



**MAKROCIKLUSOS ACETIL-GLICINÁT-SZÁRMAZÉK  
LIGANDUMOK KOMPLEXKÉPZŐ SAJÁTSÁGAI ÉS  
LANTANOIDA(III)KOMPLEXEIK KINETIKAI  
VISELKEDÉSE**

doktori (PhD) értekezés

**Baranyai Zsolt**

Témavezető: Dr. Brücher Ernő

Debreceni Egyetem  
Debrecen, 2007.

## TARTALOMJEGYZÉK

I. BEVEZETÉS.....	1
II. IRODALMI ÁTTEKINTÉS.....	6
II.1. A lantanoida(III)komplexek tulajdonságai.....	6
II.2. NMR tomográfias kontrasztanyagok.....	13
II.2.1. T <sub>1</sub> kontrasztanyagok.....	15
II.2.2. T <sub>2</sub> kontrasztanyagok.....	16
II.2.3. Nitroxid szabadgyökök.....	17
II.2.4. CEST kontrasztanyagok.....	18
II.2.5. A Gd(III)-komplexek relaxivitása.....	28
II.2.6. A kontrasztanyag fejlesztés új irányai.....	30
II.3. A glicin és oligopeptidjei komplexképző tulajdonságai.....	33
II.3.1. A glicin és oligopeptidjeinek egyensúlyi tulajdonságai.....	33
II.3.2. A glicin és oligopeptidjeinek átmenetifém-komplexei.....	35
II.3.3. Aminosavak és peptidek Ln(III)-komplexei.....	37
III. ALKALMAZOTT VIZSGÁLATI MÓDSZEREK.....	39
III.1. A NOTA-Gly, DOTAM, DOTA-Gly és ODDA-Gly komplexek egyensúlyi vizsgálata.....	39
III.2. A Ln(DOTAM) <sup>3+</sup> és Ln(DOTA-Gly) <sup>-</sup> komplexek kinetikai vizsgálatai.....	41
III.3. A NOTA-Gly, DOTAM, DOTA-Gly és ODDA-Gly komplexek szerkezeti vizsgálata.....	43

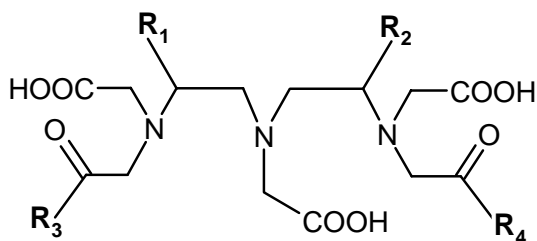
IV. EREDMÉNYEK.....	44
IV.1 A NOTA-Gly ligandum komplexképző sajátságai.....	44
IV.1.1. A NOTA-Gly ligandum egyensúlyi vizsgálata.....	44
IV.1.2. A Zn(NOTA-Gly) <sup>-</sup> komplex <sup>1</sup> H-NMR spektroszkópiás vizsgálata.....	54
IV.1.3. A Cu(HNOTA-Gly) komplex röntgendiffrakciós szerkezetvizsgálata.....	56
IV.2. A DOTA-Gly és DOTAM ligandumok egyensúlyi és Ln(III)-komplexeik kinetikai sajátságai.....	59
IV.2.1. A DOTA-Gly ligandum egyensúlyi vizsgálata.....	59
IV.2.2. A DOTA-Gly ligandum és La(III)-komplexének <sup>1</sup> H-NMR spektroszkópiás vizsgálata.....	70
IV.2.3. A Gd(DOTA-Gly) <sup>-</sup> komplex relaxivitásának vizsgálata.....	76
IV.2.4. A Ln(DOTA-Gly) <sup>-</sup> komplex képződésének kinetikai vizsgálata	80
IV.2.5. Az Eu(DOTA-Gly) <sup>-</sup> komplex disszociációjának kinetikai vizsgálata.....	87
IV.2.6. Az Ln(DOTAM) <sup>3+</sup> komplex képződésének kinetikai vizsgálata	91
IV.3. Az ODDA-bisz(acetil-glicin) ligandum komplexképző sajátságai.....	104
IV.3.1. Az ODDA-bisz(acetil-glicin) ligandum egyensúlyi vizsgálata...	105
V. KÍSÉRLETI RÉSZ.....	125
V.1. A vizsgált ligandumok előállítás és koncentrációjuk meghatározása	125
V.2. A vizsgálatok során felhasznált törzsoldatok elkészítése és koncentrációjuk meghatározása.....	126

V.3. A NOTA-Gly, a DOTA-Gly és az ODDA-Gly ligandumok és fémkomplexeik pH-potenciometriás vizsgálata.....	126
V.4. A NOTA-Gly, az ODDA-Gly és DOTA-Gly ligandumok $\text{Cu}^{2+}$ - komplexeinek, valamint a $\text{Ce}(\text{DOTA-Gly})^-$ és a $\text{Ce}(\text{DOTAM})^{3+}$ komplexek UV-látható spektrofotometriás vizsgálata.....	129
V.5. A $\text{Gd}(\text{DOTA-Gly})^-$ komplex relaxitását mérése.....	130
V.6. A $\text{Ln}(\text{DOTA-Gly})^-$ és $\text{Ln}(\text{DOTAM})^{3+}$ komplexek képződésének, valamint az $\text{Eu}(\text{DOTA-Gly})^-$ komplex disszociációjának kinetikai vizsgálata.....	131
V.7. A NOTA-Gly, DOTA-Gly, DOTAM és ODDA-Gly ligandumok és fémkomplexeik $^1\text{H-NMR}$ spektroszkópiás vizsgálata.....	133
V.8. A $\text{Cu}(\text{HNOTA-Gly})$ komplex röntgendiffrakciós szerkezetvizsgálata	133
VI. ÖSSZEFOGLALÁS.....	135
VII. SUMMARY.....	139
VIII. SOMMARIO.....	143
IX. IRODALMAK.....	147

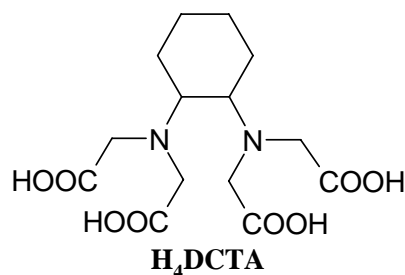
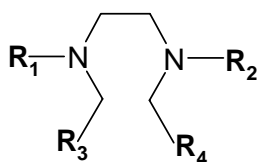


A LIGANDUMOK SZERKEZETI KÉPLETE ÉS SZOKÁSOS RÖVIDÍTÉSÜK

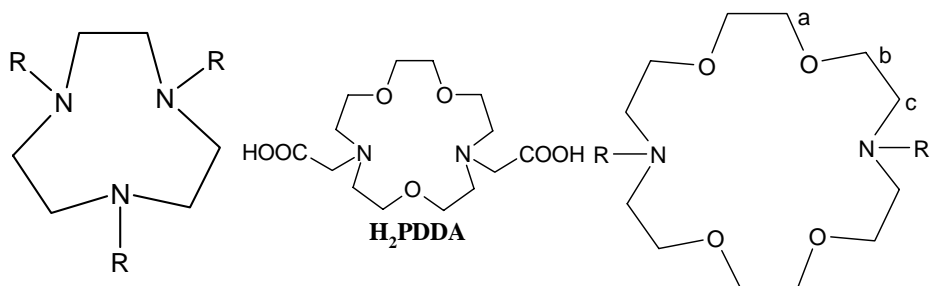
Az értekezésben előforduló ligandumok szerkezeti képletei:

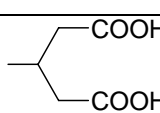


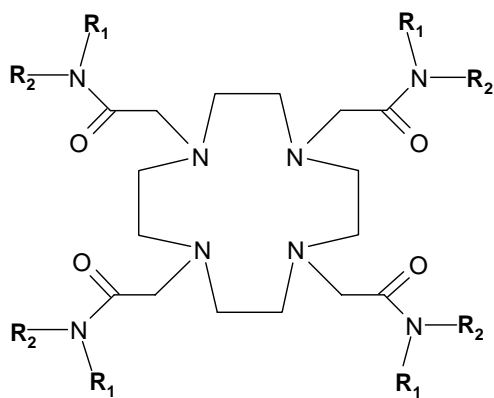
<b>R<sub>1</sub></b>	<b>R<sub>2</sub></b>	<b>R<sub>3</sub></b>	<b>R<sub>4</sub></b>	<b>Ligandum</b>
-H	-H	-OH	-OH	<b>H<sub>5</sub>DTPA</b>
-H	-H	-NH-Me	-NH-Me	<b>H<sub>3</sub>DTPA-BMA</b>
-H	-H	-NH-Et-O-Me	-NH-Et-O-Me	<b>H<sub>3</sub>DTPA-BMEA</b>
-H		-OH	-OH	<b>H<sub>5</sub>BOPTA</b>
	-H	-OH	-OH	<b>H<sub>5</sub>EOB-DTPA</b>



<b>R<sub>1</sub></b>	<b>R<sub>2</sub></b>	<b>R<sub>3</sub></b>	<b>R<sub>4</sub></b>	<b>Ligandum</b>
-CH <sub>2</sub> -COOH	-CH <sub>2</sub> -COOH	-COOH	-COOH	<b>H<sub>4</sub>EDTA</b>
-CH <sub>2</sub> -COOH	-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -OH	-COOH	-COOH	<b>H<sub>3</sub>(HEDTA)</b>
-H	-H	-COOH	-COOH	<b>H<sub>2</sub>EDDA</b>

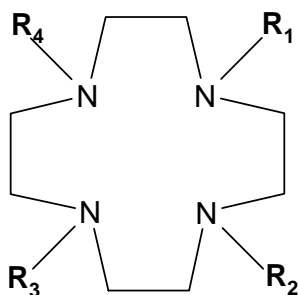


Ligandum	R	R	Ligandum
H <sub>3</sub> NOTA	-CH <sub>2</sub> -COOH	-CH <sub>2</sub> -COOH	H <sub>2</sub> ODDA
H <sub>3</sub> NOTA-Gly	-CH <sub>2</sub> -CO-NH-CH <sub>2</sub> -COOH	d -CH <sub>2</sub> -CO-NH-CH <sub>2</sub> -COOH	e H <sub>2</sub> ODDA-Gly
			H <sub>4</sub> ODDM



R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	Ligandum
-H	-H	DOTAM
-H	-Me	DTMA
-Me	-Me	DOTTA

A LIGANDUMOK SZERKEZETI KÉPLETE ÉS SZOKÁSOS RÖVIDÍTÉSÜK



R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	Ligandum
-CH <sub>2</sub> -COOH	-CH <sub>2</sub> -COOH	-CH <sub>2</sub> -COOH	-CH <sub>2</sub> -COOH	<b>H<sub>4</sub>DOTA</b>
	-CH <sub>2</sub> -COOH	-CH <sub>2</sub> -COOH	-CH <sub>2</sub> -COOH	<b>H<sub>3</sub>HP-DO3A</b>
	-CH <sub>2</sub> -COOH	-CH <sub>2</sub> -COOH	-CH <sub>2</sub> -COOH	<b>H<sub>3</sub>DO3A-B</b>
-CH <sub>2</sub> -PO <sub>3</sub> H <sub>2</sub>	-CH <sub>2</sub> -PO <sub>3</sub> H <sub>2</sub>	-CH <sub>2</sub> -PO <sub>3</sub> H <sub>2</sub>	-CH <sub>2</sub> -PO <sub>3</sub> H <sub>2</sub>	<b>H<sub>8</sub>DOTP</b>
-CH <sub>2</sub> -CONH- CH <sub>2</sub> -PO <sub>3</sub> H <sub>2</sub>	-CH <sub>2</sub> -COOH	-CH <sub>2</sub> -COOH	-CH <sub>2</sub> -COOH	<b>H<sub>5</sub>DOTA-1AmP</b>
-CH <sub>2</sub> -CONH- CH <sub>2</sub> -PO <sub>3</sub> H <sub>2</sub>	-CH <sub>2</sub> -COOH	-CH <sub>2</sub> -CONH- CH <sub>2</sub> -PO <sub>3</sub> H <sub>2</sub>	-CH <sub>2</sub> -COOH	<b>H<sub>6</sub>DOTA-2AmP</b>
-CH <sub>2</sub> -CONH- CH <sub>2</sub> -PO <sub>3</sub> H <sub>2</sub>	-CH <sub>2</sub> -CONH- CH <sub>2</sub> -PO <sub>3</sub> H <sub>2</sub>	-CH <sub>2</sub> -CONH- CH <sub>2</sub> -PO <sub>3</sub> H <sub>2</sub>	-CH <sub>2</sub> -CONH- CH <sub>2</sub> -PO <sub>3</sub> H <sub>2</sub>	<b>H<sub>8</sub>DOTA-4AmP</b>
-CH <sub>2</sub> -CONH- CH <sub>2</sub> -COOH	-CH <sub>2</sub> -CONH- CH <sub>2</sub> -COOH	-CH <sub>2</sub> -CONH- CH <sub>2</sub> -COOH	-CH <sub>2</sub> -CONH- CH <sub>2</sub> -COOH	<b>H<sub>4</sub>DOTA-Gly</b>
-CH <sub>2</sub> -CONH- CH <sub>2</sub> -COOEt	-CH <sub>2</sub> -CONH- CH <sub>2</sub> -COOEt	-CH <sub>2</sub> -CONH- CH <sub>2</sub> -COOEt	-CH <sub>2</sub> -CONH- CH <sub>2</sub> -COOEt	<b>DOTA-Gly-Et</b>
-CH <sub>2</sub> -CONH- CH <sub>2</sub> -PO <sub>3</sub> (Et) <sub>2</sub>	-CH <sub>2</sub> -CONH- CH <sub>2</sub> -PO <sub>3</sub> (Et) <sub>2</sub>	-CH <sub>2</sub> -CONH- CH <sub>2</sub> -PO <sub>3</sub> (Et) <sub>2</sub>	-CH <sub>2</sub> -CONH- CH <sub>2</sub> -PO <sub>3</sub> (Et) <sub>2</sub>	<b>DOTA-4AmP-Et</b>

**A fontosabb ligandumok elterjedt, nem szabályos elnevezése:**

<b>H<sub>5</sub>DTPA:</b>	dietiléntriamin-N,N,N',N'',N'''-pentaecetsav
<b>H<sub>3</sub>DTPA-BMA:</b>	dietiléntriamin- N,N,N',N'',N'''-pentaecetsav-N,N'- bisz(metilamid)
<b>H<sub>3</sub>DTPA-BMEA:</b>	dietiléntriamin- N,N,N',N'',N'''-pentaecetsav-N,N'- bisz(metoxi-etilamid)
<b>H<sub>5</sub>BOPTA:</b>	2-(benziloximetil)-dietiléntriamin- N,N,N',N'',N'''- pentaecetsav
<b>H<sub>5</sub>EOB-DTPA:</b>	4-([4'-etoxi]-benzil)-dietiléntriamin- N,N,N',N'',N'''- pentaecetsav
<b>H<sub>4</sub>EDTA:</b>	etiléndiamin- N,N,N',N''-tetraecetsav
<b>H<sub>3</sub>(HEDTA):</b>	N'-(hidroxietil)-etiléndiamin-N,N,N'-triecetsav
<b>H<sub>2</sub>EDDA:</b>	etiléndiamin-N-N''-diecetsav
<b>H<sub>3</sub>NOTA:</b>	1,4,7-triazaciklononán-1,4,7-triecetsav
<b>H<sub>3</sub>NOTA-Gly:</b>	1,4,7-triazaciklononán-1,4,7-trisz(acetil-glicin)
<b>H<sub>2</sub>PDDA:</b>	1,4,10-trioxa-7,13-diazaciklopentadekán-7,13-diecetsav
<b>H<sub>2</sub>ODDA:</b>	1,4,10,13-tetraoxa-7,16-diazaciklooktadekán-7,16- diecetsav
<b>H<sub>2</sub>ODDA-Gly:</b>	1,4,10,13-tetraoxa-7,16-diazaciklooktadekán-7,16- bisz(acetil-glicin)
<b>H<sub>4</sub>ODDM:</b>	1,4,10,13-tetraoxa-7,16-diazaciklooktadekán-7,16- bisz(malonsav)
<b>H<sub>4</sub>DOTA:</b>	1,4,7,10-tetraazaciklododekán-1,4,7,10-tetraecetsav
<b>H<sub>3</sub>HP-DO3A:</b>	10-(2'-hidroxipropil)-1,4,7,10- tetraazaciklododekán-1,4,7- triecetsav
<b>H<sub>3</sub>DO3A-B:</b>	10-(2',3'-dihidroxi-[1'-hidroximetil]propil)- 1,4,7,10- tetraazaciklododekán-1,4,7-triecetsav

## A LIGANDUMOK SZERKEZETI KÉPLETE ÉS SZOKÁSOS RÖVIDÍTÉSÜK

---

<b>H<sub>8</sub>DOTP:</b>	1,4,7,10- tetraazaciklododekán-1,4,7,10-tetrakis(metilénfoszfonsav)
<b>H<sub>4</sub>DOTA-Gly:</b>	1,4,7,10- tetraazaciklododekán-1,4,7,10-tetrakis(acetilglicin)
<b>DOTA-Gly-Et:</b>	1,4,7,10- tetraazaciklododekán-1,4,7,10-tetrakis(acetilglicin-etilészter)
<b>DOTAM:</b>	1,4,7,10- tetraazaciklododekán-1,4,7,10-tetraacetamid
<b>DTMA:</b>	1,4,7,10- tetraazaciklododekán-1,4,7,10-tetrametilacetamid
<b>DOTTA:</b>	1,4,7,10- tetraazaciklododekán-1,4,7,10-tetra[bisz(metil)acetamid]



## I. BEVEZETÉS

A periódusos rendszer lantánt követő 14 elemét a lantánhoz való nagymértékű hasonlósága miatt lantanoid elemeknek nevezik. Az irodalomban elterjedt és elfogadott lantanoida elnevezést a lantántól a lutéciumig terjedő elemekre használják, az ittriummal és a szkandiummal együtt ritkaföldfémeknek nevezik őket.

A Manhattan-project keretén belül az 1940-es évek elején kezdték el a ritkaföldfémek részletes koordinációs kémiai vizsgálatait, melynek során a nagy kémiai hasonlóságot mutató fémionok egymástól történő elválasztására dolgoztak ki eljárást. A ma alkalmazott ipari méretekben történő elválasztásuk alapjául a II. világháború alatt és után kidolgozott technológia szolgál, amely oldószer extrakcióval történik és esetleges további tisztításukra ioncserés kromatográfiát alkalmaznak<sup>1</sup>.

A hetvenes évek közepe óta a Ln<sup>3+</sup>-ionok koordinációs kémiai vizsgálatainak középpontjában a biológiai vizsgálatokban, orvosi diagnosztikában és terápiában történő alkalmazásuk áll. Ca-tartalmú fehérjék, enzimek Ca<sup>2+</sup> kötő helyének felderítéséhez alkalmaznak Ln<sup>3+</sup>-ionokat EPR (Gd<sup>3+</sup>) és lumineszcenciás (Eu<sup>3+</sup>, Tb<sup>3+</sup>) vizsgálatokban<sup>2,3,4</sup>, melyekben a spektroszkópiailag „láthatatlan” Ca<sup>2+</sup>-iont helyettesítik a hasonló ionméretű és koordinációs kémiai tulajdonságú Ln<sup>3+</sup>-ionokkal<sup>5</sup>. A Ln<sup>3+</sup>-ionok ESR és lumineszcenciás spektrumainak szerkezete jelentősen függ a Ln<sup>3+</sup>-ionok környezetétől, ami alapján következtetni lehet a koordinálódó donoratomokra és a molekula szerkezetére. Ezek mellett további biológiai felhasználást jelent a Ln<sup>3+</sup>-ionok számára NMR-shift és -relaxációs reagensként történő felhasználásuk makromolekulák konformációjának meghatározásában<sup>2,6,7</sup>.

Napjainkban a Ln<sup>3+</sup>-ionok kelátképző ligandumokkal alkotott komplexek legfőbb kutatási területét az orvosi vizsgálatokban történő „*in vivo*” alkalmazásuk képezi<sup>2,8</sup>. A mágneses rezonanciás képalkotás (**M**agnetic **R**esonance **I**maging, MRI) az egyik leghatékonyabb orvos-diagnosztikai módszer, melyben

relaxációsebességet növelő reagensként Gd(III)-poliamino-polikarboxilát komplexeket alkalmaznak a kép élességét fokozó ún. kontrasztanyagként<sup>2,3,7-9</sup>. A Ln(III)-komplexek másik, intenzíven fejlődő alkalmazási területe a fluoreszcenciás immunanalízis. A vizsgálatok során jelzőként  $\text{Eu}^{3+}$ ,  $\text{Tb}^{3+}$ ,  $\text{Sm}^{3+}$  (ritkábban  $\text{Dy}^{3+}$  és  $\text{Nd}^{3+}$ ) komplexeket kötnek a monoklonáris antitestekhez, mellyel rendkívül nagy szelektivitással és érzékenységgel tudnak meghatározni és kimutatni antigéneket és diagnosztikai szempontból érdekes molekulákat<sup>10</sup>.

A Ln(III)-komplexek diagnosztikai alkalmazása mellett vizsgálatok folynak rákos daganatok terápiás kezelésében történő felhasználásukra. A radioaktív sugárzás közvetlenül a daganatos sejtekre fejtheti ki roncsoló hatását, ha a megfelelően kiválasztott monoklonáris antitesthez kötve  $^{90}\text{Y}$  vagy  $^{177}\text{Lu}$  (kemény  $\beta$ -sugárzók és az  $^{90}\text{Y}$  nem bocsát ki áthatoló  $\gamma$ -sugárzást) poliamino-polikarboxilát komplexét alkalmazzák (pl.  $^{90}\text{Y}(\text{DOTA})$ )<sup>11</sup>.

A radiofarmakonok kutatási területén is egyre inkább előtérbe kerül a Ln(III)-komplexek vizsgálata. A  $^{153}\text{Sm}$ - és  $^{166}\text{Ho}$ -polifoszfónát komplexeit eredményesen alkalmazták csontáttétek kezelésében a fájdalom csökkentésére<sup>12,13,14</sup>.

A Gd(III)-komplexek legújabb alkalmazási területét a mágneses rezonanciás képalkotás (MRI, mint diagnosztikai eljárás) és a gadolínium neutronbefogásos rákterápia (Gd-NCT, mint terápiás eljárás) összekapcsolása képezi. A kezelés során a daganatos szövetbe juttatott Gd(III)-komplexet lassú neutronokkal sugározzák be és az így lejátszódó ( $n, \gamma$ ) magreakciók hatására a daganatos sejtek elpusztulnak. A terápia eredményességét MRI vizsgálatokkal tudják nyomon követni<sup>15,16,17</sup>.

A Ln(III)-poliamino-polikarboxilát és -polifoszfónát komplexek tulajdonságainak vizsgálata elengedhetetlen az „*in vivo*” orvosi diagnosztikai és terápiás alkalmazásukhoz és ezzel együtt alapkutatói céllal bővíthetjük a fém-ligandum kölcsönhatással és annak a  $\text{Ln}^{3+}$ -ion és a ligandum tulajdonságainak a függvényében történő változásával kapcsolatos koordinációs kémiai ismereteinket.

A Debreceni Egyetem Szervetlen és Analitikai Kémia Tanszékén már évtizedek óta folynak kutatások  $\text{Ln}^{3+}$ -ionok nyíltláncú és makrociklusos poliaminopolikarboxilát és -polifoszfónát ligandumokkal képzett komplexei egyensúlyi és kinetikai tulajdonságainak felderítésére. Az elmúlt pár évben a kutatások körét kiterjesztették olyan nyíltláncú és makrociklusos ligandumokra, amelyekben a karboxilátcsoportokat amidcsoportokkal helyettesítették. Ezek a vizsgálatok elsősorban a Gd(III)-komplexek MRI kontrasztanyagként való alkalmazhatóságának koordinációs kémiai hátterére terjedtek ki, de a gyakorlati alkalmazáson túl igen értékes új információkat nyújthatnak a fémkomplexek koordinációs kémiai tulajdonságaira vonatkozóan is.

A nyíltláncú DTPA, a makrociklusos DOTA ligandumok és származékaik Gd(III)-komplexei MRI kontrasztanyagként<sup>8</sup> történő alkalmazhatóságának egyik igen fontos paramétere a  $\text{Gd}^{3+}$ -ionhoz közvetlenül kötődő vízmolekula cseresebessége a nagy tömegben jelenlévő vízmolekulákkal, ami a jelenleg alkalmazott MRI kontrasztanyagok esetében alatta marad az optimálisnak<sup>8,18,19</sup>. Az előzetes vizsgálatokból kiderült, hogy a Ln(DOTA-tetra-amid) származék komplexek vízcseresebessége a fentebb említett komplexekénél is jóval kisebb<sup>20,21,22</sup>.

Az MRI kontrasztanyagok egyik legújabb generációját képezik azok a Ln(III)-komplexek, amelyekben a koordinált vízmolekula cseresebessége rendkívül kicsi és esetleg különféle (főként  $-\text{NH}$  és  $-\text{OH}$ ) labilis protonokat tartalmaznak. Ezek a PARA-CEST (**P**aramagnetic- **C**hemical **E**xchange **S**aturation **T**ransfer) MRI kontrasztanyagok. A DOTA-amid származékok Ln(III)-komplexei így potenciális PARACEST MRI kontrasztanyagok, de ezeknek a komplexeknek a termodinamikai és kinetikai sajátosságait még részletesen nem vizsgálták<sup>23-27</sup>.

A kelátképző ligandumok és fémkomplexeik orvosdiagnosztikai alkalmazása mellett igen jelentős a terápiás kezeléseknél történő felhasználásuk a szervezetbe került toxikus nehézfémek (pl.  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ) vagy radioaktív izotópok ( $^{90}\text{Sr}^{2+}$ ,  $^{144}\text{Ce}^{3+}$ ) kiürülésének gyorsítására. A Tanszéken már több éve folynak toxikus fémekre

szelektív nyíltancú és makrociklusos poliamino-polikarboxilát és -polifoszfónát ligandumok előállítására és komplexképző sajátságainak vizsgálatára irányuló kutatások is. A hard típusú toxikus fémionok szervezetből történő kiürülésének gyorsítására jelenleg legelterjedtebben az EDTA és DTPA ligandumokat használják, amelyek a két- és három pozitív töltésű fémionokkal stabilis komplexeket képeznek, ugyanakkor viszonylag kicsi a szelektivitásuk<sup>28</sup>. Ennek oka a ligandumok jelentékeny flexibilitása, aminek következtében viszonylag könnyen koordinálódnak a kisebb vagy nagyobb méretű fémionokhoz is. Ilyen vegyületek antidotumként való felhasználásakor különösen fontos lenne, hogy az alkalmazott ligandum az eltávolítandó fémionnal nagy stabilitású, míg az életfolyamatok szempontjából fontos fémionokkal (pl.  $Zn^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$ ,  $Ca^{2+}$  stb.) lényegesen kisebb stabilitású komplexeket képezzen.

A maghasadáskor keletkező és a szervezetbe jutva a csontokba beépülő radioaktív stroncium izotópok (pl.  $^{90}Sr$ ) eltávolításának gyorsítására a korábbi intenzív kutatások ellenére sincs megfelelő komplexképző. Az ilyen célokra javasolt ligandumok (pl. EDTA, DTPA) lényegesen stabilisabb komplexeket képeznek a testfolyadékokban nagy mennyiségben található  $Ca^{2+}$ -ionnal, mint a nagyobb méretű  $Sr^{2+}$ -ionnal, így nem növelik kellő mértékben a  $Sr^{2+}$  kiürülését. A Tanszéken korábban előállított [18]ján $N_2O_4$ -bisz(malonát) esetében azt tapasztalták, hogy az eltávolítandó toxikus fémionokkal, így az  $Pb^{2+}$ - és a  $Sr^{2+}$ - ionokkal lényegesen stabilisabb komplexet képez, mint az életfolyamatokban fontos szerepet játszó fémionokkal (pl.  $Zn^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$ ,  $Ca^{2+}$ , stb.) Azonban a bisz-malonát-csoport dekarboxileződése savas pH-n viszonylag gyorsan végbemegy, amikor a ligandum elveszti a fent említett toxikus fémekre vonatkozó szelektivitását<sup>29</sup>.

Az előzetes tapasztalatok alapján úgy véltük, hogy a hasonló nagyméretű funkciós csoporttal rendelkező makrociklusos ligandumok közel azonos szelektivitással rendelkeznek, mint a [18]ján $N_2O_4$ -bisz(malonát) ligandum.

Az utóbbi pár évben komoly érdeklődés nyilvánult meg az olyan kétmagvú komplexek iránt, melyben az egyik fémion  $Cu^{2+}$ , míg a másik egy hasonló

paramágneses fémion  $Mn^{2+}$ ,  $Gd^{3+}$  vagy  $Cu^{2+}$ . Az ilyen összetételű vegyületek szilárd fázisban a fémionok között fellépő kölcsönhatásnak köszönhetően antiferromágneses tulajdonsággal rendelkeznek.

A Tanszéken néhány éve elkezdődtek az ilyen típusú kétmagvú komplexek vizsgálatai és meghatározták a  $Cu^{II}[Gd^{III}(DOTA)]^+$  illetve  $Cu^{II}[Mn^{II}(DOTA)]$  komplexek stabilitási állandóját<sup>30</sup>. Ezekben a komplexekben a  $Cu^{2+}$  közel van a makrociklus négy nitrogénje által meghatározott síkhoz, míg az oldallánc karboxilátcsoportjai viszonylag távolabb helyezkednek el a központi fémiontól, ezért alkalmasak kétmagvú komplexek kialakítására. Az általunk vizsgált ligandumok viszonylag hosszabb acetyl-glicinát oldallánccal és ezzel együtt több koordinálódó donoratómmal rendelkeznek, ami elvben stabilisabb kétmagvú komplexek kialakítására nyújt lehetőséget.

Munkám ezekhez a területekhez kapcsolódik és a következő általánosan megfogalmazható célok tűzhetők ki:

- a korábban nem vizsgált acetyl-glicinát funkciós csoport komplexképző sajátosságainak felderítése és a fémionok koordinációjában résztvevő donoratómjainak beazonosítása.
- a makrociklus donoratómjainak az acetyl-glicinát funkciós csoport koordinációs kémiai viselkedésére gyakorolt hatásának tanulmányozása.
- a makrociklusos NOTA, DOTA és ODDA ligandumok acetyl-glicinát származékainak és fémkomplexeik egyensúlyi és szerkezeti vizsgálata, a karboxilát analóg komplexek sajátosságaival történő összehasonlítása.
- a klinikai bevezetés előtt álló DOTA-tetra-amid ligandumok és Ln(III)-komplexeik termodinamikai, kinetikai, relaxációs és szerkezeti tulajdonságainak részletes tanulmányozása és a karboxilát analóg DOTA komplex sajátosságaival történő összehasonlítása.

## II. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

### II.1 A lantanoida(III)komplexek tulajdonságai

A  $\text{Ln}^{3+}$ -ionok ( $[\text{Xe}] 4f^{0-14}$ ) az atomok vegyértékhéján lévő 3 elektron ( $5d^1 6s^2$ ) eltávolításával jönnek létre. Ezek az ionok az f-alhéjon elhelyezkedő elektronok számában térnek el egymástól, amelyet az  $5s^2 5p^6$  külső zárt elektronhéj szinte teljesen leárnyékol. Ennek következtében az f-alhéj töltődésével és a magtöltés növekedésével az ionméret a  $\text{La}^{3+}$ -tól (116 pm) a  $\text{Lu}^{3+}$ -ig (98 pm) monoton csökken<sup>31</sup>.

A  $\text{Ln}^{3+}$ -ionok hard természetűek és kémiai tulajdonságaikat tekintve hasonlóak az alkáliföldfém-ionokhoz. Koordinációs vegyületeikben az általuk kialakított kötés döntően ionos jellegű. Ezeknek megfelelően komplexképző hajlamuk a  $\text{S} < \text{N} < \text{O}$  donortom sorrendben a hard jelleg növekedésével együtt növekszik és ezek mellett a töltéssel rendelkező donortomokat előnyben részesítik<sup>5</sup>. A kelátképző ligandumokban leggyakrabban előforduló funkciócsoportokkal vizes közegben kialakított kémiai kötésük erőssége alkoholos hidroxil  $\leq$  amid  $<$  foszfínát  $<$  karboxilát  $<$  foszfonát sorrendben nő.

A  $\text{Ln}^{3+}$ -ionok **koordinációs száma** nagyon sokáig vitatott kérdés volt és az irodalomban közölt értékek 6 és 10 között változtak. A 30-as években elvégzett szilárd fázisú röntgendiffrakciós vizsgálatok eredményei arra utaltak, hogy a lantanoidák átlagos koordinációs száma nagyobb az átmeneti fémeknél általános 4 vagy 6-os értéknél<sup>32</sup>. Napjainkban a  $\text{LnCl}_3$  és  $\text{Ln}(\text{ClO}_4)_3$  sók vizes oldatainak röntgen- és neutrondiffrakciós vizsgálatai a lantanoida sorozat közepén bekövetkező koordinációs szám váltást (9-ről 8-ra) támasztják alá<sup>34</sup>. A vizsgálatok során beazonosított geometria a 9-es koordinációs szám esetén háromszorosan lapcentrált trigonális prizma, a 8-as koordinációs szám esetében négyzetes antiprizma. EXAFS mérésekkel *Yamaguchi* és munkatársai alátámasztották ezeket az eredményeket<sup>35</sup>.

A lantanoida(III)komplexek **elektron spektroszkópiai tulajdonságait** döntően az f-elektronok határozzák meg. A spin-pálya kölcsönhatás miatt a hétszeresen degenerált f-alhéjak felhasadnak és az így kialakult energiaszintek között f-f átmenet valósulhat meg. Ezen elektronátmenetek tiltottak (Laport-szabály), így a hozzájuk tartozó abszorpciós sávok kis intenzitásúak ( $\epsilon \approx 1 \text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1}$ )<sup>36</sup>. A ligandumok kristálytere csak kis mértékben tudja perturbálni az energiaszintek közötti átmeneteket az f-pályák nagy mértékű árnyékoltsága miatt, így a lantanoidák f-f sávjai eltérően az átmenetifémek széles d-d abszorpciós sávjaitól majdnem olyan keskenyek szilárd és oldat fázisban, mint gázfázisban. A Ln(III)-komplexek f-f átmenetekhez tartozó abszorpciós sávjaiból így nagyon kevés esetben tudunk értékes információkat levonni a komplexek képződésére vonatkozóan. A  $\text{Nd}^{3+}$ -ion  ${}^2\text{P}_{1/2}$  termje nem hasad fel semmilyen kristálytérben, így a  ${}^2\text{P}_{1/2} \leftarrow {}^4\text{I}_{9/2}$  átmenethez tartozó kis intenzitású abszorpciós sáv rendkívül érzékeny a Nd(III)-komplexek képződésére.

A lantanoida(III)komplexek képződésére az  $5d \leftarrow 4f$  elektronátmenetek érzékenyebbek, mivel a külső pályák árnyékoló hatása kevésbé hat az  $5d$  pályákra. Legtöbb Ln<sup>3+</sup>-ion esetében ezekhez az átmenetekhez tartozó sávok a vákuum-UV tartományban jelentkeznek és csak néhány Ln<sup>3+</sup>-ionnál ( $\text{Ce}^{3+}$ ,  $\text{Pr}^{3+}$  és  $\text{Tb}^{3+}$ ) található az UV tartományban. A  $\text{Pr}^{3+}$ - és a  $\text{Tb}^{3+}$ -ionok  $5d \leftarrow 4f$  átmeneteinek megfelelő abszorpciós sávok 230 nm alatt észlelhetők, ahol a komplexképző ligandumok többségének elnyelése van, de a  $\text{Ce}^{3+}$  esetében ezek a sávok 210-330 nm tartományban találhatóak, amelyek intenzitása viszonylag nagy ( $\epsilon \approx 1000 \text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1}$ ).

A Ln(III)-komplexek képződését az UV-tartományban található ligandum  $\rightarrow$  fémion töltésátviteli sávok segítségével is tudjuk követni ( $\text{Eu}^{3+}$ ,  $\text{Yb}^{3+}$ ). Az Eu(III)-komplexek esetében ez a sáv 240-270 nm közt található, melynek intenzitása a komplexek képződésével együtt növekszik.

A Ln<sup>3+</sup>-ionok gyakorlati felhasználásával kapcsolatban fontos kitérnünk a **lumineszcenciás tulajdonságaikra** is. Az  $f^0$  és az  $f^{14}$  elektronszerkezetű ionok

kivételével mindegyik  $\text{Ln}^{3+}$ -ion rendelkezik lumineszcenciás tulajdonsággal, amelyek közül az  $\text{Eu}^{3+}$  ( ${}^7\text{F}_{0-4} \leftarrow {}^5\text{D}_{0-1}$ ) és a  $\text{Tb}^{3+}$  ( ${}^7\text{F}_{0-6} \leftarrow {}^5\text{D}_4$ ) átmenetnek megfelelő emittált fénykvantum rendelkezik a legnagyobb gyakorlati jelentőséggel. A lantanoida(III)komplexek emissziós spektruma érzékeny a központi fémion kémiai környezetére, így alkalmas a komplexek képződésének és szerkezetének vizsgálatára<sup>2</sup>. Az  $\text{Eu(III)}$ -komplexek  ${}^5\text{D}_0$  átmeneti állapotának átlagos élettartama jelentősen függ az  $\text{Eu}^{3+}$ -ion környezetében lévő egyéb részecskéktől, amiből a fémionhoz közvetlenül koordinálódó vízmolekulák számát lehet meghatározni<sup>33</sup>.

A lantanoidák és komplexeik sajátosságait beleértve **mágneses tulajdonságaikat** is jelentősen befolyásolja a központi fémion elektronszerkezete és az f-alhéj ( $4f^{0-14}$ ) leányékoltsága. A  $\text{Ln}^{3+}$ -ionok az  $\text{Y}^{3+}$ , a  $\text{La}^{3+}(f^0)$  és a  $\text{Lu}^{3+}(f^{14})$  kivételével paramágnesesek, mágneses momentumuk a  $\text{Nd}^{3+}$ -nál és a  $\text{Dy}^{3+}$  illetve a  $\text{Ho}^{3+}$ -nál maximumot mutat és nem a maximális spinszámú  $\text{Gd}^{3+}$ -nál ( $f^7$ ), mivel a spin és pályahozzájárulásokat együttesen kell figyelembe venni<sup>2</sup>.

A paramágneses  $\text{Ln(III)}$ -komplexek NMR jelei kiszélesednek és eltolódnak a diamágneses komplexekhez képest. A paramágneses  $\text{Ln}^{3+}$ -ionok elektronrelaxációs ideje viszonylag kicsi ( $10^{-13}$  s), aminek következtében a proton rezonancia jelek nem nagyon szélesek<sup>37</sup>. A  $\text{Gd}^{3+}$ -ion elektronrelaxációs ideje négy nagyságrenddel nagyobb ( $10^{-9}$  s), ezért nagyobb jelszélesítő hatással rendelkezik, ami fordítottan arányos a  $\text{Gd}^{3+}$ -ion és a proton közötti távolság hatodik hatványával<sup>7</sup>.

A  $\text{Ln(III)}$ -komplexek  $\text{Ln}^{3+}$ -ion által indukált NMR jeleltolódása (LIS) három részből tevődik össze: a diamágneses, a Fermi kontakt (skaláris) és a pszeudo-kontakt (dipoláris) eltolódásból<sup>38</sup>. A diamágneses eltolódást a  $\text{Ln}^{3+}$ -ion induktív hatása határozza meg, de ez általában kicsi. A kontakt eltolódás a párosítatlan elektronok kovalens kötése révén, a pszeudo-kontakt eltolódás a párosítatlan elektronok téren keresztüli hatására jellemző. A kontakt eltolódásból a kapcsolódó atomokra és a kovalencia mértékére, míg a pszeudo-kontakt eltolódásból a komplex térbeli szerkezetére kapunk információkat.

