanočásticích oxidů železa různé velikosti od několika nanometrů do několika desítek nanometrů^{1,2}. Pro aplikace *in vivo* jsou pokryty např. dextrans nebo vrstvou silikagelu a tak je jejich průměr zvětšen až k několika stovkám nanometrů.

Podle údajů Americké radiologické společnosti je v celém světě provedeno ročně až sto milionů vyšetření MR a asi v 35–40 % případů se používají CA. V drtivé většině z nich, téměř v 99 %, se používají T_1 -CA založené na komplexech gadolinia. Struktura a vlastnosti komplexů určují vlastnosti takovýchto CA a tak je logické, že se této oblasti chemie věnuje celá řada výzkumných pracovišť a že v této oblasti byla publikována řada monografií^{1,3,4} a obecných přehledných článků^{5–14}, přehledných článků zaměřených na fyzikální aspekty¹⁵, struktury v pevném stavu^{16,17}, termodynamickou a kinetickou stabilitu^{18–20}, prototropickou výměnu²¹, efekt tzv. druhé koordinační sféry²², kvantové výpočty²³, cílené CA^{24–27}, makromolekulární CA^{28–30}, a multimodální CA³¹.

Trojmocné gadolinium má pro uvedenou metodu klíčový význam. Je to ion, který má nejvyšší možný elektronový spin, a je tedy schopný svými magnetickými vlastnostmi ovlivnit okolí maximálním možným způsobem. Ve své hydratované podobě (přítomné např. ve vodných roztocích jednoduchých solí, jako je GdCl_3) je ion Gd^{3+} velice jedovatý. Proto musí být vázán do extrémně stálých kom-



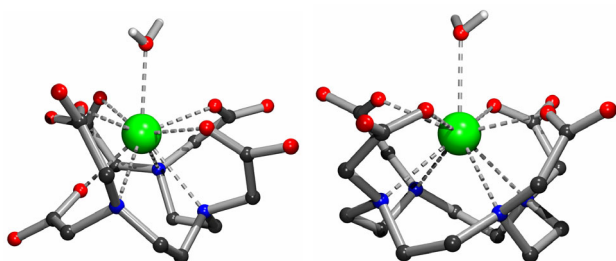
Obr. 1. Struktura ligandů DTPA a DOTA

plexů. V případě klinicky používaných látek se jedná o polyaminopolykarboxylové kyseliny a jejich deriváty. Dva prototypové ligandy označované jako DTPA a DOTA jsou ukázány na obr. 1. Komplex musí být stabilní natolik, aby po nitrožilní aplikaci nedošlo v těle k jeho rozkladu (a tedy k uvolnění vysoce toxického Gd^{3+}). Ve všech klinicky užívaných komplexech je kromě ligandu na centrální ion koordinována právě jedna molekula vody. Tato koordinovaná molekula vody je podstatná pro funkci komplexu jako kontrastní látky, protože se chemicky vyměňuje s molekulami vody v okolí komplexu a tím zprostředkovává přenos magnetické informace z iontu gadolinového na okolní vodu (která je pak detegována v MR obrazech).

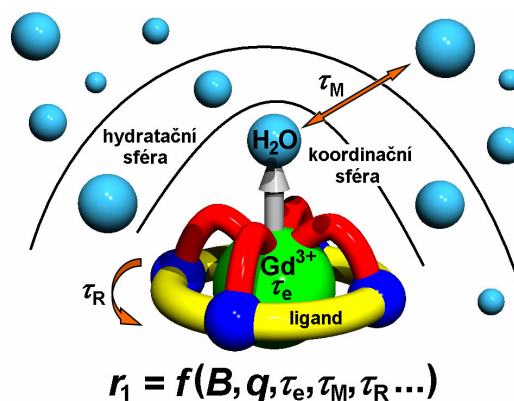
Prostorová struktura komplexů $[\text{Gd}(\text{H}_2\text{O})(\text{dtpa})]^{2-}$ a $[\text{Gd}(\text{H}_2\text{O})(\text{dota})]^-$ je znázorněna na obr. 2. Ligand centrální ion kovu perfektně „zabalí“ pomocí koordinovaných atomů dusíku a kyslíku a současně ponechává dostatek prostoru, aby se na ion Gd^{3+} navázala právě jedna molekula vody. Obecně lze však říci, že komplexy založené na makrocyclickém skeletu (DOTA) jsou mnohem odolnější vůči rozkladu než komplexy lineárních ligandů (DTPA), a proto jsou mnohem šetrnější vůči pacientovi.

Účinnost kontrastních látek je vyjádřena hodnotou relaxivity, r_1 nebo r_2 . Tato veličina vyjadřuje, jak se změní hodnota relaxačních časů T_1 nebo T_2 v přítomnosti kontrastní látky (v praxi je – vzhledem k nejčastěji používaným T_1 -CA založených na gadolinu používána především hodnota podélné relaxivity r_1 , která je definována jako převrácená hodnota relaxačního času T_1 vodního roztoku kontrastní látky o koncentraci gadolinia 1 mmol l^{-1}). Z hlediska fyzikální teorie relaxace je relaxivita veličinou, která závisí na řadě fyzikálně-chemických vlastností molekul kontrastních látek (tzv. „mikroskopických“ parametrech), ale i na řadě vnějších podmínek (tzv. „makroskopických“ parametrech), jako jsou intenzita magnetického pole (magnetická indukce, B) používaného v daném tomografu a vlastnosti studovaného vzorku, např. teplota, viskozita roztoku atd.

Běžné kontrastní látky mají relativně nízkou relaxivitu ($\sim 4\text{--}5 \text{ mmol}^{-1} \text{ s}^{-1}$), a teorie relaxace predikuje až $20\times$ vyšší účinnost. Zlepšení účinnosti lze dosáhnout cíleným „laděním“ jednotlivých fyzikálně-chemických vlastností komplexů. Tyto parametry lze ovlivnit změnou struktury ligandů, a proto jsou design a syntéza nových ligandů spo-



Obr. 2. Prostorová struktura komplexů $[\text{Gd}(\text{H}_2\text{O})(\text{dtpa})]^{2-}$ a $[\text{Gd}(\text{H}_2\text{O})(\text{dota})]^-$

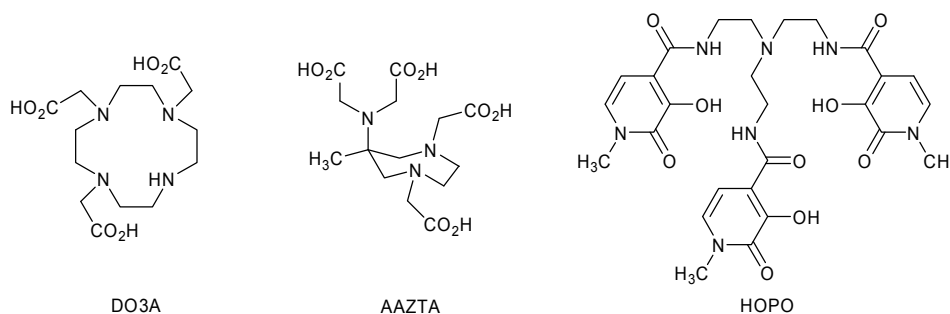


Obr. 3. Mikroskopické parametry ovlivňující relaxivitu gadolinových komplexů

lu se studiem vlastností jejich komplexů významným příspěvkem chemiků v této multidisciplinární oblasti základního výzkumu. Zkoumáním chování komplexů se už více než 20 let zabývá řada akademických a firemních laboratoří a jejich úsilí vedlo k postupnému zvyšování relaxivity komplexů a k vývoji nových kontrastních látek.