A Ln(III)-komplexek egyensúlyi vizsgálatai során az egyik legfontosabb meghatározandó paraméter a **stabilitási állandó** és azok változása a Ln<sup>3+</sup>-ionok rendszámának, vagy ionsugaruk függvényében. A Ln(III)-komplexek stabilitási állandói 3 különböző módon változhatnak a sorozaton belül a kelátképző ligandumtól függően<sup>39</sup>:

Az első és legáltalánosabb esetben az ionsugár csökkenésével monoton növekszik a stabilitási állandó értéke. A növekedés mértéke a sorozat elején a Gd-ig nagyobb, mint a sorozat végén. Az ilyen típusú komplexek szerkezetét legjobban az elektrosztatikus modell segítségével értelmezhetjük, bár a tökéletes leíráshoz ez sem elegendő. Ehhez a típushoz sorolható ismertebb ligandumok: a glikolsav, a tejsav, az imino-diecetsav, EDDA, DCTA és az EDTA.

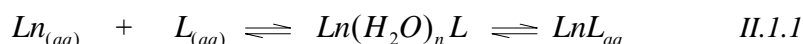
A második csoportba sorolható ligandumokkal képzett Ln(III)-komplexek stabilitási állandói a Sm-Eu-ig nőnek, majd értékük közel állandó marad. Ilyen típusú ligandumok az ecetsav illetve merkaptó és metoxiszármazékai, az acetyl-aceton és kelátképzők közül a HEDTA.

A harmadik típusú ligandumok által kialakított komplexek stabilitási állandói maximum görbe szerint változnak az ionsugár reciprokának a függvényében. A görbe maximuma a Dy-Ho körül található. Az ismertebb ligandumok közül a DTPA alakít ki ilyen tulajdonsággal rendelkező Ln(III)-komplexeket.

Az utóbbi két típusba sorolható ligandumokkal kialakított komplexek stabilitási állandói változásának megértéséhez az elektrosztatikus modellen kívül a termodinamikai paramétereket ( $\Delta G$ ,  $\Delta H$ ,  $\Delta S$ ) és szterikus tényezőket is figyelembe kell venni<sup>40</sup>.

A makrociklusos ligandumok vizsgálata során tapasztaltak az említett 3 típustól eltérő stabilitási állandó változást is, amelyek megértéséhez a már említett tényezőkön kívül a fémion és a makrociklus méretviszonyát, a ligandum szerkezetét és merevségét is számításba kell venni<sup>41,42,43</sup>.

A Ln(III)-komplexek **kinetikai sajátosságai** jelentősen függnnek a koordinálódó ligandum tulajdonságaitól. A  $\text{Ln}^{3+}$ -ionok egyfunkciós egyszerű ligandumú komplexeinek képződése igen gyors a kialakuló kötések ionos természetének köszönhetően, amik csak relaxációs módszerekkel követhetők<sup>44</sup>. Ezen típusú komplexek képződése az Eigen-Tamm mechanizmussal írható le<sup>45</sup>:



A komplexképződés első lépése a külsősférás komplex képződése, amely diffúzió kontrollált. A második lépés a belső sférás komplex kialakulása. A  $\text{GdSO}_4^+$  képződési sebessége  $7 \times 10^8 \text{ s}^{-1}$ , a  $\text{Gd}_{(aq)}^{3+}$  vízcseresebessége  $8,3 \times 10^8 \text{ s}^{-1}$ <sup>46</sup>. A két érték nagyon közeli, ami arra utal, hogy nem függetlenek egymástól. Ezek alapján megállapították, hogy az ilyen típusú komplexek képződési sebességét döntően a központi fémion vízcseresebessége és a kialakuló külsősférás komplex egyensúlyi állandója befolyásolja<sup>46</sup>.

A fémionok vízcseresebessége igen nagy, így meghatározásuk nehéz. Megbízhatóan csak a nagyobb rendszámú  $\text{Ln}^{3+}$ -ionok vízcseresebessége mérhető <sup>17</sup>O-NMR-relaxációs módszerrel<sup>47</sup>, mivel a vizsgálatok során kapott kinetikai effektus a diamágneses környezethez viszonyított kémiai eltolódás négyzetével arányos ( $\Delta\omega^2$ ), ami a kisebb rendszámú  $\text{Ln}^{3+}$ -ionok esetében kicsi. A  $\text{LnSO}_4^+$  képződési sebességének és a nagyobb rendszámú  $\text{Ln}^{3+}$ -ionok vízcseresebességeinek ( $\text{La}^{3+}$ -tól a  $\text{Eu}^{3+}$ -ig nőnek, majd a  $\text{Lu}^{3+}$ -ig csökkennek) ismeretében a  $\text{Ln}^{3+}$ -ionok vízcseré mechanizmusával kapcsolatban megállapítható, hogy a sorozat elején az  $\text{Eu}^{3+}$ -ig disszociatív ( $I_d$ ), azt követően asszociatív ( $I_a$ ) jellegű<sup>46</sup>.

Nyílt láncú, protonált több funkciós ligandumok Ln(III)-komplexei jóval lassabban alakulnak ki, amit befolyásol a ligandum donorcsoportjainak protoncsere-sebessége és merevsége is. A komplex képződésének sebesség-

meghatározó lépése a kelátgyűrű záródása, vagy valamilyen protontranszfer folyamat<sup>48</sup>.

Funkcionalizált makrociklusos ligandumok Ln(III)-komplexeinek képződési sebességét tovább lassítja a ligandumok merevsége. Ezek a komplexek kisebb pH-tartományban stabilis protonált köztitermék kialakulásán keresztül képződnek. A sebességmeghatározó lépés a fémionnak a makrociklus donoratomjai által határolt koordinációs „kalitkába” történő bejutása<sup>49,50</sup>, amelyet befolyásol a gyűrű merevsége, a ligandum bázicitása és protonáltsági foka.

A Ln(III)kelát- és makrociklusos komplexeinek **disszociációja** lassú, savkatalizált folyamat. A disszociáció sebessége a  $H^+$ -ion-koncentráció első és második hatványával is nőhet<sup>51,52</sup> és a sebességi állandók telítési görbe szerint is változhatnak<sup>49,53</sup>. A Ln(III)-komplexek disszociáció sebessége függ a ligandum protonálható csoportjainak számától és bázicitásától. A Ln(III) makrociklusos ligandumú komplexei esetében kialakult nézet, hogy először az oldalláncon lévő csoportok protonálódnak, majd ezt követi a proton(ok) áthelyeződése a gyűrű donoratomjaira, miközben a  $Ln^{3+}$ -ion kiszorul a makrociklus donoratomjai által kialakított koordinációs „kalitkából”. Töltésnélküli makrociklusos ligandumok Ln(III)-komplexei esetében lassabb disszociációt tapasztaltak, mint hasonló, de negatív töltésű ligandumok Ln(III)-komplexeinél, még abban az esetben is, ha az utóbbi komplexek nagyobb termodinamikai stabilitással rendelkeztek<sup>54</sup>. Ezt feltehetően a protonálható donorcsoportok kisebb száma és a pozitív töltésű  $H^+$ -ionok elektrosztatikus taszítása okozhatja.

A Ln(III)-komplexek **ligandumcsere** reakcióira általában savkatalizált disszociatív út jellemző. Ha a komplexben kötött központi fémion belső koordinációs szférája nem teljesen telített, a ligandum szubsztitúciós reakciói a cserélő ligandum közvetlen támadásával vegyes ligandumú köztitermék képződésén keresztül is lejátszódhatnak<sup>55</sup>.

A **központi fémion cserereakciói** a ligandumcseréhez hasonlóan lejátszódhatnak savkatalizált disszociatív mechanizmussal, de a kicserélő fémion

közvetlen támadásán keresztül is, asszociatív úton. Ebben az esetben kétmagvú köztitermék képződésével játszódik le a folyamat, aminek során a ligandum funkciós csoportjai fokozatosan áthelyeződnek a központi fémionról a kicserélő fémionra<sup>51,56</sup>. Ez inkább a több negatív töltésű donorcsoporttal rendelkező ligandumokra jellemző. A Ln(III)-komplexek spontán vagy savkatalizált disszociációval lejátszódó fémioncsere reakciói jóval lassabbak, amely egy lassú disszociációs lépésből és egy azt követő, a kicserélő fémion és a keletkezett szabad ligandum közti gyors reakcióból tevődik össze<sup>57</sup>.

## II.2 A mágneses rezonanciás képalkotás kontrasztanyagai

A mágneses rezonanciás képalkotást az 1980-as évek közepétől eredményesen alkalmazzák az egészséges és a kóros szövetek megkülönböztetésére. A módszer alkalmazhatóságát az egészséges és a beteg szövet eltérő víztartalma (a makromolekulákhoz kötött és a szabad vízmolekulák száma különböző) és a vízprotonok eltérő relaxációs ideje ( $T_1$ ,  $T_2$ ) teszi lehetővé.

Az MRI vizsgálatok elterjedését és népszerűségét nagy felbontóképességének köszönheti és annak, hogy segítségével különbséget lehet tenni a lágy szövetek között is<sup>58</sup>.

A módszer kifejlesztése *Lauterbur* és munkatársai nevéhez fűződik, melynek során a szövetekről kétdimenziós képet készítenek mágneses tér gradiens alkalmazásával<sup>59</sup>. Ezt követően kimutatták, hogy paramágneses anyagok jelenlétében a szövetek jobban megkülönböztethetővé válnak a bennük lévő vízprotonok eltérő relaxációs viselkedésének köszönhetően<sup>60</sup>. A terület kutatása az 1980-as évek végétől vált intenzívvé, amit a témában megjelent publikációk számának növekedése is alátámaszt (1987-ben kb. 40, míg 2004-ben több, mint 1000 közlemény).

Az MRI vizsgálatok során leggyakrabban alkalmazott impulzus szekvencia a spin-echo. A kép élességét, kontrasztosságát döntően a térfogategységben lévő protonspinek sűrűsége ( $N(H)$ ) és a spinek longitudinális és transzverzális relaxációs ideje ( $T_1$  és  $T_2$ ) határozza meg. A kapott jel intenzitása ( $SI$ ) a következő egyenlettel írható le<sup>2</sup>:

$$SI = N(H) \left[ 1 - e^{-TR/T_1} \right] e^{-TE/T_2} \quad II.2.1$$

ahol,  $TE$  az echo késleltetési idő és a  $TR$  a repetíciós idő. Az egyenlet alapján megállapíthatjuk, hogy a  $T_1$  relaxációs idő csökkentése a jel intenzitás növekedését, míg a  $T_2$  relaxációs idő csökkentése a jel intenzitás csökkenését eredményezi. A protonspin sűrűség növelése jelentősen növelné a jel intenzitását, azonban a lágy

szövetek protonszűrűség változása nem számottevő. A különböző szövetek eltérő víztartalmából eredően különböző relaxációs időkkel rendelkeznek, de ez a különbség az egészséges és a beteg szövetek között elég kicsi, ezért a kép kontrasztosabbá tételéhez és a beteg és egészséges szövetek lokalizálásához kontrasztanyagra van szükség<sup>58</sup>.

A kontrasztanyagok alkalmazhatóságának követelményei: a jó vízoldhatóság, a nagy termodinamikai stabilitás, a kinetikai inertség, a kis ozmotikus koncentráció, a szervspecifikusság és a minimális dózis melletti maximális kontraszt növelés. A felsorolt tulajdonságok mellett a relaxivitás ( $r_1$ ) is igen fontos paraméter, ami a paramágneses anyag 1 mM-os oldata által eredményezett relaxációssebesség ( $1/T_1$ ) növekedés a diamágneses környezethez képest<sup>8</sup>.

A klinikai gyakorlatban alkalmazott kontrasztanyagokat többféleképpen is lehet csoportosítani. Egyrészt megkülönböztethetünk szuperparamágneses vas-oxidokat, nitroxid szabadgyököket és paramágneses fémkomplexeiket. Másrészt a kialakított kontraszt alapján az anyagok lehetnek  $T_1$ -kontrasztanyagok, melyek hatása a vízprotonok longitudinális relaxációs sebességére ( $1/T_1$ ) nagyobb, ami a jelintenzitás növekedését, így a kép világosodását (pozitív kontraszt) idézi elő, illetve  $T_2$ -kontrasztanyagok, melyek a vízprotonok transzverzális relaxációs sebességét növelik jelentősen, ami a jel intenzitás csökkenését és ezzel együtt a kép sötétítését (negatív kontraszt) eredményezi.

A kontrasztanyagok harmadik és egyben legújabb csoportját képezik azok az anyagok, amelyek különféle labilis (főként  $-NH$  és  $-OH$ ) protonokat tartalmaznak, amik képesek a nagy tömegben jelen lévő vízmolekulák protonjaival kicserélődni. Ha ez a csere lassú folyamat az NMR időskáláján, akkor  $^1H$ -NMR jelük elkülönül a vízprotonok jelétől. Nagyfrekvenciás impulzust alkalmazva, abban a tartományban, ahol a labilis protonok jele található, telítés történik, ami a vízprotonokkal történő kémiai cserén keresztül megnöveli azok relaxációs sebességét. Ezek a **CEST** (**C**hemical **E**xchange **S**aturation **T**ransfer) anyagok,

amik magukba foglalják a szervezet hasonló, labilis protonokkal rendelkező metabolitjait is<sup>61</sup>.

### **II.2.1 $T_1$ kontrasztanyagok**

A vízprotonok longitudinális relaxációs idejét ( $T_1$ ) csökkentő anyagok főként paramágneses fémionok. A legnagyobb mértékű csökkenést az S alaptermű, viszonylag hosszú relaxációs idejű, párosítatlan elektronokkal rendelkező fémionok ( $Mn^{2+}$ ,  $Fe^{3+}$ ,  $Eu^{2+}$ ,  $Gd^{3+}$ ) eredményezik. A legnagyobb hatást  $Gd^{3+}$ -ion okozza, mivel 7 párosítatlan elektronnal, nagy mágneses momentummal és kellően hosszú elektron relaxációs idővel ( $10^{-9}$  s) rendelkezik. A szerves Gd(III)-só-oldatok nagyon toxikusak az élő szervezet számára, ( $LD_{50}=0,2-0,5$  mmol/kg)<sup>9</sup>, így csak stabilis komplexeik alkalmazhatók kontrasztanyagként. Komplexképzők közül a nyíltláncú és makrociklusos poliamino-polikarbonsavak felhasználása terjedt el.

Az orvosi diagnosztikai vizsgálatokban elsőként alkalmazott kontrasztanyag a  $Gd(DTPA)^{2-}$  (Magnevist<sup>®</sup>)<sup>62,63</sup>, ami 1988 óta klinikai alkalmazásban áll. A nyíltláncú  $Gd(DTPA)^{2-}$  kifejlesztését követően a jóval nagyobb kinetikai inertséggel rendelkező  $Gd(DOTA)^-$  (Dotarem<sup>®</sup>) került bevezetésre<sup>64</sup>. A komplexeket 0,1-0,3 mmol/testsúly kg dózisban alkalmazzák, így egy 70 kg-os páciens teljes testvizsgálatához  $28\text{ cm}^3$  0,5 mólos oldat intravénás befecskendezésére van szükség. Ez a töltéssel rendelkező kontrasztanyagok esetében az injekció helyén jelentős ozmotikus terheléssel jár együtt és egyes betegeknél fájdalmat is okozhat. Az ozmotikus terhelés csökkentése érdekében az alkalmazásban lévő két Gd(III)-komplex ( $Gd(DTPA)^{2-}$  és  $Gd(DOTA)^-$ ) semleges változatait fejlesztették ki, amelyekben a ligandum 1 vagy 2 acetátcsoportját semleges alkoholos hidroxil- vagy amidcsoportokkal helyettesítették<sup>17,65,66</sup>. Ezek a komplexek kisebb termodinamikai stabilitással rendelkeznek, de a kinetikai inertségük nem sokkal kisebb, mint elődjüké, ami orvosi alkalmazhatóságuk szempontjából fontosabb tulajdonság. Kereskedelmi forgalomban lévő töltés nélküli kontrasztanyag a  $Gd(DTPA-BMA)$  (Omniscan<sup>®</sup>),  $Gd(DTPA-BMEA)$

(Optimark<sup>®</sup>), Gd(HP-DO3A) (Prohance<sup>®</sup>) és a Gd(DO3A-B) (Gadovist<sup>®</sup>). Az említett anyagok nagyon hasonló farmakokinetikai sajátságokkal rendelkeznek. A befecskendezést követően egyenletesen oszlanak el a szervezetben az extracelluláris térben és néhány óra alatt a vesén keresztül teljesen kiürülnek<sup>2</sup>.

A ligandumok megfelelő átalakításával nem csak a komplex ozmotikus koncentrációját lehet csökkenteni, hanem szervspecifitást is el lehet érni. Ebben az esetben 2-10  $\mu\text{mol}/\text{testsúly kg}$  dózis alkalmazásával is kielégítő kontrasztnövekedés érhető el a célszervben. E célból fejlesztették ki a lipofil csoportokat tartalmazó DTPA- és DOTA-származékokat, amelyek májvizsgálatokra alkalmasak. Ilyen kontrasztanyagok a Gd(EOB-DTPA)<sup>2-</sup> (Eovist<sup>®</sup>)<sup>67</sup> és a Gd(BOPTA)<sup>2-</sup> (Multihance<sup>®</sup>)<sup>68</sup>. Ezek mellett a DOTA foszfonátszármazékainak Gd(III)-komplexeivel is kutatások folynak máj-, csont- és egyéb Ca<sup>2+</sup> dús szövetspecifikus kontrasztanyag kifejlesztésére<sup>69</sup>.

A Gd<sup>3+</sup>-ion NMR tomográfias kontrasztanyagkénti felhasználása igen széles spektrumú. Éves szinten 30 tonna gadoliniumot használnak fel ilyen célból, így a Gd(III)-komplex alapú kontrasztanyagok fejlesztése nem csak tudományos, hanem gazdasági kihívás is egyben<sup>18,72</sup>.

### ***II.2.2 T<sub>2</sub> kontrasztanyagok***

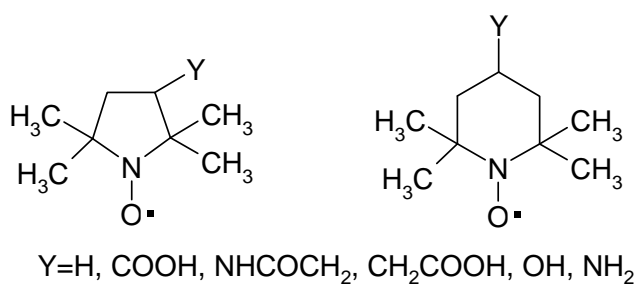
A vízprotonok transzverzális relaxációsebességét megnövelő anyagok közül a legjelentősebbek a különféle szuperparamágneses vas-oxid mikrorészecskék, melyek kutatása az utóbbi években jelentősen fejlődött és mára jónéhány vegyületét eredményesen alkalmazzák MRI kontrasztanyagként (Lumirem<sup>®</sup>, Abdoscan<sup>®</sup>, Endorem<sup>®</sup>)<sup>70,71,72</sup>. Ezeket az anyagokat összetételük alapján a következő összegképlettel lehet leírni:  $Fe_2^{III}O_3M^{II}O$ , ahol M<sup>II</sup>: Fe<sup>2+</sup>, Mn<sup>2+</sup>, Ni<sup>2+</sup>, Co<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup> lehet. Ezeknek az anyagoknak a fizikai-kémiai tulajdonságait nem csak az összetétel befolyásolja, hanem a szemcseméret is. A nagyobb szemcseméretű vas-oxid mikrorészecskék a vízprotonok transzverzális (negatív

kontraszt), míg a kisebbek a vízprotonok longitudinális (pozitív kontraszt) relaxációsebességét növelik meg jelentősebben.

Az oldatban gömbszimmetrikusnak feltételezett szolvatált szupermágneses vas-oxid mikrorészecskéket elméleti átmérőjük alapján 4 csoportba lehet sorolni: orális vagy nagy (SPIO, 300 nm), standard (SSPIO, 50-150 nm), ultrakicsi (USPIO, 10-40 nm) és monokristályos nanorészecskék (MION, <10 nm). A SPIO részecskéket nem lebomló mátrixszal bevonva orálisan alkalmazzák gastroenterológiai vizsgálatok során. A SSPIO-t és USPIO-t intravénásan bejuttatva a szervezetbe máj, lép, porc és csontvelő vizsgálatokban használják fel. Az utóbbi részecskéket angiográfias vizsgálatokban is hasznosítják. Az utóbbi években kísérletek folynak monoklonáris antitestekhez kötött tumorspecifikus MION részecskék kifejlesztésére<sup>73</sup>.

### II.2.3 Nitroxid szabadgyökök

Az NMR tomográfias kontrasztanyagok fejlesztése során felmerültek a párosítatlan elektront tartalmazó szabadgyökök alkalmazásának lehetőségei, melyek közül az 5- illetve a 6-tagú gyűrűs nitroxidokat tanulmányozták részletesen, ahol a párosítatlan elektronokat a szomszédos tercier alkil csoportok stabilizálják.



#### II.2.1. Nitroxid szabadgyökök

A többi szabadgyökhöz hasonlóan ezeket is lehet redukálni és oxidálni. Vizes közegben redukciójuk során hidroxilamin (RRNOH), oxidációjuk során oxoammónium ( $\text{RRNO}^+$ ) kation keletkezik<sup>74</sup>. Biológiai rendszerekben mind a 3 oxidációs állapotuk előfordulhat, amelyek közül nitroxid/oxoammónium pár reverzibilis elektrokémiai folyamatokban redoxipárként fordulhat elő<sup>75</sup>.

A nitroxid-típusú szabadgyökök relaxivitását és az oldószer vízprotonok relaxációsebességéhez való hozzájárulását döntően az elektron-proton kölcsönhatás határozza meg. A nitroxid szabadgyökök MRI kontrasztanyagkénti alkalmazhatósága nagymértékben függ a „szabad elektron” redoxi stabilitásától, ami egyben korlátot is szab jövőbeli felhasználásuknak<sup>74</sup>.

#### ***II.2.4 CEST kontrasztanyagok***

A  $\text{Gd}^{3+}$ -ion alapú kontrasztanyagok hátrányos tulajdonságainak kiküszöbölésére szolgáló egyik megoldást a fémmentes kontrasztanyagok alkalmazásával kombinált technikák jelentik.

*Balaban* és munkatársai igazolták, hogy labilis  $-\text{NH}$  és  $-\text{OH}$  protonokkal rendelkező kis molekulák mobil protonjait rádiófrekvenciás impulzussal (RF) besugározva kémiai cseréjükön keresztül lecsökkentik az oldószer vízprotonok jelének intenzitását<sup>61</sup>. A CEST effektus (**C**hemical **E**xchange **S**aturation **T**ransfer) megváltoztatja a szövetekről készített NMR-tomográfias kép kontrasztosságát, így ezek az anyagok eredményesen alkalmazhatóak kontrasztanyagként. A CEST anyagok előnyös tulajdonságai közé tartozik, hogy az általuk kialakított kontraszt mértéke csak a kontrasztanyag koncentrációjától és mobil protonjaik cseresebességétől függ, és mivel fémmentes kontrasztanyagokról van szó, nem fejtenek ki zavaró hatást az endogén környezet biológiai egyensúlyára. Azonban számos más tulajdonságuk is befolyásolhatja kontrasztanyagkénti alkalmazhatóságukat. Ezek közül a legjelentősebb a CEST kontrasztanyag mobil protonjának kémiai eltolódása, illetve annak távolsága a vízprotonok jelétől

fiziológiás körülmények között (pH=6,5-7,5; 37 °C). Amennyiben elegendően távol található a mobil proton jele a vízprotonok jelétől, akkor lehetőség nyílik a gyors protoncserével rendelkező részecskék CEST kontrasztanyagkénti felhasználására anélkül, hogy bekövetkezne a vízprotonok közvetlen RF besugárzása. A vizsgálatok során a vízjel relatív intenzitásában bekövetkező változást a következő egyenlettel lehet kifejezni<sup>76</sup>:

$$M_S/M_O \approx (1 - k_I T_{ISAT}) \quad II.2.2$$

ahol,  $M_S$  a vízjel relatív intenzitása a mobil protonok jelének besugárzása alatt,  $M_O$  a vízjel relatív intenzitása kontroll besugárzási körülmények között,  $k_I$  a pszeudo elsőrendű protoncsere-sebesség,  $T_{ISAT}$  a vízprotonok longitudinális relaxációs ideje a mobil protonok jelének RF besugárzása alatt. A cserereakció pszeudo elsőrendű sebességi állandóját a következő egyenlettel lehet leírni<sup>77</sup>:

$$k_I = k_{CA} [CA] [n] \quad II.2.3$$

ahol,  $k_{CA}$  az adott cserehely protoncsere-sebessége, amit szorozni kell az egy molekulán lévő mobil protonok számával ( $n$ ) és a CEST anyag koncentrációjával ( $[CA]$ ). A vizsgálatokhoz elengedhetetlen, hogy a protonok cseresebessége ( $k_{CA}$ ) elegendően nagy legyen a CEST effektus követéséhez, de értékének alatta kell maradnia a gyors csere határértékének, hogy a mobil protonok és a vízprotonok jele ne olvadjon egybe a CEST anyag <sup>1</sup>H-NMR spektrumában. A lassú és a közepes cseresebességű protonokra érvényes összefüggés<sup>77</sup>:

$$\tau_{CA} \Delta\omega_{CA} \gg 1 \quad II.2.4$$

ahol,  $\Delta\omega_{CA}$  a mobil protonok és a vízprotonok jelének kémiai eltolódásbeli különbsége,  $\tau_{CA}$  a mobil proton átlagos tartózkodási ideje és egyben a mobil proton

cseresebességének reciproka ( $\tau_{CA}=1/k_{CA}$ ). Mivel a mobil protonok kémiai eltolódása jelentősen függ a térerősségtől, így a II.2.4 összefüggés is függni fog az NMR vizsgálat alatt alkalmazott térerősségtől. A CEST anyagok protoncseresebessége függ az ionerősségtől, a hőmérséklettől és sok esetben a  $[H^+]$ -tól, így a protoncseresebesség pH függése a vegyület alkalmazhatóságának igen fontos paramétere.

Számos, élő szervezet számára is fontos anyag, így több metabolit rendelkezik olyan labilis protonokkal (főként  $-NH$  és  $-OH$  protonok), amelyek endogén protoncserében résztvehetnek. Ilyenek az aminosavak, cukrok, nukleotidok, hetero aromás gyűrűs vegyületek, amelyeket *Balaban* és munkatársai részletesen tanulmányoztak CEST kontrasztanyagkénti felhasználás céljából<sup>61</sup>.

A vizsgált vegyületek közül a legígéretesebb tulajdonságokkal a barbitursav rendelkezik, mivel cserehelyeinek kémiai eltolódása  $\approx 5$  ppm-re található a vízjeltől, viszonylag nagy CEST effektussal rendelkezik ( $M_s/M_0=0,85$ ) és alacsony a toxicitása ( $LD_{50}=5124$  mg/kg)<sup>78</sup>. A barbitursav protonok cseresebessége növekszik a pH növekedésével (pH=6 esetén lassú a csere, míg pH=8-nál gyors a csere). A hőmérséklet növekedése is hasonló változást idéz elő a cserefolyamat sebességében (T=25 °C-nál lassú a csere, míg T=37 °C-nál közepesen gyors)<sup>61</sup>.

A CEST kontrasztanyagok számos előnyös tulajdonsággal rendelkeznek a jelenleg alkalmazott kontrasztanyagokkal szemben, így esetükben a kontraszt effektus ki-be kapcsolása igen egyszerű, negatív kontrasztot is tudnak létrehozni, elhanyagolható a  $T_2$  effektusuk, képesek az élő sejtbe bejutni és kisebb toxicitással is rendelkeznek. A CEST effektust két módon is ki lehet kapcsolni, egyrészt a RF besugárzó impulzus kikapcsolásával, másrészt a besugárzó impulzus frekvenciájának módosításával. Ezáltal a szövetről a kontraszthatás jelen- és távollétében készült képek összehasonlíthatóvá válnak és ezzel különbséget lehet tenni eltérő kóros szövetek között<sup>61</sup>.

A kezdeti vizsgálatok során a vízjel relatív intenzitását követték a mobil protonoknak megfelelő kémiai eltolódásnál ( $M_S$ ) és a víztől azonos távolságra, de annak ellenkező oldalán található kémiai eltolódásnál ( $M_0$ , ún. kontroll besugárzás) alkalmazott RF besugárzásakor. A képalkotó eljárás során képkockáról képkockára meghatározták vagy az  $M_S/M_0$  hányadost vagy  $M_0-M_S$  különbséget és így az adott szövetről készített kép a CEST effektusnak köszönhetően élesebbé és kontrasztosabbá vált<sup>79</sup>.

A vizsgálatok során a CEST anyag által kiváltott  $M_S/M_0=0,9$  effektus már jól detektálható, de hogy ez megvalósuljon a CEST anyag koncentrációjának minimum 35 mM-nak kell lennie<sup>61</sup>. Az ideális CEST kontrasztanyagoknak a következő tulajdonságokkal kell rendelkezniük<sup>61</sup>:

- elég gyors protoncsere fiziológiai hőmérséklet és pH viszonyok között
- nagy kémiai eltolódásbeli különbség a mobil protonok és a víz protonjai között
- kis toxicitás, jó vízoldhatóság, kis ozmolalitás

Kezdetekben CEST kontrasztanyagkénti felhasználásra javasolt kis molekulájú vegyületek hátrányos tulajdonságainak (túl kicsi eltolódásbeli különbség ( $\Delta\omega$ ), a kép kontrasztosságának növeléséhez szükséges túl nagy koncentráció [ $CA$ ])<sup>8,25,26,61,80,85</sup> kiküszöbölésére manapság két stratégiát alkalmaznak:

- a mobil protonok molekulánkénti számának növelése makromolekuláris rendszerek alkalmazásával (dendrimerek, peptidok, polinukleotidok)<sup>85</sup>
- paramágneses NMR shift reagens alkalmazásával, amely a mobil protonokat hordozó diamágneses rendszerrel kölcsönhatva megnöveli azok kémiai eltolódását ( $\Delta\omega$ )<sup>85</sup>.

Mindkét ötlet jelentősen javítja a kontrasztanyagok érzékenységét és a megfelelő kontraszthatás kialakításához  $\mu\text{M}$  koncentráció is elegendő.

Az oldószer vízprotonok relaxációsebességét növelő  $\text{Gd}^{3+}$ -alapú kontrasztanyagok alkalmazhatóságának egyik feltétele a gyors vízcsere sebesség, ami közel zérusra csökkenti a kötött vízprotonok kémiai eltolódását az oldószer vízprotonokhoz viszonyítva. A közelmúltban számos kis vízcsere sebességgel

rendelkező paramágneses Ln(III)-komplexet publikáltak<sup>21,22,27,81-83</sup>, amelyek <sup>1</sup>H-NMR-spektrumában a belső szférában kötött vízmolekula protonjainak jele jelentősen eltolódott az oldószer vízprotonok jelétől és könnyen beazonosítható. A kötött vízprotonok kémiai eltolódása függ a központi Ln<sup>3+</sup>-ion kémiai minőségétől, ami igen fontos későbbi felhasználásukkal kapcsolatban<sup>23</sup>. Ezekben a fémkomplexekben a paramágneses Ln<sup>3+</sup>-ionok „NMR shift-reagensként” megnövelik a gyorsan cserélő protonok (pl.: a fémionhoz közvetlenül koordinálódó vízprotonok) kémiai eltolódását, lehetővé téve RF besugárzásukat. A szokatlanul lassú vízcserével rendelkező Ln(III)-komplexek felfedezése jelentős előrelépést jelentett a CEST kontrasztanyagok fejlesztésében<sup>23-27</sup>. Ezeket a lassú vízcserével rendelkező paramágneses Ln(III)-komplexeket PARACEST anyagoknak nevezik<sup>27</sup>.

A Gd<sup>3+</sup>-alapú kontrasztanyagok kezdeti vizsgálatai során azt gondolták, hogy a **vízcsere** az oldószer és a belsőszférás vízmolekulák között olyan gyors, hogy az nem befolyásolja a komplexek oldószer vízprotonokra gyakorolt relaxációs hatását. Később kimutatták, hogy ez nem így van. Például két, klinikai gyakorlatban is alkalmazott MRI kontrasztanyag a Gd(DTPA)<sup>2-</sup> és Gd(DOTA)<sup>-</sup> vízcseresebessége csaknem 100-szor kisebb, mint a Gd<sup>3+</sup><sub>aq</sub>-komplexé (mindkét komplex esetén  $q=1$ ;  $\tau_m=243$  és  $208$  ns)<sup>19,27,47,84</sup>. Mindkét komplex kisebb relaxivitását lassabb vízcseréjük eredményezi, ami némiképp alatta marad az elméleti optimális értéknek, de ez lényegesen nem befolyásolja klinikai használatukat.

A ligandumok **funkciós csoportjainak** változtatása szintén hatással van a Ln(III)-komplexek vízcseresebességére. A Ln(DOTA)<sup>-</sup> komplexek acetátcsoportjainak amidcsoportokkal való helyettesítése lecsökkenti a belsőszférás vízmolekulák cseresebességét. A Ln(DOTA-tetra-amid) komplexek vízcseréje folyamata feltételezhetően disszociatív mechanizmussal játszódik le<sup>21</sup>, így a kötött vízmolekula megközelíthetősége fontos szerepet játszik cseréjében. Az Eu(DOTA-tetra-amid) komplexek vízcseresebessége függ az amidcsoporthoz kapcsolódó oldallánc polaritásától ( Eu[DOTA-tetra-amid]  $\tau_m$  értékek: foszfonát-észter  $\geq$

karboxilát-észter  $\gg$  alkílcsoport  $\geq$  egyszerű amid)<sup>27</sup>. Az  $\text{Eu}^{3+}$  belsősférás vízmolekulájának cseréjét befolyásolja továbbá az oldallánc töltése (pl.  $\text{Eu}(\text{DOTA-Gly})^-$   $\tau_m=300 \mu\text{s}$  pH=7,0; tetraetil-észtere, ami neutrális  $\text{Eu}(\text{DOTA-Gly-Et})^{3+}$   $\tau_m=382 \mu\text{s}$  pH=7,4)<sup>21</sup> és az oldószer minősége is. Vizes közegben a fémionhoz közvetlenül kapcsolódó vízmolekula közelítőleg fele annyi ideig tartózkodik a fémion koordinációs szférájában, mint vizes acetónitrilben<sup>27,83</sup>.

A lassabb vízcserével rendelkező Gd(III)-komplexek esetében felmerül a kérdés, hogy a relaxivitásuk szokatlan pH-függését a **molekuláris csere vagy a prototróp csere** eredményezi-e. *Aime* és munkatársai részletesen tanulmányozták a  $\text{Gd}(\text{DTMA})^{3+}$  komplex víz- és protoncsere folyamatait. Az ilyen típusú komplexek relaxivitása pH<2 és pH>9 tartományban megnő az amid  $-\text{NH}$  protonok sav- és báziskatalizált prototróp cseréjének köszönhetően<sup>20</sup>. A  $\text{Gd}(\text{DOTA-4AmP})^{5-}$  komplex vízcseresebességének ( $\tau_m$ ) és relaxitásának pH függése alátámasztotta, hogy a pH=6 – 8,5 tartományban a relaxitás csökkenést nem a vízcseresebesség változása okozza, mivel az állandó a pH=6–9,5 tartományban ( $\tau_m=26 \mu\text{s}$ ), hanem a belsősférás vízmolekula protonoknak a foszfonátcsoport protonálódásán (4 db foszfonátcsoport protonálódik a pH=6 – 8,5 tartományban) keresztüli prototóp cseréje az oldószer vízprotonokkal<sup>27</sup>. A klinikai MRI vizsgálatokban jelenleg alkalmazott  $\text{Gd}^{3+}$ -alapú komplexek relaxivitása független a pH-tól, mivel a vízcseréjük viszonylag gyors ( $\tau_m<240 \text{ ns}$ ). A  $\text{Gd}(\text{DOTA-4AmP})^{5-}$  komplex relaxitásának pH-függése lehetőséget nyújthat “pH-érzékeny MRI kontrasztanyagként” a szövetek extra- és intracelluláris terének „*in vivo*” pH vizsgálataira<sup>27</sup>.

A Ln(III)-komplexek vízcseresebesség vizsgálatai során kiderült, hogy a **központi fémion méretének** is jelentős szerepe van a belsősférás vízmolekulák átlagos tartózkodási idejének meghatározásában. *Merbach* és munkatársai meghatározták a  $\text{Ln}(\text{DTPA-BMA})$  komplexek belső sférás vízmolekuláinak átlagos tartózkodási idejét, ami csökken a  $\text{Nd}^{3+}$ -tól (1,88  $\mu\text{s}$ ) a  $\text{Ho}^{3+}$ -ig (0,16  $\mu\text{s}$ ). A vízmolekulák tartózkodási idejének változását a cserefolyamat mechanizmusában

(„Interchange”  $I_a \rightarrow$  „Disszociatív”  $D$ ) bekövetkező változással magyarázták<sup>46</sup>. A közelmúltban megállapították, hogy az Eu(DOTA-tetra-amid) komplexek belsősférás vízmolekulájának tartózkodási ideje több mint 500-szorosa a hasonló Yb(III)-komplexének<sup>27</sup>. Zhang és munkatársai megvizsgálták az Eu(III)- és Gd(DOTA-Gly-Et)<sup>3+</sup>, valamint Eu(III)- és Gd(DOTA-4AmP-Et)<sup>3+</sup> komplexek vízcsere sebességét és mindkét ligandum esetében a Gd(III)-komplexek vízcsere sebessége feleannyi, mint az Eu(III)-komplexeké, pedig az Eu<sup>3+</sup>- és a Gd<sup>3+</sup>-ionok tulajdonságaikat tekintve közel azonosak<sup>27,83</sup>. A Ln(DOTA-Gly-Et)<sup>3+</sup> komplexek további vízcsere sebesség vizsgálatai rámutattak, hogy az Eu<sup>3+</sup>-ion közelében elhelyezkedő Ln<sup>3+</sup>-ionok DOTA-Gly-Et komplexeiben a vízcsere sebesség jelentősen függ a fémion méretétől. A Ln(DOTA-Gly-Et) komplexek belsősférás vízmolekuláinak átlagos tartózkodási ideje a Pr<sup>3+</sup>-tól ( $\approx 50$   $\mu$ s) az Eu<sup>3+</sup>-ig ( $\approx 800$   $\mu$ s) nő, azt követően az Dy<sup>3+</sup>-ig ( $\approx 50$   $\mu$ s) csökken, majd a sorozat végén közel állandó marad<sup>27</sup>. <sup>1</sup>H-NMR és az Eu(III)- illetve Tb(III)-komplexek röntgendiffrakciós vizsgálatai igazolták, hogy mindegyik Ln(DOTA-Gly-Et)<sup>3+</sup> komplex azonos szerkezetű, így a vízcsere sebesség ionrádiusz függését csak a vízcsere mechanizmusában bekövetkező változás magyarázhatja<sup>22</sup>.

A PARACEST anyagok NMR-es tulajdonságait a **két cserehelyes modell** alkalmazásával írják le, aminek értelmében a kémiai csere csak a paramágneses Ln<sup>3+</sup>-ionhoz közvetlenül koordinálódó vízmolekula protonjai és az oldószer vízprotonok között jön létre<sup>27</sup>. A belsősférás vízprotonok <sup>1</sup>H-NMR jele a paramágneses fémionnak köszönhetően jelentősen eltolódik az oldószer vízprotonok jelétől. Nagy rádiófrekvenciás (RF) impulzussal elég hosszú ideig besugározva a belsősférás vízprotonok jelét telítés érhető el, ami a protonok kémiai cseréjén keresztül lecsökkenti az oldószer vízprotonok relaxációs idejét és ezzel együtt a víz jel intenzitását.

A cserélődő protonok NMR-es tulajdonságait a Bloch-egyenletek módosított változataival lehet leírni, amik magukban foglalják a kémiai csere hatását mind a két típusú proton x, y és z irányú mágnesezettségére<sup>27</sup>. A módosított

Bloch-egyenletek matematikai megoldása összetetten függ 7 NMR paramétertől ( $T_{1a}$ ,  $T_{2a}$ ,  $T_{1b}$ ,  $T_{2b}$ ,  $M_0^b$ ,  $M_0^a$ ,  $\tau_m$ ), a két különböző proton kémiai eltolódásának különbségétől ( $\Delta\omega = \omega_a - \omega_b$ ), a besugárzó impulzus frekvenciájától ( $B_1$ ) és a térerőtől ( $B_0$ ), ahol a  $T_{1a}, T_{2a}, M_0^a$  az **A** típusú (oldószer) protonok longitudinális és transzverzális relaxációs idejét és mágneszettségét, míg a  $T_{1b}, T_{2b}, M_0^b, \tau_m$  a **B** típusú (belsőszférás) protonok longitudinális és transzverzális relaxációs idejét, mágneszettségét és tartózkodási idejét jelöli. A kémiai csere által okozott maximális csökkenés  $M_Z^a/M_0^a$  értékben (oldószer protonok mágneszettsége besugárzás esetén ( $M_Z^a$ ) és annak távollétében ( $M_0^a$ )) akkor érhető el, ha a **B** protonok teljesen telítésben vannak  $M_Z^b=0$  és a **B** protonokat gerjesztő RF impulzus egyáltalán nem sugározza be az **A** protonokat. A kísérleti körülmények közül nagyon fontos az elég hosszú ideig tartó RF besugárzás ( $B_1$ ) és a kellően nagy különbség a protonok kémiai eltolódása között. Ilyen feltételek mellett, egyensúlyi állapotban a kémiai cserében résztvevő protonok mágneszettségére „steady-state” közelítést alkalmazva a módosított Bloch-egyenletek megoldása a következő<sup>27</sup>:

$$\frac{M_Z^a}{M_0^a} = \frac{\tau_a}{\tau_a + T_{1a}} = \frac{1}{1 + \frac{cq}{55,5} \frac{T_{1a}}{\tau_m}} \quad II.2.5$$

ahol  $c$  a PARACEST anyag koncentrációját, a  $q$  a belsőszférás vízmolekulák számát, a  $\tau_a$  az oldószer vízprotonok tartózkodási idejét jelöli. Az  $M_Z^a/M_0^a$  detektálható csökkenése megkívánja, hogy  $\tau_a$  hasonló vagy kisebb legyen, mint  $T_{1a}$ . A  $\tau_a = \tau_m / (M_0^b/M_0^a)$  egyenlet értelmében a belsőszférás vízmolekulák átlagos tartózkodási idejének rövidnek kell lennie, hogy a PARACEST anyagot kis koncentrációban lehessen alkalmazni, azonban a vízcseresebesség növekedésével kiszélesednek a belsőszférás vízprotonok jelei, ami adott esetben egybe is olvadhat az oldószer vízprotonok jelével és eltakarhatja az aktuális CEST effektust<sup>27</sup>.

A CEST effektus vizsgálatának egyik gyakorlati módja a vízjel relatív intenzitásának követése a teljes frekvencia tartományban elég kis lépésenkénti RF besugárzásakor. A vízjel relatív intenzitását ( $M/M_0$ ) ábrázolva a besugárzott frekvencia függvényében kapjuk a **Z-spketrumot (CEST spektrum)**<sup>27,61</sup>. A Z-spketrum 0 ppm-nél jelentkező csúcsa az oldószer vízprotonok közvetlen besugárzásának, míg a többi csúcs az oldószer vízprotonokkal kémiai cserében résztvevő protonok kémiai eltolódásának felel meg. A protonok kémiai cseréje abban az esetben detektálható ezzel a módszerrel, ha azok cseresebessége közepes vagy lassú ( $\Delta\omega\tau_m \geq 1$ ). A klinikai gyakorlatban alkalmazott térerősség (1,5 T) növelésével a PARACEST anyagok által kiváltott hatás eredményesebbé válik, mivel protonjaik kémiai eltolódásának különbsége megnövekszik.

A módosított Bloch-egyenletekkel nem csak az egyes PARACEST anyagok belsőszférás vízprotonjainak cseresebességét lehet meghatározni, hanem megjósolhatjuk az adott PARACEST anyag számos paraméterének optimális értékét és alkalmazhatóságát is. *Zhang* és munkatársai a módosított Bloch-egyenletek segítségével modellezték a kémiai eltolódásbeli különbség CEST effektusra gyakorolt hatását és azt tapasztalták, hogy a nagyobb kémiai eltolódással rendelkező belsőszférás vízprotonok nem annyira érzékenyek a vízcsere sebesség változására, mint a kisebb kémiai eltolódással rendelkezők<sup>27</sup>.

Az MRI kontrasztanyag fejlesztés két újabb iránya a **pH-érzékeny és a metabolit érzékeny kontrasztanyagok** kutatása. *Balaban* és munkatársai több cserelhellyel rendelkező kis molekulájú diamágneses részecskék <sup>1</sup>H-NMR-s vizsgálataival igazolták, hogy egy molekulán belüli különböző típusú mobil protonok telítésátviteli hányadosa („*Ratiometric Method*”) alkalmas lehet a szövetek pH-jának közvetlen követésére<sup>80</sup>. *Aime* és munkatársai hasonló megfontolásból a PARACEST anyagokra is kiterjesztették a módszert, ahol a PARACEST anyag pl. amid -NH és a komplexben kötött vízmolekulák protonjai ( $\text{Ln}^{3+}\text{-H}_2\text{O}$ ) cserélődnek az oldószer vízprotonokkal és cseréjük eltérő érzékenységgű a pH változására<sup>25,26</sup>. A PARACEST anyagok amid -NH protonjainak CEST effektusa sokkal

érzékenyebb a pH változására a pH=6-9 tartományban (bázis katalizált prototróp csere) szemben a kötött vízmolekulák protonjaival, amelyek telítésátvitel közel állandó ilyen pH tartományban. A két különböző típusú mobil proton eltérő frekvenciáknál kifejtett CEST effektusának hányadosa független a PARACEST anyag koncentrációjától, csak az alkalmazott kísérleti körülmények befolyásolják értékét és ezáltal a módszer lehetőséget nyújt a szövetek „*in vivo*” pH mérésére<sup>24,27</sup>. A Ln[DO3A-trisz(acetamid)] ( $q=2$ ) komplexek lehetőséget nyújtanak a glikoláz enzim és a tejsav élő szervezetben belüli detektálására és mennyiségi meghatározására<sup>27</sup>. A laktát kétfogú ligandumként közvetlenül koordinálódik a Ln[DO3A-trisz(acetamid)]<sup>3+</sup> fémionjához megváltoztatva az amid –NH protonok kémiai eltolódását. A különböző típusú amid –NH protonok CEST effektusa arányos lesz az egyes részecskék (LnL, LnL-laktát) koncentrációjával, ami által a szövetben belüli koncentrációjuk meghatározhatóvá válik. A ligandumok módosításával elérhető, hogy a különféle metabolitokra szelektív Ln(III)-komplexeit állítsunk elő, amelyek CEST effektusa érzékeny a Ln(III)-komplex-metabolit kölcsönhatásra és telítésátvitelüknek köszönhetően az oldószer vízprotonok és azok <sup>1</sup>H-NMR jelének változásain keresztül tanulmányozhatók.

PARACEST kontrasztanyagkénti felhasználásra *Sherry* és munkatársai a Eu(DOTA-Gly-Et)<sup>3+</sup> komplexet javasolták<sup>23</sup>, ahol a belső szférában lévő vízmolekula protonjainak <sup>1</sup>H-NMR jele  $\approx 40$  ppm-re van a vízjeltől, így cseréjük az oldószer vízprotonokkal telítés átvitelen keresztül nagy érzékenységgel tanulmányozható.

*Aime* és munkatársai hasonló célú felhasználásra a DOTA-tetrakis(acetilglicin) paramágneses Ln(III)-komplexeit javasolták<sup>26</sup>. Ezek a komplexek 4 amid és 2 belsőszférás vízprotonnal rendelkeznek, amelyek cserélődnek a jelenlévő vízmolekulák protonjaival. Meghatározták számos Ln(III)-komplex protoncseresebességét mind az amid, mind a belsőszférás vízmolekula protonok esetében<sup>85</sup>. A belsőszférás vízprotonok cseresebessége ( $k_{ex}$ ) és kémiai eltolódásbeli különbsége ( $\Delta\omega$ ) alapján legeredményesebben az Eu(DOTA-Gly)<sup>-</sup> komplex

alkalmazható PARACEST kontrasztanyagként  $((M_v/M_0)^{Ln-w}=0,85, \text{ pH}=7,4, [\text{EuL}]=0,03 \text{ M}, B_0=7,05 \text{ T}, B_1=87,6 \text{ } \mu\text{T}, 312 \text{ K})^{85}$ . Kifejezetten előnyös lehet pH, hőmérséklet, enzim aktivitás, metabolit koncentráció és redoxipotenciál élő szervezetben belüli meghatározására a különböző mobil protonjai cseresebesség és ezzel együtt telítés átvitel vizsgálata alapján<sup>85</sup>. Ugyanakkor biológiai alkalmazásukhoz elengedhetetlen a komplexek egyensúlyi és kinetikai tulajdonságainak az ismerete, amelyet korábban még nem tanulmányoztak részletesen.

### II.2.5 A Gd(III)-komplexek relaxivitása

A vízprotonok mért relaxációsebessége  $(1/T_{1obs})$  Gd(III)-komplexek jelenlétében a komplex diamágneses  $(1/T_{1d})$  és paramágneses  $(1/T_{1p})$  hozzájárulásának összegével adható meg:

$$\frac{1}{T_{1obs}} = \frac{1}{T_{1d}} + \frac{1}{T_{1p}} = \frac{1}{T_{1d}} + r_1[\text{Gd}] \quad \text{II.2.6}$$

ahol, az  $r_1$  a Gd(III)-komplex relaxivitása<sup>8</sup>. A paramágneses fémkomplexek relaxivitását a fémion belső ( $r_{1p}^{is}$ ) és külső ( $r_{1p}^{os}$ ) koordinációs szférájában levő vízmolekulák protonjai és a második koordinációs szféra ( $r_{1p}^{2nd}$ ) vízprotonjai relaxációsebessége összegeként adják meg<sup>86</sup>:

$$r_{1p} = r_{1p}^{is} + r_{1p}^{os} + r_{1p}^{2nd} \quad \text{II.2.7}$$

A klinikai vizsgálatokban jelenleg alkalmazott kis molekulatömegű Gd(III)-komplexek relaxációsebességet növelő hatásának közelítőleg 50%-a a fémionhoz közvetlenül koordinálódó vízmolekula hozzájárulásából származik<sup>3</sup>. A

fémion a vízmolekula protonjaival kialakított dipoláris kölcsönhatáson keresztül fejt ki a relaxációsebességre gyakorolt hatását, így a fémion belső koordinációs szférájában lévő vízmolekulák száma ( $q$ ) meghatározó tényező. A vízmolekula és a fémion közötti kölcsönhatást befolyásolja a komplex forgó mozgását jellemző rotációs korrelációs idő ( $\tau_R$ ), a fémion elektron spin relaxációs ideje ( $\tau_S$ ) és a fémionhoz koordinált vízmolekulák átlagos tartózkodási ideje ( $\tau_m$ ) ( $1/\tau_m = k_{ex}$ , vízcseresebesség) és a Gd-H távolsága ( $r_{GdH}$ ).

A Swift-Connick elmélet alapján a belső szféra hozzájárulást a következőképpen lehet kifejezni<sup>87</sup>:

$$r_{1p}^{is} = \frac{cq}{55,55} \frac{1}{T_{1m}^H + \tau_m} \quad II.2.8$$

ahol,  $T_{1m}^H$  a fémionhoz közvetlenül koordinálódó vízmolekula protonjai relaxációs ideje.  $T_{1m}^H$  értéke a  $\tau_R$ ,  $\tau_S$ ,  $\tau_m$  és  $r_{GdH}$  értékétől függ az alábbiak szerint, ahol a  $k$  különböző állandókat tartalmazó konstans<sup>88</sup>:

$$\frac{1}{T_{1m}^H} = k \frac{1}{r_{GdH}^6} f(\tau_R, \tau_S, \tau_m) \quad II.2.9$$

A külső szféra teljes relaxivitásra gyakorolt hatását kis méretű Gd(III)-komplexek esetében a Feed-féle elmélettel<sup>89,90</sup> lehet számszerűsíteni. Ez az elmélet a paramágneses fémion elektron relaxációs idejét felhasználva a vízmolekulák paramágneses fémkomplex közelében lezajló szabad diffúzióját írja le, elhanyagolva a vízmolekulák és a komplex karboxilát- és/vagy foszfátcsoportjai között kialakuló H-kötést, ami jóval hosszabb tartózkodási időt biztosít a vízmolekulák számára, mint ahogy azt a szabad translációs diffúziójuktól várnánk. A komplex közvetlen környezetében levő vízmolekulák diffúzió

kontrollált cseréje is hatással van a komplex teljes relaxivitására, amit *Aime* és munkatársai javaslatára „második szférás” ( $r_{1p}^{2nd}$ ) tényezőként vesznek figyelembe. *Chen* és munkatársai kimutatták, hogy egyes fémkomplexek esetében ez akár 30%-a is lehet a komplex oldószer vízprotonok relaxációsebességre gyakorolt hatásának<sup>91</sup>.

### ***II.2.6 A kontrasztanyag fejlesztés új irányai***

A klinikai vizsgálatokban manapság alkalmazott kontrasztanyagok (Gd(DTPA)<sup>2-</sup>, Gd(DOTA)<sup>-</sup>, Gd(DTPA-BMA), Gd(HP-DO3A)) Gd<sup>3+</sup> ionjai 8 donor atomot tartalmazó ligandumokkal képeznek komplexet és a Gd<sup>3+</sup>-ion 9-ik koordinációs helyét egy vízmolekula foglalja el. Az említett komplexek relaxivitása  $r_1=4-7 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ , mivel a relaxációsebességet befolyásoló tényezők ( $1/\tau_m \approx 10^6 \text{ s}^{-1}$ ,  $1/\tau_R \approx 10^{10} \text{ s}^{-1}$ ,  $1/\tau_S \approx 10^8 \text{ s}^{-1}$ ) nem ideálisak. Az elméletileg elérhető  $100 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$  relaxitás érték elérésére intenzív kutatások folynak a relaxitást befolyásoló paraméterek optimalizálásával<sup>8</sup>. Elfogadott megállapítás, hogy a vízcseresebesség és a rotációs korrelációs idő együttes növelésével jelentősen növelhető a komplex relaxivitása. Előnyös lenne a komplex elektron-spin relaxációs idejének növelése is, de jelenlegi ismereteink szerint ez nem befolyásolható. Legegyszerűbb a komplexek rotációs korrelációs idejének növelése dimer<sup>92</sup>, polimer és dendrimer<sup>93</sup> szerkezetű komplexek előállításával és a Gd(III)-komplexek makromolekulákhoz történő kötésével<sup>94</sup>.

A gyakorlatban használt MRI kontrasztanyagok nem specifikusak. Hatékonyságuk növelése érdekében új, specifikus kontrasztanyagokat fejlesztenek ki. Ezek egyik csoportját az érrendszer vizsgálatára kívánják alkalmazni<sup>18</sup>, melyek általában makromolekulák, amik hosszabb időn keresztül a véráramban tartózkodnak, nem diffundálnak ki a sejtközi állományba és lassan ürülnek a vesén keresztül. Ilyen vegyületek például a liposzómális kontrasztanyagok (a paramágneses fémkomplex a liposzóma belsejében található)<sup>95</sup>, polimer szerkezetű

kontrasztanyagok (nyíltláncú vagy makrociklusos Gd(III)-komplexek makromolekulákhoz történő kapcsolásaival jönnek létre)<sup>96</sup> és a plazma proteinjéihez kötődő lipofil Gd(III)-komplexek<sup>97</sup>.

A tumorokról elvben nagy felbontású kép készíthető tumorspecifikus kontrasztanyagok segítségével, melyek a tumoros sejtek felületéhez kötődnek. A Gd(III)-komplexek tumorspecifitását a hozzájuk kapcsolt monoklonális antitestekkel vagy fehérje fragmensekkel lehet elérni, amelyek specifikusan kapcsolódnak a rákos sejtek felületén található receptorokhoz<sup>98</sup>. A módszer a kóros szövetekről készített kép élességének javításával a precízebb sebészeti beavatkozást és terápiás kezelést segíti.

Napjainkban megnőtt az érdeklődés az olyan kontrasztanyagok iránt („*smart contrast agents*”)<sup>58</sup>, melyek lehetőséget nyújthatnak a szövetek hőmérsékletének<sup>99</sup>, pH-jának<sup>100</sup>, az oxigén parciális nyomásának<sup>101</sup>, a bennük lévő enzimek aktivitásának<sup>102</sup> és egyes fémionok koncentrációjának (pl.:Ca<sup>2+</sup>, Fe<sup>3+</sup>) mérésére<sup>103</sup>.

A szervezet hőterképe információt nyújthat a gyulladással helyekről és közvetlenül nyomon követhetővé válik a hipo- és hipertermiás kezelés és annak eredményessége.

A pH-érzékeny kontrasztanyagok kifejlesztése az egészséges és beteg szövetek eltérő pH-értékein alapul. Tumoros sejtekben a pH=7,2, tumoros szövetek sejtközi állományában a pH=6,8-6,9, míg az egészséges szövetek sejtközi állományában a pH=7,4.

Az oxigén parciális nyomásának követése a szöveteken belül lehetőséget biztosít az artériás és a vénás vér, az egészséges és a tumoros szövetek, illetve az élő és az elhalt szövetek megkülönböztetésére.

Az enzim aktivitást a szubsztrát szerepet betöltő kontrasztanyagokkal lehet megvizsgálni, melyeknek megnő a relaxivitása az enzimkatalizált reakcióban.

Az MRI képalkotás jövőjét más módszerekkel történő kombinálása is jelenti. Diagnosztikai céllal az MRI-t együtt alkalmazzák a komputer tomográfiával

(CT) és a pozitron emissziós tomográfiával (PET), amik segítségével háromdimenziós és mozgó kép is készíthető a vizsgált szövetekről. A terápiás kezelés és az orvosdiagnosztika összekapcsolását jelentheti a gadolínium neutron befogásos rákterápia (GdNCT)<sup>15,17</sup>. Jelenleg kutatások folynak ezen célból a  $^{157}\text{Gd}^{3+}$ -izotóp DTPA<sup>5-</sup>- és BOPTA<sup>5-</sup>- komplexeinek továbbfejlesztett tumorspecifikus változataival. A terápia során a tumorhoz kapcsolódott  $^{157}\text{Gd(III)}$ -komplexeiket termikus neutronokkal sugározzák be és az így lejátszódó magreakciókban ( $^{157}\text{Gd} (n,\gamma) ^{158}\text{Gd}$ ) keletkező gamma sugárzás (max. 7,8 MeV) és Auger-elektronok (max. 41 KeV) elpusztítják a rákos sejteket. A  $^{157}\text{Gd}$  izotóp jónéhány előnyös tulajdonsággal rendelkezik a jelenleg gyakorlati alkalmazás alatt álló  $^{10}\text{B}$ -vegyületekkel szemben<sup>16</sup>.

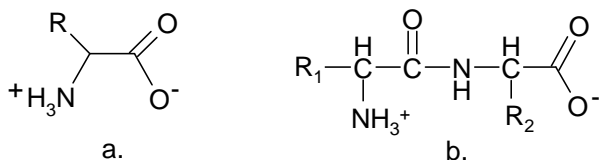
A Ln(III)-poliaza-polikarboxilát komplexek orvosdiagnosztikai felhasználása gyakorlati alkalmazásuknak egyik legintenzívebben kutatott területe és további vizsgálataik egyre hatékonyabb és biztonságosabb vegyületek előállítását teszik lehetővé.

### II.3 A glicin és oligopeptidjei komplexképző tulajdonságai

#### II.3.1 A glicin és oligopeptidjeinek egyensúlyi sajátságai

A munkánk során vizsgált ligandumokban a funkciós csoportok N-acetilglicinát-csoportok, melyek a koordinációjuk módjától függően diglicinát, vagy acetilglicinát csoportként viselkedhetnek, ezért röviden áttekintjük az aminosavak és oligopeptidek komplexképző sajátságait.

Az aminosavak nagy többsége stabilis bisz- illetve triszkomplexet képez az átmenetifémekkel, melyekben az  $\alpha$ -amino- és karboxilátcsoport 5-tagú kelátgyűrű kialakítva koordinálódik a központi fémionhoz. A dipeptidek amino- és karboxilátcsoportjai térbelileg távol helyezkednek el az 5-tagú kelátgyűrű kialakításához, de egyidejűleg négy különböző donoratomból (amino-N, amid-O, amid-N, karboxilát-O) koordinálódhat a fémionhoz. Az oldalláncok (R, R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>) további donoratombokat tartalmazhatnak, amelyek szintén kötést alakíthatnak ki a központi fémionnal.



II.3.1.ábra Az aminosavak (a.) és a dipeptidek (b.) általános képlete.

A dipeptidek három különböző donorcsoportot tartalmaznak: terminális aminocsoport (-NH<sub>2</sub>), karboxilátcsoport (-COO<sup>-</sup>) és az amidcsoport (-CONH-), ami egyben a peptidlánc építőköve. A hosszabb láncú oligopeptidek azonos donorcsoportokkal rendelkeznek, azzal a különbséggel, hogy az aminosav egységek számának növekedésével nő a távolság a terminális csoportok között és nő a lánckötő amidcsoportok száma is.

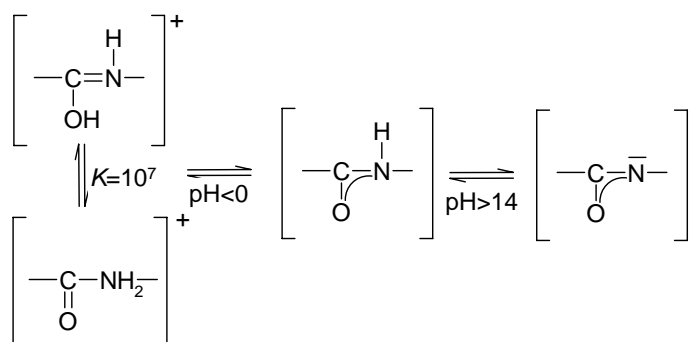
A di- és tripeptidek két protonálódási állandóval rendelkeznek a 0 < pH < 14 tartományban abban az esetben, ha az (R) oldallánc nem tartalmaz egyéb donorcsoportokat (glicinpeptidek).

**II.3.1 táblázat** A glicin és oligopeptidjeinek protonálódási állandói (298K, I=0,1M)

ligandumok	$pK_1(\text{NH}_3^+)$	$pK_2(\text{COOH})$
<b>glicin</b> <sup>106</sup>	9,60	2,37
<b>diglicin</b> <sup>104,107</sup>	8,13	3,21
<b>triglicin</b> <sup>105,107</sup>	7,96	3,27
<b>tetraglicin</b> <sup>105,107</sup>	7,96	3,24

A peptidek első protonálódási állandója az amin-NH<sub>2</sub>, míg a második a karboxilát –COO<sup>-</sup> csoporthoz rendelhető. A protonálódási állandók alapján megállapítható, hogy az amino- és a karboxilátcsoportok legjobban az aminosavakban válnak el egymástól és a peptidekben a lánc hosszának növekedésével csökken az aminocsoport bázicitása és a karboxilátcsoport savassága. A tri- és tetraglicin peptidek hasonló protonálódási állandói jelzik, hogy a lánc további növelése nem lesz jelentős hatással a donorcsoportok bázicitására<sup>119</sup>.

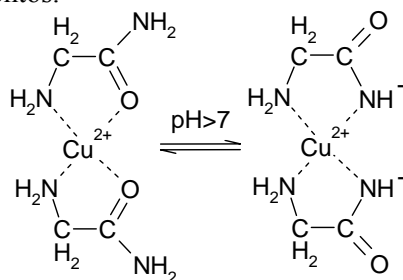
Az amidcsoport egyszerre két különböző donoratomot tartalmaz melyek a amid-O és amid-N, amelyek kötést alakíthatnak ki a protonokkal és a fémionokkal. A tetraédres amino-N-nel szemben a sík szerkezetű amid-N nem rendelkezik nemkötő elektrópárral, mivel nemkötő elektronja delokalizálódik az OCN kötésekben, így bázicitása is jóval kisebb. A peptidek amidcsoportjai semlegesek a teljes pH tartományban (0<pH<14), és csak nagyon erősen savas és bázikus közegben viselkednek gyenge savként és bázisként<sup>119</sup>.

**II.3.2 ábra** Az amidcsoport protonálódási sajátosságai.

Az N-metilacetamid vizsgálata során kiderült, hogy az amidcsoport képes protonálódni ( $pK_a \approx 0,7$ )<sup>108</sup>, de ez csak néhány százalékban következik be szemben a karboxilátcsoporttal, ami teljesen protonált formában van a savas pH tartományban<sup>109-111</sup>. Erősen lúgos körülmények között az amid-CONH-csoport deprotonálódhat ( $pK_a \approx 15,2$  GlyTyr)<sup>112</sup>, azonban protonálódási állandójának meghatározása meglehetősen nehéz<sup>114</sup>.

### III.3.2 A glicin és oligopeptidjeinek átmenetifém-komplexei

Az amidcsoport említett tulajdonságainak köszönhetően a peptidok terminális amino- és karboxilátcsoportjai a fémionok elsődleges kötőhelyei. A fém-protein komplexek képződésekor szterikus okok miatt nem koordinálódhatnak a terminális csoportok egyszerre a központi fémionhoz, ezáltal az amino- és a karboxilátcsoportok egymástól független elsődleges kötőhelyei, „horgony csoportjai” a fémionoknak. A terminális csoportok sok esetben elég gyenge kötőhelynek bizonyulnak, és az így képződő komplexekben nem tudják megvédeni a fémiont a hidrolízistól (pl. N-acetilglicin)<sup>113,114</sup>, de irányító szerepük a komplex képződésében nagyon fontos.



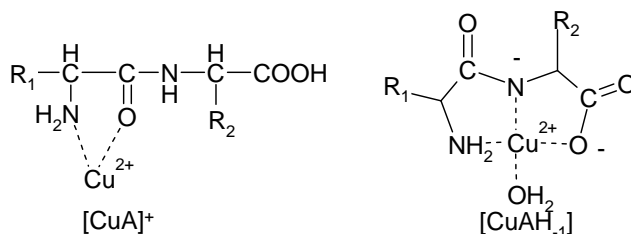
II.3.3 ábra A  $(CuA_2)$  és  $(CuA_2H_2)$  Cu(II)-bisz(glicinamid) komplexek szerkezete.

A Cu(II)-bisz(glicinamid) ( $CuA_2$ ) komplexben (II.3.3 ábra) az amin-N és a amid-O 5-tagú kelátgyűrűt alakít ki a  $Cu^{2+}$ -ionnal, ami hasonlít az aminosavak komplexképzéséhez kivéve az amidcsoportok deprotonálódását és koordinációját a központi fémionhoz. Az aminosavak stabilabb komplexet képeznek az adott fémionnal, mint peptidjeik. A kialakuló Cu(II)-komplexek stabilitása ( $\log K_{CuA}$ ) a

következő sorrendben változik: glicin (8,07) > diglicin (5,56) > glicinamid (5,30) > acetát (1,76)<sup>115-118</sup>.

A Cu(II)-diglicin és -glicinamid komplexek stabilitása elegendően nagy, hogy ne következzen be a központi fémion hidrolízise enyhén lúgos oldatban. Számos soft fémion peptidkomplexeinél megfigyelték, hogy bizonyos pH-tartományban bekövetkezik az amid-NH deprotonálódása és koordinációja a központi fémionhoz akár a Cu(II)-peptid komplexek esetében. A pH tartomány, ahol végbemegy a deprotonálódás, jelentősen függ a központi fémion minőségétől. Az oligopeptid komplexek esetében az amid-NH disszociációja közelítőleg a zárójelben feltüntetett *pK* értékekkel jellemzett pH tartományban következik be: Pd<sup>2+</sup> (2) > Cu<sup>2+</sup> (4) > Ni<sup>2+</sup> (8) > Co<sup>2+</sup> (10). A lantanoida(III)ionok az eddigi vizsgálatok szerint nem eredményezik az amid-NH csoport deprotonálódását<sup>119</sup>.

A Cu(II)-glicinamid (CuA<sub>2</sub>H<sub>2</sub>) komplexben (II.3.3 ábra) a két terminális amino- és a két deprotonálódott amidcsoport teljesen betölti a Cu<sup>2+</sup>-ion koordinációs helyeit. A két amidcsoport deprotonálódási állandója 7,07 és 8,33, ami körülbelül hét nagyságrenddel kisebb, mint a szabad ligandum esetében<sup>119</sup>.



**II.3.4 ábra** A (CuA)<sup>+</sup> és a (CuAH<sub>-1</sub>) összetételű Cu(II)-dipeptid komplexek szerkezete.

A dipeptidok amidcsoportjai hasonlóan deprotonálódhatnak és koordinálódhatnak átmeneti fémkomplexekben a karboxilátcsoporttal együtt új 5-tagú kelátgyűrűt kialakítva (II.3.4 ábra), ami a képződött komplex stabilitását jelentősen megnöveli. Az amidcsoport deprotonálódása alacsonyabb pH-n következik be, mint a glicinamid esetében (Cu(II)-diglicin *pK*=4,23)<sup>119</sup>.

Összefoglalva az oligopeptidok komplexképző sajátosságát megállapítható, hogy a terminális aminocsoport az elsődleges kötőhelye számos átmenetifémnek és

a szomszédos amid-O-nél együtt koordinálódva 5-tagú kelátgyűrűt alakítanak ki és képeznek viszonylag kis stabilitású komplexet. Ezek a komplexek elég stabilisak ahhoz, hogy meggátolják a fémion hidrolízisét abban az esetben, ha végbemegy az amidcsoport deprotonálódása és egyben koordinációja. Az amidcsoport deprotonálódását és koordinációját befolyásolhatják az oldalláncban található egyéb donorcsoportok is. A legtöbb aminosav egység hatással van a képződő komplexek stabilitására és számos funkció csoportjuk elősegítheti illetve gátolhatja az amidcsoport deprotonálódását<sup>119</sup>.

### ***II.3.3 Aminosavak és peptidok lantanoida(III)komplexei***

Az utóbbi 25-30 évben a nehezen detektálható és spektroszkópiailag „néma”  $\text{Ca}^{2+}$ -iont igen elterjedten helyettesítik  $\text{Ln}^{3+}$ -ionokkal a  $\text{Ca}^{2+}$ -tartalmú fehérjékben és enzimekben szerkezeti és funkcionális vizsgálatok során. Az  $\text{Ln}^{3+}$ -ionok segítségével néhány esetben akár más fémionok peptid kötőhelyei is felderíthetők, mint például a  $\text{Fe}^{3+}$ -ion koordinációja a transferrinben, illetve a  $\text{Mg}^{2+}$ -ion helyzete a piruvát kinázban és az alkáli foszfatázban. A  $\text{Ln}^{3+}$ -ionok szintén értékes információkat nyújthatnak például a lisozimről, amelyről sokáig azt hitték, hogy nem alakít ki specifikus kölcsönhatást a  $\text{Ca}^{2+}$ -mal és más fémionokkal fiziológiai körülmények között. A  $\text{Ln}^{3+}$ -ion tartalmú fehérjék a lantanoidák tulajdonságaitól függően igen változatos kísérleti módszerekkel vizsgálhatók. Ilyen az NMR-, lumineszcencia-, ESR-, Mössbauer- és a CD-spektroszkópia, valamint a spektrofotometria<sup>120</sup>. A  $\text{Ca}^{2+}$ -tartalmú fehérjék központi fémionjának  $\text{Ln}^{3+}$ -ionnal történő helyettesítése a fehérje megváltozott funkcionalitásán keresztül választhat a  $\text{Ca}^{2+}$ -ion szerepére és kötésviszonyaira különösen a  $\text{Ca}^{2+}$  tartalmú enzimek esetében<sup>121</sup>. Ezek mellett a  $\text{Ln}^{3+}$ -ionok számára kedvezően kémiai módon módosított fehérjék és a  $\text{Ln}^{3+}$ -ionok között kialakuló szokatlanul erős kölcsönhatás tanulmányozása hasznos lehet a fémion-peptid kötésről rendelkezésünkre álló információk bővítése szempontjából<sup>120</sup>.

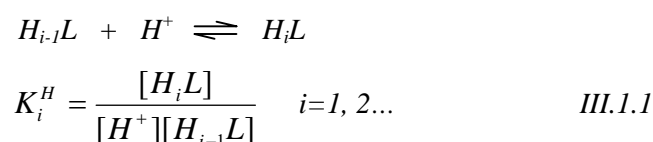
A  $\text{Ln}^{3+}$ -ionok „hard” természetéből eredően az aminosavak deprotonált karboxilátcsoportjai a fémionok elsődleges kötőhelyei. Ilyen típusú igen gyenge kölcsönhatás alakul ki a szerin hidroxilcsoportjával és a treoninnal illetve a tirozinnal is. Az aminosavak deprotonált aminocsoportjai szintén koordinációs helyei lehetnek a  $\text{Ln}^{3+}$ -ionoknak, azonban a kötés kialakulását befolyásolja a pH az amino-N protonáltságán és a fémion hidrolízisén keresztül<sup>122</sup>. *Sinha, Katzin, Gulyás* és munkatársaik megállapították, hogy az aminosavak karboxilát- és aminocsoportjai együttesen vesznek részt az  $\text{Ln}^{3+}$ -ionok koordinációjában, mivel az  $\text{Ln(III)}$ -aminosav komplexek stabilitása jóval nagyobb, mint a  $\text{Ln(III)}$ -monokarbonsav komplexeké és az aminocsoportok protonálódási állandója jelentősen függ a képződő  $\text{Ln(III)}$ -aminosav komplex stabilitási állandójától<sup>122-124</sup>. Az  $\text{Ln(III)}$ -aminosav komplexek sztöchiometriai vizsgálatai során 1:1, 1:2 és 1:3 összetételű komplexeket azonosítottak, amit az egyes aminosavak esetében az oldalláncban található egyéb donoratomok és a központi fémion mérete is jelentősen befolyásolhat<sup>122</sup>.

Számos oligopeptid  $\text{Ln(III)}$ -komplexeinek egyensúlyi és szerkezetvizsgálatai is alátámasztották, hogy a  $\text{Ca}^{2+}$ -ionhoz hasonlóan a  $\text{Ln}^{3+}$ -ionok elsődleges kötőhelye a peptidlánc C-terminális karboxilátcsoportja és egyik esetben sem megy végbe az amid-NH csoport ionizációja és koordinációja a  $\text{Ln}^{3+}$  ionhoz. Ezek a ligandumok az oldalláncban található egyéb donoratomoktól függően egy- és kétfogu ligandumként koordinálódhatnak a  $\text{Ln}^{3+}$ -ionokhoz főként 1:1 és 1:2 összetételű viszonylag kis stabilitású komplexeket képezve. A peptidláncban az N-terminális aminocsoportokhoz térbelileg közel található koordinálódó donoratomok (főleg az oldallánc karboxilátcsoportjai) elősegíthetik az aminocsoport deprotonálódását és koordinációját a  $\text{Ln}^{3+}$ -ionokhoz<sup>120</sup>.

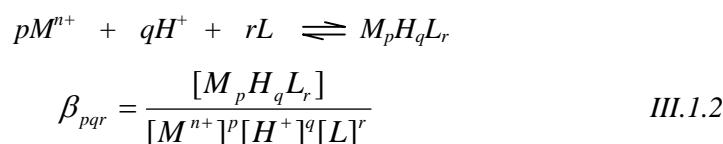
### III. ALKALMAZOTT VIZSGÁLATI MÓDSZEREK

#### III.1 A NOTA-Gly, DOTAM, DOTA-Gly és ODDA-Gly komplexek egyensúlyi vizsgálata

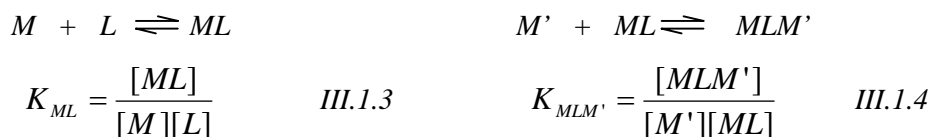
A poliaza-plikarboxilát ligandumok egyensúlyi és komplexképző sajátságainak vizsgálatára legeredményesebben alkalmazható módszer a pH-potenciometriás titrálás, mivel a szabad ligandum különböző bázicitású donorcsoportjai illetve a fémionok és a különböző mértékben protonált ligandumok között kialakuló kölcsönhatás határozza meg az oldat  $H^+$ -koncentrációját. A fémkomplex stabilitási állandójának számításához elengedhetetlen a ligandum protonálódási állandóinak ismerete, melyet a következő folyamattal és egyensúlyi állandóval írhatunk le:



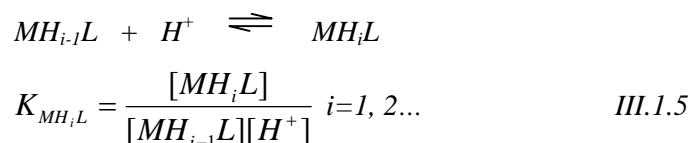
Az egy- és többmagvú, valamint a protonált komplexek képződését és stabilitási állandóit általánosan a következőképpen definiáljuk:



Gyakran használjuk az 1:1 és 2:1 (kétmagvú) fém-ligandum arányú komplexek stabilitási állandóit, melyek definíciója a következő:



A komplexek protonálódási állandója a következőképpen adható meg:



Nagy stabilitású Ln(III)-poliáza-polikarboxilát-komplexek kialakulása sok esetben pH<2 tartományban közel 100%-an végbemegy, ahol a pH-mérés meglehetősen bizonytalan az üvegelektrod kis érzékenysége miatt. Ilyen esetekben kompetíciós titrálást végzünk, melyben a komplex képződését eltoljuk a vizsgálhatóbb pH-tartományba (pH>2) segéd ligandum alkalmazásával. A kompetíciós titrálás során a segéd ligandum (L') versengésre kényszeríti a vizsgált ligandumot a fémion koordinációjáért, amely H<sup>+</sup> felszabadulással, vagy protonálódással jár:



Közvetlen pH-metriás titrálással csak a viszonylag gyors egyensúlyi folyamatok tanulmányozhatók. Számos makrociklusos fémkomplex képződése nagyon lassú és így közvetlen követésük meglehetősen nehéz. Ezekben az esetekben a titrálási pontoknak megfelelő összetételű, 1-5 cm<sup>3</sup> térfogatú különmintákat készítünk és az egyensúly beálltát követően mérjük az oldatok pH-át.

A fémionok és ligandumok UV-látható spektrofotometriás és NMR spektroszkópiás sajátosságai sok esetben lehetővé teszik a ligandumok protonálódásának és komplexképzésüknek vizsgálatát. Az UV-látható spektrofotometriás méréseket leggyakrabban az abszorbancia változást eredményező pH>12 tartományban bekövetkező ligandum protonálódási-deprotonálódási, valamint pH<2 tartományban lejátszódó komplexképződési folyamatok tanulmányozására alkalmazzuk. A jelek kémiai eltolódásának változása

alapján az említett folyamatok NMR-spektroszkópiásan is nyomonkövethetőek. Természetesen mind a két módszer eredményei alapján számított állandók lényegesen nagyobb hibával rendelkeznek, mint a pH-potenciometriás mérésekből származóak, de mind az UV-látható-spektrofotometriás, mind az NMR-spektroszkópiás adatokból következtethetünk a protonálódási egyensúlyban illetve a koordinációban résztvevő csoportokra és a komplexek oldat fázisú szerkezetére.