Mezi základní „laditelné“ mikroskopické parametry kontrastních látek patří především počet molekul vody koordinovaných k centrálnímu gadolinovému iontu (q), rychlost jejich výměny s molekulami vody v roztoku (vyjadřovaná obvykle převrácenou hodnotou odpovídající rychlostní konstanty, tzv. rezidenčním časem koordinované molekuly vody, τ_M), celková hydratace molekul kontrastní látky, a rychlost rotačního pohybu celé molekuly kontrastní látky (charakterizovaná tzv. rotačním korelačním časem τ_R), viz obr. 3. Mimo zmíněné parametry je relaxivita zásadně ovlivňována též relaxačními časy elektronově excitovaných stavů gadolinia (τ_e), nicméně tento parametr není přístupný přímé modulaci (v principu se jedná o vlastnost centrálního atomu, která je pro jednotlivé kontrastní látky různá, ale bohužel ji nelze predikovat, a tudíž ani cíleně ovlivnit volbou ligandu).

Počet koordinovaných molekul vody q je parametr, jemuž je hodnota relaxivity přímo úměrná. Všechny kontrastní látky používané v klinické praxi obsahují jednu molekulu vody. Koordinační sloučeniny se dvěma koordinovanými molekulami vody by měly teoreticky vykazovat (při stejných hodnotách ostatních parametrů) dvojnásobnou relaxivitu. Jedním z nejjednodušších ligandů je analog DOTA nesoucí pouze tři pendantní acetátové skupiny, tzv. DO3A (obr. 4). Bohužel bylo pozorováno, že za podmínek *in vitro/in vivo* velmi často dochází k nahrazení obou molekul vody jiným – bidentátním – ligandem, např. uhličitanovým nebo fosforečnanovým aniontem, aminokyselina-mi, anionty polykarboxylových kyselin (citrátem) atd.^{32,33} Dále bylo pozorováno, že zmenšení vaznosti ligandu (všechny ligandy používané v klinické praxi jsou oktaeden-



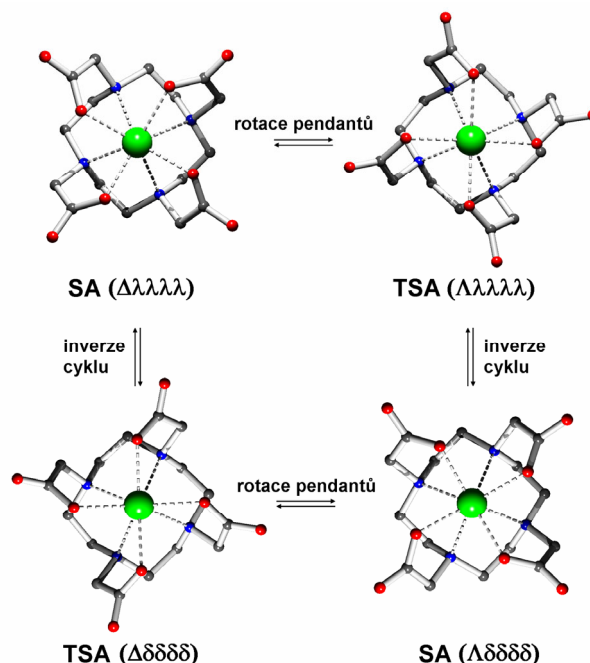
Obr. 4. Ligandy tvořící s trojmocným gadolinem komplexy mající koordinované dvě molekuly vody

tání) z osmi na sedm tak, aby přibýlo nové koordinační místo pro další molekulu vody (typické koordinační číslo gadolinia je 9), vede k velmi významnému poklesu stability těchto komplexů za podmínek *in vivo* a ke značnému nárůstu jejich toxicity. Nicméně jsou vyvíjeny nové ligandové systémy, z nichž nejperspektivnějšími se jeví deriváty skeletů označovaných jako AAZTA a HOPO (obr. 4, cit.^{34–36}).

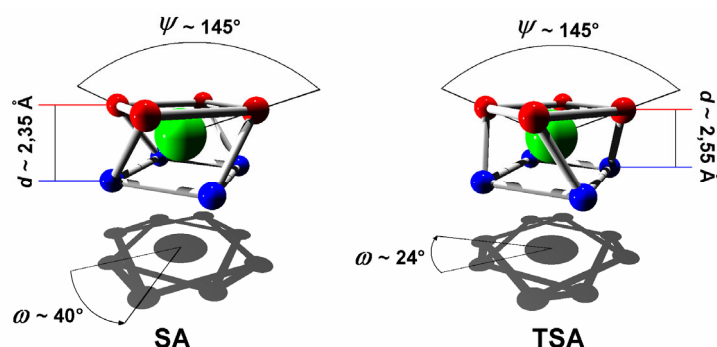
Rychlost výměny vody je dalším velmi důležitým mikroskopickým parametrem určujícím účinnost kontrastních látek. Výměna molekuly vody musí být dostatečně rychlá, aby molekula kontrastní látky zrychlila magnetickou relaxaci co největšího počtu molekul vody v okolí. Zároveň však nesmí být příliš rychlá, aby stačilo dojít k relaxaci magnetického momentu jader vodíku koordinované molekuly vody spřažením s elektronovou relaxací gadolinia. Hodnota rychlosti výměny vody – často vyjadřovaná hodnotou tzv. „rezidenčního času“ τ_M (obr. 3), tj. délky průměrného trvání koordinační vazby – by tedy měla ležet v optimálním rozmezí. Toto optimum je závislé na intenzitě používaného magnetického pole a v případě nejběžnějších tomografií pracujících při poli 1,5 nebo 3 T činí ~ 10 – 20 ns, pro přístroje pracující při vyšších polích je hodnota optimálního rezidenčního času poněkud nižší, ~ 5 ns. V praxi používané látky vyměňují koordinovanou molekulu vody značně pomaleji (typicky ~ 250 – 1000 ns), než je toto požadované optimum. Nicméně je pozorovatelný trend ve vztahu rychlost výměny vs. struktura komplexní částice, který umožňuje provést návrh struktury co neúčinnějších kontrastních látek. Obecně lze říci, že komplexní částice by měly nést záporný náboj – mezielektronová repulze totiž významně destabilizuje koordinaci vody.

V případě látek založených na makrocyclických ligandech pak přistupuje ještě jeden významný faktor – komplexy ligandů typu DOTA se totiž mohou vyskytovat ve dvou diastereoizomerních formách, které se významně liší rychlostí výměny vody. Vznik diastereoizomerů je umožněn dvěma nezávislými zdroji chiralitity molekuly – díky koordinaci makrocyclického skeletu se pětičlenné chelatové kruhy Gd-N-C-C-N mohou vyskytovat v konformaci λ nebo δ , a koordinované pendantní skupiny

mohou být zatočeny též dvěma možnými způsoby (tj. mohou mít různou helicitu) – Λ nebo Δ . To vede ke vzniku čtyř izomerních forem, které tvoří dva diastereoizomerní páry enantiomerů $\Lambda\delta\delta\delta\delta/\Delta\lambda\lambda\lambda\lambda$ a $\Lambda\lambda\lambda\lambda\lambda/\Delta\delta\delta\delta\delta$ (obr. 5). Diastereoizomer $\Lambda\delta\delta\delta\delta/\Delta\lambda\lambda\lambda\lambda$ vytváří koordinační klec o geometrii čtvercového antiprizmatu (SA, square antiprism, s torzními úhly N_4 a O_4 rovin (ω) blízkými teoretické hodnotě 45° , obr. 6), izomer $\Lambda\lambda\lambda\lambda\lambda/\Delta\delta\delta\delta\delta$ vytváří zkřížené antiprizmatické okolí (TSA, twisted-square antiprism, torzní úhly N_4 a O_4 rovin (ω) blízké teoretické hodnotě $22,5^\circ$, obr. 6). Koordinační dutina TSA izomeru je poněkud vyšší než dutina SA izomeru (obr. 6). Zároveň je



Obr. 5. Strukturální vztahy mezi jednotlivými izomery lanthanoidových komplexů s makrocyclickými ligandy typu DOTA



Obr. 6. Strukturální rozdíly mezi SA a TSA izomery lanthanoidových komplexů s makrocyclickým ligandem DOTA

TSA uspořádání mnohem flexibilnější než uspořádání SA, což vede k řádově rychlejší výměně koordinované molekuly vody na TSA izomeru v porovnání s SA izomerem (díky flexibilitě TSA uspořádání dochází při vibračních pohybech ke sterickému bránění koordinačního místa vody a k jejímu vypuzení z koordinační sféry; po opětovném přerovnění koordinační sféry se pak koordinuje nová molekula vody).

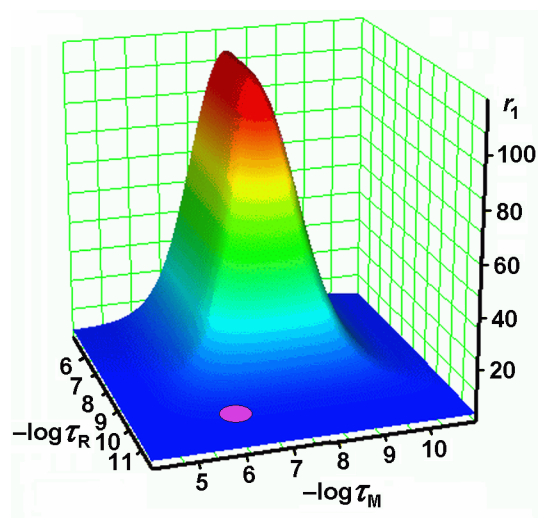
Koordinační uspořádání TSA je preferováno většími ionty ze začátku lanthanoidové řady, ale vzájemné zastoupení TSA/SA izomerů lze pro jednotlivé lanthanoidy modulovat i změnou struktury ligandu – protáhlejší koordinační klec typu TSA je preferována v ligandech mající objemné pendantní skupiny (např. když je acetátová skupina přítomná v ligandu DOTA nahrazena větší methylenfosfonovou nebo methylenfosfinovou skupinou, případně skupinou, která při své koordinaci vytváří šestičlenný chelátový kruh, např. propionátem). Je však třeba zvolit takový ligand, aby byl zajištěn dostatečný prostor pro koordinaci vody. Tento prostor je charakterizován úhlem svíraným mezi centrálním iontem gadolinia a protějšími kyslíkovými donorovými atomy (úhel Ψ , obr. 6). Tento úhel musí být větší než $\sim 135^\circ$.

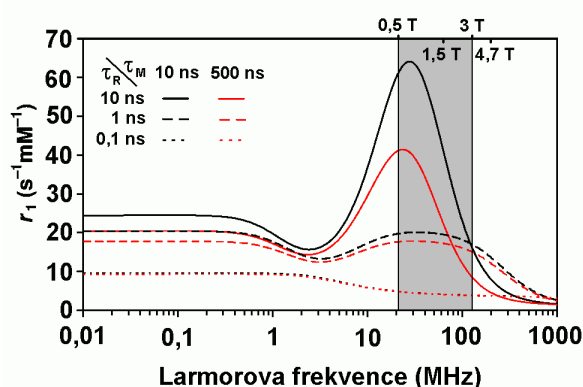
Dalším velmi významným parametrem ovlivňujícím hodnotu relaxivity je tzv. rotační korelační čas τ_R (tj. čas popisující rychlost rotace vektoru $Gd-H_{\text{voda}}$, obr. 3). Obecně lze říci, že kontrastní látky jsou tím účinnější, čím pomaleji se v roztoku pohybují (závislost relaxivity na rotačním korelačním časem však není přímo úměrná, ale má sigmoidální charakter). Molekuly komerčních kontrastních látek jsou relativně malé, a proto se v roztoku pohybují příliš rychle (typický rotační korelační čas nízkomolekulárních komplexů bývá ~ 100 ps, přičemž teorie vyžaduje hodnoty řádově vyšší, alespoň 3–5 ns). Proto jsou obvykle molekuly nízkomolekulárních kontrastních látek vhodně substituovány tak, aby bylo umožněno jejich navázání na makromolekulární nebo nanokrystalický nosič – např. kovalentní vazbou, nekovalentní (např. hydrofobní) interakcí, chemickou nebo fyzikální sorpcí apod., nebo aby se umožnilo zakotvení komplexů v micelárních strukturách. Tím dochází k významnému zbrždění rotace a nárůstu relaxivity.

Pro kovalentní navázání molekuly kontrastní látky – konjugaci – na vybranou makromolekulu jsou používány tzv. bifunkční ligandy (kromě části sloužící pro komplexaci gadolinia obsahuje molekula ligandu i postranní reaktivní skupinu, která je využita ke konjugaci reakci).

Pro dosažení nejvyšší účinnosti je však nutné současně zkrátit rezidenční čas molekuly vody a prodloužit dobu rotace komplexu – pouhá úprava jednoho z těchto parametrů z hlediska relaxivity nepřináší významný zisk. Nutnost simultánní změny obou parametrů dokresluje teoretický profil relaxivity zobrazený na obr. 7 a 8 (cit.⁵).

V naší pracovní skupině jsme se věnovali výzkumu polydentálních ligandů nesoucích převážně fosfonátovou nebo fosfinátovou pendantní skupinu (obr. 9, cit.^{37–41}). Bylo potvrzeno, že komplexy makrocyclických ligandů s oxofosforovou pendantní skupinou vykazují vyšší zastoupení TSA izomeru a velmi rychlou výměnu koordinovanou

Obr. 7. Závislost relaxivity na hodnotách rezidenčního času koordinované molekuly vody τ_M a rotačním korelačním časem kontrastní látky τ_R . Fialový ovál značí oblast, ve které se nalézají parametry komerčně používaných CA



Obr. 8. Závislost relaxivity na hodnotách intenzity použitého magnetického pole (vyjádřené rezonanční Larmorovou frekvencí) při daných hodnotách rezidenčního času koordinované molekuly vody τ_M a rotačního korelačního času kontrastní látky τ_R . Klinicky relevantní hodnoty magnetické indukce jsou uvedeny na horní ose

vané molekuly vody^{37–43}. Nicméně i další studované ligandy, nesoucí jednu pyridin-*N*-oxidovou pendantní skupinu (DO3Apy^{NO}, obr. 9), které tvoří exkluzivně SA izomer, také vykazovaly velmi rychlou výměnu koordinované vody⁴⁴. Toto netypické chování lze přičíst na vrub flexibilitě koordinačního okolí způsobené přítomností šestičlenného chelátového cyklu – tím dojde ke zvětšení vzdálenosti N_4 a O_4 rovin na hodnoty typické spíše pro TSA izomer⁴⁵. V některých případech studovaných komplexů byl naměřen rezidenční čas molekuly vody, který ležel v rozsahu optimálních (požadovaných) hodnot dle teorie. Zároveň byla pozorována vysoká kinetická inertnost komplexů nových makrocyclických ligandů, umožňující potenciální použití nových komplexů *in vitro/in vivo*⁴⁶. Nové ligandy s lineárním skeletem bohužel tvoří komplexy podstatně méně stálé⁴⁷. Byly navrženy bifunkční deriváty, které byly kovalentně navázány na makromolekulární nosiče, jako jsou polysacharidy (derivatizovaný inulin)⁴⁸, polyamidoaminové dendrimery^{49–52}, kalixareny⁵³ nebo cyklodextriny⁵⁴. Bylo pozorováno, že v případě flexibilních nosičů (inulin, dendrimery) nedochází k tak významnému nárůstu relaxivity, jak by příslušelo nárůstu molárního objemu kontrastní látky, a to především díky lokálním pohybům makromolekulárního centra, které efektivně zkracují rotační čas samotného komplexu. Oproti tomu při použití rigidních nosičů – cyklodextrinů – byl pozorován velmi významný nárůst relaxivity, poskytující kontrastní látky s nejvyšší dosaženou hodnotou relaxivity rozpočítané na jednotku molární hmotnosti (tzv. hustotou relaxivity). Těto vlastnosti lze využít např. pro značení buněčných kultur a následně sledování osudu transplantovaných buněk v organismu. Proto byly připraveny bimodální kontrastní látky typu MR-OM, nesoucí kromě gadolinitého komplexu též fluoreskující molekulu⁵⁴. Tato fluorescenční značka pak umožnila sledování vstupu kontrastních látek do buněk pomocí fluorescenční mikroskopie (viz níže).