### III.2 A Ln(DOTAM)<sup>3+</sup> és Ln(DOTA-Gly)<sup>-</sup> komplexek kinetikai vizsgálatai

A lantanoida(III)komplexek képződési sebessége a Ce<sup>3+</sup>- és az Eu<sup>3+</sup>-ionoknál közvetlenül, fényelnyeléssel nem rendelkező Ln<sup>3+</sup>-ionok esetében közvetve „indikátor módszerrel” spektrofotometriásan határozható meg. A Gd(III)-komplexek kialakulása szintén közvetlenül vizsgálható <sup>1</sup>H-relaxometriásan abban az esetben, ha a Gd(III)-komplex vízprotonok relaxációs sebességére gyakorolt hatása eltérő a szabad Gd<sup>3+</sup>-ion hatásától. A szabad Gd<sup>3+</sup>-ionok és Gd(III)-komplexeknek a vízprotonok relaxációsebességére gyakorolt hatása arányos a koncentrációval és változása jól mérhető. A Ln(III)-komplex képződési sebességének meghatározása során pszeudo-elsőrendű feltételeket biztosítva (fém vagy ligandum fölöslegét alkalmazva, állandó pH-ra pufferelt közegben, állandó ionerősség mellett) a reakciót fémion felesleg jelenlétében a következő sebességi egyenlet írja le:

$$\frac{d[LnL]_t}{dt} = k_p [L]_t \quad III.2.1$$

ahol a  $k_p$  a pszeudo-elsőrendű sebességi állandó. A  $t$  alsó index a komplex és a ligandum teljes koncentrációját jelöli. A módszerre jellemző paraméter ( $I_t$ )  $t$  időpillantban történő mérésével határozzuk meg a  $k_p$ -t a következő jelintenzitás

növekedésére (III.2.2) és jelintenzitás csökkenésére (III.2.3) érvényes összefüggések segítségével:

$$I_t = (I_r - I_v)e^{(-k_p t)} + I_v \quad \text{III.2.2}$$

$$I_t = I_r e^{(-k_p t)} + I_v \quad \text{III.2.3}$$

Spektrofotometriás mérések során a mért  $I_t$  paraméter az abszorbancia, míg relaxometriában a vízprotonok  $I/T_I$  relaxációsebessége. Az  $I_r$  és az  $I_v$  a rekatánsok és a végtermékek abszorbanciái illetve  $I/T_I$  értékeit jelöli.

Az „indikátor módszerrel” a pH-változással járó komplexképződési folyamatot sav-bázis indikátor színváltozásán keresztül követjük úgy, hogy a gyengén pufferolt közegben kb. 0,1 pH egység változást engedünk meg, ami gyakorlatilag nem sérti a pszeudo-elsőrendű feltételeket<sup>125</sup>.

A komplexek disszociáció sebessége vizsgálatainál a fentebb leírt módszerek alkalmazhatóak. A folyamatot ebben az esetben leíró sebességi egyenlet:

$$-\frac{d[LnL]_t}{dt} = k_p [LnL]_t \quad \text{III.2.4}$$

ahol a  $k_p$  sebességi állandó meghatározása a III.2.2, vagy a III.2.3 egyenletek alapján történik. A disszociációs reakció során általában a fémiont kicserélő  $H^+$ -t alkalmazunk nagy feleslegben (0,1–1,0 M) pszeudo-elsőrendű feltételt megteremtve. A folyamat során vagy a kiindulási komplexnek, vagy a szabadrá váló fémionnak, vagy mindkettőnek a fényelnyelését illetve vízprotonok relaxációsebességére gyakorolt hatását követjük.

### **III.3 A NOTA-Gly, DOTAM, DOTA-Gly és ODDA-Gly komplexek szerkezeti vizsgálata**

A komplexek oldatfázisú szerkezeti vizsgálatára - ami itt a koordinálódó funkciós csoportokat jelenti - a II.1 fejezetben vázolt optikai és mágneses tulajdonságok alapján UV-látható spektrofotometriát és multinukleáris NMR-spektroszkópiát<sup>126</sup> alkalmaztunk. A Gd(III)-komplexek relaxációs tulajdonságaiból néhány esetben a koordinált donor atomok számára is tudunk következtetni. A ligandumok és komplexek szilárd fázisú szerkezetét, koordinációs- és kötésviszonyait egykristályaik röntgendiffrakciós vizsgálatából állapítottuk meg.

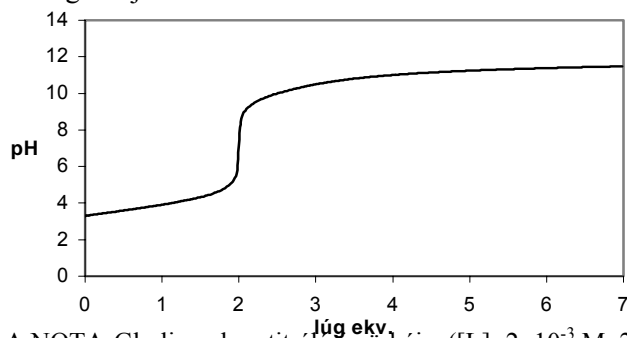
## IV. EREDMÉNYEK

### IV.1 A NOTA-Gly ligandum komplexképző sajátosságai

Az általunk vizsgált acetyl-glicinát funkciós csoport egyensúlyi és komplexképző sajátosságai nem csak NMR-tomográfiai kontrasztanyagkénti felhasználás szempontjából érdekesek, hanem a viszonylag nagyobb donortom szám a kétmagvú komplexek képződésével kapcsolatos ismereteink bővítésére is lehetőséget nyújt. A NOTA-Gly ligandum összesen 9 donortomot tartalmaz, (3 gyűrű amin-N, 3 karboxilát-O és 3 amid-O vagy 3 amid-N<sup>-</sup> (az amid-NH-csoport deprotonálódását követően) amelyek részt vehetnek a fémion koordinációjában. Ezt a ligandumot tekinthetjük úgy is, hogy a 9 tagú triaza makrociklus 3 N-atomjára 3 acetyl-glicinát funkciós csoportot vittünk fel, de úgy is, hogy 3 diglicin egységet kapcsoltunk össze makrociklussá terminális amin-NH<sub>2</sub>-csoportjaikon keresztül. A ligandum koordinációs kémiai sajátosságai döntik el, hogy melyik szemlélet a helyes.

#### IV.1.1 NOTA-Gly ligandum egyensúlyi vizsgálata

A NOTA-Gly ligandum egyensúlyi sajátosságainak megismeréséhez meghatároztuk számos fémkomplex stabilitási állandóját. A fémkomplexek stabilitási állandóinak számításához elengedhetetlen a protonálódási állandók ismerete, amiket közvetlen pH-potenciometriás titrálással határoztuk meg. A ligandum titrálási görbéje a IV.1.1. ábrán látható.



IV.1.1 ábra A NOTA-Gly ligandum titrálási görbéje. ([L]= $2 \times 10^{-3}$  M; 25 °C; 0,1 M KCl)

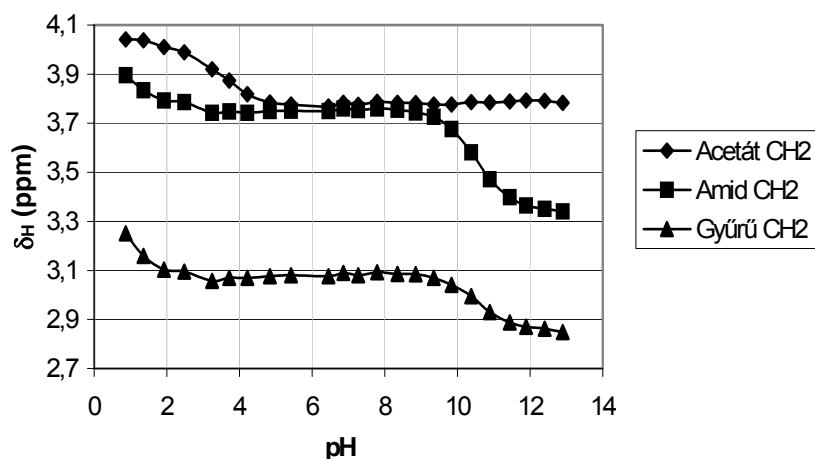
A titrálási adatokból (180  $V_{\text{lóg-pH}}$  adatpár) számított protonálódási állandókat a IV.1.1. táblázatban tüntettük fel:

**IV.1.1 táblázat** A NOTA-Gly ligandum protonálódási állandói.

Ligandumok	NOTA <sup>1127l</sup>	NOTA-Gly
Közeg	0,1M NaNO <sub>3</sub>	0,1M KCl
$\log K_1^H$	11,41	10,17 (0,05)
$\log K_2^H$	5,74	4,08 (0,09)
$\log K_3^H$	3,16	3,58 (0,08)
$\log K_4^H$	1,71	2,58 (0,06)

A kapott protonálódási állandókkal kapcsolatban feltűnő, hogy a  $\log K_1^H$  és a  $\log K_2^H$  értékek kisebbek, míg a  $\log K_3^H$  és a  $\log K_4^H$  nagyobbak, mint az acetát analóg NOTA esetében.

A NOTA-Gly ligandum protonálódási sorrendjét <sup>1</sup>H-NMR-es vizsgálatokkal határoztuk meg. A gyűrű-, acetát- és amid-metilén protonok kémiai eltolódásának változását tüntettük fel a IV.1.2. ábrán a pH függvényében:



**IV.1.2 ábra** A NOTA-Gly ligandum <sup>1</sup>H-NMR titrálási görbéje.

Az első protonálódási állandó ( $\log K_1^H$ ) a gyűrű egyik amin-N-jének protonálódásához rendelhető hasonlóan a NOTA-hoz<sup>127</sup>. Ugyanakkor a ligandumra belépő második proton a pH csökkenésével először csak az acetát-metilén protonok kémiai eltolódásában okoz változást, ami arra utal, hogy a második proton a NOTA-val szemben nem a gyűrű-N-hez kapcsolódik, hanem nagyrészt az egyik karboxilátcsoporthoz ill. részben a gyűrű-N-hez is. A harmadik proton részben egy gyűrű-N-hez és egy acetátcsoporthoz kapcsolódik, ami hasonlóan az első protonhoz a gyűrű- és az amid-metilén protonok kémiai eltolódását változtatja meg. A további protonálódási állandók a karboxilátcsoportok protonálódási folyamatait jellemzik. A NOTA-Gly ligandum gyűrű-N-nek kisebb bázicitását két független folyamat együttesen eredményezi. Az egyik az „induktív-effektus”, ami az amidcsoport elektron szívó hatásának köszönhető és csökkenti a gyűrű N-ek bázicitását. Ezt valamelyest kompenzálja az 5-tagú, viszonylag gyenge H-kötés kialakulása, ami a töltéssel nem rendelkező amid oxigén és a protonált gyűrű-N között jöhet létre. Az említett folyamatokra még hatással van a makrociklusban található amin-N-ek nemkötő elektornpárjainak egymáshoz viszonyított helyzete is. Az NOTA-Gly ligandum esetében az „induktív effektus” a meghatározó, míg a NOTA ligandumnál a két folyamat együttesen eredményezi a gyűrű-N-nek nagyobb bázicitását<sup>127</sup>. Az NOTA-Gly ligandum acetát csoportjainak nagyobb protonálódási állandóit a viszonylag hosszabb oldallánc és a szomszédos elektronküldő metilén csoport eredményezik. A  $\log K_1^H$ ,  $\log K_2^H$  és  $\log K_3^H$  értékek alapján azt mondhatjuk, hogy a gyűrű-N atomok bázicitása lényegesen kisebb, míg a karboxilát csoportok bázicitása jóval nagyobb, mint az acetát analóg NOTA hasonló donoresoportjaié. Ez a szokatlan viselkedés mindenféleképpen arra utal, hogy az acetyl-glicin funkciós csoportot tartalmazó triaza-makrociklus ligandum rokonságot mutat a diglicinnel. A karboxilát csoport acetyl-glicinát funkciós csoporttal való helyettesítése a gyűrű-N-ek bázicitását csökkenti (kb. egy  $\log K$  egységgel), míg a karboxilátok bázicitását megnöveli.

A NOTA-Gly ligandum néhány fémionnal képzett komplexének stabilitási állandóit szintén közvetlen pH-potenciometriás titrálással határoztuk meg. Mindegyik esetben az 1:1 fém-ligandum arányú komplexek képződése a pH=2-6 tartományban játszódott le és elegendően gyorsan a közvetlen titráláshoz. A viszonylag nagyobb acetyl-glicinát oldallánc karboxilátcsoportjai fontos szerepet töltenek be komplexképzéskor a fémion koordinációjában, azonban az  $M^{n+}$  ( $n=2, 3$ ) fémionnak a makrociklusos „kalitkába” való bekerülésével megszűnik a közvetlen fémion-karboxilát kötés, ami számos protonált komplex képződésére ad lehetőséget. A NOTA-Gly komplexek stabilitási állandóit a IV.1.2. táblázat tartalmazza.

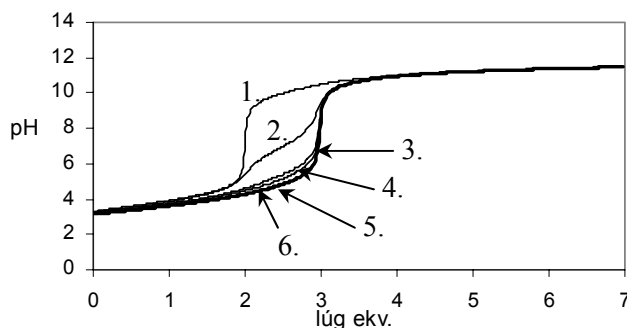
IV.1.2 táblázat A NOTA-Gly komplexek stabilitási- és protonálódási-állandói.

	NOTA <sup>[127]</sup>	NOTA-Gly		
	0,1 M NaNO <sub>3</sub>	0,1 M KCl/KNO <sub>3</sub>		
	log $K_{ML}$	log $K_{ML}$	log $K_{MHL}$	log $K_{MH_2L}$
<b>Mg<sup>2+</sup></b>	9,69	2,25 (0,06)	–	–
<b>Ca<sup>2+</sup></b>	8,92	5,70 (0,04)	7,09 (0,09)	3,53 (0,09)
<b>Mn<sup>2+</sup></b>	14,3	8,19 (0,01)	4,61 (0,02)	3,34 (0,08)
<b>Cu<sup>2+</sup></b>	21,63	13,00 (0,03)	3,39 (0,03)	3,29 (0,05)
<b>Zn<sup>2+</sup></b>	18,3	12,61 (0,03)	3,44 (0,02)	3,37 (0,05)
<b>Pb<sup>2+</sup></b>	–	11,77 (0,02)	3,63 (0,03)	3,36 (0,02)
<b>Cd<sup>2+</sup></b>	16,0	11,65 (0,03)	3,73 (0,04)	3,40 (0,02)
<b>La<sup>3+</sup></b>	13,5 <sup>[128]</sup>	6,46 (0,04)	6,09 (0,08)	4,05 (0,09)
<b>Nd<sup>3+</sup></b>	13,1 <sup>[128]</sup>	8,62 (0,01)	4,60 (0,01)	3,25 (0,06)
<b>Gd<sup>3+</sup></b>	14,3 <sup>[128]</sup>	9,26 (0,04)	4,42 (0,04)	3,35 (0,09)
<b>Er<sup>3+</sup></b>	15,2 <sup>[128]</sup>	9,05 (0,02)	4,18 (0,02)	3,17 (0,09)
<b>Lu<sup>3+</sup></b>	15,6 <sup>[128]</sup>	8,33 (0,01)	4,86 (0,01)	3,37 (0,03)

A NOTA-Gly átmenetifém és alkáliföldfém komplexei jóval kisebb stabilitásúak, mint a megfelelő NOTA komplexek, mivel a fémionok a 3 gyűrű-N

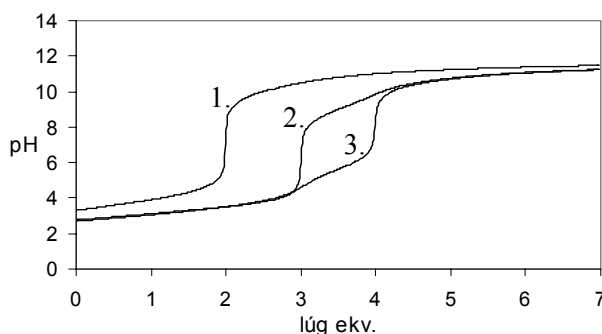
és a töltéssel nem rendelkező 3 amid oxigén által határolt koordinációs kalitkában helyezkednek el szemben a NOTA-val, ahol a 3 gyűrű N és a 3 egyszeres negatív töltésű karboxilát csoport vesz részt a fémion koordinációjában<sup>127</sup>. A Cu(NOTA)<sup>-</sup> és Zn(NOTA)<sup>-</sup> komplexek stabilitása között 3 nagyságrendnyi eltérés van. Ezzel szemben a Cu<sup>2+</sup>-, Zn<sup>2+</sup>-, Pb<sup>2+</sup>- Cd(NOTA-Gly)<sup>-</sup> komplexek stabilitása csak kis mértékben tér el egymástól. A Cu(NOTA)<sup>-</sup> komplexben 6 donortom (3 amin-N, 3 karboxilát-O) vesz részt a koordinációban, addig a Cu(NOTA-Gly)<sup>-</sup> komplexben nagy a közeli donortomok száma (3 amin-N, 3 amid-N, 3 amid-O, 3 karboxilát-O). A Zn<sup>2+</sup>, Cd<sup>2+</sup> és az Pb<sup>2+</sup> ionok számára a NOTA-Gly komplexekben a 6-os koordináció a kedvező, de a Cu<sup>2+</sup> ionok számára nem. A Ln(NOTA-Gly) komplexek stabilitási állandói a La<sup>3+</sup>-tól a Gd<sup>3+</sup>-ig egyenletesen nőnek, majd azt követően kis mértékben csökkennek. A képződő NOTA-Gly komplexek stabilitása aránylag kicsi és a Mn<sup>2+</sup>- és a Ln<sup>3+</sup>- ionok esetében nem tudják meggátolni a fémionok hidrolízisét.

A NOTA-Gly komplexek protonálódási állandói eléggé függnének a központi fémion minőségétől. A Cu<sup>2+</sup>-, Zn<sup>2+</sup>-, Pb<sup>2+</sup>- és Cd(NOTA-Gly)<sup>-</sup> komplexek mindkét protonálódási állandója az acetátcsoporthoz, addig a Ca<sup>2+</sup>-, Mn<sup>2+</sup>- és a Ln(NOTA-Gly) komplexek esetében az első, nagyobb érték egy bázikusabb amin-N-hez, míg a második egy acetátcsoporthoz protonálódásához rendelhető. A NOTA-Gly komplexek viszonylag kisebb protonálódási állandói nem különböznek jelentékenyen, ami arra utal, hogy a karboxilátcsoporthoz protonálódnak egymástól függetlenül és ezeknek kicsi a szerepe a komplex képzésben. A Ln(NOTA-Gly) komplexek titrálási görbéi a IV.1.3. ábrán láthatók.



**IV.1.3 ábra** A NOTA-Gly ligandum titrálási görbéi  $\text{Ln}^{3+}$  távollétében (1.) és ekvivalens  $\text{Ln}^{3+}$  jelenlétében:  $\text{La}^{3+}$  (2.),  $\text{Lu}^{3+}$  (3.),  $\text{Nd}^{3+}$  (4.),  $\text{Er}^{3+}$  (5.),  $\text{Gd}^{3+}$  (6.)  
 ( $[\text{L}]=[\text{La}^{3+}]=[\text{Nd}^{3+}]=[\text{Gd}^{3+}]=[\text{Er}^{3+}]=[\text{Lu}^{3+}]=2 \times 10^{-3}$  M; 25 °C; 0,1 M KCl).

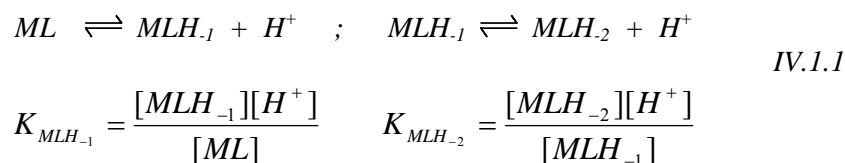
A NOTA-Gly,  $\text{Cu}(\text{NOTA-Gly})^-$  és  $\text{Zn}(\text{NOTA-Gly})^-$  komplexek titrálási görbéit a IV.1.4. ábrán tüntettük fel:



**IV.1.4 ábra** A NOTA-Gly ligandum (1.), 1:1 Zn-L (2.) és 1:1 Cu-L (3.) összetételű rendszerek titrálási görbéi. ( $[\text{L}]=[\text{Zn}^{2+}]=[\text{Cu}^{2+}]=2 \times 10^{-3}$  M; 25 °C; 0,1 M KCl)

A titrálási görbék alapján megállapítható, hogy a  $\text{Cu}^{2+}$ -ion esetében a  $\text{pH}=4-6$  tartományban, míg a  $\text{Zn}^{2+}$ -ionnál a  $\text{pH}=8-10$  tartományban egy extra ligandum ekvivalens lúg fogyás figyelhető meg a szabad ligandumhoz képest, amihez hasonló folyamatot tapasztaltunk a 1:1  $\text{Cd}^{2+}$ -NOTA-Gly rendszer titrálásakor is. A  $\text{Cu}(\text{II})$ -peptid típusú komplexek képződésére jellemző az amid-NH csoportok deprotonálódása és koordinációja a  $\text{pH}=4-6$  tartományban, ellentétben a  $\text{Zn}(\text{II})$ -peptid komplexekkel, ahol a  $\text{Zn}^{2+}$ -ion hidrolitikus hajlama kerül inkább előtérbe a

pH=9-11 tartományban. Ez a viselkedés mindenképpen a NOTA-Gly ligandum diglicinnel mutatott hasonlóságára utal. A deprotonálódások a IV.1.1 folyamatokkal és egyensúlyi állandókkal írhatók le és a titrálási görbékből számított deprotonálódási állandókat a IV.1.3 táblázat tartalmazza.



**IV.1.3 táblázat** A Cu<sup>2+</sup>-, Zn<sup>2+</sup>- és Cd(NOTA-Gly)<sup>-</sup> komplexek deprotonálódási állandói

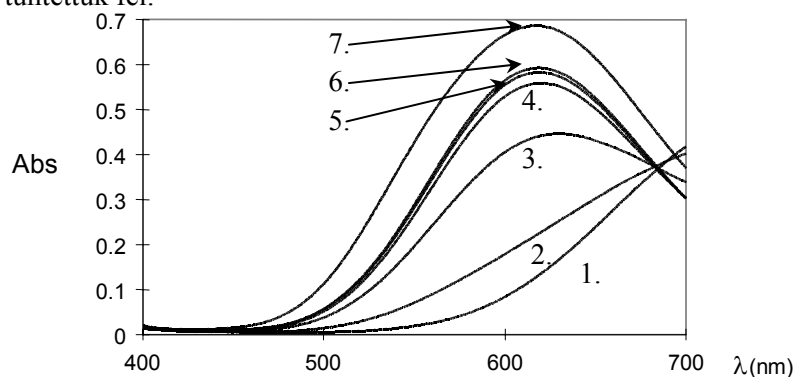
	<i>logK<sub>MLH-1</sub></i>	<i>LogK<sub>MLH-2</sub></i>
<b>Cu<sup>2+</sup></b>	5,60 (0,03)	*10, 91 (0,03)
<b>Zn<sup>2+</sup></b>	*9,02 (0,04)	*11,08 (0,05)
<b>Cd<sup>2+</sup></b>	*10,17 (0,04)	*11,55 (0,04)

\*vegyes ligandumú hidroxokomplexek képződése

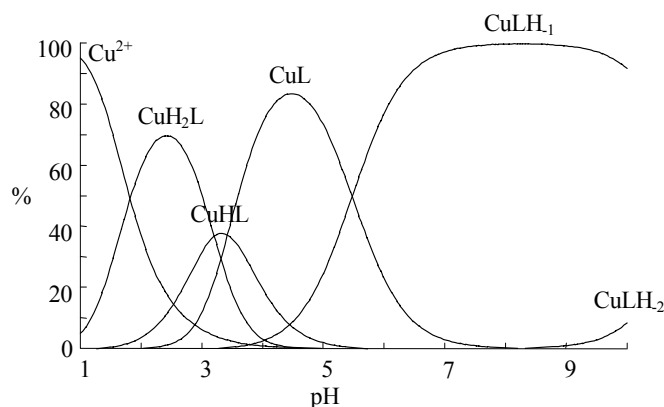
A Cu(NOTA-Gly)<sup>-</sup> komplex első deprotonálódási állandója az amid-NH-csoport ionizációjához, a második egy OH<sup>-</sup>-csoport koordinációjához rendelhető. A Zn<sup>2+</sup>- és Cd(NOTA-Gly)<sup>-</sup> komplexek mindkét deprotonálódási állandója OH<sup>-</sup>-csoportok koordinációjához és így vegyes hidroxokomplexek képződéséhez köthetőek.

UV-spektrofotometriás vizsgálataink eredményei alátámasztották, hogy a Cu(NOTA-Gly)<sup>-</sup> pH=4-6 tartományban bekövetkező lúg fogyása az amid-NH-csoport deprotonálódásához rendelhető, mivel a Cu(NOTA-Gly)<sup>-</sup> komplex d-d elektron átmeneteihez tartozó abszorpciós sávjának maximuma eltolódik ≈700 nm-ről 607 nm-re. Ez a „kék”-eltolódás kb. azonos a Cu(II)-oligopeptid komplexek amid-NH deprotonálódásakor és koordinációjakor tapasztalható 30-40 nm-es eltolódással<sup>14</sup>. Ugyanakkor a Cu(EDTA)<sup>2-</sup> abszorpciós sávjának a maximuma 720-730 nm körül van, míg a Cu(EDDA) komplexé 680 nm-nél található, ami arra utal,

hogy a karboxilátcsoport axiális pozícióba történő koordinációja egy gyenge „vörös”-eltolódást eredményez, így a  $\text{Cu}(\text{NOTA-Gly})^-$  spektrumában bekövetkező változás az amid-NH protonok disszociációjával magyarázható. A  $\text{Cu}(\text{NOTA-Gly})^-$  komplex második deprotonálódási folyamatának bekövetkeztével a d-d átmenetnek megfelelő abszorpciós sáv maximuma változatlan marad csak a sáv intenzitása növekszik meg. Amennyiben újabb amid-NH-csoport deprotonálna és koordinálna a  $\text{Cu}^{2+}$  központi fémionhoz további „kék”-eltolódást kellene tapasztalnunk (II.3. fejezet), így ez a folyamat csakis vegyes ligandumú  $\text{Cu}(\text{NOTA-Gly-hidroxo})$  komplex képződéséhez rendelhető. Az 1:1  $\text{Cu}^{2+}$ -NOTA-Gly rendszer abszorpciós spektrumait és eloszlási diagramját a IV.1.5 és IV.1.6 ábrákon tüntettük fel.

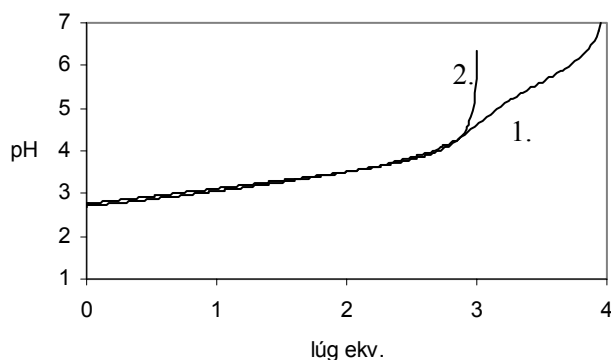


**IV.1.5 ábra** Az 1:1  $\text{Cu}^{2+}$ -NOTA-Gly rendszer abszorpciós spektrumai különböző pH értékeknél. ((1.) pH=3,03; (2.) pH=4,05; (3.) pH=5,04; (4.) pH=6,02; (5.) pH=7,10; (6.) pH=8,04; (7.) pH=11,30;  $[\text{L}]=[\text{Cu}^{2+}]=5 \times 10^{-3}$  M))



**IV.1.6 ábra** Az 1:1  $\text{Cu}^{2+}$ -NOTA-Gly rendszer eloszlási diagramja ( $[\text{L}]=[\text{Cu}^{2+}]=5 \times 10^{-3}$  M)

Feltételezhető, hogy a viszonylag hosszabb és több donoratomot tartalmazó acetyl-glicinát funkciós csoport lehetőséget biztosít stabilis kétmagvú komplexek képződésére. Az egyensúlyi vizsgálatok során a  $\text{Zn}(\text{NOTA-Gly})^-$  és a  $\text{Cu}(\text{NOTA-Gly})^-$  komplexek „kétmagvúsodását” tanulmányoztuk  $\text{Gd}^{3+}$ -ion jelenlétében. A kétmagvú komplexek stabilitási állandóit közvetlen pH-potenciometriás titrálással határoztuk meg, mivel a  $\text{Gd}(\text{NOTA-Gly})^-$  komplex stabilitási állandója kb. három nagyságrenddel kisebb, mint a  $\text{Cu}(\text{NOTA-Gly})^-$  és  $\text{Zn}(\text{NOTA-Gly})^-$  komplexeké, így kompetíciós reakció kialakulására nincs lehetőség. Az 1:1:1 arányú  $\text{Gd}^{3+}$ - $\text{Cu}^{2+}$ -NOTA-Gly és  $\text{Gd}^{3+}$ - $\text{Zn}^{2+}$ -NOTA-Gly rendszerek titrálási görbéi a IV.1.7 ábrán láthatók.



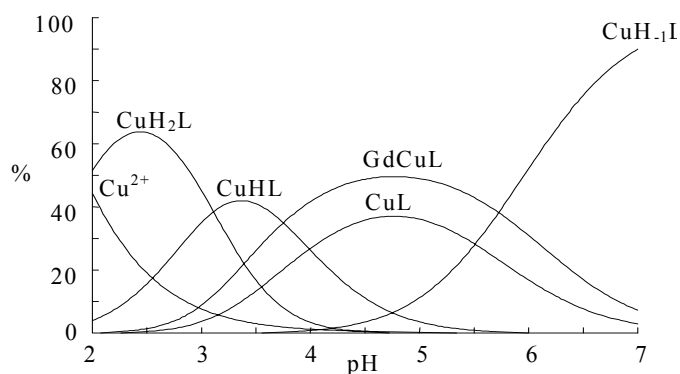
**IV.1.7 ábra** Az 1:1:1 arányú  $\text{Cu}^{2+}$ - $\text{Gd}^{3+}$ -NOTA-Gly (1.) és  $\text{Zn}^{2+}$ - $\text{Gd}^{3+}$ -NOTA-Gly (2.) rendszerek titrálási görbéi ( $[\text{L}]=[\text{Zn}^{2+}]=[\text{Cu}^{2+}]=[\text{Gd}^{3+}]=2 \times 10^{-3}$  M; 25 °C; 0,1 M KCl)

A kétmagvú komplex kialakulásának vizsgálatára a protonált  $\text{Cu}(\text{NOTA-Gly})^-$  és  $\text{Zn}(\text{NOTA-Gly})^-$  komplexek protonjai és a  $\text{Gd}^{3+}$ -ion közötti kompetíciós reakció pH-metriás követése nyújtott lehetőséget, amit a következő III.1.4 folyamattal és egyensúlyi állandóval írhatunk le. A  $\text{Gd}^{\text{III}}[\text{Cu}^{\text{II}}(\text{NOTA-Gly})]^{2+}$  és  $\text{Gd}^{\text{III}}[\text{Zn}^{\text{II}}(\text{NOTA-Gly})]^{2+}$  kétmagvú komplexek stabilitási állandóit a IV.1.4. táblázat tartalmazza:

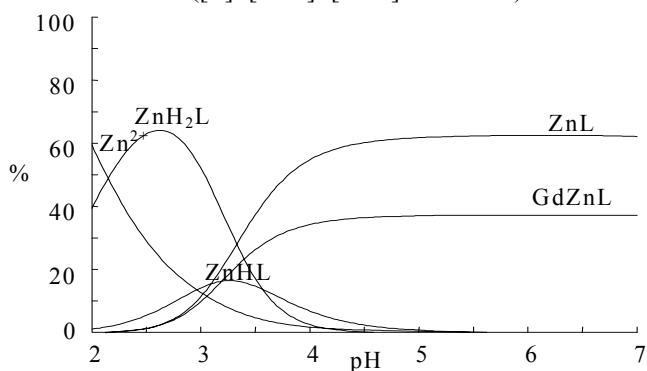
**IV.1.4 táblázat** A  $\text{Gd}^{\text{III}}[\text{Cu}^{\text{II}}(\text{NOTA-Gly})]^{2+}$  és  $\text{Gd}^{\text{III}}[\text{Zn}^{\text{II}}(\text{NOTA-Gly})]^{2+}$  kétmagvú komplexek stabilitási állandói (25 °C; 0,1 M KCl)

	$\text{Gd}^{\text{III}}[\text{Cu}^{\text{II}}(\text{NOTA-Gly})]^{2+}$	$\text{Gd}^{\text{III}}[\text{Zn}^{\text{II}}(\text{NOTA-Gly})]^{2+}$
$\log K_{MLGd}$	2,66 (0,03)	2,68 (0,05)

Az 1:1:1 arányú  $\text{Cu}^{2+}$ - $\text{Gd}^{3+}$ -NOTA-Gly és  $\text{Zn}^{2+}$ - $\text{Gd}^{3+}$ -NOTA-Gly rendszerek eloszlási diagramjai a IV.1.8 és IV.1.9 ábrán láthatók:



**IV.1.8 ábra** Az 1:1:1 arányú  $\text{Cu}^{2+}$ - $\text{Gd}^{3+}$ -NOTA-Gly rendszer eloszlási diagramja  
 ( $[\text{L}]=[\text{Cu}^{2+}]=[\text{Gd}^{3+}]=2 \times 10^{-3} \text{ M}$ )

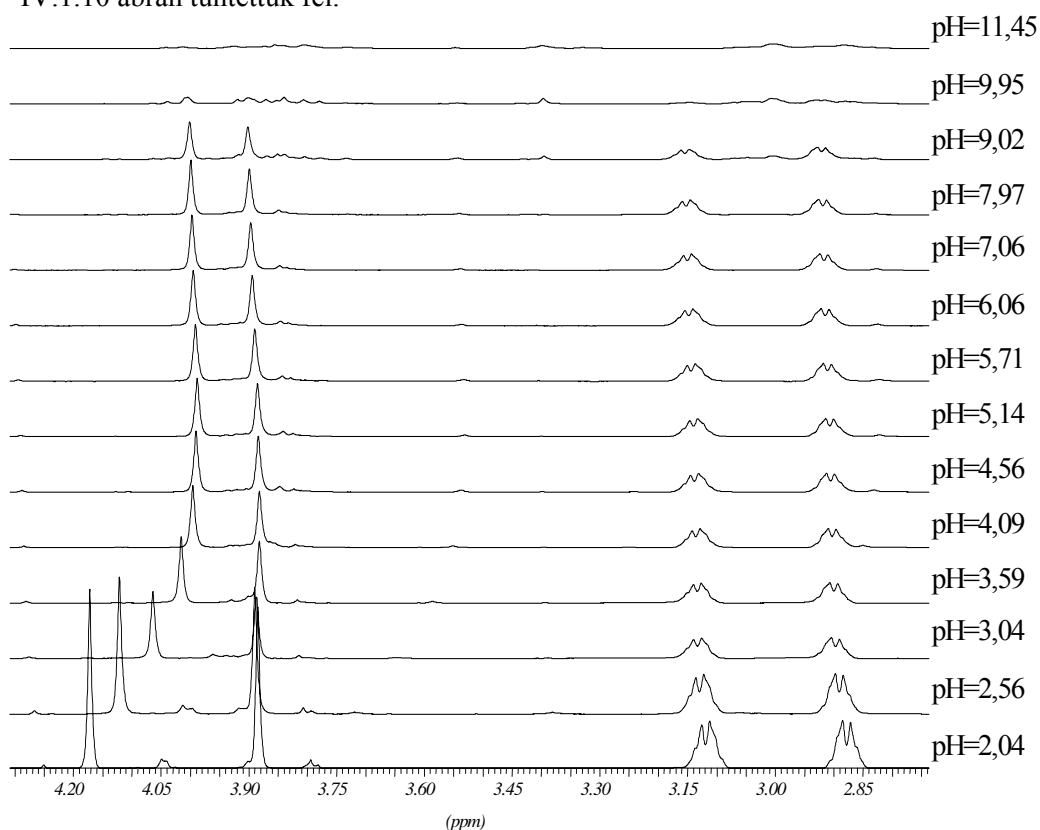


**IV.1.9 ábra** Az 1:1:1 arányú  $\text{Zn}^{2+}$ - $\text{Gd}^{3+}$ -NOTA-Gly rendszer eloszlási diagramja  
 ( $[\text{L}]=[\text{Zn}^{2+}]=[\text{Gd}^{3+}]=2 \times 10^{-3} \text{ M}$ )

A kétmagvú komplexek stabilitási állandói viszonylag kicsik és csak kis százalékban képződnek (30-40%) a  $\text{pH}=4-5$  tartományban.

#### IV.1.2 A $Zn(NOTA-Gly)^-$ komplex $^1H$ -NMR spektroszkópiás vizsgálata

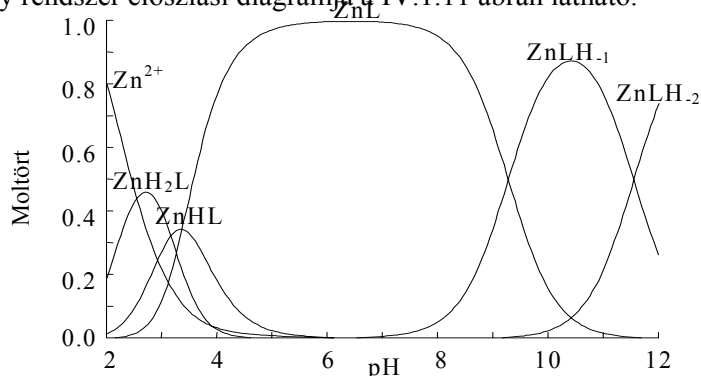
A NOTA-Gly komplexek koordinációs viszonyainak felderítésére elvégeztük a  $Zn^{2+}$ -NOTA-Gly rendszer  $^1H$ -NMR spektroszkópiás vizsgálatát. A  $Zn^{2+}$ -NOTA-Gly rendszer különböző pH-kon felvett  $^1H$ -NMR spektrumait a IV.1.10 ábrán tüntettük fel.



**IV.1.10 ábra** Az 1:1 arányú  $Zn^{2+}$ -NOTA-Gly rendszer  $^1H$ -NMR spektruma különböző pH értékeken.

A  $Zn(NOTA-Gly)^-$  komplex  $^1H$ -NMR spektrumában 3,2 - 2,8 ppm tartományban található két viszonylag széles multipllett, amelyek helyzete és multiplicitása közel változatlan marad a pH=2,3 – 9,0 tartományban. Ezek a jelek ( $\delta_H=3,10$  ppm;  $\delta_H=2,86$  ppm) a makrociklus ekvatoriális és axiális metilén (N- $CH_2$ - $CH_2$ -N)

protonjaihoz rendelhetők. A makrociklus metilén protonjainak ekvivalenciája a komplex képződésével megszűnik, mivel a gyűrű amin nitrogének koordinációja meggátolja a metilénsoportok szabad rotációját és egy-egy proton a geminális és vicinális protonokkal csatolva eredményezi a multipllett jeleket. A  $\text{Zn}(\text{NOTA-Gly})^-$  komplex  $^1\text{H-NMR}$  spektrumában a 4,2 – 4,0 ppm tartományban a karboxilátsoportok ( $-\text{CH}_2-\text{COO}^-$ ), míg a 3,9 – 3,8 ppm tartományban az amidsoportok metilén ( $\text{N-CH}_2-\text{CONH-}$ ) protonjainak jele található. Az acetát metilén ( $-\text{CH}_2-\text{COO}^-$ ) protonok jele a pH növekedésével eltolódik a nagyobb térerő (kisebb ppm) irányában, miközben az amid ( $\text{N-CH}_2-\text{CONH-}$ ) metilén protonok kémiai eltolódása alig változik savas pH (2,3-5,0) tartományban. A  $\text{Zn}(\text{NOTA-Gly})^-$  komplex két protonálódási állandója ( $\log K_{\text{ZnHL}}=3,44$ ;  $\log K_{\text{ZnHL}_2}=3,37$ ) található ebben a pH-tartományban, amelyek a jelek kémiai eltolódás változása alapján a karboxilátsoportok protonálódásához rendelhetők. A jelek savas tartományban bekövetkező kémiai eltolódás változása egyben indikálja, hogy a  $\text{Zn}^{2+}$ -ion koordinációjában a amid-O-ek és a gyűrű amin-N-ek vesznek részt. A pH további növelésével nem következik be változás a  $\text{Zn}(\text{NOTA-Gly})^-$   $^1\text{H-NMR}$  spektrumában, ami összhangban van a pH-metriás mérésekből számított adatokkal, mivel a pH=5-8 tartományban csak a teljesen deprotonált  $\text{Zn}(\text{NOTA-Gly})^-$  komplex van jelen közel 100%-ban az oldatban. A 1:1 összetételű  $\text{Zn}^{2+}$ -NOTA-Gly rendszer eloszlási diagramja a IV.1.11 ábrán látható.