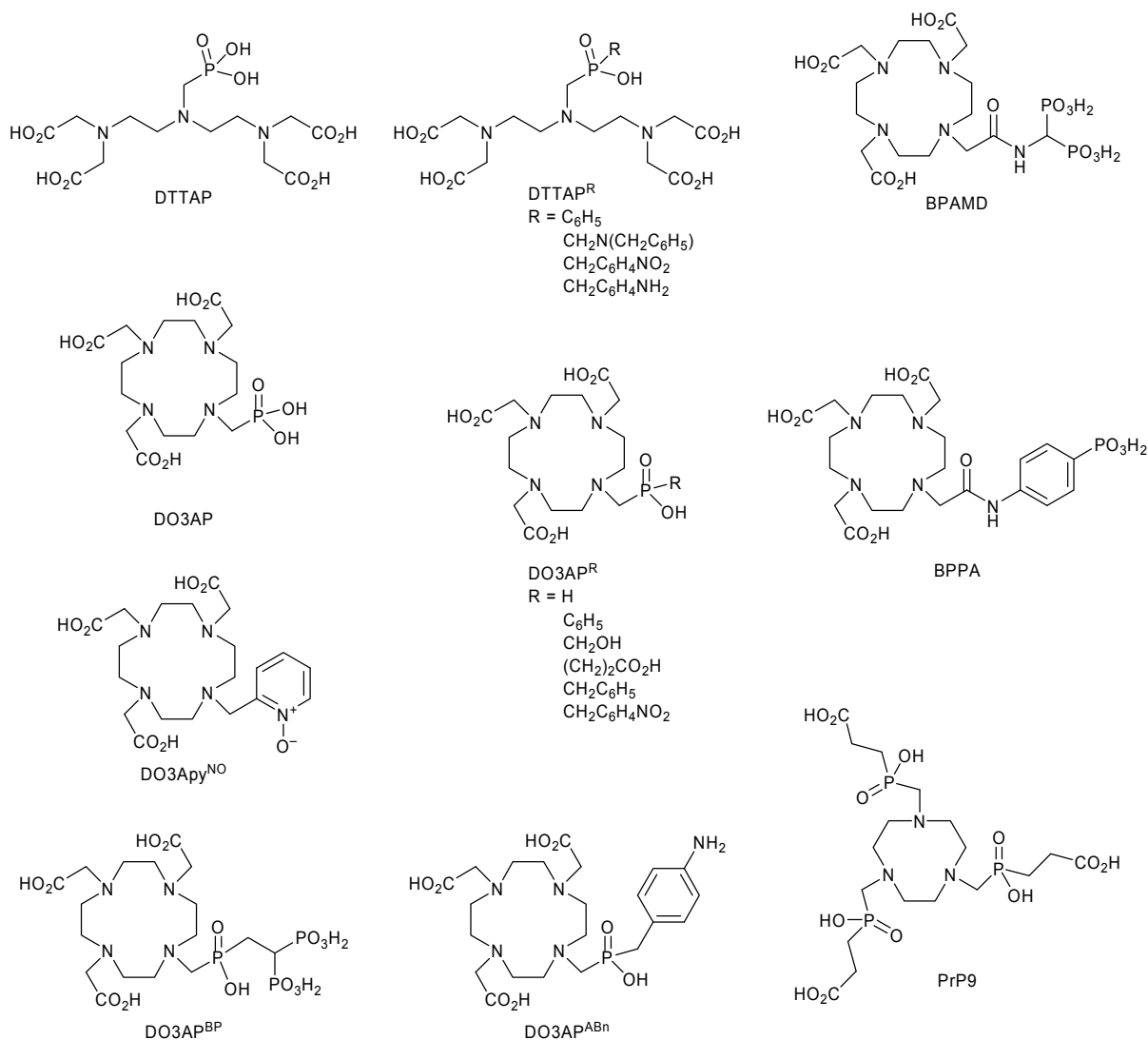
Další studovanou alternativou v naší skupině, jak zpomalit rotaci kontrastní látky, je sorpce nízkomolekulární kontrastní látky na nanokrystalický oxid titaničitý. I v tomto případě byl pozorován značný nárůst relaxivity, který umožnil efektivní značení buněčných kultur⁵⁵. Výhodou této metody je možná současná sorpce gadolinitého komplexu a fluorescenční značky⁵⁶.

3. Komplexace radionuklidů v PET

V současné době je použití PET závislé na radionuklidech ^{18}F , ^{11}C , ^{13}N a ^{15}O , které mají krátký poločas rozpadu a jsou produkovány v cyklotronu, většinou mimo klinická pracoviště. Samotné zařízení, nutnost užití cyklotronu a nároky na dopravu pak řadí uvedené vyšetření k finančně mimořádně náročným. V současné době se pozornost vědců soustřeďuje na izotop ^{68}Ga , který je přístupný z generátoru obsahujícího mateřský izotop ^{68}Ge ($\tau_{1/2} = 271$ d). S poločasem rozpadu 68 minut je izotop ^{68}Ga vhodný pro většinu bio-cílených aplikací. Celá oblast využití ^{68}Ga v PET byla shrnuta v nedávné době v přehledném článku⁵⁷. Gallium je ve vodném roztoku stále jako kation Ga^{3+} a na rozdíl od výše zmíněných radioizotopů pro PET nemůže být na vybranou biomolekulu vázáno přímo (kovalentně). Pro jeho aplikace musí být vázáno vhodným ligandem, se kterým bude vytvářet velmi stabilní komplex již v kyselé oblasti. Zde je třeba si uvědomit, že při pH větším než 4 se tvoří nerozpustný hydroxid gallitý, který se při pH větším než 8 rozpouští za vzniku hydroxidokomplexů. Kromě obecných požadavků – snadná a levná syntéza, a dlouhodobá stálost – by měl ideální ligand pro ^{68}Ga kombinovat následující vlastnosti: a) výsledný komplex by měl být velmi stabilní a to jak termodynamicky, tak i kineticky; b) rychlá komplexace v řádu minut a to při teplotě nižší než 40 °C, pH menším než 4 a při velmi nízkých koncentracích (nano až pikomolárních); c) komplexace musí být vůči Ga^{3+} selektivní, selektivita je důležitá vzhledem k možné transmetalaci s biogenními ionty, jako jsou Ca^{2+} , Mg^{2+} a Zn^{2+} ; d) schopnost konjugace s biologicky aktivními molekulami, které zajistí specifickou distribuci léčiva (tzv. bio-targeting).

Na obr. 10 jsou znázorněny některé příklady studovaných ligandů. Triazacykly (horní řádek) více splňují požadavky uvedené výše. Na rozdíl od lineárních ligandů (dolní řádek) tvoří komplexy s vyšší termodynamickou a také kinetickou stálostí. Na druhé straně, lineární ligandy komplexují ion Ga^{3+} mnohem rychleji, ale nemají rigidní dutinu (kavitu) požadované velikosti a tak nejsou selektivní⁵⁸. Ligandy s thiolovou skupinou se ukázaly jako nejméně vhodné vzhledem k snadné oxidaci skupiny a také vzhledem k náročné syntéze^{59,60}.

Největší význam pro komplexaci trojmocného gallia má DOTA⁶¹ a ligandy typu NOTA^{62–64}. Nejvíce využívané jsou deriváty DOTA především pro svoji komerční dostupnost a dostupnost vhodných konjugátů, které byly studovány jako CA pro MR a radioterapeutika⁶⁵. Na druhé straně ligandy typu NOTA vykazují lepší stabilitu a selektivitu



Obr. 9. Ligandy studované ve skupině bioanorganické a koordinační chemie na katedře anorganické chemie PĚF UK v Praze

vůči Ga³⁺ vzhledem k velikosti kavity, která je pro tento ion ideální⁶⁶.

Na základě uvedených znalostí a našich zkušeností byl na našem pracovišti navržen a syntetizován nový ligand PrP9 (obr. 9), který splňuje výše uvedené požadavky⁶⁷. Výsledky ukázaly, že kinetika tvorby komplexu Ga-PrP9 je za běžných chemických i radiochemických podmínek mimořádně rychlá, rychlejší než analogická reakce s DOTA nebo NOTA. Uvedená rychlost komplexace vychází z předpokladu, že se pendantní rameno chová jako lineární ligand a zachytí gallitý ion pomocí karboxylové skupiny, což vede ke vzniku tzv. „out-of-cage“ komplexu. Ion se tak rychle dostane do blízkosti hlavního a energeticky

mnohem výhodnějšího chelatačního centra a přechod do kavity je tímto urychlen. Oproti jiným ligandům komplexace probíhá v širokém rozmezí pH, již od hodnoty pH 1, a ani při hodnotě pH 5 nebyl pozorován vznik sraženiny hydroxidu gallitého. Komplexace probíhá mimořádně rychle, při zahřátí na teplotu 60 °C a pH 3,5 je reakce ukončena dříve než za 1 min a při laboratorní teplotě je za 5 min zakomplexováno více než 90 % beznosičového ⁶⁸Ga³⁺. V případech NOTA a DOTA činí míra komplexace za identických podmínek 75, resp. 15 %. Na modelových látkách bylo pozorováno, že karboxylové skupiny ani po konjugaci s biomolekulami neztrácí schopnost zvyšovat rychlost komplexace.

4. Duální kontrastní látky

Každá ze zobrazovacích metod (MR, PET a OM) má své výhody a nevýhody, které se týkají citlivosti, rozlišení a také ceny. Použití jednotlivých zobrazovacích metod je zatím přístrojově odděleno a k získání celkového obrazu je tedy nutno kombinovat výsledky, které byly získány za rozdílných podmínek. Také kontrastní látky jsou rozdílné a liší se biodistribucí a farmakokinetikou. Další výrazné zlepšení je možné dosáhnout sdružením jednotlivých přístrojů do jednoho zařízení, které využívá současně dvě nezávislé metody a provádí příslušná měření. Již existují komerční tomografy kombinující PET-CT a SPECT-CT, a jako prototypy již byly předvedeny sdružené přístroje PET-MR, které kombinují vysokou citlivost PET a výborné prostorové rozlišení MR. Velmi perspektivním se jeví i použití kontrastních látek PET-OM, např. pro chirurgickou praxi. Problematické tkáně – např. malé nádory – by mohly být snadno detegovány pomocí PET a následně při chirurgickém zákroku by mohly být zvýrazněny pomocí fluorescence. Kombinace fluorescenční a MR aktivní látky nabízí označení buněčných kultur – např. kmenových buněk nebo buněčných skupení (např. pankreatických ostrůvků). Vstup kontrastní látky do buněk lze potvrdit fluorescenční mikroskopií, a následně sledování osudu buněk po transplantaci do organismu je umožněno metodou MR^{68–75}. Vedle běžných organických fluorescenčních látek je možné použít např. i směs izostrukturálních komplexů lanthanidů ($\text{Eu}^{3+}/\text{Gd}^{3+}$) (cit.^{76,77}).

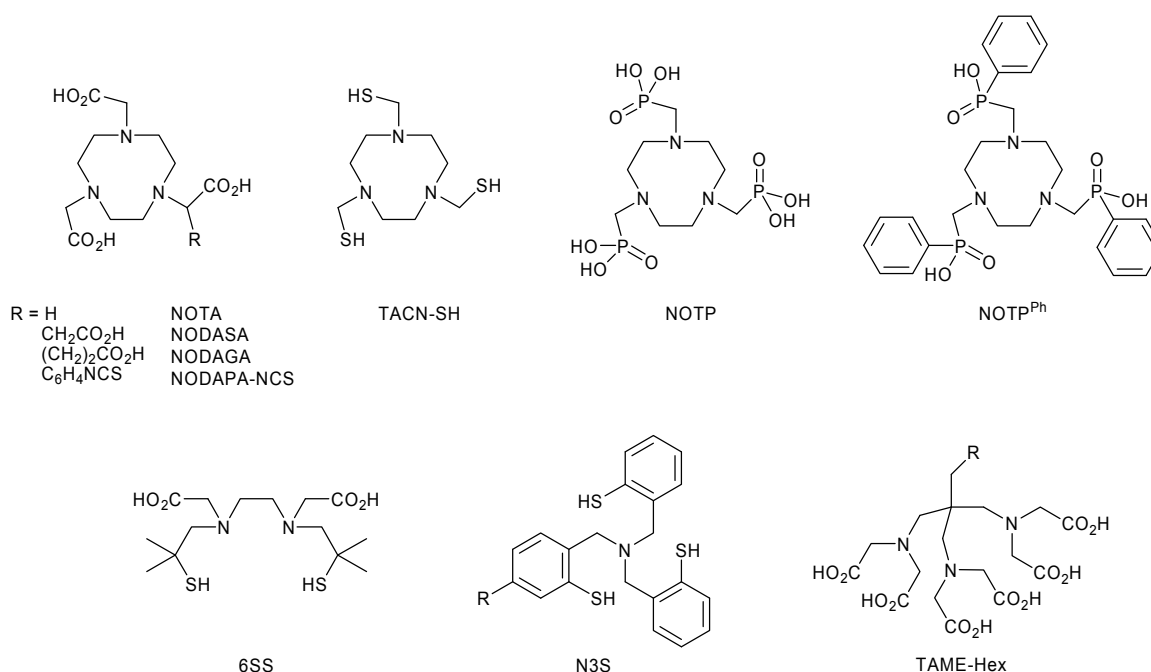
Komplex Gd-DTPA s fluorescenční značkou byl také použit pro značení kmenových buněk^{78,79}. Vzhledem

k lepší stabilitě za podmínek *in vivo* jsou však pro tyto účely spíše využívány makrocyclické ligandy⁸⁰. Z tohoto důvodu byly studovány deriváty Gd-DOTA komplexů s fluorescenční značkou⁸¹, tzv. „kvantové tečky“ (Q-dots) (cit.⁸²) nebo nanočástice zlata⁸³ modifikované komplexem Gd-DOTA, nebo lipidické deriváty rhodaminu⁸⁴ a peptidy označené Gd-DOTA/fluoresceinem^{85–87}. Vedle těchto T_1 -CA byly připraveny, studovány a testovány bimodální kontrastní látky, které obsahovaly T_2 -CA. Např. fluoresceinem označené nanočástice oxidu železa byly použity pro studie pankreatických ostrůvků *in vivo*⁸⁸.