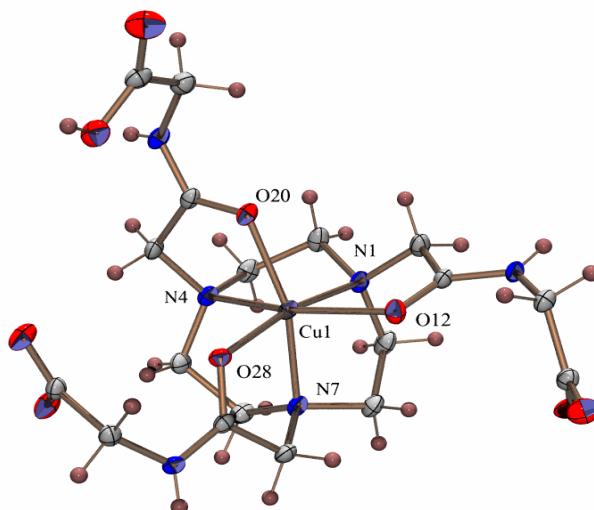


IV.1.11 ábra Az 1:1 arányú  $\text{Zn}^{2+}$ -NOTA-Gly rendszer eloszlási diagramja  
 ( $[\text{L}]=[\text{Zn}^{2+}]=[\text{Gd}^{3+}]=2 \times 10^{-3} \text{ M}$ )

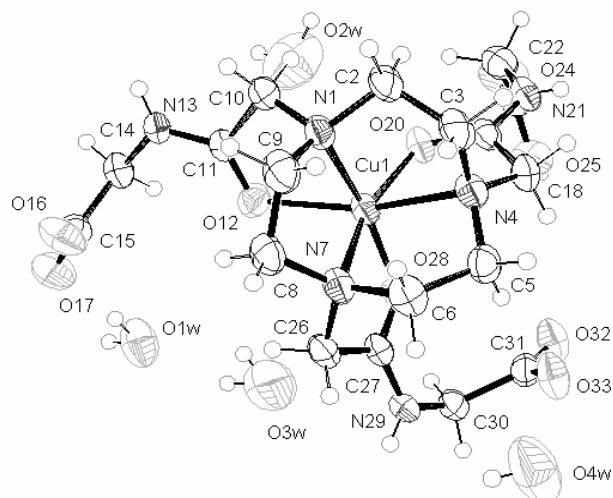
Enyhén lúgos körülmények között (pH=8-9) elkezdődik a  $\text{Zn}(\text{NOTA-GlyH}_1)^{2-}$  összetételű részecske képződése, ami feltételezhetően egy  $\text{OH}^-$ -ion koordinációjához és egyben vegyes ligandumú hidroxó-komplex képződéséhez rendelhető, mivel a  $\text{Zn}(\text{NOTA-Gly})^-$  komplex  $^1\text{H-NMR}$  spektruma összetetté és nehezen értelmezhetővé válik. A spektrumban mind a karboxilát ( $-\text{CH}_2\text{-COO}^-$ ), mind az amid ( $\text{N-CH}_2\text{-CONH-}$ ), mind a gyűrű ( $\text{N-CH}_2\text{-CH}_2\text{-N}$ ) metilén protonok jele felhasad és a pH további növelésével ez a felhasadás tovább fokozódik, ami feltehetően a hidroxid koordináció okozta szimmetria változással magyarázható. A  $\text{Zn}(\text{NOTA-GlyH}_2)^{3-}$  összetételű részecske képződése újabb  $\text{OH}^-$ -ion koordinációjával van összefüggésben, mivel a  $[\text{OH}^-]$  növekedésével elkezdődik  $\text{Zn}^{2+}$ -ion hidrolízise és a  $\text{Zn}(\text{OH})_2$  fehér csapadék jelenik meg az oldatban.

#### IV.1.3 A $\text{Cu}(\text{HNOTA-Gly})$ komplex röntgendiffrakciós szerkezetvizsgálata

A  $\text{Cu}(\text{HNOTA-Gly})$  komplex (pH=4,0) vizes oldatából etanol lassú diffúziójával  $\text{Cu}(\text{HNOTA-Gly})\cdot 4\text{H}_2\text{O}$  összetételű egykristályt állítottunk elő, melynek szerkezetét röntgendiffrakciós vizsgálatokkal határoztuk meg. A  $\text{Cu}(\text{HNOTA-Gly})$  komplex szilárd fázisú szerkezete a IV.1.12-13 ábrákon láthatók.



IV.1.12 ábra A  $\text{Cu}(\text{HNOTA-Gly})\cdot 4\text{H}_2\text{O}$  komplex szilárd fázisú röntgendiffrakciós szerkezete



**IV.1.13 ábra** A  $\text{Cu}(\text{HNOTA-Gly})\cdot 4\text{H}_2\text{O}$  komplex szilárd fázisú röntgendiffrakciós szerkezete

A központi  $\text{Cu}^{2+}$ -ionhoz torzult oktaéderez elrendezésben koordinálódik a három makrociklusos amin N és a három amid O atom (az N1, N4, N7, O12, O20 és az O28 donoratomok). A kötésszögeket és távolságokat a IV.1.5 táblázatban tüntettük fel.

**IV.1.5 táblázat** A  $\text{Cu}(\text{HNOTA-Gly})\cdot 4\text{H}_2\text{O}$  komplex szilárd fázisú kötéstávolság és kötésszög értékei (számozásd lásd IV.1.12-13 ábrákon)

Kötéstávolságok (Å)		Kötésszögek (°)	
<b>Cu1 – N1</b>	2,042 (0,003)	<b>N1 – Cu1 – N7</b>	86,2 (0,01)
<b>Cu1 – N4</b>	2,210 (0,003)	<b>N1 – Cu1 – O20</b>	99,1 (0,01)
<b>Cu1 – N7</b>	2,079 (0,003)	<b>N1 – Cu1 – O12</b>	79,4 (0,01)
<b>Cu1 – O12</b>	2,185 (0,002)	<b>O20 – Cu1 – O12</b>	100,6 (0,01)
<b>Cu1 – O20</b>	2,059 (0,002)	<b>N1 – Cu1 – N4</b>	86,0 (0,01)
<b>Cu1 – O28</b>	1,980 (0,002)	<b>N7 – Cu1 – N4</b>	84,0 (0,01)
<b>C19 – O20</b>	1,255 (0,004)	<b>O12 – Cu1 – N4</b>	162,3 (0,01)
<b>C23 – O24</b>	1,201 (0,005)	<b>C19 – O20 – Cu1</b>	113,4 (0,02)
<b>C23 – O25</b>	1,292 (0,005)	<b>C27 – N29 – C30</b>	120,2 (0,03)
<b>C31 – O32</b>	1,236 (0,004)	<b>C19 – N21 – C22</b>	123,6 (0,03)
<b>C31 – O33</b>	1,240 (0,004)		
<b>C15 – O16</b>	1,236 (0,004)		
<b>C15 – O17</b>	1,241 (0,004)		
<b>C19 – N21</b>	1,318 (0,004)		

A kötéstávolság és kötésszög értékek alátámasztották, hogy az említett donoratomok torzult oktaédes szimétriával kapcsolódnak a  $\text{Cu}^{2+}$ -ionhoz és ilyen körülmények között (pH=4,0) az egyik karboxilátsoprot protonálva van, amit a különbség elektron sűrűség térkép alapján lehetett beazonosítani. A szerkezeti illesztések során erős szilárd fázisú intra- és intermolekuláris H-kötést feltételezve kiderült, hogy az említett proton az O25 donorcsoportot protonálva lokalizálódik, amikor a C-O kötéstávolság (1,293 Å) lényegesen nagyobb az egyéb C-O kötéstávolságoktól. A szerkezetet erős intra- és intermolekuláris H-kötések kiterjedt hálózata stabilizálja. A H-kötések kötéstávolságait és kötésszögeit IV.1.6 táblázatban foglaltuk össze.

**IV.1.6 táblázat** A H-kötések kötéstávolságai és kötésszögei  $\text{Cu}(\text{HNOTA-Gly})\cdot 4\text{H}_2\text{O}$  komplexben

<b>D – H...A</b>	<b>D – H (Å)</b>	<b>H...A (Å)</b>	<b>D...A (Å)</b>	<b>D – H...A (°)</b>
O1W – H11...O32 <sup>i</sup>	0,84 (0,02)	2,06 (0,02)	2,898 (0,004)	177 (6)
O1W – H21...O17	0,836 (0,019)	1,91 (0,02)	2,742 (0,004)	171 (5)
O2W – H12...O24 <sup>ii</sup>	0,85 (0,02)	2,58 (0,07)	2,992 (0,008)	111 (6)
O2W – H22...O4W <sup>iii</sup>	0,862 (0,019)	1,82 (0,02)	2,677 (0,007)	174 (5)
O3W – H23...O1W	0,898 (0,018)	1,97 (0,02)	2,841 (0,007)	162 (4)
O3W – H13...O24 <sup>v</sup>	0,86 (0,02)	2,61 (0,07)	3,017 (0,008)	110 (6)
O3W – H13...N29	0,86 (0,02)	2,66 (0,06)	3,111 (0,007)	113,7 (5,0)
O4W – H14...O33	0,81 (0,02)	2,00 (0,03)	2,734 (0,005)	151 (5)
O4W – H24...O17 <sup>v</sup>	0,812 (0,019)	1,99 (0,02)	2,804 (0,005)	176 (5)
O25 – H25...O16 <sup>vi</sup>	0,93 (0,05)	1,64 (0,05)	2,550 (0,003)	169 (4)
N13 – H13A...O32 <sup>vii</sup>	0,849 (0,018)	1,98 (0,02)	2,790 (0,004)	159 (3)
N21 – H21A...O33 <sup>viii</sup>	0,824 (0,019)	2,18 (0,03)	2,838 (0,003)	137 (4)
N21 – H21A...O32 <sup>viii</sup>	0,824 (0,019)	2,61 (0,03)	3,341 (0,004)	149 (4)
N29 – H29A...O16 <sup>v</sup>	0,73 (0,05)	2,16 (0,05)	2,884 (0,004)	168 (4)

Szimetria transzformálás során ekvivalens atomokat generáltunk: i:  $x-1/2, -y-1/2, z+1/2$ , ii:  $-x+1, -y, -z$ , iii:  $x-1, y, z$ , iv:  $x+1/2, -y-1/2, z+1/2$ , v:  $-x+2, -y, -z+1$ , vi:  $-x+3/2, y-1/2, -z+1/2$ , vii:  $-x+2, -y, -z$ , viii:  $-x+2, -y, -z$ .

#### **IV.2 A DOTA-Gly és DOTAM ligandumok egyensúlyi és Ln(III)-komplexeik kinetikai sajátságai**

Ismeretes, hogy bizonyos paramágneses Ln<sup>3+</sup>-ionok (Eu<sup>3+</sup>, Dy<sup>3+</sup>, Yb<sup>3+</sup>) NMR „shift” reagensként megnövelik a közvetlen környezetükben található protonok kémiai eltolódását, így a különösen lassú vízcserével rendelkező paramágneses Ln(DOTA-tetraamid) komplexek amid-NH és belső szférában található H<sub>2</sub>O-molekula protonjainak kémiai eltolódását<sup>37</sup>. A DOTA-tetraamidok Ln(III)-komplexei mobil protonjaiknak és azok jelentős kémiai eltolódásának köszönhetően potenciális CEST kontrasztanyagok. *Aime* és munkatársai számos telítésátviteli kísérlet alapján a DOTA-Gly ligandum Eu(III)-komplexét, míg *Sherry* és munkatársai a DOTAM-Gly tetraetil-észterének (DOTA-Gly-Et) Eu(III)-komplexét javasolták CEST kontrasztanyagként<sup>23-26</sup>.

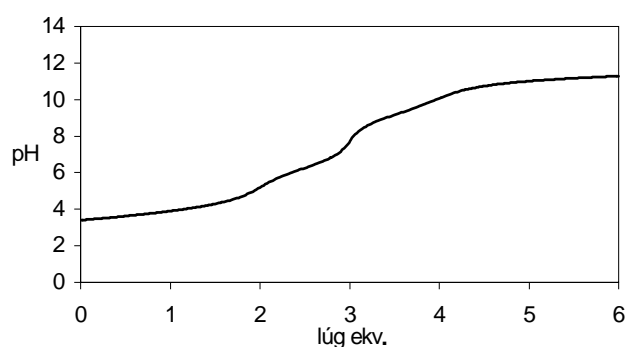
A Ln(DOTA-Gly)<sup>-</sup> komplexekben a Ln<sup>3+</sup>-ion a gyűrű 4 amin-N és a 4 amid karbonil-O által határolt koordinációs kalitkában helyezkedik el és a viszonylag távolabb elhelyezkedő karboxilátcsoportok nem vesznek részt a fémionok közvetlen koordinációjában. A Ln<sup>3+</sup>-ion kilencedik, szabad koordinációs helyét egy vízmolekula tölti be<sup>23,25,26</sup>. A Ln(DOTA-Gly)<sup>-</sup> komplexek a Ln(DOTA)<sup>-</sup> komplexekhez hasonlóan nagyon lassan képződnek és disszociációjuk is lassú folyamat. Ezeknek a vegyületeknek sem az egyensúlyi, sem a kinetikai sajátságait korábban nem vizsgálták részletesen. Vizsgálataink során tanulmányoztuk a DOTA-Gly ligandum és Ln(III)-komplexeinek egyensúlyi, kinetikai (képződési és disszociációs) és relaxációs tulajdonságait.

##### ***IV.2.1 A DOTA-Gly ligandum egyensúlyi vizsgálata***

A DOTA-Gly ligandumot a NOTA-Gly ligandumhoz hasonlóan tekinthetjük úgy, hogy a tetraaza-makrociklus 4 gyűrű amin-N atomjára 4 acetyl-glicinát funkció csoportot vittünk fel, de úgy is, hogy 4 diglicin egységet kapcsoltunk össze makrociklussá terminális aminocsoportjaikon keresztül. A ligandum komplexképző sajátságai fognak választ adni erre a kérdésre. A DOTA-Gly ligandum összesen 12

donoratómmal rendelkezik: 4 gyűrű amin-N, 4 amid-O (vagy 4 amid-N ionizációjukat követően) és 4 karboxilát-O. Mivel a karboxilátcsoportok relatíve távol helyezkednek el a 4 gyűrű amin-N és a 4 amid-O által határolt koordinációs üregtől és nem vesznek részt a fémion közvetlen koordinációjában ezért a DOTA-Gly ligandum hasonlóságot mutat a DOTAM ligandumhoz a koordinatív kötés kialakításának szempontjából.

A DOTA-Gly ligandum egyensúlyi sajátságainak felderítésére meghatároztuk néhány fémion DOTA-Gly-nel képzett komplexének stabilitási állandóját, amihez elengedhetetlen a ligandum protonálódási állandóinak ismerete. A ligandum protonálódási állandóit közvetlen pH-potenciometriás titrálások eredményeiből számítottuk. A DOTA-Gly ligandum titrálási görbéje IV.2.1 ábrán látható:



**IV.2.1 ábra** A DOTA-Gly ligandum titrálási görbéje. ( $[L]=2 \times 10^{-3}$  M; 25 °C; 1,0 M KCl)

A titrálási adatokból (194  $V_{\text{lúg}}\text{-pH}$  adatpár) számított protonálódási állandókat a IV.2.1. táblázatban tüntettük fel, ahol összehasonlításként a DOTAM és a DOTA megfelelő állandói is szerepelnek.

Ismert, hogy az acetát funkciós csoportot tartalmazó nyíltláncú és makrociklusos aminokarboxilát ligandumok karboxilátcsoportjainak amidesoportokkal történő helyettesítése lecsökkenti az amin-N-ek bázicitását. A DOTA-Gly és DOTAM ligandumok első két protonálódási állandója a gyűrű amin-N-ekhez rendelhető, amelyek számottevően kisebbek, mint a DOTA első két protonálódási állandója. A gyűrű amin-N-ek kisebb bázicitását a NOTA-Gly ligandumhoz hasonlóan (IV.1.1 fejezet) az amid

#### IV.2 A DOTA-Gly és DOTAM ligandumok egyensúlyi és Ln(III)-komplexeik kinetikai sajátosságai

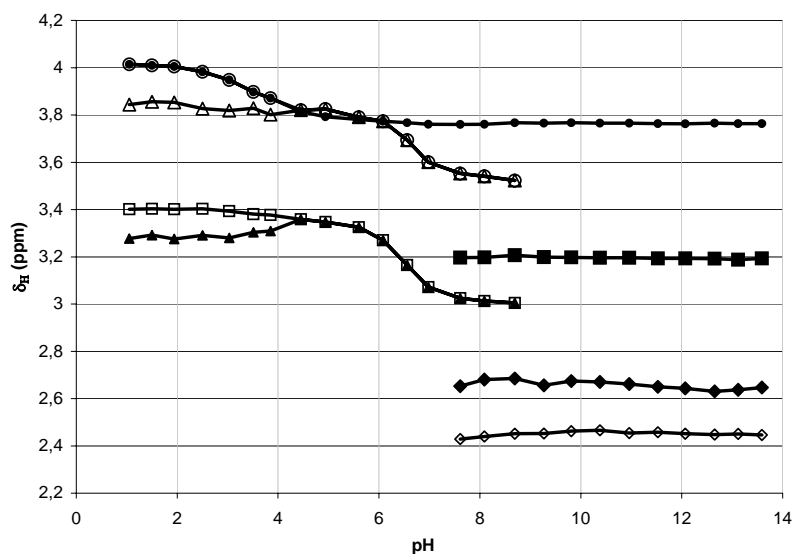
csoport elektronvonzó hatása eredményezi, amit valamelyest kompenzál a amid-O-ek és a protonált gyűrű amin-N-ek között kialakuló gyenge H-kötés.

**IV.2.1 táblázat** A DOTA-Gly, DOTAM és DOTA ligandumok protonálódási állandói (25 °C).

Ligandumok	DOTA-Gly	DOTAM	DOTA <sup>[129]</sup>
Közeg	1,0 M KCl	0,1 M Me <sub>4</sub> NCl	0,1 M Me <sub>4</sub> NCl
$\log K_1^H$	9,19 (0,02)	9,07 (0,02)	12,6
$\log K_2^H$	6,25 (0,03)	6,05 (0,03)	9,7
$\log K_3^H$	4,08 (0,04)	–	4,5
$\log K_4^H$	3,45 (0,04)	–	4,14
$\log K_5^H$	3,20 (0,03)	–	2,32
$\log K_6^H$	1,40 (0,05)	–	–

A gyűrű amin-N-ek bázicitása a DOTAM és a DOTA-Gly ligandumok esetében azonos, ami az amin-N-ek hasonló kémiai környezetének köszönhető. A DOTA-Gly ligandum  $\log K_3^H$ ,  $\log K_4^H$ ,  $\log K_5^H$  és  $\log K_6^H$  értékei a relatíve távol elhelyezkedő karboxilátcsoportok protonálódási folyamataihoz rendelhetőek, amelyek közelítőleg azonosak a DOTA megfelelő protonálódási állandóival. Az a tény, hogy mind a 4 karboxilátcsoport protonálódási folyamatai mérhetőek voltak pH-potenciometriásan mindenképpen utal a karboxilátok független protonálódására és a gyűrű amin-N-ekhez viszonyított távoli helyzetükre.

A DOTA-Gly ligandum protonálódási sorrendjének igazolására <sup>1</sup>H-NMR méréseket végeztünk<sup>130</sup>. A vizsgálatok során a különböző pH-jú DOTA-Gly ligandum D<sub>2</sub>O/H<sub>2</sub>O oldatainak <sup>1</sup>H-NMR spektrumait Na<sup>+</sup>-ionok jelenlétében vettük fel, ami feltételezhetően a [NaL] komplex képződése miatt kis mértékben lecsökkenti a donor atomok protonálódási állandóit. A DOTA-Gly ligandum <sup>1</sup>H-NMR-s titrálási görbéjét IV.2.2 ábra tartalmazza.



**IV.2.2 ábra** A DOTA-Gly  $^1\text{H-NMR}$  titrálási görbéje. (L: gyűrű  $\text{CH}_2$   $\square$  és  $\blacktriangle$ , amid  $\text{CH}_2$   $\circ$  és  $\triangle$ , acetát  $\text{CH}_2$   $\bullet$  ; [NaL]: gyűrű  $\text{CH}_2$   $\blacklozenge$  és  $\diamond$ , amid  $\text{CH}_2$ :  $\blacksquare$ )

A DOTA-Gly ligandum  $^1\text{H-NMR}$  spektruma rendkívül összetett és nehezen értelmezhető. A jelek száma a  $\text{pH}=5-9$  tartományban jelentősen megnövekszik, ahol a részben protonált szabad ligandum és a [NaL] komplex van jelen az oldatban. A szabad ligandum és a [NaL] komplexek között lejátszódó csere folyamat feltételezhetően gyors, amire a  $^1\text{H-NMR}$  spektrumban található viszonylag kis szélességű jelek (kivéve a gyűrű metilén ( $\text{N-CH}_2\text{-CH}_2\text{-N}$ ) protonok jele) utalnak. A  $\text{pH}=5-9$  tartományban csak a gyűrű metilén ( $\text{N-CH}_2\text{-CH}_2\text{-N}$ ) és az amid metilén ( $\text{N-CH}_2\text{-CONH}$ ) protonok kémiai eltolódása változik jelezve a gyűrű amin-N-ek protonálódását. Az acetát metilén ( $\text{CONH-CH}_2\text{-COO}^-$ ) protonok árnyékoltsága csak  $\text{pH}<5$  tartományban változik a karboxilát csoportok protonálódásával. Mindenképpen meg kell említenünk, hogy az acetát metilén ( $\text{CONH-CH}_2\text{-COO}^-$ ) protonok kivételével minden egyes proton jele széles és felhasadt  $\text{pH}>5$  tartományban, ami megnehezítette kémiai eltolódásuk meghatározását. Ezek mellett a gyűrű ( $\text{N-CH}_2\text{-CH}_2\text{-N}$ ) és az amid ( $\text{N-CH}_2\text{-CONH}$ ) metilén protonok jelének felhasadása jelzi a monoprotónált/deprotónált tetraaza makrociklus merev szerkezetét és a köztük lévő lassú protoncsere folyamatot. A DOTA-Gly ligandum  $\log K_5^H$  protonálódási állandója sorrendben a harmadik karboxilát csoporthoz rendelhető, ami jóval nagyobb, mint a DOTA megfelelő

protonálódási állandója, amit szintén a gyűrű amin-N-ek és a karboxilát csoportok közötti nagy távolsággal magyarázhatunk.

A DOTA-Gly ligandum gyűrű amin-N-ek kisebb bázicitásának köszönhetően a képződő komplexek stabilitása várhatóan jóval kisebb, mint az acetát analóg DOTA komplexeké. A két vegyértékű fémionok DOTA-Gly komplexekének stabilitási állandóját közvetlen, míg a Ln(DOTA-Gly)<sup>-</sup> komplexekét különmintás pH-potenciometriás módszerrel határoztuk meg. A DOTA-Gly komplexek stabilitási és protonálódási állandóit a IV.2.2 táblázatban foglaltuk össze, ahol a DOTAM és a DOTA komplexek stabilitási állandói is szerepelnek.

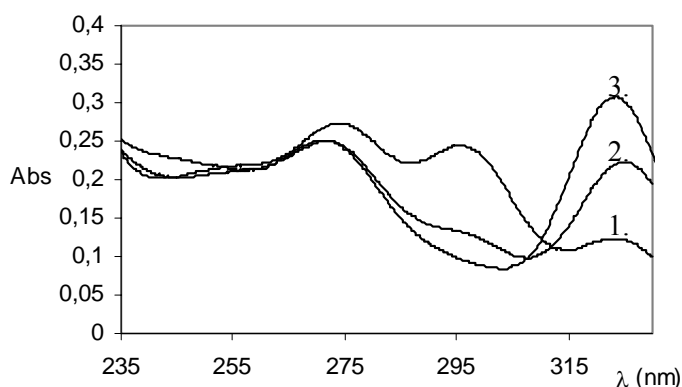
**IV.2.2 táblázat** A DOTA-Gly, DOTAM és DOTA komplexek stabilitási- és protonálódási állandói. (25 °C, 1,0 M KCl)

	DOTA-Gly					DOTAM	DOTA
	$\log K_{ML}$	$\log K_{MHL}$	$\log K_{MH_2L}$	$\log K_{MH_3L}$	$\log K_{MH_4L}$	$\log K_{ML}$	$\log K_{ML}$
<b>Mg<sup>2+</sup></b>	4,34 (0,03)	–	–	–	–	–	11,92 [131]
<b>Ca<sup>2+</sup></b>	10,39 (0,01)	4,23 (0,02)	3,98 (0,04)	3,96 (0,02)	3,00 (0,03)	–	17,23 [131]
<b>Cu<sup>2+</sup></b>	13,39 (0,06)	4,38 (0,07)	3,35 (0,07)	3,46 (0,07)	–	–	22,25 [131]
<b>La<sup>3+</sup></b>	11,84 (0,03)	3,36 (0,02)	3,14 (0,02)	2,41 (0,02)	1,8 (0,02)	–	22,9 [8]
<b>Ce<sup>3+</sup></b>	13,02 (0,05)	3,38 (0,02)	3,09 (0,01)	2,38 (0,02)	1,9 (0,01)	–	23,4 [8]
<b>Nd<sup>3+</sup></b>	14,55 (0,09)	3,27 (0,02)	3,02 (0,02)	2,29 (0,02)	1,7 (0,02)	10,4 [132]	23,0 [8]
<b>Eu<sup>3+</sup></b>	14,84 (0,08)	3,45 (0,01)	2,96 (0,01)	2,40 (0,01)	1,9 (0,01)	10,6 [132]	23,5 [8]
<b>Gd<sup>3+</sup></b>	14,54 (0,09)	3,38 (0,01)	2,87 (0,01)	2,40 (0,01)	–	10,5 [132]	24,7 [8]
<b>Dy<sup>3+</sup></b>	14,37 (0,05)	3,30 (0,05)	3,11 (0,03)	1,6 (0,06)	–	10,2 [132]	24,8 [8]
<b>Yb<sup>3+</sup></b>	14,25 (0,02)	3,07 (0,05)	3,05 (0,02)	–	–	9,7 [132]	25,0 [8]

Mind a röntgendiffrakciós, mind az oldat szerkezeti NMR-s vizsgálatok eredményei igazolták, hogy a Ln(DOTAM)<sup>3+</sup>, Ln(DOTA-Gly)<sup>-</sup> illetve a DOTA-Gly ligandum etilészterének Ln(III)-komplexeiben a központi fémion a gyűrű amin-N-ek és az amid karbonil-O-ek által határolt koordinációs kalitkában helyezkedik el<sup>26,83</sup>. A DOTA-val szemben a Ln(DOTAM)<sup>3+</sup> és a Ln(DOTA-Gly)<sup>-</sup> komplexekben töltéssel nem rendelkező gyűrű amin-N-ek és a relatíve gyenge komplexképző amid-O-ek<sup>133</sup> vesznek részt a fémionok koordinációjában, ami jelentős stabilitás csökkenést eredményez a megfelelő

$\text{Ln}(\text{DOTA})^-$  komplexekhez képest. A  $\text{Ln}(\text{DOTA-Gly})^-$  komplexek stabilitási állandói eltérő módon változnak a  $\text{Ln}(\text{DOTA})$  komplexekétől és tendenciájuk inkább a  $\text{Ln}(\text{DOTAM})^{3+}$  komplexekkel mutat hasonlóságot<sup>134</sup>. Mivel a DOTA-Gly karboxilátcsoportjai nem vesznek részt közvetlenül a fémion koordinációjában ezért számos protonált ( $\text{Ln}(\text{H}_i\text{DOTA-Gly})$ ,  $i=1,2,3,4$ ) és kétmagvú komplex képződésére adnak lehetőséget. Semleges pH-jú  $\text{Ln}(\text{DOTA-Gly})^-$  és  $\text{Ln}^{3+}\text{-Ln}(\text{DOTA-Gly})^-$  1:1 koncentráció arányú oldatait savval titrálva sikerült meghatározni a karboxilát csoportok protonálódási és a kétmagvú komplexek stabilitási állandóit. A kisebb rendszámú  $\text{Ln}(\text{DOTA-Gly})^-$  komplexekben mind a négy karboxilátcsoport protonálódhat ( $\text{Eu}^{3+}$ -ig), a  $\text{Dy}(\text{DOTA-Gly})^-$  esetében már csak három, míg az  $\text{Yb}(\text{DOTA-Gly})^-$  komplexben csak két protonálódási folyamat volt kimérhető.

A karboxilátcsoportok protonálódása jelentős változást eredményez a  $\text{Ce}(\text{DOTA-Gly})^-$  abszorpciós spektrumában. A  $\text{Ce}(\text{DOTA-Gly})^-$  és a  $\text{Ce}(\text{DOTAM})^{3+}$  komplexek abszorpciós spektrumai IV.2.4 ábrán láthatóak.

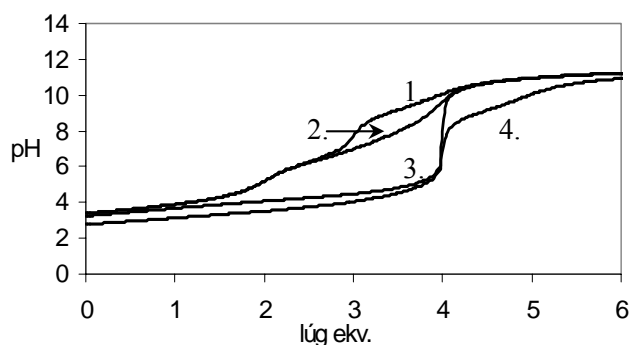


**IV.2.4 ábra** A  $\text{Ce}(\text{DOTA-Gly})^-$  (1. pH=7,96), a  $\text{Ce}(\text{H}_4\text{DOTA-Gly})^{3+}$  (2. pH=1,53) és a  $\text{Ce}(\text{DOTAM})^{3+}$  (3. pH=6,56) komplexek abszorpciós spektruma.  
 $([\text{Ce}^{3+}]=[\text{DOTA-Gly}]=[\text{DOTAM}]=5 \times 10^{-3} \text{ M})$

A  $\text{Ce}(\text{DOTA-Gly})^-$  komplex megsavanyított oldatának (pH=1,5) abszorpciós spektruma nagyon hasonló a  $\text{Ce}(\text{DOTAM})^{3+}$  komplex abszorpciós spektrumához, ami nem meglepő, mivel mind a két ligandum azonos koordinációs környezetet (4 gyűrű amin-N, 4 amid-O) biztosít a  $\text{Ce}^{3+}$ -ion számára. Ez a kísérleti bizonyíték és a

$\text{Ln}(\text{DOTAM})^{3+}$  komplexek kisebb stabilitási állandója alátámasztja, hogy a karboxilátcsoportok jelenléte és negatív töltése némiképp hatással van komplex kialakulására, kicsit növeli a stabilitási állandók értékét.

A  $\text{Ln}(\text{DOTA-Gly})^-$  komplexek stabilitása a  $\text{La}^{3+}$ -tól a  $\text{Nd}^{3+}$ -ig nő, majd közel állandó marad kis mértékű csökkenéssel a sorozat második felében. A komplexek stabilitási állandóinak ilyen változása egyértelműen jelzi, hogy a koordinációban résztvevő donorcsoportok által létrehozott üreg mérete a  $\text{Nd}^{3+}$  és az  $\text{Eu}^{3+}$  közötti ionok számára felel meg legjobban. A két vegyértékű fémionok közül a  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  és a  $\text{Cu}^{2+}$ -ionok DOTAM-Gly komplexeinek kialakulását vizsgáltuk részletesen. A  $\text{Mg}^{2+}$ -,  $\text{Ca}^{2+}$ - és a  $\text{Cu}(\text{DOTA-Gly})^{2-}$  komplexek titrálási görbéit a IV.2.5. ábrán tüntettük fel.

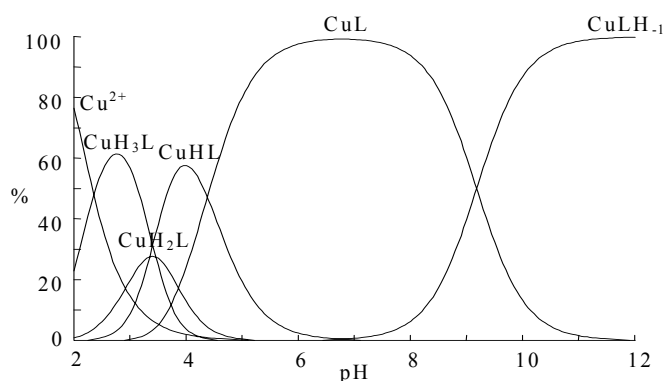


**IV.2.5 ábra** A DOTA-Gly ligandum titrálási görbéje (1.),  $\text{Mg}^{2+}$  (2.),  $\text{Ca}^{2+}$  (3.) és  $\text{Cu}^{2+}$  (4.) ionok jelenlétében. ( $[\text{L}]=[\text{Mg}^{2+}]=[\text{Ca}^{2+}]=[\text{Cu}^{2+}]=2 \times 10^{-3}$  M; 25 °C; 1,0 M KCl)

A  $\text{Mg}^{2+}$ -,  $\text{Ca}^{2+}$ - és  $\text{Cu}(\text{DOTA-Gly})^{2-}$  komplexek stabilitása (IV.2.2 táblázat) számottevően kisebb a megfelelő DOTA komplexekénél. A  $\text{Mg}(\text{DOTA-Gly})^{2-}$  komplex kialakulása csak  $\text{pH} > 5$  tartományban következik be és pH-potenciometriás vizsgálatoknál protonált komplexek képződését nem tudtuk kimutatni. A  $\text{Ca}^{2+}$ - és a  $\text{Cu}(\text{DOTA-Gly})^{2-}$  komplexek protonálódási állandói meglepő módon némiképp nagyobbak, mint a szabad ligandum azonos karboxilátcsoportjainak megfelelő protonálódási állandói ( $\log K_3^H$ ,  $\log K_4^H$ ,  $\log K_5^H$ ,  $\log K_6^H$ ). Ez a jelenség azonban nem egyedülálló, hiszen hasonló viselkedést tapasztaltak a  $\text{Cu}^{2+}$ - és  $\text{Zn}(\text{DTPA})^{3-}$  komplexei esetében is<sup>135</sup>. A DOTA-Gly komplexek karboxilátcsoportjaihoz rendelhető aránylag

nagy és hasonló protonálódási állandók jelzik az acetátcsoportok viszonylag távoli elhelyezkedését és egymástól független protonálódási folyamatait.

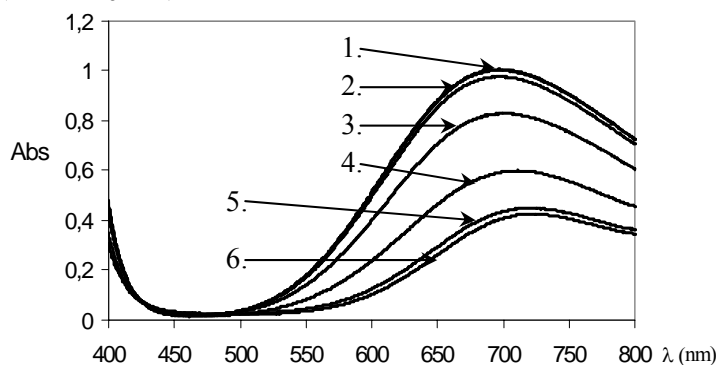
A Cu(II)-oligopeptid komplexek kialakulásakor a terminális amino-NH<sub>2</sub>-csoport és a szomszédos amid-O vesz részt a fémion koordinációjában, azonban a pH=4 – 6 tartományban az amid-O koordinációjának szerepét átveszi a deprotonálódott amid-N<sup>-</sup>-csoport. Az amid-NH csoport ionizációjában és koordinációjában jelentős szerepe van a terminális amino-NH<sub>2</sub>-csoportnak, mint a Cu<sup>2+</sup>-ion „horgony csoportja” (II.3 fejezet). A Cu<sup>2+</sup>-NOTA-Gly rendszerben mint láttuk bekövetkezik az amid-NH ionizációja és koordinációja a Cu<sup>2+</sup>-ionhoz. A Cu<sup>2+</sup>-DOTA-Gly rendszer pH-metriás titrálásakor a pH=9 – 10 tartományban egy ligandum ekvivalens lúg fogyást tapasztaltunk. A Cu<sup>2+</sup>-DOTA-Gly rendszer eloszlási diagramja a IV.2.6 ábrán látható.



**IV.2.6 ábra** Az 1:1 Cu<sup>2+</sup>-DOTA-Gly rendszer eloszlási diagramja ([L]=[Cu<sup>2+</sup>]=5×10<sup>-3</sup> M)

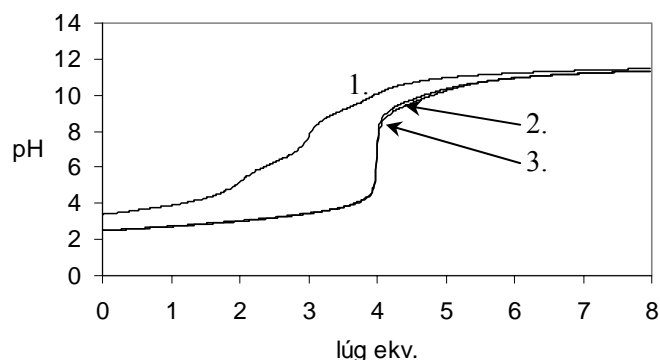
Annak eldöntésére, hogy a pH 9 - 10 tartományban a bekövetkező deprotonálódás az amid-NH protonokhoz rendelhető-e vagy egy OH<sup>-</sup>-ion koordinációjához, a Cu(NOTA-Gly)-hez hasonlóan (IV.1.1 fejezet) spektrofotometriás vizsgálatokat végeztünk. A Cu<sup>2+</sup>-DOTA-Gly rendszer abszorpciós spektrumait IV.2.7. ábrán tüntettük fel. A Cu(DOTA-Gly)<sup>2-</sup> abszorpciós spektrumában 695 nm-nél jelentkező abszorpciós maximum helyzete a pH 9 – 10 tartományban eltolódik 725 nm-re és intenzitása is lecsökken. Amennyiben az amid-NH protonok disszociációjáról és koordinációjáról lenne szó, jelentős kék eltolódást kellene tapasztalnunk és az észlelt

abszorpciós maximum helyzete 695 nm-ről a 560-620 nm közötti tartományba mozdulna el (IV.1.1 fejezet).



IV.2.6 **ábra** A  $\text{Cu}(\text{DOTA-Gly})^{2-}$  abszorpciós spektrumai különböző pH-kon. ((1.) pH=5,94; (2.) pH=7,00; (3.) pH=8,04; (4.) pH=9,03; (5.) pH=10,00; (6.) pH=10,99;  $[\text{L}]=[\text{Cu}^{2+}]=5 \times 10^{-3}$  M)

Ezek alapján a pH 9 – 10 tartományban bekövetkező deprotonálódást nem az amid-NH-csoport ionizációja okozza, hanem valószínűleg egy  $\text{OH}^-$ -ion koordinációja. A pH-metriás és az UV-látható spektrofotometriás adatok alapján megállapítható, hogy a DOTA-Gly ligandum gyűrű amin-N atomjai nem töltenek be „horgony csoport” szerepet, aminek köszönhetően nem következik be  $\text{Cu}^{2+}$ -ionok jelenlétében az amid-NH protonok disszociációja és az amid- $\text{N}^-$ -csoport koordinációja feltételezhetően a tetraaza makrociklusos gyűrű merev szerkezet miatt. A  $\text{Cu}(\text{DOTA-Gly})^{2-}$  komplexhez hasonlóan a  $\text{La}^{3+}$ - és az  $\text{Eu}(\text{DOTA-Gly})^-$  komplexek pH-potenciometriás vizsgálatainak során is észleltünk egy deprotonálódási folyamatot a pH=9 – 10 tartományban. A  $\text{La}^{3+}$ - és a  $\text{Eu}(\text{DOTA-Gly})^-$  komplexek titrálási görbéjét IV.2.7 ábra tartalmazza. Mivel a korábbi vizsgálatok során egyetlen oligopeptid esetében sem következett be az amid-NH-csoport deprotonálódása (II.3.4 fejezet) és koordinációja  $\text{Ln}^{3+}$ -ionok jelenlétében, így ez a folyamat a  $\text{Cu}^{2+}$ -ionokhoz hasonlóan egy  $\text{OH}^-$ -ion koordinációjával, valószínűleg a  $\text{Ln}^{3+}$ -ion belső szférájában kötött vízmolekula deprotonálódásával magyarázható. A  $\text{Cu}^{2+}$ -, a  $\text{La}^{3+}$ - és az  $\text{Eu}(\text{DOTA-Gly})^-$  komplexek deprotonálódását a IV.1.1 egyensúlyi folyamattal és állandóval jellemeztük.



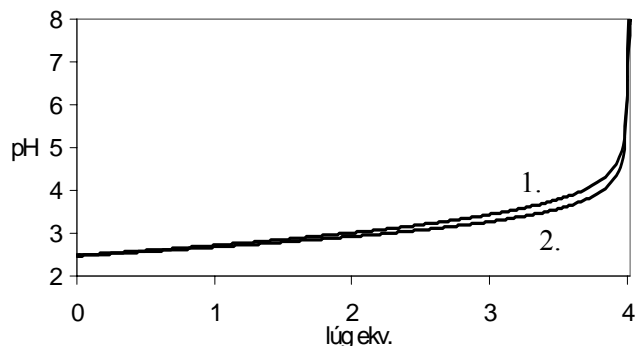
**IV.2.6 ábra** A DOTA-Gly (1.), a La(DOTA-Gly)<sup>-</sup> (2.) és az Eu(DOTA-Gly)<sup>-</sup> (3.) komplexek titrálási görbéi. ([L]=[LaL]=[EuL]=2×10<sup>-3</sup> M; 25 °C; 1,0 M KCl)

A Cu<sup>2+</sup>-, a La<sup>3+</sup>- és az Eu(DOTA-Gly)<sup>-</sup> komplexek deprotonálódási állandóit a IV.2.3 táblázat tartalmazza.

**IV.2.3 táblázat** A Cu(DOTA-Gly)<sup>2-</sup>, La(DOTA-Gly)<sup>-</sup> és Eu(DOTA-Gly)<sup>-</sup> komplexek deprotonálódási állandói. (25 °C, 1,0 M KCl)

	<b>Cu(DOTA-Gly)<sup>2-</sup></b>	<b>La(DOTA-Gly)<sup>-</sup></b>	<b>Eu(DOTA-Gly)<sup>-</sup></b>
<b>logK<sub>MLH-1</sub></b>	9,18 (0,02)	9,84 (0,02)	9,61 (0,06)

A NOTA-Gly-hez hasonlóan a DOTA-Gly ligandumnál is feltételeztük, hogy a viszonylag hosszabb és több donoratomot tartalmazó acetyl-glicinát funkciós csoport stabilis kétmagvú komplexek képződésére nyújt lehetőséget. A vizsgálatok során a Ce(DOTA-Gly)<sup>-</sup> és a Cu(DOTA-Gly)<sup>2-</sup> kétmagvú komplexeit tanulmányoztuk Ce<sup>3+</sup>- és Gd<sup>3+</sup>-ionok jelenlétében. A kétmagvú komplexek stabilitási állandóit közvetlen pH-potenciometriás titrálással határoztuk meg, mivel a Ln(DOTA-Gly)<sup>-</sup> komplex kialakulása és disszociációja lassú folyamat a pH=3 – 6 tartományban, így sem a Cu(DOTA-Gly)<sup>2-</sup>, sem a Ce(DOTA-Gly)<sup>-</sup> komplexek esetében kompetíciós reakció kialakulására nem volt lehetőség és a második fémion (Gd<sup>3+</sup>, Ce<sup>3+</sup>) koordinációját csak a ligandum szabad karboxilátcsoportjai teszik lehetővé. Az 1:1 arányú Gd<sup>3+</sup>-Cu(DOTA-Gly)<sup>2-</sup> és Ce<sup>3+</sup>-Ce(DOTA-Gly)<sup>-</sup> rendszerek titrálási görbéi a IV.2.7 ábrán láthatók:



**IV.2.7 ábra** Az 1:1 arányú  $\text{Gd}^{3+}$ - $\text{Cu}(\text{DOTA-Gly})^{2-}$  (1.) és  $\text{Ce}^{3+}$ - $\text{Ce}(\text{DOTA-Gly})^{-}$  (2.) rendszerek titrálási görbéi ( $[\text{CuL}]=[\text{CeL}]=[\text{Gd}^{3+}]=[\text{Ce}^{3+}]=2 \times 10^{-3}$  M; 25 °C; 1,0 M KCl)

A kétmagvú komplex kialakulását pH-potenciometriásan az 1:1 arányú  $\text{Gd}^{3+}$ - $\text{Cu}(\text{DOTA-Gly})^{2-}$  és  $\text{Ce}^{3+}$ - $\text{Ce}(\text{DOTA-Gly})^{-}$  rendszerek semleges pH-jú oldatainak savval történő titrálásával követtük, amire a protonált  $\text{Cu}(\text{H}_i\text{DOTA-Gly})$  és  $\text{Ce}(\text{H}_i\text{DOTA-Gly})$  komplexek protonjai és a  $\text{Gd}^{3+}$ - illetve a  $\text{Ce}^{3+}$ -ionok között kialakuló kompetíciós reakció nyújtott lehetőséget. A kétmagvú komplexek stabilitási állandóit a pH-potenciometriás titrálás adataiból számítottuk a III.1.4 folyamatnak és egyensúlyi állandónak megfelelően. A  $\text{Gd}^{\text{III}}[\text{Cu}^{\text{II}}(\text{DOTA-Gly})]^+$  és  $\text{Ce}^{\text{III}}[\text{Ce}^{\text{III}}(\text{DOTA-Gly})]^{2+}$  kétmagvú komplexek stabilitási állandóit a IV.2.4. táblázat tartalmazza.

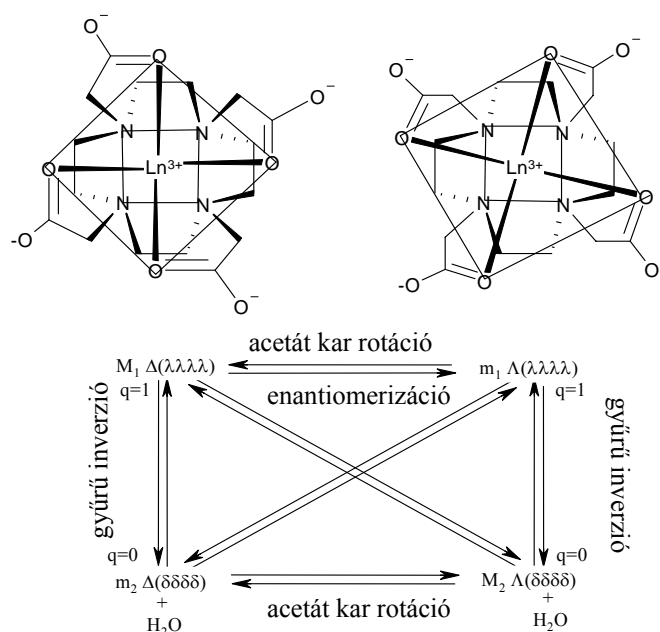
**IV.2.4 táblázat** A  $\text{Gd}^{\text{III}}[\text{Cu}^{\text{II}}(\text{DOTA-Gly})]^+$  és  $\text{Ce}^{\text{III}}[\text{Ce}^{\text{III}}(\text{DOTA-Gly})]^{2+}$  kétmagvú komplexek stabilitási állandói (25°C; 1,0 M KCl)

	$\text{Gd}^{\text{III}}[\text{Cu}^{\text{II}}(\text{DOTA-Gly})]^+$	$\text{Ce}^{\text{III}}[\text{Ce}^{\text{III}}(\text{DOTA-Gly})]^{2+}$	$\text{Gd}^{\text{III}}[\text{Cu}^{\text{II}}(\text{DOTA})]^{+30}$
$\log K_{MLM'}$	3,2 (0,12)	3,3 (0,09)	3,4

A DOTA-Gly ligandum kétmagvú komplexeinek stabilitási állandói aránylag kicsik és közel azonosak a DOTA ligandum megfelelő kétmagvú komplexének stabilitási állandójával. A DOTA-Gly kétmagvú komplexek a pH=2 – 3 tartományban képződnek és kis stabilitásuk miatt a pH növelésének hatására a második fémionhoz koordinálódó karboxilát csoportok nem tudják meggátolni a fémion hidrolízisét és pH>7 tartományban elkezdődik a  $\text{Ln}(\text{OH})_3$  összetételű csapadék leválása.

### IV.2.2 A DOTA-Gly ligandum és La(III)-komplexének $^1\text{H-NMR}$ spektroszkópiás vizsgálata

Az NMR tomográfias kontrasztanyagok fejlesztése során a klinikai gyakorlatban másodikként bevezetett  $\text{Gd}(\text{DOTA})^-$  (Dotarem<sup>®</sup>) mellett számos  $\text{Ln}(\text{DOTA})^-$  komplex szerkezetvizsgálatát elvégezték oldatban és szilárd fázisban<sup>8</sup>. A DOTA ligandum 8 funkciós ligandumként (4 gyűrű amin-N, 4 karboxilát-O) koordinálódik a  $\text{Ln}^{3+}$ -ionokhoz. A  $\text{Ln}^{3+}$ -ionok kilencedik koordinációs helyét axiális pozícióban egy vízmolekula tölti be. Az oldat fázisú  $^1\text{H-NMR}$  spektroszkópiás<sup>136</sup> és a szilárd fázisú röntgendiffrakciós<sup>137-140</sup> mérések során a  $\text{Ln}(\text{DOTA})^-$  komplexek négy konfigurációs izomerjét tudták azonosítani. A  $\text{Ln}(\text{DOTA})^-$  komplexek izomerjeit IV.2.10 ábrán tüntettük fel.



**IV.2.10 ábra** Az  $M_1$  (négyzetes antiprizmás) és az  $m_1$  (csavart négyzetes antiprizmás) szerkezetű  $\text{Ln}(\text{DOTA})^-$  komplexek sematikus ábrája és a  $\text{Ln}(\text{DOTA})^-$  komplexek izomerizációs folyamatai oldat fázisban ( $q$ =belső szférás vízmolekulák száma)<sup>82</sup>.

A gyűrű metilén- ( $\text{N-CH}_2\text{-CH}_2\text{-N}$ ) és a karboxilát- ( $\text{N-CH}_2\text{-COO}^-$ ) csoportok helicitásától függően 4 diasztereomert, 2 enantiomer párt tudták megkülönböztetni. Az

acetátcsoportok 4 öttagú kelátgyűrűt képeznek a  $\text{Ln}^{2+}$ -ionokkal, amelyek konfigurációjának jelölése  $\Delta$  és  $\Lambda$ . A tetraaza gyűrű koordinációja a  $\text{Ln}^{3+}$ -ionokhoz újabb 4 öttagú kelátgyűrűt eredményez, amelyek konfigurációját  $\delta\delta\delta\delta$  és  $\lambda\lambda\lambda\lambda$  jelöléssel tüntetik fel. Az izomerek egymásba alakulásának vizsgálata során két folyamatot lehet elkülöníteni, egyrészt a karboxilát oldallánc metilén- ( $\text{N-CH}_2\text{-COO}^-$ ) csoportjainak rotációját, ami a  $\Delta$ - $\Lambda$  konfiguráció váltást eredményezi, másrészt a tetraaza gyűrű metilén- ( $\text{N-CH}_2\text{-CH}_2\text{-N}$ ) csoportjainak átbillenését, ami a  $\delta\delta\delta\delta$ - $\lambda\lambda\lambda\lambda$  konfiguráció átalakuláshoz vezet. Az enantiomerizáció a két folyamat együttesével jön létre. Az említett 4 izomer közül oldat és szilárd fázisban dominánsan csak két diasztereomer ( $M_1$  és  $m_1$ ) fordul elő, mivel enantiomerjeikké ( $M_2$ ,  $m_2$ ) történő átalakulásuk termodinamikailag kedvezőtlen, amivel egyszerre bekövetkezik a belsőszférás vízmolekula disszociációja is<sup>82</sup>. A két diasztereomer szerkezete a 4 gyűrű amin-N és a 4 karboxilát-O határolt síkok egymáshoz viszonyított helyzetében tér el egymástól. Az első izomer ( $M_1$ ,  $\Delta(\lambda\lambda\lambda\lambda)$ ) négyzetes antiprizmás szerkezetű és a két sík kb.  $40^\circ$ -kal van elfordulva egymáshoz képest, míg a másik izomer ( $m_1$ ,  $\Lambda(\lambda\lambda\lambda\lambda)$ ) csavart négyzetes antiprizmás szerkezetű és a síkok közötti torziós szög kb.  $20^\circ$ -os<sup>82</sup>. *Aime* és munkatársai a  $\text{Ln}(\text{DOTA})^-$  komplexek  $^1\text{H-NMR}$  spektroszkópiás vizsgálatai során a diasztereomerek arányában változást tapasztaltak a  $\text{Ln}^{3+}$ -ionok méretének változásával. A nagyobb méretű fémionok ( $\text{La}^{3+}$ ,  $\text{Pr}^{3+}$ ) főleg  $m_1$ -szerkezetű, míg az  $\text{Eu}^{3+}$ -tól a sorozat végéig szinte kizárólag csak  $M_1$ -konfigurációjú komplexet képeznek a DOTA ligandummal oldatfázisban. Az  $\text{Eu}^{3+}$ -iontól a fémionok koordinációs szám váltása ( $9 \rightarrow 8$ ) elősegíti az egyes diasztereomerek enantiomer párjaikká történő átalakulását, ami oldat fázisban megnöveli arányukat<sup>84</sup>. A  $\text{Ln}(\text{DOTA})^-$  komplexek szilárd fázisú röntgendiffrakciós szerkezetvizsgálatai is alátámasztották az  $\text{Eu}^{3+}$ -iont követő elemeknél bekövetkező szerkezetváltozást<sup>137-140</sup>.

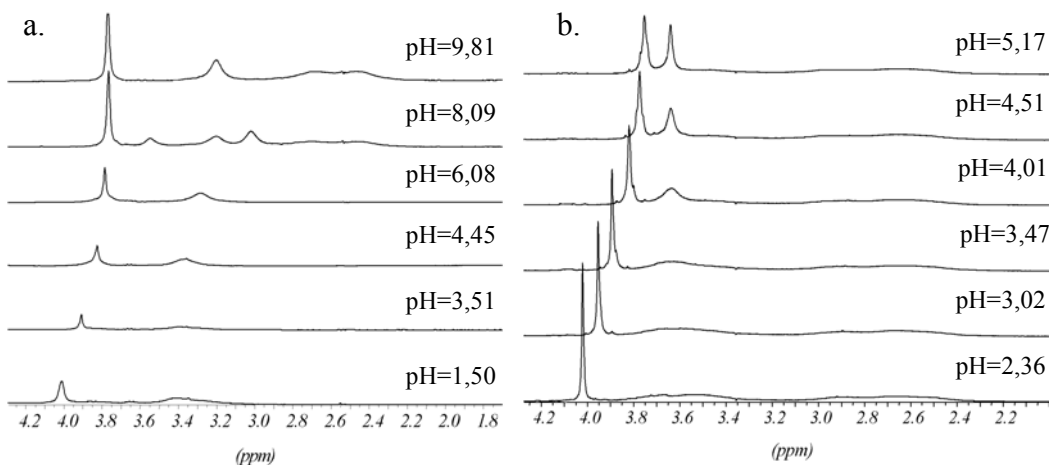
A  $\text{Ln}(\text{DOTA-tetraamid})$  komplexek röntgendiffrakciós és  $^1\text{H-NMR}$  spektroszkópiás szerkezeti vizsgálatai a  $\text{Ln}(\text{DOTA})^-$  komplexekhez hasonló viselkedésről számolnak be. Az  $\text{Eu}(\text{DOTAM})^{3+}$  komplex csavart négyzetes antiprizmás ( $m_1$ ), míg a  $\text{Dy}(\text{DOTAM})^{3+}$  komplex négyzetes antiprizmás ( $M_1$ ) szerkezetét

azonosították szilárd fázisban, ami egyértelműen utal a lantanoida sorozat közepén bekövetkező szerkezetváltozásra<sup>81,141</sup>. Az Eu(DOTA-tetraamid) komplexek oldat fázisú <sup>1</sup>H-NMR spektroszkópiás vizsgálata során meghatározták az egyes komplexek izomer arányát ( $m_1/M_1$ ). Az eredmények rámutattak, hogy az Eu(DOTA-tetraamid) komplexek oldat fázisú szerkezete döntően (70-80%) négyzetes antiprizmás, azonban az amid funkciós csoportok szubsztituensei jelentős hatással lehetnek az egyes izomerek előfordulási arányára<sup>81</sup>. *Aime* és munkatársai hasonló eredményre jutottak a Ln(DOTA-Gly)<sup>-</sup> komplexek <sup>1</sup>H-NMR spektroszkópiás szerkezetvizsgálatai során. A Ln(DOTA-Gly)<sup>-</sup> komplexek <sup>1</sup>H-NMR spektrumai alapján megállapították, hogy a DOTA-Gly ligandum a kisebb rendszámú Ln<sup>3+</sup>-ionokkal (La<sup>3+</sup>, Pr<sup>3+</sup>) csavart négyzetes antiprizmás ( $m_1$ ), míg a nagyobb rendszámúakkal (Eu<sup>3+</sup>-tól) főleg négyzetes antiprizmás ( $M_1$ ) szerkezetű komplexeket képez, de az egyes izomerek arányát a sorozat közepén bekövetkező koordinációs szám változás enantiomerjeik stabilizációján keresztül jelentősen befolyásolhatja<sup>142</sup>.

A Ln(DOTA-Gly)<sup>-</sup> komplexek szerkezetvizsgálata során részletesen tanulmányozták a Ln<sup>3+</sup>-ionok koordinációjában résztvevő donorcsoportok térbeli elhelyezkedését, de a viszonylag távoli karboxilátcsoportok viselkedését nem. A DOTA-Gly ligandum és diamágneses La(III)-komplexének <sup>1</sup>H-NMR spektroszkópiás vizsgálata során a karboxilátcsoportnak a komplexben betöltött esetleges szerepére voltunk kíváncsiak. A DOTA-Gly ligandum és a La(DOTA-Gly)<sup>-</sup> komplex különböző pH-jú oldatának <sup>1</sup>H-NMR spektrumai a IV.2.11 ábrán láthatók.

A DOTA-Gly <sup>1</sup>H-NMR spektruma (a.) nehezen értelmezhető a jelek kiszélesedése miatt. Savas pH (pH=1,5 - 4,45) tartományban a gyűrű metilén (N-**CH**<sub>2</sub>-**CH**<sub>2</sub>-N) protonok jele a tetraaza makrociklus merev szerkezetének és lassú mozgásának köszönhetően kiszélesedik és beleolvad az alapvonalba. A szabad ligandum amid metilén (N-**CH**<sub>2</sub>-CONH) protonok jele a 3,6 – 3,2 ppm tartományban található, ami hasonlóan a gyűrű metilén protonok jeléhez igen széles, feltehetően az amid csoport amid-O-je és a protonált gyűrű amin-N között kialakuló H-kötés miatt. A 4,1 – 3,8 ppm tartományban található szingulett a karboxilát metilén (CONH-**CH**<sub>2</sub>-COO<sup>-</sup>) protonok

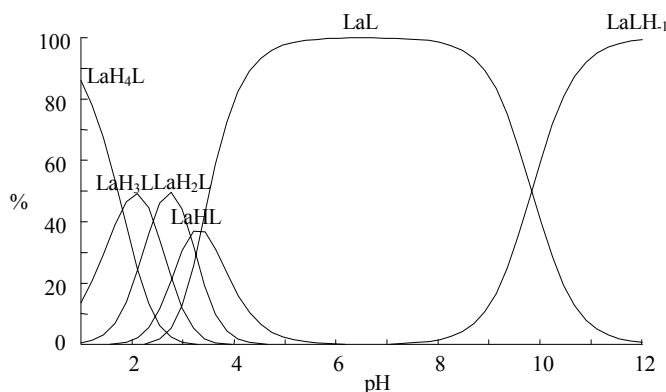
jele. Savas tartományban a pH növekedésével csak a karboxilát metilén protonok jele tolódik el a nagyobb térerő irányába jelezve a karboxilátcsoportok deprotonálódását, míg az amid és a gyűrű metilén protonok kémiai eltolódása és jelszélessége változatlan marad.



**IV.2.11 ábra** A DOTA-Gly ligandum (a.) és a La(DOTA-Gly)<sup>+</sup> komplex (b.) <sup>1</sup>H-NMR spektrumai különböző pH-kon.

A ligandum <sup>1</sup>H-NMR spektrumának jelentősebb változását pH>5 esetében a gyűrű amin-N deprotonálódásakor tapasztaltuk. Az egyik gyűrű NH<sup>+</sup> proton disszociációjával az amid metilén protonok jele 1:1:2 arányban felhasad (pH=8,09), amit korábban a DOTA származékoknál nem tapasztaltak. Ezt a szokatlan viselkedést feltételezhetően a monoprotonált ligandum lassú protoncseréje és merev szerkezete okozza. A pH további növelésének hatására (pH>8) az utolsó gyűrű amin-N deprotonálódásával megjelenik a tetraaza makrociklus axiális és ekvatoriális metilén protonjainak jele, amik relatíve szélesek, jelezve a gyűrű merevségét, de a protonált tetraaza makrociklustól valamivel flexibilisebb szerkezetét. Ebben a pH tartományban a gyűrű amin-N deprotonálódásának befejeződésével az amid metilén protonok újból ekvivalenssé válnak, ami megszünteti jelük felhasadását, míg a karboxilát metilén protonok kémiai eltolódása és jelszélessége változatlan marad.

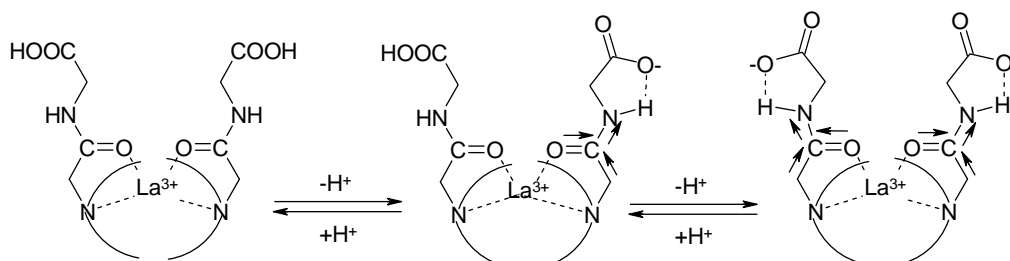
A  $\text{La}(\text{DOTA-Gly})^-$  komplex  $^1\text{H-NMR}$  spektrumában (b.) 3,1 - 2,2 ppm tartományban található széles multipllett a makrociklus ekvatoriális és axiális protonjaihoz rendelhető, amelyek cseréje a  $\text{La}^{3+}$ -ion és a gyűrű amin-N közötti koordinatív kötés kialakulásával és ezzel együtt a gyűrű metilén csoportjainak gátolt rotációjával lelassul. A  $\text{La}(\text{DOTA-Gly})^-$  komplex amid metilén protonjainak jele a 3,8 – 3,3 ppm, míg az acetát csoport metilén protonjainak jele a 4,1 – 3,8 ppm tartományban található. A karboxilát metilén protonok jele a pH növekedésével eltolódik a nagyobb terek irányába, míg az amid metilén protonok kémiai eltolódása kismértékben növekszik és széles multipllettjük szinguletté alakul a pH=2,3 – 5,2 tartományban. A  $\text{La}(\text{DOTA-Gly})^-$  komplex négy protonálódási folyamata ( $\log K_{\text{LaHL}}=3,36$ ;  $\log K_{\text{LaH}_2\text{L}}=3,14$ ;  $\log K_{\text{LaH}_3\text{L}}=2,41$ ;  $\log K_{\text{LaH}_4\text{L}}=1,8$ ) ebben a pH-tartományban játszódik le és ez a jelek kémiai eltolódásában bekövetkezett változások alapján a karboxilátcsoportok protonálódásához rendelhető. A  $\text{La}(\text{DOTA-Gly})^-$  komplex eloszlási diagramja a IV.2.12 ábrán látható.



**IV.2.12 ábra** A  $\text{La}(\text{DOTA-Gly})^-$  komplex eloszlási diagramja. ( $[\text{La}] = [\text{L}] = 2 \times 10^{-3} \text{M}$ )

Meglepő módon a  $\text{La}(\text{DOTA-Gly})^-$  komplex karboxilátcsoportjainak deprotonálásával nem csak az acetát metilén protonok kémiai eltolódása változik meg, hanem a jelszélességük is, amivel együtt változást tapasztaltunk az amid metilén protonok árnyékoltságában és jelalakjában. Feltételezhetően a deprotonált acetátcsoport és az amid-NH protonok között kialakuló H-kötés okoz változást az acetát- és amid-metilén proton jelek szélességében és az amid metilén protonok kémiai eltolódásában. A

karboxilát- és amid-NH csoportok közötti H-kötés feltételezett szerkezetét a IV.2.13 ábrán tüntettük fel.



**IV.2.13 ábra** A  $\text{La}(\text{DOTA-Gly})^-$  karboxilátcsoportjainak deprotonálódásával kialakuló feltételezett H-kötés (csak két gyűrű amin-N és acetil-glicinát oldalláncot feltüntetve)

A H-kötés kialakulásával a  $\text{La}^{3+} - \text{OC}$  kötés élettartama valamelyest lecsökken, ami az amid metilénscsoport rotációját megkönnyítve elősegíti a protonok helycseréjét multiplétjüket szinguletté alakítva. A karboxilát metilén protonok multiplétje a két hidrogén gyors helycseréjének köszönhetően szingulettként jelenik meg. Mivel a protonált és deprotonált karboxilátcsoportok közötti protoncsere gyors, de az NH-OOC H-kötésben résztvevő acetát metilénscsoport protonjainak helycseréje gátolt, így szingulettjük a H-kötés kialakulásával valamelyest kiszélesedik. Az amidcsoport delokalizált elektron rendszerének köszönhetően a H-kötés kialakulása lecsökkenti az amid metilén protonok árnyékoltóságát jelük eltolódását eredményezve a kisebb terek irányába.

A  $\text{La}(\text{DOTA-Gly})^-$  komplex  $^1\text{H-NMR}$  spektroszkópiás vizsgálata alapján megállapítható, hogy a  $\text{La}^{3+}$ -ion koordinációjában a gyűrű 4 amin-N és az amidcsoportok 4 karbonil-O donoratombjai vesznek részt és a karboxilátok nem alakítanak ki koordinatív kötést a központi fémionnal, ezért protonálódási folyamataik a képződő komplextől függetlenül játszódnak le. Ugyanakkor az amid-NH- és a COO<sup>-</sup>-csoportok között kialakuló H-kötés mindenféleképpen hatással lehet donorcsoportok koordinációjára.

### IV.2.3 A Gd(DOTA-Gly)<sup>-</sup> komplex relaxivitásának vizsgálata

A Gd(III)-komplexek esetleges kontrasztanyagkénti felhasználásáról a relaxivitas mérése eredményei adnak információt. A vizsgálatok során az oldószer vízprotonok longitudinális relaxációs idejét határozzuk meg, aminek reciproka ( $1/T_{1obs}$ ) adja a relaxációsebességet a II.2.6 egyenletnek megfelelően. A Gd(III)-komplexek relaxivitas értékei a fémion belső ( $r_{1p}^{is}$ ) és külső ( $r_{1p}^{os}$ ) koordinációs szférájának illetve ún. második ( $r_{1p}^{2nd}$ ) koordinációs szférájának hozzájárulásából tevődnek össze (II.2.7 egyenlet). *Aime* és munkatársai a közelmúltban kimutatták, hogy a Gd(III)-komplexek relaxivitasát nem csak az említett 3 koordinációs szféra hozzájárulása határozza meg, hanem a komplexben található mobil protonok (beleértve a koordinált vízmolekula protonjait) cserefolyamatai is<sup>20</sup>. Kis molekulatömegű Gd(III)-komplexek főként belső szférás vízmolekulájuk cseréjén keresztül fejtik ki az oldószer vízprotonok relaxációsebességére gyakorolt hatásukat és ha vízcsere sebességük jóval nagyobb, mint a mobil protonok „prototróp” cseresebessége, akkor a protoncsere hozzájárulása a relaxivitas értékekhez elhanyagolható. A külső és a második koordinációs szféra hozzájárulását a Gd(III)-komplexek közelében lévő vízmolekulák diffúziósebessége határozza meg. A PARACEST kontrasztanyagok alkalmazhatóságának szempontjából egyik lényeges kritérium a paramágneses fémionhoz közvetlenül koordinálódó vízmolekula lassú cseréje, mivel a telítésátvitelük mobil protonjaik cseréjén keresztül valósul meg és csak a protonok cseresebessége és longitudinális relaxációs ideje befolyásolja telítésátvitelük hatékonyságát.

A Gd(DOTA-Gly)<sup>-</sup> komplex relaxometriás vizsgálata során arra kerestük a választ, hogy a karboxilátcsoport acetyl-glicinát funkciós csoporttal történő helyettesítése milyen változásokat eredményez az oldószer vízprotonok relaxációsebességében a Gd(DOTA)<sup>-</sup>-hoz viszonyítva. A Gd(DOTA-Gly)<sup>-</sup> komplex relaxivitas szobahőmérsékleten és semleges pH-n  $2,1 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$  (9 MHz, 25 °C), ami a Gd<sup>3+</sup>-ionhoz közvetlenül koordinálódó vízmolekula lassú cseréjére utal. *Aime* és munkatársai számos Gd(DOTA-tetraamid) vízcsere sebességét határozták meg <sup>17</sup>O-

NMR-es mérésekkel és mindegyik esetben szokatlanul lassú cserefolyamatot tapasztaltak<sup>81</sup>. A Gd(DOTA-tetraamid) komplexek relaxivitás és vízcseresebesség értékeit a IV.2.5 táblázatban foglaltuk össze.

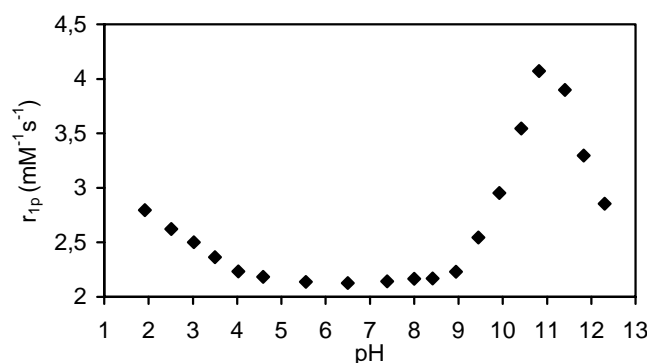
**IV.2.5 táblázat** A Gd(DOTA-tetraamid) komplexek relaxivitás értékei ( $r_{1p}$ ) és belsőszférás vízmolekulájuk átlagos tartózkodási ideje ( $\tau_M$ ) (20 MHz, 298 K).

	$r_{1p}$ (mM <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> )	$\tau_M$ (μs)
<b>Gd(DOTA)<sup>-</sup></b> [19]	4,7	0,208
<b>Gd(DOTA-Gly)<sup>-</sup></b>	2,1	8 [142]
<b>Gd(DOTAM)<sup>3+</sup></b> [81]	2,5	19
<b>Gd(DTMA)<sup>3+</sup></b> [81]	2,5	17
<b>Gd(DOTTA)<sup>3+</sup></b> [81]	3,0	7,8

A Gd(DOTA-teraamid) komplexekben a Gd(DOTA)<sup>-</sup>-val szemben töltés nélküli donoratombok vesznek részt a fémion koordinációjában. *Zhang* és munkatársai megvizsgálták a DOTA-mono-, di-, tri- és tetraamid ligandumok Gd(III)-komplexeinek vízcseresebességét és azt tapasztalták, hogy az amidcsoportok jelenléte és a koordinációban résztvevő töltés nélküli donorcsoportok számának a növekedése lecsökkenti a belső szférás vízmolekulák cseresebességét<sup>27</sup>. A Gd(DOTA-tetraamid) komplexeknek a relaxivitása nagyon hasonló a belsőszférás vízmolekulákkal nem rendelkező Gd(DOTP)<sup>5-</sup> és Gd(TTHA)<sup>3-</sup> komplexek relaxivitásához, ahol az oldószer vízprotonok relaxációsebességére gyakorolt hatásuk a külső és második koordinációs szférás effektusokon keresztül valósul meg<sup>143,144</sup>. Feltételezhetően a lassú vízcseré eredményezi a Gd(DOTA-Gly)<sup>-</sup> komplex kis relaxivitását, ami főleg külső- és második-koordinációs szférás hozzájárulások együtteséből eredhet. A Gd(DOTA-Gly)<sup>-</sup> komplex 4 amid- és 2 belsőszférás vízprotont tartalmaz, amelyek prototróp cseréjükön keresztül hatással lehetnek a komplex relaxivitására, ezért megvizsgáltuk a Gd(DOTA-Gly)<sup>-</sup> komplex relaxitásának pH- és hőmérséklet függését.

A Gd(DOTA-Gly)<sup>-</sup> relaxitásának pH-tól való függésének vizsgálata során a komplex mobil protonjai és az oldószer vízmolekulák protonjai között létrejövő

csere folyamatokról kaphatunk információkat. A  $\text{Gd}(\text{DOTA-Gly})^-$  amid- és a belsősférás vízprotonjai cserélődhetnek az oldószer vízprotonjaival. A  $\text{Gd}(\text{DOTA-Gly})^-$  komplex relaxivitásának pH-függése a IV.2.14 ábrán látható.

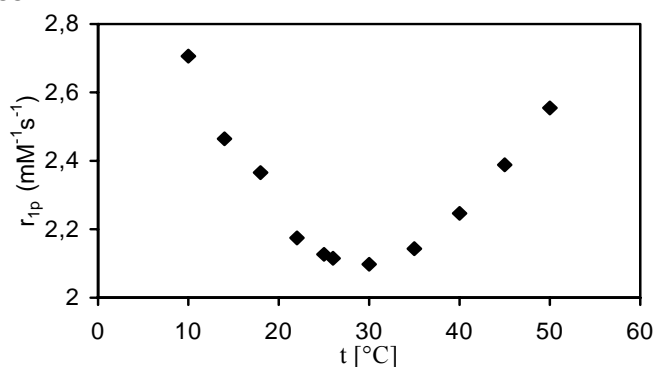


**IV.2.14 ábra** A  $\text{Gd}(\text{DOTA-Gly})^-$  relaxivitásának pH függése ( $25\text{ }^\circ\text{C}$ ,  $[\text{GdL}]=1 \times 10^{-3}\text{ M}$ ,  $9\text{ MHz}$ )

Megfigyelhető, hogy a  $\text{Gd}(\text{DOTA-Gly})^-$  komplex relaxivitása állandó ( $2,1\text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ ) a  $\text{pH}=5 - 9$  tartományban. Relaxitás növekedést  $\text{pH}<5$  és  $\text{pH}>9$ , csökkenést  $\text{pH}>11$  tartományban tapasztaltunk. A  $\text{Gd}(\text{DOTA-Gly})^-$  komplex viszonylag állandó kis relaxitás értékét a külső sférás hozzájárulások eredményezik, mivel a vízcsere sebessége túl kicsi és ezáltal belső sférás hozzájárulása az oldószer vízprotonok relaxációs sebességéhez elhanyagolható a  $\text{pH}=5-9$  tartományban. A relaxitás növekedést  $\text{pH}<5$  tartományban feltételezhetően a karboxilátcsoportok protonálódása és protonjaik víz protonokkal történő gyors cseréje eredményezi. A belsősférás vízprotonok savkatalizált cseréje  $\text{pH}<3$  tartományban válik jelentőssé tovább növelve a  $\text{Gd}(\text{DOTA-Gly})^-$  relaxitását. A belsősférás vízprotonok cseréje nem csak savkatalízis, hanem báziskatalízis hatására is meggyorsul, és az amid-NH protonok szintén báziskatalizált cseréjével együtt megnövelik a komplex relaxitását a  $\text{pH}>9$  esetében. A  $\text{OH}^-$ -koncentráció további növelésével valószínűleg bekövetkezik a belső sférában koordinált vízmolekula disszociációja és  $[\text{Gd}(\text{DOTA-Gly})(\text{OH})]^{2-}$  összetételű vegyes hidroxokomplex képződése a  $\text{pH}>10$  esetében. A koordinált  $\text{OH}^-$ -ionok és az oldószer vízmolekulák cseréje nagyon lassú, ami magyarázattal szolgálhat a relaxitás csökkenésére. Az amid-NH protonok  $\text{OH}^-$ -katalizált cseréjét támasztja alá az amid-NH

protonok  $^1\text{H-NMR}$  jelalakja, ami a  $\text{pH}>9$  esetében jelentősen szélesedik és ezt más Ln(DOTA-tetraamid) komplexek esetében is kimutatták<sup>81</sup>.

A Gd(III)-komplexek relaxivitásának hőmérséklet függés vizsgálata a komplexek vízcseré mechanizmusáról, a külső- és belsősférás hozzájárulások mértékéről nyújt felvilágosítást. A Gd(DOTA-Gly)<sup>-</sup> komplexek relaxivitásának hőmérséklet függését a IV.2.15 ábrán tüntettük fel.



**IV.2.15 ábra** A Gd(DOTA-Gly)<sup>-</sup> relaxivitásának hőmérséklet függése (25°C,  $\text{pH}=7,0$ ,  $[\text{GdL}]=1\times 10^{-3}$  M, 9 MHz)

A Gd(DOTA-Gly)<sup>-</sup> relaxivitásának hőmérséklet függése szokatlan a Gd(DTPA)<sup>2-</sup> és Gd(DOTA)<sup>-</sup> komplexekéhez viszonyítva, mivel az utóbbiak esetében a hőmérséklet növekedésével csökken az oldószer vízprotonok relaxációsebességéhez való belső- ( $r_{1p}^{is}$ ) és külsősférás ( $r_{1p}^{os}, r_{1p}^{2nd}$ ) hozzájárulásuk, ami az teljes relaxitás ( $r_{1p}$ ) monoton csökkenéséhez vezet. Ezen komplexek belsősférás vízmolekulájának cseresebessége viszonylag nagy, így a hőmérséklet növekedésével cseréjük tovább gyorsul és a komplex környezetében elhelyezkedő vízmolekulák translációs diffúzió sebességének növekedésével együtt a komplexek relaxitásának csökkenését eredményezik<sup>145</sup>.

A Gd(DOTA-Gly)<sup>-</sup> komplex relaxivitásának 10-25 °C között tapasztalt csökkenését a komplex közelében elhelyezkedő külső sférás vízmolekulák diffúziósebességének növekedése eredményezi. A hőmérséklet további növelése megnöveli a Gd<sup>3+</sup>-ionhoz koordinált vízmolekula cseresebességét, aminek köszönhetően a belső sféra relaxitás ( $r_{1p}^{is}$ ) hozzájárulásának növekedése meghaladja a komplex

közelében elhelyezkedő vízmolekulák növekvő diffúziósebességéből eredő ( $r_{1p}^{os}, r_{1p}^{2nd}$ ) relaxivitás csökkenést a  $t=25 - 35$  °C tartományban. A Gd(DOTA-Gly)<sup>-</sup> relaxivitása a hőmérséklet további növelésével nő, majd várhatóan maximumot ér el, amikor a vízmolekulának a belső szférában történő tartózkodása olyan rövidde válik, hogy nem következik be a proton(jai) relaxációja, így a relaxitás a hőmérséklet további növelésével csökken. A Gd(DOTA-Gly)<sup>-</sup> relaxitásának hőmérséklet függése hasonló más lassú vízcserevel rendelkező Gd(DOTA-tetraamidokéhoz)<sup>81,83</sup>.