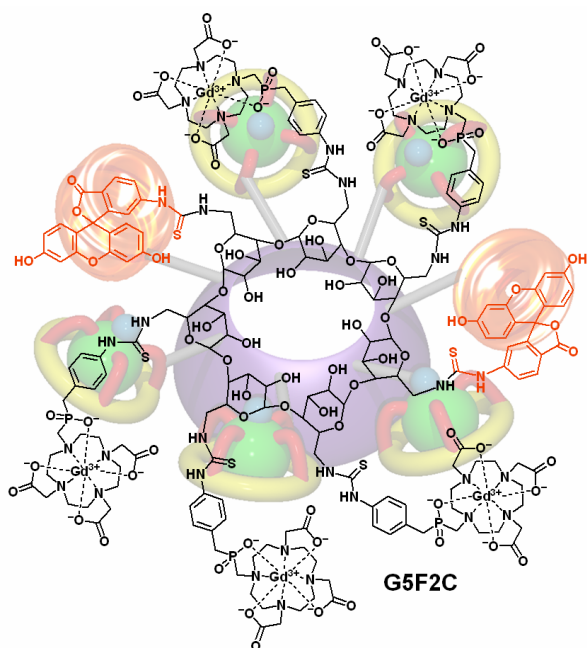
V naší skupině jsme vyšli z komplexu Gd-DO3AP^{ABn} (obr. 9), který byl zakotven na *per*-6-amino-cyklohextrin, a z Gd-BPPA (obr. 9) zakotveného na nanočástice oxidu titaničitého. V prvním případě byl použit fluorescein, který byl statisticky navázán spolu komplexem na cyklohextrin (obr. 11, cit.⁵⁴). V druhém byl použit rhodamin obsahující fosfonovou skupinu, prostřednictvím které byl na nanočástice ukotven⁵⁶. Oba takto připravené materiály vykazují jen velmi nízkou toxicitu a jsou velmi ochotně přijímány buňkami.

5. Cílení (targeting) léčiv

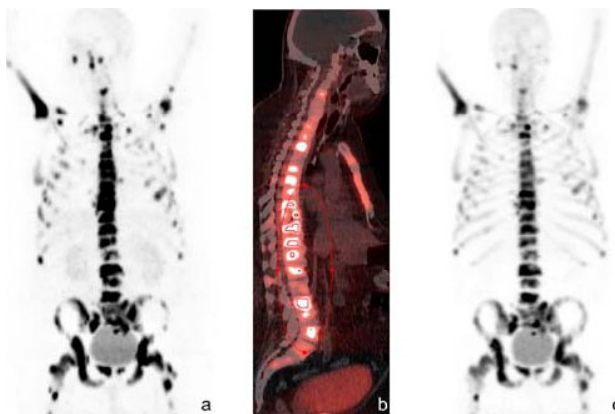
Oblast cílení (targetingu) léčiv nebo různých terapeutických i diagnostických radioizotopů, kontrastních látek a optických sond je v popředí výzkumu farmaceutických firem i akademických pracovišť. V naší skupině jsme se zaměřili na anorganickou targetizující skupinu, na bisfosfonáty. Bisfosfonáty patří mezi organofosforové sloučeniny



Obr. 10. Ligandy používané pro komplexaci radioaktivního gallia



Obr. 11. Schematický vzorec duální kontrastní látky MR-OM

Obr. 12. Srovnání PET obrazů získaných pomocí a) ^{68}Ga -BPAMD a c) fluoridem ^{18}F u pacienta s kostními metastázemi rakoviny prostaty; b) překryv ^{68}Ga -BPAMD PET a CT obrazů. Převzato z cit.⁹⁴

ny a jsou již více než půl století využívány k léčbě kostních chorob. Tato léčiva se pevně váží na hydroxyapatit [fosforečnan-hydroxid vápenatý, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$], který tvoří hlavní anorganickou složku kostní tkáně (50–70 % hmotnosti). Po navázání na povrch kosti pak bisfosfonát ovlivňuje funkci kostních buněk a zpomaluje tak odbourávání kostní tkáně. Proto také dochází k akumulaci bisfosfonátů především tam, kde je aktivita kostních buněk největší – v kostních chrupavkách, místech růstu kostí či oblastech patologických změn⁸⁹. Bylo připraveno několik makrocyclických derivátů nesoucích v postranním řetězci

tuto skupinu (např. BPAMD a DO3AP^{BP} , obr. 9).^{90–93} Ve spolupráci s Erasmus Medical Center v holandském Rotterdamu byl komplex jedné ze studovaných látek (BPAMD, obr. 9) s izotopem ^{177}Lu testován metodou SPECT za podmínek *in vivo*. Výsledky ukázaly velice rychlé navázání látek na kostní tkáň s přednostní lokalizací v chrupavkách a místech růstu kostí⁹¹. V současné době jsou komplexy těchto látek s izotopem ^{68}Ga testovány na Gutenbergově univerzitě v německém Mainzu pro diagnostiku kostních metastáz metodou PET⁹⁴. Díky vysoké aktivitě buněk dochází k přednostní akumulaci radiodiagnostika v metastázách, což umožňuje jejich detailní zobrazení (obr. 12). Ve srovnání s dnes používanými diagnostickými metodami, založenými hlavně na aplikaci izotopu ^{18}F ve formě fluoridových aniontů, je možno získat za použití nově vyvíjených látek snímky s výrazně vyšším kontrastem. To nejen zpřesňuje diagnostiku kostních metastáz, ale dovoluje i použití nižších dávek radioizotopů a tím omezení negativního vlivu záření na zdraví pacientů.

6. Závěr

Z uvedeného přehledu je zřejmý pokrok v uvedené problematice, který vede k látkám s lepšími vlastnostmi a s vyšší účinností. Aplikace v humánní medicíně je však vázána na celou řadu velice drahých preklinických a klinických testů podobně jako při hledání nových léčiv. Z tohoto důvodu je přechod od chemického a fyzikálního výzkumu k reálnému využití poměrně strastiplný a to i u látek, které vykazují mnohem lepší vlastnosti nežli látky dosud používané, a navíc rozhodují pochopitelně ekonomické faktory. Nicméně základní výzkum, který je orientován na nové přístroje a obecné trendy v medicíně, je nezbytný. V současné době již existuje v Evropě několik přístrojů, které v sobě obsahují MR a PET skener. Kombinují tak vysokou citlivost metody PET a výborné rozlišovací schopnosti MR. Jiný příklad je kombinace fluorescenční a PET kontrastní cílené látky. Taková látka pomocí PET zobrazí i velmi malé nádory a při jejich chirurgickém odstranění na ně upozorňuje svou výraznou fluorescencí. Uvedené postupy byly většinou prezentovány na zvířecích modelech, ale již byly zveřejněny i první pokusy v humánní medicíně.

Velký výzkumný potenciál je zaměřen na cílené (tzv. targetizující) CA a také na CA, které mění svoji účinnost v závislosti na fyzikálních nebo chemických změnách. Příklad těch cílených CA, zaměřených na kostní tkáň, byl ukázán výše. Velké úsilí je zaměřeno na cílené nádorové CA, které často obsahují oligopeptidy, např. octreotid. Velmi žádané jsou CA, které by reagovaly na apoptické buňky. To by umožnilo sledovat úspěšnost léčby, popř. na základě získaných výsledků lépe dávkovat chemoterapeutika. Ale i CA zacílená na zánětlivá ložiska by přispěla k úspěšné léčbě řady onemocnění. Žádané jsou CA, které reagují na změny fyzikálních veličin, jako je např. teplota, nebo změny chemické, např. pH, koncentrace iontů atp. Tato oblast je velmi perspektivní pro design nových ligan-

dů a jejich komplexů.