#### ***IV.2.4 A Ln(DOTA-Gly)<sup>-</sup> komplex képződésének kinetikai vizsgálata (Ln<sup>3+</sup> = Ce<sup>3+</sup>, Eu<sup>3+</sup>)***

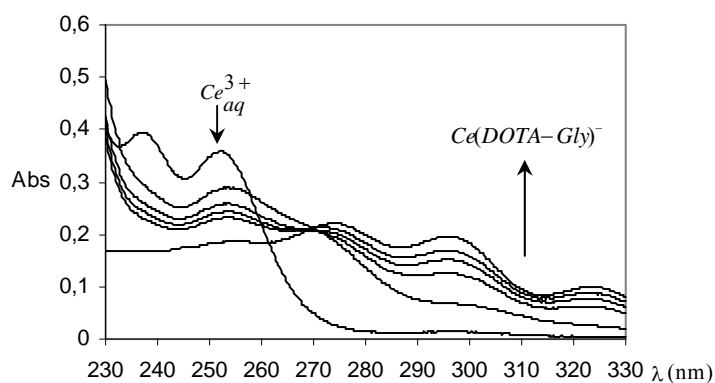
A Gd(III)-komplexek orvosdiagnosztikai alkalmazása szempontjából rendkívül fontos a kinetikai inertségük (lassú disszociációjuk), de képződésük megfelelő sebessége is, különösen a hordozómentes radioaktív izotópok rendkívül híg oldatokban történő reakciói (pl. <sup>90</sup>Y-DOTA-származék) esetében<sup>2,9</sup>. A Ln(DOTA)<sup>-</sup> komplexek az eddig ismert makrociklusos komplexek közül a leginertebbek közé tartoznak, amit feltételezhetően a képződő komplex szerkezete eredményez. A Ln(DOTA)<sup>-</sup> komplexek másik érdekessége, hogy kialakulásuk rendkívül lassú folyamat, pH<3 esetében akár hónapokat is igénybe vehet. Alapvető kérdés, hogy milyen folyamatokon keresztül következik be a komplex képződése és ezek közül melyik lépés a sebességmeghatározó. Számos kinetikai vizsgálat során spektrofotometriás<sup>49,146</sup>, <sup>1</sup>H-NMR-<sup>147</sup> és lumineszcencia spektroszkópiás<sup>50</sup> módszerekkel szokatlanul stabilis köztitermék képződését tudták kimutatni, amit más DOTA származékok Ln(III)-komplexének képződésekor is feltételeznek. A köztitermék a feltételezések szerint egy kétszer protonált Ln(H<sub>2</sub>DOTA)<sup>+</sup> komplex, amelyben a Ln<sup>3+</sup>-ion csak a karboxilátsoportokhoz koordinálódik, míg a 4 gyűrű amin-N-ek közül kettő (két szemben lévő) protonálva van. Az Eu(H<sub>2</sub>DOTA)<sup>+</sup> köztitermék lumineszcenciás élettartam<sup>50</sup> vizsgálataiból meghatározták Eu<sup>3+</sup>-ion belső koordinációs szférájában található vízmolekulák számát, ami 4 – 5 közöttinek adódott és ez összhangban van a köztitermék feltételezett szerkezetével. A köztitermék stabilitási állandóját kinetikai adatokból<sup>49</sup>, pH-potenciometriás és spektrofotometriás<sup>49</sup>, illetve

lumineszcenciás<sup>50</sup> mérésekből határozták meg. A kinetikai vizsgálatok során azt tapasztalták, hogy a Ln(DOTA)<sup>-</sup> komplex képződési sebessége lineárisan nő a [OH<sup>-</sup>] növekedésével a pH=3 – 6 tartományban<sup>49,50,146,147</sup>. A reakció első lépésében képződő kétszer protonált köztitermék szerepét illetően két uralkodó nézet található az irodalomban: i) *Wang* és munkatársai feltételezése szerint a kétszer protonált Ln(H<sub>2</sub>DOTA)<sup>+</sup> köztitermék szerepe elhanyagolható, mivel nincs a termékhez vezető reakcióúton (ún. „dead-end” komplex)<sup>147</sup>. A Ln(DOTA)<sup>-</sup> komplex kialakulása inkább a Ln<sup>3+</sup>-ion és az egyszer protonált HDOTA<sup>3-</sup>-ligandum találkozásakor megy végbe, még abban a pH tartományban is, ahol a HDOTA<sup>3-</sup> egyensúlyi koncentrációja rendkívül kicsi (0,01%) a DOTA teljes koncentrációjához képest. ii) *Brücher*<sup>49,146</sup>, valamint *Horrocks*<sup>50</sup> és munkatársai feltételezése szerint a kétszer protonált Ln(H<sub>2</sub>DOTA)<sup>+</sup> komplex deprotonálódása és azt követő átrendeződése a sebességmeghatározó. A Ln(DOTA)<sup>-</sup> komplexek képződésének sebesség meghatározó lépése valószínűleg a közti termék utolsó protonjának disszociációja és a fémion bekerülése a 4 gyűrű amin-N és a 4 karboxilát-O által határolt koordinációs üregbe. A feltételezett reakciómechanizmus alapján első lépésben egy gyors protonálódási egyensúly alakul ki az egyszer és a kétszer protonált köztitermék között, amit követ az egyszer protonált Ln(HDOTA)<sup>-</sup> köztitermék protonvesztése és a deprotonálódott komplex átrendeződése végtermékké a víz mint Brønsted bázis részvételével. A OH<sup>-</sup>-ion koncentráció növelésével a Ln(DOTA)<sup>-</sup> komplexek képződési sebességének lineáris függéstől nagyobb mértékű növekedését az egyszer protonált köztitermék OH<sup>-</sup> katalizált protonvesztésével magyarázták pH>7,5 esetében<sup>130</sup>. A tanszéken korábban különböző pufferekben végzett kinetikai vizsgálatok során a komplexek képződési sebességének növekedését tapasztalták a puffer bázikus formájának növekvő koncentrációjával, ami alátámasztja az általános báziskatalízis létezését<sup>30,130</sup>.

A Ln(DOTA-Gly)<sup>-</sup> komplexek képződésének kinetikai vizsgálatai során az acetyl-glicinát funkciós csoport jelenlétének a komplex képződési sebességre gyakorolt hatását tanulmányoztuk. A Ln(DOTA-tetraamid) komplexek képződésének kinetikai vizsgálatai orvosdiagnosztikai szempontból kevésbé jelentősek, mint disszociációjuk

kinetikai vizsgálatait, de mindenféleképpen fontos a makrociklusos Ln(III)-komplexek képződési és disszociációs reakciói mechanizmusának megismerése szempontjából.

A  $\text{Ce}(\text{DOTA})^-$  komplexek képződésének spektrofotometriás vizsgálata során két új abszorpciós sávot tapasztaltak 296 nm és 318 nm maximumokkal<sup>146</sup>. A 296 nm-nél található sáv a kétszer protonált köztitermékhez rendelhető, melynek intenzitása a reakció előrehaladásával csökken, miközben a 318 nm-nél jelentkező sáv intenzitása hasonló sebességi állandóval növekszik<sup>49,146</sup>. A  $\text{Ce}^{3+}$ -DOTAM-Gly rendszer abszorpciós spektrumai a IV.2.16 ábrán láthatók.



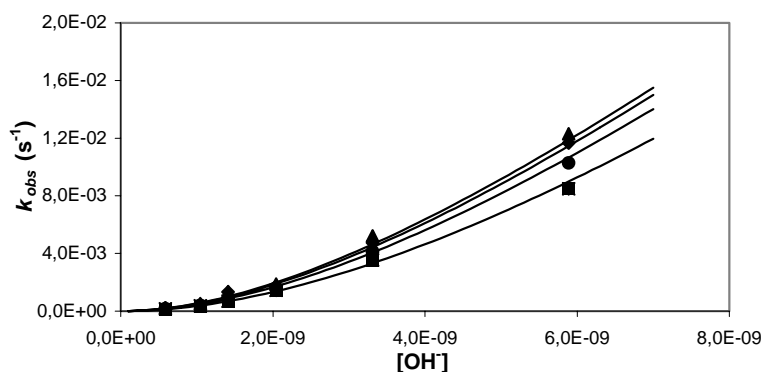
**IV.2.16 ábra** A  $\text{Ce}(\text{DOTA-Gly})^-$  komplex abszorpciós spektruma  $\text{CeCl}_3$  és DOTAM-Gly oldatok összekeverése után 0,25 h, 1,25 h, 2,20 h, 3,21 h és 29,5 h-val.

( $[\text{Ce}^{3+}] = [\text{DOTAM-Gly}] = 5 \times 10^{-4}$  M,  $[\text{NaOAc}] = 0,01$  M,  $\text{pH} = 4,85$ ,  $25^\circ\text{C}$ )

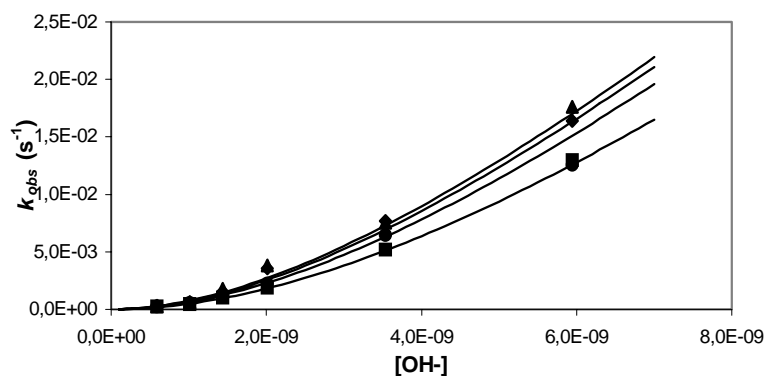
A  $\text{Ce}(\text{DOTA-Gly})^-$  komplex kialakulása feltételezhetően kétszer protonált köztitermék képződésén keresztül megy végbe a  $\text{Ce}(\text{DOTA})^-$ -hoz hasonlóan. A  $\text{Ce}^{3+}$ -DOTAM-Gly oldatok abszorpciós spektrumában (IV.2.16 ábra) a 260 – 270 nm között jelentkező abszorpciós maximum a kétszer protonált köztitermék azonnali képződését jelzi. A kétszer protonált  $\text{Ce}(\text{H}_2\text{DOTAM-Gly})^+$  köztitermékben a  $\text{Ce}^{3+}$ -ion feltételezhetően az amidcsoportok karbonil-O-hez és a karboxilátcsoportokhoz koordinálódik, miközben a tetraaza gyűrű két szemben lévő amin-N-je protonált formában van. A gyűrű amin-N-ek kisebb bázicitásának köszönhetően  $\text{pH} > 4,5$  esetében az egyszer protonált HDOTAM-Gly ligandum egyensúlyi koncentrációja nem elhanyagolható, így az egyszer és kétszer protonált köztitermékek valószínűleg egyidejűleg képződnek a  $\text{Ln}(\text{DOTAM-Gly})^-$

komplexeik kialakulásakor. Mivel az egyszer és kétszer protonált köztitermék szerkezete csak a gyűrű amin-N-ek protonáltsági fokában tér el egymástól, így abszorpciós spektrumuk nagyon hasonló, mint a  $\text{Ce}(\text{DOTA})^-$  esetében<sup>130</sup>. A  $\text{Ce}(\text{DOTA-Gly})^-$  abszorpciós spektrumában (IV.2.16 ábra) a  $\text{Ce}_{aq}^{3+}$  akvakomplex abszorpciós sávjától viszonylag távol elhelyezkedő izoszbesztikus pont szintén a köztitermék képződésére és átalakulására utal. A  $\text{Ln}(\text{DOTA})^-$  komplexek kinetikai vizsgálatinál pszeudo-elsőrendű feltételek biztosítására fémion felesleget alkalmaztak. A kapott pszeudo-elsőrendű sebességi állandókat a fémion koncentrációjának függvényében ábrázolva telítési görbét kaptak, amiből a köztitermék stabilitási állandója számítható. A sebességi állandók telítési értéke, ami a közti termék végtermékké történő átrendeződésének sebességi állandója, a  $\text{OH}^-$  -ionok koncentrációjának növekedésével lineárisan növekedett<sup>49,50,146,147</sup>.

A  $\text{Ce}(\text{DOTA-Gly})^-$  és az  $\text{Eu}(\text{DOTA-Gly})^-$  komplexek képződési reakcióit a  $\text{pH}=4,7 - 5,8$  tartományban spektrofotometriás módszerrel 10-50-szeres fémion felesleget alkalmazva tanulmányoztuk a pszeudo-elsőrendű feltételek megteremtése érdekében. Így a  $\text{Ln}(\text{DOTA-Gly})^-$  komplexek képződése a (III.2.1) sebességi egyenlettel leírható (41. oldal). A pszeudo-elsőrendű sebességi állandókat ( $k_{obs}$ ) a fémion koncentrációk függvényében ábrázolva a  $\text{Ln}(\text{DOTA})^-$  komplexek képződéséhez hasonlóan telítési görbéket kaptunk, ami a köztitermék képződését jelzi. A kísérleti eredmények alapján gyakorlatilag teljesnek feltételeztük a köztitermék képződését ötszörösnél nagyobb fémion felesleg alkalmazásánál, így a pszeudo-elsőrendű sebességi állandók a köztitermék átalakulását jellemzik. A  $\text{Ce}(\text{DOTA-Gly})^-$  és az  $\text{Eu}(\text{DOTAM-Gly})^-$  komplexek képződésének különböző pH-kon és  $\text{Ce}^{3+}$ - valamint  $\text{Eu}^{3+}$  koncentrációknál meghatározott pszeudo-elsőrendű sebességi állandóit ( $k_{obs}$ ) a IV.2.17 és a IV.2.18 ábrákon tüntettük fel.

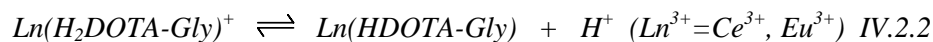


**IV.2.17 ábra** A Ce(DOTA-Gly)<sup>-</sup> komplex képződése során kapott pszeudo-elsőrendű sebességi állandók függése a OH<sup>-</sup> -ion koncentrációtól ([L]=3×10<sup>-4</sup> M, [Ce<sup>3+</sup>]=3×10<sup>-3</sup> M (■), 6×10<sup>-3</sup> M (●), 1×10<sup>-2</sup> M (◆) és 1,5×10<sup>-2</sup> M (▲); [NMP]=0,03 M, 25 °C, 1,0 M KCl)

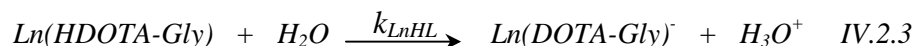


**IV.2.18 ábra** Az Eu(DOTA-Gly)<sup>-</sup> komplex képződése során kapott pszeudo-elsőrendű sebességi állandók függése a OH<sup>-</sup> -ion koncentrációtól ([L]=3×10<sup>-4</sup> M, [Eu<sup>3+</sup>]=3×10<sup>-3</sup> M (■), 6×10<sup>-3</sup> M (●), 1×10<sup>-2</sup> M (◆) és 1,5×10<sup>-2</sup> M (▲); [NMP]=0,03 M, 25 °C, 1,0 M KCl)

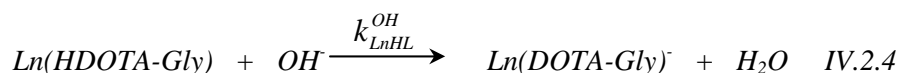
Mind a Ce(DOTA-Gly)<sup>-</sup>, mind az Eu(DOTA-Gly)<sup>-</sup> komplex képződése során a fémionok koncentrációjának növekedése csak kis mértékben, míg a OH<sup>-</sup> - ion koncentráció növekedése a lineáristól nagyobb mértékben változtatja a pszeudo-elsőrendű sebességi állandók ( $k_{obs}$ ) értékeit. A pszeudo-elsőrendű állandók Ln<sup>3+</sup>- és OH<sup>-</sup> -ion koncentráció függésének magyarázatára a következő reakciómechanizmust feltételeztük. Az egyszer és kétszer protonált köztitermékek között nagyon gyors protonálódási egyensúly van a Ln(DOTA)<sup>-</sup> komplexekéhez hasonlóan<sup>49</sup>:



A IV.2.2 egyenlet jellemezhető a  $K_{\text{LnHL}}^{\text{H}} = [\text{LnH}_2\text{L}]/[\text{LnHL}][\text{H}^+]$  protonálódási állandóval, ami egyben magában foglalja, hogy a reaktív monoprotonált köztitermék Ln(HDOTA-Gly) egyensúlyi koncentrációja fordítottan arányos a  $[\text{H}^+]$ -val. A Ln(DOTA-Gly)<sup>-</sup> komplexek kialakulásában feltételezhetően a monoprotonált köztitermék deprotonálódása és a protonvesztést követő átrendeződése a sebességmeghatározó, amiben a H<sub>2</sub>O-molekulák, mint Brönsted bázisok vehetnek részt:



A Ln(DOTA)<sup>-</sup> komplexekhez hasonlóan a Ln(DOTA-Gly)<sup>-</sup> komplexek képződésének pszeudo-elsőrendű sebességi állandói a lineáris függéstől nagyobb mértékben nőnek a OH<sup>-</sup> - ion-koncentráció növekedésével. Ez feltehetőleg azzal magyarázható, hogy a Ln(DOTA-Gly)<sup>-</sup> komplexek képződése az említett úttól eltérően is végbemehet. Mivel a monoprotonált köztitermék deprotonálódása lejátszódhat OH<sup>-</sup> - ion által katalizált úton is, így valószínű, hogy az egyszer protonált köztitermék OH<sup>-</sup> -ion katalizált protonvesztésének és azt követő átrendeződésének is van hozzájárulása a Ln(DOTA-Gly)<sup>-</sup> komplex kialakulásához:



A két lehetséges reakcióutat figyelembe véve a komplexek képződésének sebessége a következőképpen adható meg:

$$\frac{d[\text{LnL}]_t}{dt} = k_{\text{LnHL}}[\text{LnHL}] + k_{\text{LnHL}}^{\text{OH}}[\text{LnHL}][\text{OH}^-] \quad \text{IV.2.5}$$

A számítások során figyelembe vettük, hogy a pszeudo-elsőrendű feltételt fémion felesleg alkalmazásával értük el, így  $[Ln^{3+}]_t$ , a  $Ln^{3+}$ -ionok teljes koncentrációja a következő egyenlettel adható meg:

$$[Ln^{3+}]_t = [Ln^{3+}] + [LnHL] + [LnH_2L] \quad IV.2.6$$

Az egyszer protonált  $Ln(HDOTA-Gly)$  köztitermék egyensúlyi koncentrációját a  $K_{LnHL}^H$  protonálódási állandóval, valamint a kétszer protonált  $Ln(H_2DOTA-Gly)^+$  köztitermék egyensúlyi koncentrációját a köztitermék stabilitási állandójával  $K^*$  ( $K^* = [LnH_2L]/[Ln^{3+}][H_2L]$ ) kifejezve a IV.2.5 és IV.2.6 egyenletek felhasználásával a  $Ln(DOTA-Gly)^-$  komplexek képződésének sebessége a következő egyenlettel írható le:

$$k_{obs} = \frac{k_{LnHL} + k_{LnHL}^{OH} [OH^-]}{1 + K_{LnHL}^H [H^+] + \frac{K_{LnHL}^H [H^+]}{K^* [Ln^{3+}]}} \quad IV.2.7$$

Az  $Eu^{3+}$ -DOTA-Gly és  $Ce^{3+}$ -DOTA-Gly rendszerekben kapott  $k_{obs}$  pszeudo-elsőrendű sebességi állandókat felhasználva a IV.2.7 egyenlettel kiszámítottuk az egyenletben szereplő egyensúlyi és sebességi állandókat, melyeket a IV.2.6 táblázatban mutatunk be.

**IV.2.6 táblázat** A  $Ln(DOTA-Gly)^-$  és  $Ln(DOTA)^-$  komplexek képződésének sebességi és egyensúlyi állandói (25 °C, 1,0 M KCl)

	<b>Ce(DOTA-Gly)<sup>-</sup></b>	<b>Eu(DOTA-Gly)<sup>-</sup></b>	<b>Ce(DOTA)<sup>-</sup> [130]</b>
$k_{LnHL} [s^{-1}]$	–	–	18,5
$k_{LnHL}^{OH} [M^{-1}s^{-1}]$	$4,6 \pm 1 \times 10^6$	$6,6 \pm 1,6 \times 10^6$	$1,9 \times 10^7$
$\log K_{LnHL}^H$	$5,8 \pm 0,2$	$5,8 \pm 0,14$	8,64
$\log K^*$	$2,7 \pm 0,13$	$2,6 \pm 0,14$	4,5

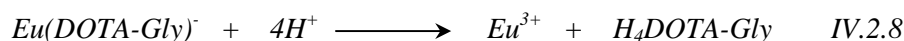
A Ln(DOTA-Gly)<sup>-</sup> komplexek képződésének OH<sup>-</sup> -ion katalizált reakcióútjához tartozó (IV.2.4 egyenlet) sebességi állandók ( $k_{LnHL}^{OH}$ ) kisebbek, mint a Ln(DOTA)<sup>-</sup> komplexek megfelelő sebességi állandói. Az egyszer protonált köztitermékek H<sub>2</sub>O részvételével bekövetkező deprotonálódásához tartozó sebességi állandók ( $k_{LnHL}$ ) kicsik, hibájuk az értékeknél nagyobbak, jelezve a reakcióút (IV.2.3 egyenlet) elhanyagolhatóságát. A DOTA-Gly ligandum gyűrű amin-N-nek kisebb bázicitása alapján várható, hogy a Ln(DOTA-Gly)<sup>-</sup> komplexek képződési sebessége jóval nagyobb, mint a Ln(DOTA)<sup>-</sup> komplexeké. Azonban az egyszer (Ln(HDOTA-Gly)) és a kétszer protonált (Ln(H<sub>2</sub>DOTAM-Gly)<sup>+</sup>) köztitermékekben a Ln<sup>3+</sup>-ionok a gyűrű amin-N- és a amid-O által határolt koordinációs üregtől viszonylag távol elhelyezkedő karboxilátcsoportokhoz kapcsolódnak, szemben a Ln(HDOTA) és Ln(H<sub>2</sub>DOTA)<sup>+</sup> köztitermékekkel, ahol a Ln<sup>3+</sup>-ionok közelebb vannak a gyűrű amin-N-ekhez. A Ln<sup>3+</sup>-ionok és a koordinációs kalitka távolságának a növekedése megnehezíti a komplex kialakulását, ami magyarázatul szolgál a Ln(DOTA-Gly)<sup>-</sup> komplexek kisebb képződési sebességére. A Ln(H<sub>2</sub>DOTA-Gly)<sup>+</sup> köztitermékben a Ln<sup>3+</sup>-ionok és a gyűrű amin-N-ek közötti nagy távolságra utal a kétszer protonált köztitermékek kis stabilitása ( $K^*$ ) és a szabad DOTA-Gly ligandummal közel megegyező protonálódási állandója ( $\log K_2^H = 6,25$ , IV.2.1 táblázat) a  $\log K_{LnH_2L}^H = 5,8$  érték.

#### ***IV.2.5 Az Eu(DOTA-Gly)<sup>-</sup> komplex disszociációjának kinetikai vizsgálata***

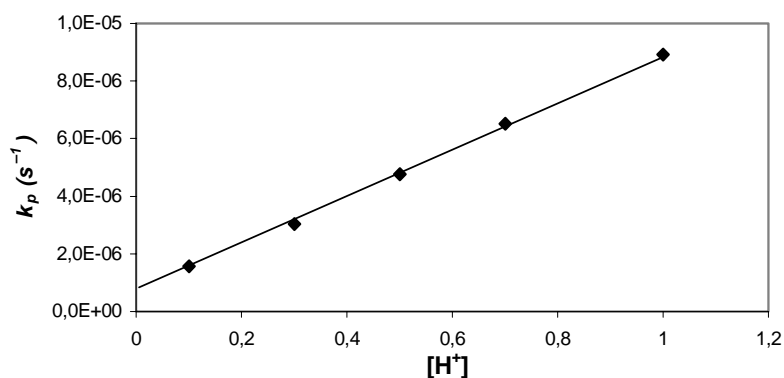
A Ln(III)-komplexek MRI vagy PARACEST kontrasztanyagkénti alkalmazhatóságával kapcsolatban elengedhetetlen a nagy kinetikai inertség, mivel a disszociációjuk során felszabaduló Ln<sup>3+</sup>-ionok és ligandumok rendkívül toxikusak az élő szervezet számára. A DOTA és DOTA-származékok Ln(III)-komplexeinek disszociációja H<sup>+</sup>-ion katalizált úton megy végbe nagyon lassan és a szervezetben található szabad fémionok (pl. Cu<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup>), valamint ligandumok nem befolyásolják a folyamatot<sup>49,147</sup>. A Ln(DOTA-Gly)<sup>-</sup> komplexek előzetes vizsgálata során kiderült, hogy

nem csak a képződésük, de disszociációjuk is lassabb a  $\text{Ln}(\text{DOTA})^-$  komplexekétől. A  $\text{Ln}(\text{DOTA-Gly})^-$  komplexek esetleges orvosdiagnosztikai alkalmazhatósága mellett az  $\text{Ln}(\text{DOTA})^-$  komplexekétől eltérő kinetikai viselkedésük is indokolta disszociációjuk részletesebb tanulmányozását.

A  $\text{Ln}(\text{DOTA-Gly})^-$  komplexek  $\text{pH} < 1$  tartományban termodinamikailag labilissá válnak, így disszociációjuk erősen savas körülmények között vizsgálható. Az  $\text{Eu}(\text{DOTA-Gly})^-$  komplex disszociációját követtük spektrofotometriásan 0,1 – 1,0 M  $\text{HClO}_4$ -os oldatban (az  $\text{Eu}(\text{DOTA-Gly})^-$  töltésátviteli abszorpciós sávján, 250 nm-en). Az alkalmazott kísérleti körülmények között ( $I=1,0$  M= $[\text{HClO}_4]+[\text{NaClO}_4]$ ) gyakorlatilag csak az  $\text{Eu}(\text{DOTA-Gly})^-$  komplex rendelkezik fényelnyeléssel az említett hullámhossznál, így az  $\text{Eu}(\text{DOTA-Gly})^-$  komplex abszorbanciája a disszociációnak megfelelő sebességi állandóval csökken. Az  $\text{Eu}(\text{DOTA-Gly})^-$  komplex disszociációját leíró reakcióegyenlet:

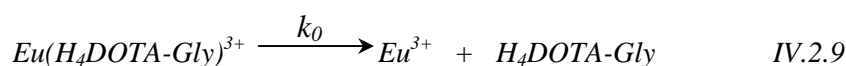


A disszociáció jellemezhető a III.2.4 sebességi egyenlettel, amelyben a  $k_p$  a komplex disszociációjára jellemző pszeudo-elsőrendű sebességi állandó. A kapott  $k_p$  sebességi állandókat a  $\text{H}^+$ -ion koncentrációjának függvényében a IV.2.19 ábrán tüntettük fel.

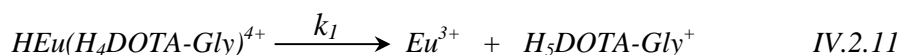


**IV.2.19 ábra** Az  $\text{Eu}(\text{DOTA-Gly})^-$  komplex disszociációjára jellemző sebességi állandók a  $\text{H}^+$ -ion koncentrációjának függvényében (25 °C,  $[\text{HClO}_4]+[\text{NaClO}_4]=1,0$  M)

Az  $\text{Eu}(\text{DOTA-Gly})^-$  komplex disszociációjára jellemző pszeudo-elsőrendű sebességi állandók lineárisan változnak a  $\text{H}^+$ -ion-koncentráció függvényében. Egyensúlyi vizsgálataink eredményei alapján  $[\text{H}^+] > 0,1 \text{ M}$  feltételek mellett tetraprotonált  $\text{Eu}(\text{H}_4\text{DOTA-Gly})^{3+}$  komplex képződik csaknem 100%-ban, amikor minden egyes karboxilátcsoport protonálva van (IV.2.2 táblázat). A pszeudo-elsőrendű sebességi állandók  $\text{H}^+$ -ion-koncentráció függésének magyarázatára a következő reakció mechanizmust tételeztük fel. Az első lépésben a képződő  $\text{Eu}(\text{H}_4\text{DOTA-Gly})^{3+}$  disszociációja bekövetkezhet spontán módon:



Mivel az  $\text{Eu}(\text{H}_4\text{DOTA-Gly})^{3+}$  disszociációjának pszeudo-elsőrendű sebességi állandói lineárisan növekednek a  $\text{H}^+$ -ion koncentrációjának növekedésével, így feltételezhetőleg a reakció az előbbtől eltérő úton is végbemehet  $\text{H}^+$ -ion katalízissel:



A két utat figyelembe véve a disszociációs reakció sebessége a következőképpen adható meg:

$$-\frac{d[\text{EuL}]}{dt} = k_0[\text{EuH}_4\text{L}] + k_1[\text{EuH}_4\text{L}][\text{H}^+] \quad \text{IV.2.12}$$

Azzal a feltételezéssel, hogy a reakció kezdetén a tetraprotonált  $\text{Eu}(\text{H}_4\text{DOTA-Gly})^{3+}$  komplex teljes mértékben képződik és az  $\text{Eu}(\text{DOTA-Gly})^-$  koncentrációja azonos ennek koncentrációjával, az  $\text{Eu}(\text{DOTA-Gly})^-$  komplex disszociációjának sebessége a következő egyenlettel írható le:

$$k_p = k_0 + k_1[H^+] \quad IV.2.13$$

Az  $\text{Eu}(\text{DOTA-Gly})^-$  disszociációja vizsgálata során kapott  $k_p$  pszeudo-elsőrendű sebességi állandókból (IV.2.19 ábra) a IV.2.13 egyenletre történő illesztésével számított sebességi állandókat a IV.2.7 táblázatban foglaltuk össze.

**IV.2.7 táblázat** Az  $\text{Eu}(\text{DOTA-Gly})^-$  és az  $\text{Gd}(\text{DOTA})^-$  komplexek disszociációjának sebességi állandói (25 °C,  $[\text{HClO}_4]+[\text{NaClO}_4]=1,0 \text{ M}$ )

	<b>Eu(DOTA-Gly)<sup>-</sup></b>	<b>Gd(DOTA)<sup>-</sup></b> [49]
$k_0 [\text{s}^{-1}]$	$7,3 \pm 0,5 \times 10^{-7}$	$5 \times 10^{-10}$
$k_1 [\text{M}^{-1}\text{s}^{-1}]$	$8,1 \pm 0,2 \times 10^{-6}$	$2,0 \times 10^{-5}$

A IV.2.7 táblázat adatai alapján megállapítható, hogy az  $\text{Eu}(\text{DOTA-Gly})^-$  komplex disszociációja  $\text{H}^+$ -ion katalizált úton lassabban, míg spontán módon gyorsabban játszódik le, mint az  $\text{Gd}(\text{DOTA})^-$  megfelelő disszociációs folyamatai, pedig termodinamikai stabilitása több nagyságrenddel kisebb az acetát analóg komplexétől. A jóval gyorsabb spontán disszociáció oka feltételezhetően a  $\text{H}^+$ -ionok gyorsabb áthelyeződése a karboxilátcsoportokról a gyűrű amin-N-ekre, ami lecsökkenti a gyűrű amin-N-ek és az  $\text{Eu}^{3+}$ -ion közötti kötés átlagos élettartamát és a gyakoribb kötésfelhasadások a fémion koordinációs kalitkából történő kikerüléséhez, majd a komplex disszociációjához vezetnek. Azonban fiziológias körülmények között a négyszer protonált  $\text{Eu}(\text{H}_4\text{DOTA-Gly})^{3+}$  komplex egyáltalán nem fordul elő, így a spontán disszociációja gyakorlatilag nem mehet végbe.

Az  $\text{Eu}(\text{DOTA-Gly})^-$  komplex disszociációjának kinetikai vizsgálatai rámutattak, hogy azok kinetikai inertsége elegendően nagy az „*in vivo*” vizsgálatokhoz, mivel mind a spontán, mind a  $\text{H}^+$ -ion katalizált disszociációjuk rendkívül lassan játszódik le.

#### ***IV.2.6 Az Ln(DOTAM)<sup>3+</sup> komplexek képződésének kinetikai vizsgálata***

A három pozitív töltésű Ln(DOTA-tetraamid) komplexek felhasználása iránti érdeklődés az utóbbi évek során nőtt. Az orvosi diagnosztikai és terápiás alkalmazások mellett a biokémia különböző területein (pl. RNS molekula hasításának és a foszfát-észterek hidrolízisének katalizálása) is sor került felhasználásukra<sup>88,141,148</sup>. PARACEST kontrasztanyagként történő felhasználhatóságuk mellett a Tb<sup>3+</sup> és az Eu(III)-komplexeik lumineszcenciás próbaként történő alkalmazásának vizsgálatai is elkezdődtek<sup>23-27,149,150</sup>.

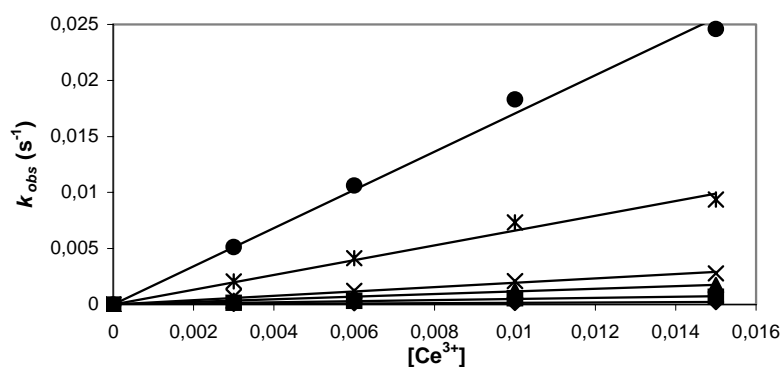
A Ln(DOTA-tetraamid) komplexek stabilitása ( $\log K_{ML}$ ) 10-15 nagyságrenddel kisebb, mint a megfelelő Ln(DOTA)<sup>-</sup> komplexeké, de az Eu(DOTAM)<sup>3+</sup>, Eu(DOTTA)<sup>3+</sup> és az Eu(DTMA)<sup>3+</sup> komplexek 2,5 M HNO<sub>3</sub>-ban lejátszódó protonkatalizált disszociációja sokkal lassabb, mint az Eu(DOTA)<sup>-</sup> komplexé<sup>81,151,152</sup>. A Ln(DOTA-tetraamid) komplexek viszonylag nagy termodinamikai stabilitása és kinetikai inertsége kicsit szokatlan, mivel a Ln<sup>3+</sup>-ionok töltés nélküli donoratomokkal szemben inkább a töltéssel rendelkezőket részesítik előnyben. A Ln(DOTA)<sup>-</sup> komplexek nagy termodinamikai stabilitása és kinetikai inertsége a Ln<sup>3+</sup>-ion és a donoratomok által létrehozott koordinációs kalitka méretviszonyai mellett a pozitív töltésű központi fémion és a negatív töltésű donor csoportok között létrejövő elektrosztatikus kölcsönhatásnak is köszönhető. A Ln<sup>3+</sup>-ionok és a viszonylag merev szerkezetű DOTAM ligandum között lejátszódó komplexképződési reakció kinetikai vizsgálata mindenképpen érdekesnek tűnt az Ln(DOTA-tetraamid) komplexek kialakulásának kinetikájáról és mechanizmusáról rendelkezésünkre álló információk gyarapításának tekintetében.

Mivel a Ln(DOTA-tetraamid) komplexek képződése lassan megy végbe vizes oldatban, ezért sok esetben ezeket a komplexeket nemvizes közegben állítják elő<sup>81,83,141,153</sup>. Az Ln(DOTA-Gly)<sup>-</sup> komplexek képződése a Ln(DOTA)<sup>-</sup> komplexekhez hasonló módon játszódik le (lásd IV.2.4 fejezet). A hasonlóságot feltételezhetően az okozza, hogy mindkét ligandum negatív töltésű karboxilát csoportokkal rendelkezik, amelyek a reakció első lépésében a Ln<sup>3+</sup>-ionokhoz erősen koordinálódnak egyszer és kétszer protonált köztitermékek képződését eredményezik.

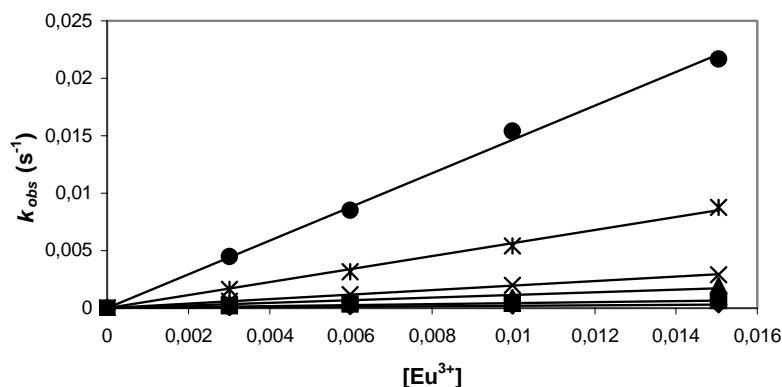
A  $\text{Ln}^{3+}$ -ionok ( $\text{Ln}^{3+} = \text{Ce}^{3+}, \text{Eu}^{3+}, \text{Gd}^{3+}, \text{Er}^{3+}$  és a  $\text{Yb}^{3+}$ ) és a DOTAM ligandum közötti komplexképződési reakciót részletesen tanulmányoztuk a töltéssel rendelkező és a töltéssel nem rendelkező donoratomoknak a komplex kialakulásában játszott szerepe felderítése érdekében. A  $\text{Ln}(\text{DOTAM})^{3+}$  komplexek képződési reakcióját a  $\text{pH}=4,7\text{--}5,8$  tartományban vizsgáltuk, ahol az egyszeresen és kétszeresen protonált  $\text{HDOTAM}^+$  és  $\text{H}_2\text{DOTAM}^{2+}$  részecskék vannak jelen oldatfázisban, mivel a ligandum protonálódási állandói a következők:  $\log K_1^H = 9,02$ ;  $\log K_2^H = 6,05$  ( $25\text{ }^\circ\text{C}$ ;  $0,1\text{ M Me}_4\text{NCl}$  (IV.2.1 táblázat)). A  $\text{Ln}(\text{DOTAM})^{3+}$  komplexek képződése a következő egyenlettel írható le:



A kinetikai vizsgálatok során 5-50 szerez fémion felesleg felhasználásával teremtettük meg a pszeudo-elsőrendű feltételeket és így a  $\text{Ln}(\text{DOTAM})^{3+}$  komplexek képződése a (III.2.1) sebességi egyenlettel írható le (41. oldal). A  $\text{Ce}(\text{DOTAM})^{3+}$  és az  $\text{Eu}(\text{DOTAM})^{3+}$  komplexek képződésekor meghatározott pszeudo-elsőrendű sebességi állandókat a fémion koncentrációk függvényében ábrázolva a IV.2.20 és IV.2.21 ábrákon tüntettük fel.