I když na konci tohoto výzkumu jsou nové diagnostické metody pro klinickou aplikaci, které dále zlepšují informovanost lékařů, na jejím začátku je základní multidisciplinární výzkum, a ten chemický se na tom významně podílí.

LITERATURA

1. Merbach A. E., Tóth É. (ed.): *The Chemistry of Contrast Agents in Medical Magnetic Resonance Imaging*. John Wiley & Sons, Chichester 2001.
2. Jun Y., Lee J., Cheon J., v knize: *Nanobiotechnology II* (Mirkin C. A., Niemeyer C. M., ed.), str. 321-346. Wiley-VCH, Weinheim 2007.
3. Krause W. (ed.): *Contrast Agents I. Magnetic Resonance Imaging*. Topics Curr. Chem. 221. Springer Verlag, Heidelberg 2002.
4. Aime S., Botta M., Terreno E., v knize: *Advances in Inorganic Chemistry, Volume 57* (van Eldik R., Bertini I., ed.), str. 173-237. Elsevier, San Diego 2005.
5. Lauffer R. B.: Chem. Rev. 87, 901 (1987).
6. Peters J. A., Huskens J., Raber D. J.: Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc. 28, 283 (1996).
7. Aime S., Botta M., Fasano M., Terreno E.: Chem. Soc. Rev. 27, 19 (1998).
8. Caravan P., Ellison J. J., McMurry T. J., Lauffer R. B.: Chem. Rev. 99, 2293 (1999).
9. Aime S., Botta M., Fasano M., Geninatti Crich S., Terreno E.: Coord. Chem. Rev. 185, 321 (1999).
10. Aime S., Geninatti Crich S., Gianolio E., Giovenzana G. B., Tei L., Terreno E.: Coord. Chem. Rev. 250, 1562 (2006).
11. Caravan P.: Chem. Soc. Rev. 35, 512 (2006).
12. Bottrill M., Kwok L., Long N. J.: Chem. Soc. Rev. 35, 557 (2006).
13. Chan K. W., Wong W.: Coord. Chem. Rev. 251, 2428 (2007).
14. Hermann P., Kotek J., Kubiček V., Lukeš I.: Dalton Trans. 2008, 3027.
15. Helm L.: Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc. 49, 45 (2006).
16. Lukeš I., Kotek J., Vojtišek P., Hermann P.: Coord. Chem. Rev. 216-217, 287 (2001).
17. Delgado R., Félix V., Lima L. M., Price D. W.: Dalton Trans. 2007, 2734.
18. Bianchi A., Calabi L., Corana F., Fontana S., Losi P., Maiocchi A., Paleari L., Valtancoli B.: Coord. Chem. Rev. 204, 309 (2000).
19. Brücher E.: Topics Curr. Chem. 221, 103 (2002).
20. Anderegg G., Arnaud-Neu F., Delgado R., Felcman J., Popov K.: Pure Appl. Chem. 77, 1445 (2005).
21. Aime S., Botta M., Fasano M., Terreno E.: Acc. Chem. Res. 32, 941 (1999).
22. Botta M.: Eur. J. Inorg. Chem. 2000, 399.
23. Zazyev O. V., Helm L.: Eur. J. Inorg. Chem. 2008, 201.
24. Lowe M. P.: Aust. J. Chem. 55, 551 (2002).
25. Aime S., Cabella C., Colombatto S., Geninatti Crich S., Gianolio E., Maggioni F.: J. Magn. Reson. Imaging 16, 394 (2002).
26. Woods M., Kovács Z., Sherry A. D.: J. Supramol. Chem. 2, 1 (2002).
27. Lowe M. P.: Curr. Pharm. Biotechnol. 5, 519 (2004).
28. Kobayashi H., Brechbiel M. W.: Curr. Pharm. Biotechnol. 5, 539 (2004).
29. Venditto V. J., Regino C. A., Brechbiel M. W.: Mol. Pharmaceutics 2, 302 (2005).
30. Langereis S., Dirksen A., Hackeng T. M., van Genderen M. H., Meijer E. W.: New J. Chem. 31, 1152 (2007).
31. Frullano L., Meade T. J.: J. Biol. Inorg. Chem. 12, 939 (2007).
32. Terreno E., Botta M., Fedeli F., Mondino B., Milone L., Aime S.: Inorg. Chem. 42, 4891 (2003).
33. Terreno E., Botta M., Boniforte B., Bracco C., Milone L., Mondino B., Uggeri F., Aime S.: Chem. Eur. J. 11, 5531 (2005).
34. Aime S., Calabi L., Cavallotti C., Gianolio E., Giovenzana G. B., Losi P., Maiocchi A., Palmisano G., Sisti M.: Inorg. Chem. 43, 7588 (2004).
35. Raymond K. N., Pierre V. C.: Bioconjugate Chem. 16, 3 (2005).
36. Seitz M., Pluth M. D., Raymond K. N.: Inorg. Chem. 46, 351 (2007).
37. Kotek J., Lebdušková P., Hermann P., Vander Elst L., Muller R. N., Geraldès C. F. G. C., Maschmeyer T., Lukeš I., Peters J. A.: Chem. Eur. J. 9, 5899 (2003).
38. Rudovský J., Kotek J., Hermann P., Lukeš I., Mainero V., Aime S.: Org. Biomol. Chem. 3, 112 (2005).
39. Rudovský J., Cígler P., Kotek J., Hermann P., Vojtišek P., Lukeš I., Peters J. A., Vander Elst L., Muller R. N.: Chem. Eur. J. 11, 2373 (2005).
40. Rudovský J., Botta M., Hermann P., Koridze A., Aime S.: Dalton Trans. 2006, 2323.
41. Lebdušková P., Hermann P., Helm L., Tóth É., Kotek J., Binnemans K., Rudovský J., Lukeš I., Merbach A. E.: Dalton Trans. 2007, 493.
42. Vojtišek P., Cígler P., Kotek J., Rudovský J., Hermann P., Lukeš I.: Inorg. Chem. 44, 5591 (2005).
43. Kotek J., Rudovský J., Hermann P., Lukeš I.: Inorg. Chem. 45, 3097 (2006).
44. Polášek M., Šedinová M., Kotek J., Vander Elst L., Muller R. N., Hermann P., Lukeš I.: Inorg. Chem. 48, 455 (2009).
45. Polášek M., Kotek J., Hermann P., Císařová I., Binnemans K., Lukeš I.: Inorg. Chem. 48, 466 (2009).
46. Försterová M., Svobodová I., Lubal P., Táborský P., Kotek J., Hermann P., Lukeš I.: Dalton Trans. 2007, 535.
47. Kotek J., Kálmán F. K., Hermann P., Brücher E., Binnemans K., Lukeš I.: Eur. J. Inorg. Chem. 2006, 1976.
48. Lebdušková P., Kotek J., Hermann P., Vander Elst L., Muller R. N., Lukeš I., Peters J. A.: Bioconjugate Chem. 15, 881 (2004).
49. Rudovský J., Hermann P., Botta M., Aime S., Lukeš

- I.: Chem. Commun. 2005, 2390.
50. Lebdušková P., Sour A., Helm L., Tóth É., Kotek J., Lukeš I., Merbach A. E.: Dalton Trans. 2006, 3399.
 51. Rudovský J., Botta M., Hermann P., Hardcastle K. I., Lukeš I., Aime S.: Bioconjugate Chem. 17, 975 (2006).
 52. Polášek M., Hermann P., Peters J. A., Gerald C. F. G. C., Lukeš I.: Bioconjugate Chem. 20, 2142 (2009).
 53. Schühle D. T., Polášek M., Lukeš I., Chauvin T., Tóth É., Schatz J., Hanefeld U., Stuart M. C., Peters J. A.: Dalton Trans. 2010, 185.
 54. Kotková Z., Kotek J., Jiráček D., Jendelová P., Herynek V., Berková Z., Hermann P., Lukeš I.: Chem. Eur. J. 16, 10094 (2010).
 55. Řehoř I., Kubiček V., Kotek J., Hermann P., Lukeš I., Száková J., Vander Elst L., Muller R. N., Peters J. A.: J. Mater. Chem. 19, 1494 (2009).
 56. Řehoř I., Kubiček V., Kotek J., Hermann P., Száková J., Lukeš I.: Eur. J. Inorg. Chem., zasláno.
 57. Fani M., André J. P., Mäcke H. R.: Contrast Media Mol. Imaging 3, 67 (2008).
 58. Hancock R. D., Martell A. E.: Supramol. Chem. 6, 401 (1996).
 59. Sun Y., Anderson C. J., Pajean T. S., Reichert D. E., Hancock R. D., Motekaitis R. J., Martell A. E., Welch M. J.: J. Med. Chem. 39, 458 (1996).
 60. Notni J., Pohle K., Peters J. A., Görls H., Platas-Iglesias C.: Inorg. Chem. 48, 3257 (2009).
 61. Breeman W. A., de Jong M., de Blois E., Bernard B. F., Konijnenberg M., Krenning E. P.: Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging 32, 478 (2005).
 62. André J. P., Mäcke H. R., Zehnder M., Macko L., Akyel K. G.: Chem. Commun. 1998, 1301.
 63. Eisenwiener K., Prata M. I., Buschmann I., Zhang H., Santos A. C., Wenger S., Reubi J. C., Mäcke H. R.: Bioconjugate Chem. 13, 530 (2002).
 64. Riss P. J., Kroll C., Nagel V., Rösch F.: Bioorg. Med. Chem. 18, 5364 (2008).
 65. Broan C. J., Cole E., Jankowski K. J., Parker D., Pulkody K., Boyce B. A., Beeley N. R., Millar K., Millican A. T.: Synthesis 1992, 63.
 66. Heppeler A., Froidevaux S., Mäcke H. R., Jermann E., Béhé M., Powell P., Hennig M.: Chem. Eur. J. 5, 1974 (1999).
 67. Notni J., Hermann P., Havlíčková J., Kotek J., Kubiček V., Plutnar J., Loktionova N., Riss P. J., Rösch F., Lukeš I.: Chem. Eur. J. 16, 7174 (2010).
 68. Aime S., Barge A., Cabella C., Geninatti Crich S., Gianolio E.: Curr. Pharm. Biotechnol. 5, 509 (2004).
 69. Aime S., Geninatti Crich S., Gianolio E., Giovenzana G. B., Tei L., Terreno E.: Coord. Chem. Rev. 250, 1562 (2006).
 70. Long C. M., Bulte J. W. M.: Expert Opin. Biol. Ther. 9, 293 (2009).
 71. Liu W., Frank J. A.: Eur. J. Radiol. 70, 258 (2009).
 72. Frullano L., Meade T. J.: J. Biol. Inorg. Chem. 12, 939 (2007).
 73. Corr S. A., Rakovich Y. P., Gun'ko Y. K.: Nanoscale Res. Lett. 3, 87 (2008).
 74. Kim J., Piao Y., Hyeon T.: Chem. Soc. Rev. 38, 372 (2009).
 75. Lee S., Chen X.: Mol. Imaging 8, 87 (2009).
 76. Allen M. J., Meade T. J.: J. Biol. Inorg. Chem. 8, 746 (2003).
 77. Geninatti Crich S., Biancone L., Cantaluppi V., Duò D., Esposito G., Russo S., Camussi G., Aime S.: Magn. Reson. Med. 51, 938 (2004).
 78. Brekke C., Morgan S. C., Lowe A. S., Meade T. J., Price J., Williams S. C., Modo M.: NMR Biomed. 20, 77 (2007).
 79. Jun S., Xiao-Mei Z., Xiao-Hui D., Li-Na C., Guo-Bing H., Xiao-Bing B., Yu L.: Acad. Radiol. 16, 1142 (2009).
 80. Cabella C., Geninatti Crich S., Corpillo D., Barge A., Ghirelli C., Bruno E., Lorusso V., Uggeri F., Aime S.: Contrast Media Mol. Imaging 1, 23 (2006).
 81. Mishra A., Pfeuffer J., Mishra R., Engelmann J., Mishra A. K., Ugurbil K., Logothetis N. K.: Bioconjugate Chem. 17, 773 (2006).
 82. Jin T., Yoshioka Y., Fujii F., Komai Y., Seki J., Seiyama A.: Chem. Commun. 2008, 5764.
 83. Song Y., Xu X., MacRenaris K. W., Zhang X., Mirkin C. A., Meade T. J.: Angew. Chem., Int. Ed. Engl. 48, 9143 (2009).
 84. Kamaly N., Kalber T., Kenny G., Bell J., Jorgensen M., Miller A.: Org. Biomol. Chem. 8, 201 (2010).
 85. Su W., Mishra R., Pfeuffer J., Wiesmu K., Ugurbil K., Engelmann J.: Contrast Media Mol. Imaging 2, 42 (2007).
 86. Sturzu A., Regenbogen M., Klose U., Echner H., Gharabaghi A., Heckl S.: Eur. J. Pharm. Sci. 33, 207 (2008).
 87. Sturzu A., Klose U., Echner H., Beck A., Gharabaghi A., Kalbacher H., Heckl S.: Amino Acids 37, 249 (2009).
 88. Evgenov N. V., Medarova Z., Dai G., Bonner-Weir S., Moore A.: Nature Med. 12, 144 (2006).
 89. Kubiček V., Lukeš I.: Future Med. Chem. 2, 521 (2010).
 90. Kubiček V., Rudovský J., Kotek J., Hermann P., Vander Elst L., Muller R. N., Kolar Z. I., Wolterbeek H. T., Peters J. A., Lukeš I.: J. Am. Chem. Soc. 127, 16477 (2005).
 91. Vitha T., Kubiček V., Hermann P., Vander Elst L., Muller R. N., Kolar Z. I., Wolterbeek H. T., Breeman W. A., Lukeš I., Peters J. A.: J. Med. Chem. 51, 677 (2008).
 92. Vitha T., Kubiček V., Hermann P., Kolar Z. I., Wolterbeek H. T., Peters J. A., Lukeš I.: Langmuir 24, 1952 (2008).
 93. Vitha T., Kubiček V., Kotek J., Hermann P., Vander Elst L., Muller R. N., Lukeš I., Peters J. A.: Dalton Trans. 2009, 3204.
 94. Fellner M., Baum R. P., Kubiček V., Hermann P., Lukeš I., Prasad V., Rösch F.: Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging 37, 834 (2010).

J. Kotek and I. Lukeš (*Department of Inorganic Chemistry, Faculty of Science, Charles University, Prague*): **Chelates for Biomedical Use**

Magnetic resonance imaging (MRI) and positron emission tomography (PET) have gained a great importance in the last thirty years in medicinal diagnostics as imaging techniques with a superior spatial resolution and contrast. MRI has assumed a critical role in medicinal diagnosis and applications of contrast agents (CAs),

mostly based on Gd(III) complexes. For this purpose, specific CAs have been developed, changing relaxivity after cleavage of some bonds sensitive to the presence of specific ions or metabolites. For PET applications, a new isotope $^{68}\text{Ga(III)}$ has been proposed. In view of utilization of toxic ions, the crucial condition for their applications in vivo is their complexation in stable species. In this review, the ligand types and structures of their complexes as well as their physicochemical parameters are discussed.