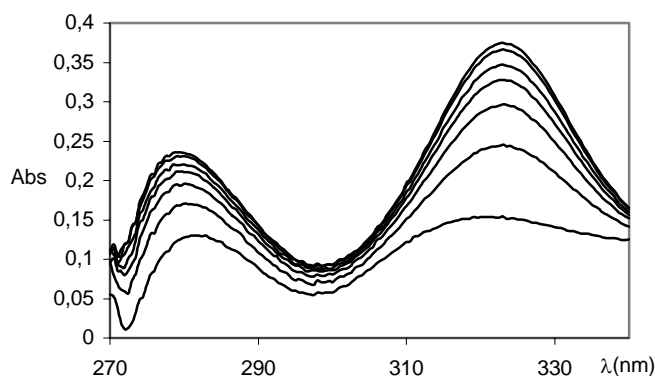
**IV.2.20 ábra** A  $\text{Ce}(\text{DOTAM})^{3+}$  komplex képződése során kapott pszeudo-elsőrendű sebességi állandók függése a  $\text{Ce}^{3+}$ -ion koncentrációtól. ( $[\text{DOTAM}] = 3,0 \times 10^{-4}\text{ M}$ ,  $[\text{NMP}] = 0,05\text{ M}$ ,  $\text{pH}=4,80$  (◆),  $\text{pH}=5,01$  (■),  $\text{pH}=5,16$  (▲),  $\text{pH}=5,30$  (×),  $\text{pH}=5,53$  (\*),  $\text{pH}=5,77$  (●),  $25\text{ }^\circ\text{C}$ ,  $1,0\text{ M KCl}$ )



**IV.2.21 ábra** Az  $\text{Eu}(\text{DOTAM})^{3+}$  komplex képződése során kapott pszeudo-elsőrendű sebességi állandók függése a  $\text{Eu}^{3+}$ -ion koncentrációtól. ( $[\text{DOTAM}] = 3,0 \times 10^{-4}$  M,  $[\text{NMP}] = 0,05$  M,  $\text{pH} = 4,80$  (◆),  $\text{pH} = 5,01$  (■),  $\text{pH} = 5,16$  (▲),  $\text{pH} = 5,30$  (×),  $\text{pH} = 5,53$  (\*),  $\text{pH} = 5,77$  (●),  $25$  °C,  $1,0$  M KCl)

A IV.2.20 és a IV.2.21 ábrák alapján megállapítható, hogy a pszeudo-elsőrendű sebességi állandók a fémion-koncentráció növekedésével lineárisan nőnek, ami jelentősen eltér a DOTA ligandum és származékai Ln(III)-komplexeinek képződése során tapasztaltaktól, mivel esetükben kapott pszeudo-elsőrendű sebességi állandók a fémion-koncentráció függvényében telítési görbe szerint változtak, jelezve a köztitermék kialakulását<sup>49,50,66,130,147</sup>. Parker és munkatársai a közelmúltban előállított  $[\text{Gd}(\text{H}_2\text{DOTAM})(\text{H}_2\text{O})_4](\text{ClO}_4)_5$  komplex egykristályának röntgendiffrakciós szerkezetvizsgálatai alapján megállapították, hogy a  $\text{Gd}^{3+}$  ion koordinációjában csak a ligandum funkciócsoportjainak 4 karbonil O-je és 4  $\text{H}_2\text{O}$ -molekula vesz részt, míg a makrociklusus gyűrű két szemben lévő N-je protonálva van<sup>154</sup>. A szilárd fázisú szerkezetvizsgálatok eredményei alapján arra következtettek, hogy az említett komplex, mint kétszer protonált köztitermék jelenik meg a  $\text{Gd}(\text{DOTAM})^{3+}$  komplex képződése során és vízkatalizált deprotonálódását követő átrendeződésével alakul át végtermékké<sup>154</sup>. Ezzel szemben Kasprzyk és Wilkins két vegyértékű fémionok DOTA komplexeinek képződése során kimutatták, hogy a köztitermékeknek jelentéktelen szerepe van  $\text{M}(\text{DOTA})^{2-}$  komplexek képződésében, mivel azok nincsenek a

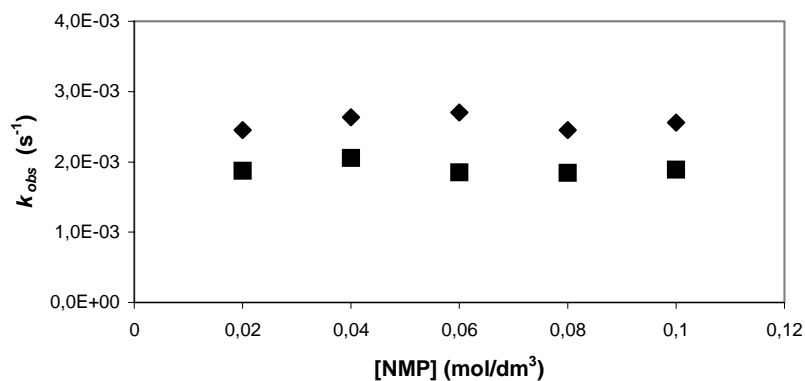
termékekhez vezető reakcióúton (ún. „dead-end” komplexek) és a reakció egyszerű másodrendű folyamatként játszódik le<sup>155</sup>. A  $\text{Ce}^{3+}$ - és  $\text{Eu}(\text{DOTA})^-$  komplexek képződése során összemérhető fémion- és ligandumkoncentrációk alkalmazása mellett is mind spektrofotometriás, mind lumineszcenciás módszerekkel ki tudták mutatni a köztitermék kialakulását<sup>49,50</sup>. Ugyanakkor a  $\text{Ce}(\text{DOTAM})^{3+}$  komplex képződésének spektrofotometriás vizsgálata során köztitermék kialakulása még 100-szoros fémion felesleg felhasználásakor sem volt detektálható. A  $\text{Ce}^{3+}$ -DOTAM rendszer abszorpciós spektruma a IV.2.22 ábrán látható.



**IV.2.22 ábra.** A  $\text{Ce}(\text{DOTAM})^{3+}$  komplex abszorpciós spektruma  $\text{CeCl}_3$  és DOTAM oldatok összekeverése után 4, 8, 16, 20, 24, 28 és 32 perccel ( $[\text{Ce}^{3+}] = 0.05 \text{ M}$ ,  $[\text{DOTAM}] = 5 \times 10^{-4} \text{ M}$ ,  $[\text{NaOAc}] = 0.01 \text{ M}$ ,  $\text{pH} = 4.58$ ,  $25 \text{ }^\circ\text{C}$ )

A kétszer protonált  $\text{Ln}(\text{H}_2\text{DOTAM})^{5+}$  komplexnek a  $\text{Ln}(\text{DOTAM})^{2+}$  komplexek képződésében játszott szerepének eldöntése érdekében megvizsgáltuk az  $\text{Eu}(\text{DOTAM})^{3+}$  és  $\text{Ce}(\text{DOTAM})^{3+}$  komplexek képződési sebességét különböző koncentrációkban alkalmazott NMP puffer ( $\text{p}K_1 = 4.83$ ) jelenlétében. Ezekben a vizsgálatokban a puffer bázikus formája, mint katalizátor elősegíti a protonált köztitermék protonvesztését és ezzel együtt meggyorsítja a komplexek képződését. A  $\text{Ce}(\text{DOTAM})^{3+}$  és  $\text{Eu}(\text{DOTAM})^{3+}$  komplexek képződésének pszeudo-első rendű sebességi állandóit a VI.2.23 ábrán tüntettük fel, amelyek értéke az NMP koncentrációjának növekedésével gyakorlatilag változatlan. Ez az eredmény azt mutatja, hogy a  $\text{Ln}(\text{DOTAM})^{3+}$  komplexek

képződésekor nem érvényesül az általános bázis katalízis, vagyis protonált köztitermék feltehetően nem képződik, illetve nincs szerepe a  $\text{Ln}(\text{DOTAM})^{3+}$  komplexek képződésében.



**IV.2.23 ábra.** A  $\text{Ce}(\text{DOTAM})^{3+}$  (◆) (pH=5,32) és  $\text{Eu}(\text{DOTAM})^{3+}$  (■) (pH=5,2) komplex képződése során kapott pszeudo-elsőrendű sebességi állandók függése az NMP koncentrációtól. ( $[\text{DOTAM}] = 3,0 \times 10^{-4}$  M,  $[\text{Ln}^{3+}] = 6,0 \times 10^{-3}$  M, 25 °C, 1,0 M KCl)

A IV.2.20 és IV.2.21 ábrák adatai alapján a pszeudo-elsőrendű sebességi állandók fémion koncentráció függése a következő egyenlettel írható le:

$$k_{obs} = k_f [\text{Ln}^{3+}] \quad \text{IV.2.15}$$

A III.2.1 (41. oldal) és a IV.2.15 egyenleteket figyelembevételével a reakció sebessége a következőképpen adható meg:

$$\frac{d[\text{LnL}]_t}{dt} = k_f [\text{Ln}^{3+}] [\text{L}]_t \quad \text{IV.2.16}$$

Az eredményeink alapján a  $\text{Ln}(\text{DOTAM})^{3+}$  komplexek képződése a  $\text{Ln}(\text{DOTA})^-$  komplexekétől eltérően a  $\text{Ln}^{3+}$ -ion és a ligandum közvetlen találkozásával, köztitermék kialakulása nélkül játszódik le másodrendű reakcióban. A DOTAM ligandum protonálódási állandói alapján a pH=4,7-5,8 tartományban főként az egyszer és a kétszer

protonált ligandum fordul elő, míg a teljesen deprotonált ligandum koncentrációja rendkívül kicsi. Azonban az említett három részecske közül az utóbbi a legreaktívabb, mivel a  $\text{HDOTAM}^+$  és  $\text{H}_2\text{DOTAM}^{2+}$  ligandumok pozitív töltésükből fakadóan gátolják a  $\text{Ln}^{3+}$ -ionokkal történő komplex kialakulását. Ezzel szemben azt feltételezve, hogy a  $\text{Ln}(\text{DOTAM})^{3+}$  komplexek képződésekor minden egyes részecske reaktív, a reakció sebességi egyenlete (IV.2.16 egyenlet) a IV.2.17 egyenletnek megfelelően írható:

$$\frac{d[\text{LnL}]_t}{dt} = k_L[\text{Ln}^{3+}][\text{L}] + k_{HL}[\text{Ln}^{3+}][\text{HL}^+] + k_{H_2L}[\text{Ln}^{3+}][\text{H}_2\text{L}^{2+}] \quad \text{IV.2.17}$$

A  $\text{HL}^+$  és  $\text{H}_2\text{L}^{2+}$  részecskék koncentrációját a  $K_1^H$  és  $K_2^H$  protonálódási állandókkal kifejezve, a IV.2.16 és a IV.2.17 egyenletek felhasználásával a  $\text{Ln}(\text{DOTAM})^{3+}$  komplexek képződési sebessége a következő egyenlettel írható le:

$$k_f = \frac{k_L + k_{HL}K_1^H[\text{H}^+] + k_{H_2L}K_1^H K_2^H[\text{H}^+]^2}{1 + K_1^H[\text{H}^+] + K_1^H K_2^H[\text{H}^+]^2} \quad \text{IV.2.18}$$

A IV.2.18 egyenlet az összes lehetséges reakció utat figyelembe veszi, de számos kísérleti eredmény alátámasztotta, hogy a komplexképződési reakció kizárólag a teljesen deprotonált ligandum és a  $\text{Ln}^{3+}$ -ionok között játszódik le. Ennek értelmében a IV.2.18 egyenlet számlálójában a  $k_{HL}[\text{Ln}^{3+}][\text{HL}^+]$  valamint  $k_{H_2L}[\text{Ln}^{3+}][\text{H}_2\text{L}^{2+}]$  tagok elhanyagolhatók, így IV.2.18 egyenlet a következőképpen módosul:

$$k_f = \frac{k_L}{1 + K_1^H[\text{H}^+] + K_1^H K_2^H[\text{H}^+]^2} \quad \text{IV.2.19}$$

A  $\text{Ce}(\text{DOTAM})^{3+}$  és  $\text{Eu}(\text{DOTAM})$  komplexek  $k_f$  sebességi állandóit a teljesen deprotonált ligandum koncentrációjának függvényében ábrázolva egyenest kaptunk,

aminek értelmében a  $\text{Ln}(\text{DOTAM})^{3+}$  komplexek képződési sebessége egyenesen arányos a teljesen deprotonált ligandum koncentrációjával. A ligandum protonálódási állandóinak ( $K_1^H, K_2^H$ ) ismeretében kiszámítottuk a ligandum minden egyes pH-hoz tartozó  $\alpha_L$  ( $\alpha_L = 1 + K_1^H[H^+] + K_1^H K_2^H[H^+]^2$ ) értékeit, amivel a IV.2.19 egyenlet a következő formában írható:

$$k_f = \frac{k_L}{\alpha_L} \quad \text{IV.2.20}$$

A  $\log k_f$  értékeket a ligandum  $\log \alpha_L$  értékeinek függvényben ábrázolva  $-1$ -es meredekségű egyenest kaptunk, ami szintén alátámasztja a teljesen deprotonálódott ligandum és a fémion közvetlen ütközésének megfelelő reakcióút dominanciáját<sup>147,155</sup>.

A  $\text{Ce}^{3+}$ - és az  $\text{Eu}(\text{DOTAM})^{3+}$  komplexek kialakulása mellett megvizsgáltuk a  $\text{Gd}^{3+}$ -,  $\text{Er}^{3+}$ - és az  $\text{Yb}(\text{DOTAM})^{3+}$  komplexek képződési kinetikáját különböző pH értékeknél két eltérő fémion-koncentráció alkalmazása mellett. A  $\text{Ln}(\text{DOTAM})^{3+}$  komplexek képződését jellemző pszeudo-elsőrendű sebességi állandókból a IV.2.15 egyenlet alapján számított  $k_f$  sebességi állandókat a IV.2.20 egyenlettel illetve határoztuk meg a  $k_L$  sebességi állandókat, amelyeket a IV.2.7 táblázatban tüntettünk fel.

**IV.2.7 táblázat** A  $\text{Ln}(\text{DOTAM})^{3+}$  komplexek  $k_L$  képződési sebességi állandói

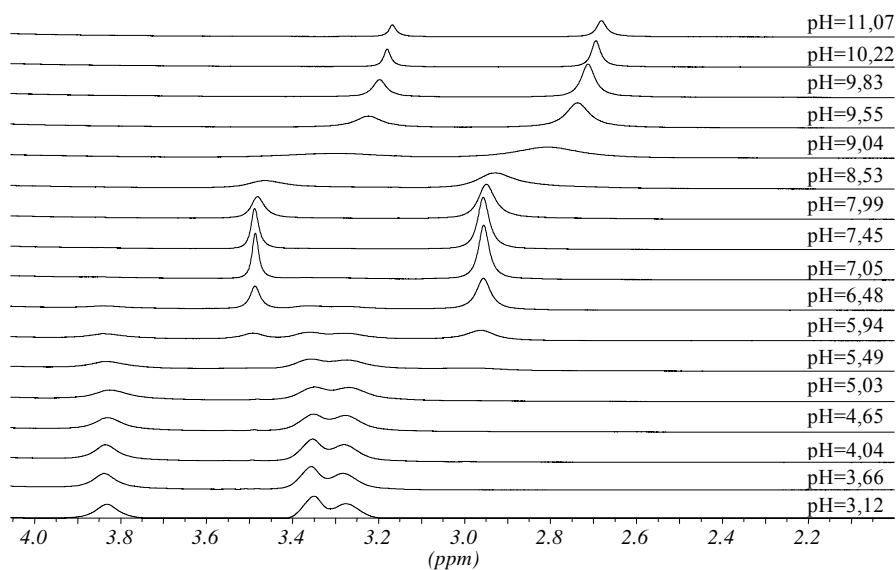
(25 °C, 1,0 M KCl)

$\text{Ln}^{3+}$	$\text{Ce}^{3+}$	$\text{Eu}^{3+}$	$\text{Gd}^{3+}$	$\text{Er}^{3+}$	$\text{Yb}^{3+}$
$k_L$ ( $\text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$ )	$(7.7 \pm 0.3)$ $\times 10^3$	$(2.7 \pm 0.1)$ $\times 10^4$	$(4.0 \pm 0.5)$ $\times 10^4$	$(5.6 \pm 0.3)$ $\times 10^3$	$(6.6 \pm 1.0)$ $\times 10^3$

A IV.2.7 táblázat adatai alapján megállapítható, hogy a  $\text{Ln}(\text{DOTAM})^{3+}$  komplexek képződési sebességi állandói ( $k_L$ ) közel 3-4 nagyságrenddel kisebbek, mint az egyfunkciós, valamint a nyíltláncú többfunkciós ligandumokkal képződő Ln(III)-komplexek megfelelő sebességi állandói. A  $\text{Ln}(\text{DOTAM})^{3+}$  komplexek kialakulására

jellemző pszeudo-elsőrendű sebességi állandók különösen kicsik, mivel a reaktív, teljesen deprotonált ligandum koncentrációja nagyon alacsony ( $\sim 10^{-8}$  M) a vizsgált pH tartományban.

A  $\text{Ln}(\text{DOTAM})^{3+}$  komplexek  $k_L$  sebességi állandói a nagyobb rendszámú  $\text{Ln}^{3+}$ -ionok vízcseré sebességéhez hasonló módon változnak<sup>156</sup> és a  $\text{Ln}^{3+}$ -ionok rendszámának függvényében mutatott maximum görbére emlékeztető menetük nagyon hasonló a  $\text{Ln}^{3+}$ - és a  $\text{SO}_4^{2-}$ -ionok közötti reakciót jellemző sebességi állandók lantanoida sorozaton belüli változásához<sup>44a</sup>. A  $\text{Ln}(\text{DOTAM})^{3+}$  komplexek lassú képződésében a fémionok vízcseréfolyamatai mellett a protonált ligandum lassú deprotonálódásának és protoncsere folyamatainak is szerepe lehet. A DOTAM ligandum protoncsere folyamatainak vizsgálatához  $^1\text{H}$ -NMR spektroszkópiás méréseket végeztünk és felvettük a DOTAM ligandum különböző pH-jú vizes oldatainak  $^1\text{H}$ -NMR spektrumait széles pH tartományban. A DOTAM ligandum  $^1\text{H}$ -NMR spektrumai a IV.2.24 ábrán láthatók.



**IV.2.24 ábra** A DOTAM ligandum  $^1\text{H}$ -NMR spektrumai különböző pH-kon.

(25 °C, 1,0 M KCl)

A DOTAM ligandum  $^1\text{H-NMR}$  spektruma jelentősen függ a ligandum protonáltságától. A kétszer protonált  $\text{H}_2\text{DOTAM}^{2+}$  spektrumában 3 viszonylag széles jel található a metil régióban ( $\text{pH}=3-4,5$ ), amelyek a gyűrű ( $\text{N-CH}_2\text{-CH}_2\text{-N}$ ) axiális és ekvatoriális helyzetű metilén protonjaihoz (3,35 ppm, 3,27 ppm), illetve az amid ( $\text{N-CH}_2\text{-CO}$ ) metilén protonokhoz rendelhető (3,83 ppm). A spektrumok alapján szembejövő, hogy a  $\text{pH}=5,3-6,5$  tartományban a kétszer protonált  $\text{H}_2\text{DOTAM}^{2+}$  ligandum deprotonálódásával ( $\log K_2^H = 6,05$ ) mind az amid, mind a gyűrű metilén protonok jele tovább szélesedik, miközben az egyszer protonált  $\text{HDOTAM}^+$  ligandum amid- (3,47 ppm) és gyűrű-metilén (2,95 ppm) protonjainak jelei külön jelennek meg a spektrumban, jelezve a  $\text{HDOTAM}^+$  és  $\text{H}_2\text{DOTAM}^{2+}$  ligandumok közötti lassú csere folyamatot. A kétszer protonált  $\text{H}_2\text{DOTAM}^{2+}$  ligandum spektrumában a gyűrű axiális és ekvatoriális helyzetű metilén protonjainak jelei elkülönülnek egymástól, míg a monoprotónált  $\text{HDOTAM}^+$  ligandum spektrumában jelük kiátlagolódik, ami feltételezhetően a két különböző protonáltságú DOTAM ligandum eltérő szerkezete és flexibilitása eredményez. Ezzel szemben az egyszer protonált  $\text{HDOTAM}^+$  ligandum deprotonálódásával ( $\log K_1^H = 9,07$ ) a spektrum szerkezete nem, de a jelek kémiai eltolódása és szélessége jelentősen megváltozik a  $\text{pH}$  növekedésével a  $\text{pH}=8-10$  tartományban, ami utal a  $\text{HDOTAM}^+$  és DOTAM ligandumok hasonló szerkezetére és flexibilitására. Ezeket figyelembe véve a jelek kiszélesedését  $\text{pH}=8-10$  tartományban csak a két különböző protonáltságú részecskék közötti lassú protoncsere folyamat eredményezheti. A *Piette* és *Anderson* által kidolgozott egyenlet segítségével meghatároztuk a  $\text{HDOTAM}^+$  és DOTAM ligandumok közötti csere folyamat sebességi állandóját ( $k_{ex}$ ), amihez szükségünk volt a két különböző részecske cserementes kémiai eltolódására és jelszélességére<sup>157</sup>. Ezeket az adatokat a DOTAM ligandum  $\text{pH}=7-8$  és  $\text{pH}=10-11$  tartományú  $^1\text{H-NMR}$  spektrumaiból határoztuk meg és felhasználtuk a  $\text{HDOTAM}^+$  és DOTAM ligandumok között  $\text{pH}=8-10$  tartományban lejátszódó csere folyamat első rendű sebességi állandóinak számításához. Az így meghatározott sebességi állandók a  $\text{HDOTAM}^+$  ligandum protoncsere sebességét jellemzik és értékük

lineárisan növekszik a OH<sup>-</sup>-ion koncentráció növekedésével. Az első rendű sebességi állandók OH<sup>-</sup>-ion koncentráció függése a következő egyenlettel írható le:

$$k_{ex} = k_0 + k_1[OH] \quad IV.2.21$$

A HDOTAM<sup>+</sup> és DOTAM<sup>0</sup> ligandumok közötti protoncsere folyamat lejátszódhat a H<sub>2</sub>O-molekula, mint Brønsted bázis részvételével, amely a  $k_0$  sebességi állandóval jellemezhető ( $k_0 = (1.2 \pm 0.3) \times 10^3 \text{ s}^{-1}$ ). Ugyanakkor a protoncsere folyamat OH<sup>-</sup>-ion katalizált úton is végbemehet, így feltételeztük, hogy a HDOTAM<sup>+</sup> és DOTAM<sup>0</sup> ligandumok közötti cserefolyamat sebességi állandóinak OH<sup>-</sup>-ion koncentráció függését a HDOTAM<sup>+</sup> ligandum OH<sup>-</sup>-ion katalizált protonvesztése eredményezi, amely a  $k_1$  sebességi állandóval jellemezhető ( $k_1 = (5.3 \pm 0.5) \times 10^8 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ ).

A DOTAM ligandum <sup>1</sup>H-NMR spektrumában az amid és a gyűrű metilén protonoknak megfelelő jelek relatíve szélesek a lassú cserefolyamatoknak köszönhetően. A HDOTAM<sup>+</sup> ligandum OH<sup>-</sup>-ion katalizált deprotonálódásának helyessége alátámasztása érdekében megvizsgáltuk a DOTAM ligandum <sup>1</sup>H-NMR spektrumait különböző típusú pufferekben, puffer-koncentrációknál és pH-on. A DOTAM ligandum gyűrű- és amid-metilén protonjainak jelszélessége pH=9.0 esetében a Na-acetát koncentráció növekedésével (0,0-0,3 M) 18 és 35 Hz-el csökken, ami a monoprotónált HDOTAM<sup>+</sup> és DOTAM ligandumok közötti gyorsabb protoncserével magyarázható. Ehhez hasonló változást tapasztaltunk a H<sub>2</sub>DOTAM<sup>2+</sup> ligandum <sup>1</sup>H-NMR spektrumában pH=4,1 esetében Na-formiát jelenlétében. A Na-formiát koncentráció növekedésével (0,0-0,25 M) az axiális és ekvatoriális gyűrű metilén protonok jele összeolvad egy viszonylag széles jellé, ami feltételezhetően a H<sub>2</sub>DOTAM<sup>2+</sup> ligandum és a H<sub>2</sub>O között lejátszódó gyorsabb protoncserével értelmezhető. Ezek a vizsgálatok alátámasztották, hogy a H<sub>2</sub>DOTAM<sup>2+</sup> és HDOTAM<sup>+</sup> protonált ligandumok protoncsere folyamatai általános báziskatalizáltak, ami nem érvényes a Ln(DOTAM)<sup>3+</sup> komplexek képződésére. A HDOTAM<sup>+</sup> részecske OH<sup>-</sup>-ion katalizált protoncseréje a pH=4,7-5,8 tartományban a OH<sup>-</sup>-ionok kis koncentrációjának köszönhetően elhanyagolható. A

HDOTAM<sup>+</sup> ligandum protonvesztése döntően H<sub>2</sub>O katalizált úton mehet végbe, ami sokkal gyorsabb, mint a Ln(DOTAM)<sup>3+</sup> komplexek képződése, így a protonvesztés nem lehet a komplexképződés sebességmeghatározó lépése.

A kinetikai vizsgálatok során meghatározott pszeudo-elsőrendű sebességi állandók alapján a Ln(DOTAM)<sup>3+</sup> komplexek képződése köztitermék kialakulása nélkül a Ln<sup>3+</sup>-ion és a teljesen deprotonálódott DOTAM<sup>0</sup> ligandum közvetlen reakciójával másodrendű kinetikai folyamatként játszódik le. Ezek alapján a komplexek képződésének sebességi egyenlete a következőképpen adható meg:

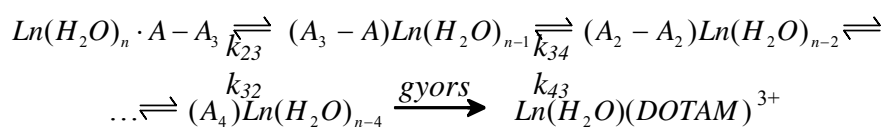
$$\frac{d[LnL]}{dt} = k_L[Ln^{3+}][L] \quad IV.2.22$$

A Ln(DOTAM)<sup>3+</sup> komplexek képződésében a protonált H<sub>2</sub>DOTAM<sup>2+</sup> és HDOTAM<sup>+</sup> ligandumok is részt vehetnek, mint lehetséges reaktánsok, azonban reaktivitásuk elhanyagolható a teljesen deprotonált DOTAM ligandumhoz képest. Ehhez hasonló viselkedés a nyíltláncú amino-polikarboxilátok esetében korábban már korábban tapasztaltak, ahol a ligandum eltérő protonáltságú részecskéivel lejátszódó komplexképződési reakcióknak sebességi állandói akár több nagyságrenddel is eltérhetnek egymástól ( $k_L/k_{HL} \approx 10^5 - 10^6$ )<sup>158</sup>.

A DOTA és DOTA-származékok Ln(III)komplexeinek képződése során a Ln<sup>3+</sup>-ion nem tud közvetlenül bekerülni a gyűrű-N-ek és a karboxilát-O-ek által határolt koordinációs kalitkába, mivel a Ln<sup>3+</sup>-ion és a protonált gyűrű-N-ek között elektrosztatikus taszítás alakul ki. Az így képződő protonált köztitermékek deprotonálódását valószínűleg egy átrendeződés előzi meg, melynek során a gyűrű-N-ek protonjai áthelyeződnek egy másik donor atomra (pl. karboxilát csoportra). Mivel a Ln(DOTAM)<sup>3+</sup> komplexek képződése során ez az átrendeződés a nem protonálódó amid-csoportoknak köszönhetően gátolt, így valószínűleg a Ln(DOTAM)<sup>3+</sup> komplexek köztitermék kialakulása nélkül a Ln<sup>3+</sup>-ion és a teljesen deprotonálódott DOTAM<sup>0</sup> ligandum közvetlen reakciójával képződnek.

A  $\text{Ln}(\text{DOTAM})^{3+}$  komplexek képződésének kinetikai vizsgálatai során meghatározott  $k_L$  sebességi állandók (IV.2.7 táblázat) közel 3-4 nagyságrenddel kisebbek, mint a  $\text{Ln}^{3+}$ -murexid, -oxalát és -antranilát komplexek képződésének másodrendű sebességi állandói ahol a második fémion-ligandum koordinatív kötés kialakulása a sebesség meghatározó lépés<sup>46,156,159</sup>. A makrociklusos komplexek képződésekor a fémionnak a makrociklusos üregbe történő belépését számos dehidratációs folyamat előzi meg. Az ilyen típusú sok lépcsős komplexképződési reakciókban elég nehéz beazonosítani a sebesség meghatározó lépést.

A  $\text{Ln}(\text{DOTAM})^{3+}$  komplexek viszonylag lassú képződésére magyarázatul szolgáló reakció mechanizmus feltételezhetően hasonló a többfunkciós ligandumok komplexképződési reakcióinak mechanizmusához, amelyben elsőként egy külső szférás komplexet alakít ki a hidratált  $\text{Ln}(\text{H}_2\text{O})_n^{3+}$  -ion és a DOTAM ligandum. A  $\text{Ln}(\text{DOTAM})^{3+}$  komplexek képződésének feltételezett mechanizmusát a IV.2.25. ábrán tüntettük fel.



**IV.2.25 ábra** A  $\text{Ln}(\text{DOTAM})^{3+}$  komplexek képződésének feltételezett reakciómechanizmusa

A IV.2.25. ábrán a DOTAM ligandumot  $\text{A}_4$ -el (a 4 amid oldalláncnak megfelelően) és az első lépésben képződő külsőszférás komplexet  $\text{Ln}(\text{H}_2\text{O})_n \cdot \text{A} - \text{A}_3$  -ként jelöltük. A külsőszférás  $\text{Ln}(\text{H}_2\text{O})_n \cdot \text{A} - \text{A}_3$  komplexet  $K_{os}$  stabilitási állandóval, míg az egyes lépcsőknek megfelelő folyamatokat a hozzájuk rendelhető elsőrendű sebességi állandókkal  $k_{jk}$  jellemezhetjük. Abban az esetben, ha a második fém-ligandum koordinatív kötés kialakulása a sebességmeghatározó lépés, akkor a  $\text{Ln}(\text{DOTAM})^{3+}$  komplexek képződésének másodrendű sebességi állandója a feltételezett reakciómechanizmusnak megfelelően a következő egyenlettel írható le<sup>158</sup>:

$$k_L = \frac{k_{23}k_{34}K_{os}}{k_{32} + k_{34}} \quad IV.2.23$$

A külső szférás komplexben egy koordinált H<sub>2</sub>O molekula amid-csoporttal történő helyettesítésének sebessége valószínűleg összemérhető a fémion vízcsere sebességével ( $k_{23} \approx k_{H_2O}$ ). Az így képződő  $(A_3 - A)Ln(H_2O)_{n-1}$  összetételű komplexből a DOTAM disszociációja feltételezhetőleg sokkal gyorsabb, mint egy újabb vízmolekula amid csoporttal történő szubsztitúciója ( $k_{32} \gg k_{34}$ ). Ennek értelmében a IV.2.23. egyenlet a következőképpen módosul:

$$k_L = k_{H_2O}K_{os} \frac{k_{34}}{k_{32}} \quad IV.2.24$$

A kinetikai vizsgálatok során meghatározott másodrendű sebességi állandók  $k_L$  értéke  $10^3$ - $10^4$ -es nagyságrendű és a Ln<sup>3+</sup>-ionok vízcsere sebességei a  $10^7$ - $10^8$  s<sup>-1</sup> tartományban változnak<sup>46,156,159</sup>, így a külsőszférás komplex stabilitási állandójának  $K_{os}$ , illetve a  $k_{34}$  és  $k_{32}$  sebességi állandók hányadosának is kicsinek kell lennie. A *Fuoss*-egyenlet alapján a Ln<sup>3+</sup>-ionok töltés nélküli ligandumokkal képződő külsőszférás komplexeinek stabilitási állandói kb. 0,3 M értékűnek adódnak<sup>160,161</sup>. Figyelembe véve a Ln(H<sub>2</sub>O)<sub>n</sub><sup>3+</sup> komplexek vízcsere sebességét ( $k_{H_2O}$ ), a külsőszférás komplex stabilitási állandóját ( $K_{os}$ ) és az általunk meghatározott másodrendű sebességi állandók értékét ( $k_L$ ) a  $k_{34}$  és a  $k_{32}$  sebességi állandók hányadosának  $10^{-3}$ -os nagyságrendűnek kell lennie. Ezek alapján feltételezhető, hogy a Ln(DOTAM)<sup>3+</sup> komplexek képződésének sebességmeghatározó lépése a feltételezett reakciómechanizmus alapján valószínűleg a második, esetleg a harmadik Ln<sup>3+</sup>-amid-O kötés kialakulása, mivel egy újabb amid-O koordinációja már sokkal gyorsabban játszódna le, amikor a megfelelő folyamatok elsőrendű sebességi állandóinak hányadosa már sokkal nagyobb lenne, mint a várt  $10^{-3}$  körüli érték.

### IV.3 ODDA-bisz(acetil-glicin) ligandum komplexképző sajátosságai

A makrociklusos ligandumok 1960-as években történt felfedezése óta a koordinációs kémiai kutatások jelentős része a különböző fémionokra szelektív komplexképzők előállításával és vizsgálataival foglalkozik. Az orvos- és anyagtudományok néhány területén (pl. a szervezetbe került toxikus fémek eltávolítása, orvosdiagnosztikai és terápiás módszerek, lantanoidák elválasztása) különösen előnyös lenne bizonyos fémionokra szelektív (kiugróan nagy stabilitású) komplexet képző ligandumok alkalmazása. A korai vizsgálatok során kiderült, hogy a nyíltláncú ligandumok a fémion méretének csökkenésével egyre stabilisabb komplexeket képeznek, de a ligandum viszonylag nagy flexibilitása miatt szelektivitásuk igen kicsi. A makrociklusos ligandumok megjelenésével új lehetőségek nyíltak, mivel a merevebb szerkezetű gyűrű és a fémion méretviszonyai, illetve a makrociklus donoratomjai alapvetően befolyásolják a kialakuló komplex stabilitását. A makrociklusra felvitt oldalláncok segítségével a ligandum fémion szelektivitása befolyásolható. A viszonylag nagy méretű „hard” típusú fémionok esetében a 15-18 tagú makrociklusos és a gyűrűben, valamint az oldalláncban oxigén és nitrogén esetleg két donoratomokat tartalmazó ligandumok állnak a kutatások fókuszában.

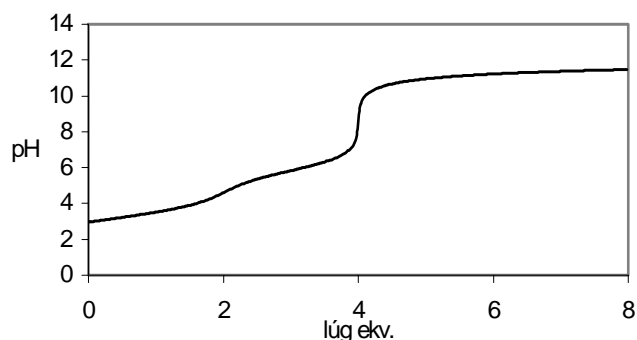
A tanszéken már régóta folynak kutatások különböző fémionokra szelektív ligandumok előállítására, egyensúlyi és kinetikai sajátosságaik felderítésére. Az elmúlt 10-15 év tapasztalatai azt mutatják, hogy egy-egy karboxilát-O, illetve amin-N donoratomot tartalmazó funkciós csoportok felvitele nagyobb stabilitású komplex képzésére nyújt lehetőséget bizonyos fémionok esetében, miközben a makrociklus méret szelektivitása jelentősen lecsökken<sup>29</sup>. Az utóbbi évek vizsgálatai azt támasztották alá, hogy a makrociklus nagyobb méretű fémionokra vonatkozó szelektivitása valószínűleg abban az esetben marad változatlan, ha az oldallánc egynél több donoratomot tartalmaz<sup>29</sup>.

Korábban már vizsgálták a 18 és 15 tagú ODDA és PDDA ligandumok és Ln(III)-komplexeik egyensúlyi sajátságait<sup>41,42</sup>. Az ODDA és PDDA ligandumok LnL összetételű komplexeket képeznek a Ln<sup>3+</sup>-ionokkal, melyek stabilitási állandói az ODDA esetében a Gd<sup>3+</sup>-ig közel állandók, majd a sorozat második felében a Lu<sup>3+</sup>-ig csökkennek, míg a PDDA esetében maximum görbe szerint változnak, aminek csúcspontja az Eu<sup>3+</sup>-nál található<sup>41,42</sup>. Az ODDA ligandum bisz(malonát) analógjának egyensúlyi és komplexképző sajátságait a tanszéken részletesen tanulmányozták<sup>29</sup> és megállapították, hogy a Sr<sup>2+</sup>-ion 200-szor stabilisabb komplexet képez az ODDA-bisz(malonát) ligandummal, mint a Ca<sup>2+</sup>, míg a Pb<sup>2+</sup> stabilitása öt nagyságrenddel nagyobb a Zn<sup>2+</sup>-ionénál. Az ODDA-bisz(malonát) ligandum rendkívüli szelektivitása előnyös lehet a szervezetbe került toxikus fémionok, így az Pb<sup>2+</sup> illetve az <sup>235</sup>U-izotóp maghasadásakor nagy mennyiségben keletkező, nagy felezési idejű <sup>90</sup>Sr radioaktív izotóp eltávolításakor. A két gly-gly-OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub> funkciós csoportot tartalmazó 18ánN<sub>2</sub>O<sub>4</sub> származék a Na<sup>+</sup>-ionnal szemben a Ca<sup>2+</sup>-ra bizonyult rendkívül szelektívnek<sup>162</sup>. Hasonló megfontolásokból mindenképpen ígéretesnek tűnt a viszonylag hosszabb és több donoratomot tartalmazó acetil-glicinát funkciós csoporttal szubsztituált [18]ánN<sub>2</sub>O<sub>4</sub> ligandum előállításának és komplexképző sajátságainak vizsgálata.

#### ***IV.3.1 Az ODDA-bisz(acetil-glicin) ligandum egyensúlyi vizsgálata***

Az ODDA-bisz(acetil-glicinát) (ODDA-Gly) ligandum 12 donoratomot tartalmaz: 4 gyűrű éter-O, 2 gyűrű amin-N, 2 amid-O, 2 amid-N<sup>-</sup> (az amidcsoport ionizációját követően) és 2 karboxilát-O-t. Az ODDA-Gly ligandumot a NOTA-Gly és a DOTA-Gly ligandumokhoz hasonlóan tekinthetjük úgy is, hogy a 18ánN<sub>2</sub>O<sub>4</sub> makrociklust funkcionálisztuk két acetil-glicinát funkciós csoporttal, illetve úgy is, hogy két diglicin egységet kapcsoltunk össze makrociklussá éter típusú hidakon keresztül.

Az ODDA-Gly ligandum fémion szelektivitásának felderítéséhez meghatároztuk néhány alkáliföldfém, átmenetifém- és lantanoida(III)komplexének stabilitási állandóját, amihez elengedhetetlen a ligandum protonálódási állandóinak ismerete. A ligandum protonálódási állandóit közvetlen pH-potenciometriás titrálással határoztuk meg KCl és KNO<sub>3</sub> ionerősségek alkalmazása mellett. Az ODDA-Gly ligandum titrálási görbét a IV.3.1 ábrán tüntettük fel.



**IV.3.1 ábra** A ODDA-Gly (2 ekv. HCl hozzáadásával) ligandum titrálási görbéje.

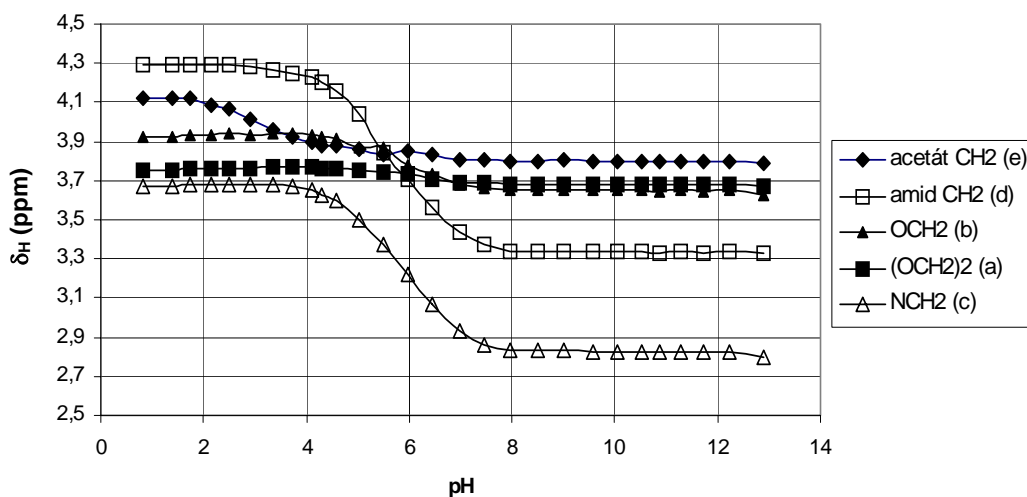
([L]= $2 \times 10^{-3}$  M; 25 °C; 1,0 M KCl)

A titrálás során kapott adatokból (160  $V_{\text{lúg}}$ -pH adatpár) számítottuk ki az ODDA-Gly ligandum protonálódási állandóit, amit a IV.3.1 táblázatban foglaltunk össze az acetát analóg ODDA és ODDM ligandumok protonálódási állandóival együtt összehasonlítás céljából.

**IV.3.1 táblázat** A ODDA-Gly, ODDA és ODDM ligandumok protonálódási állandói (25 °C)

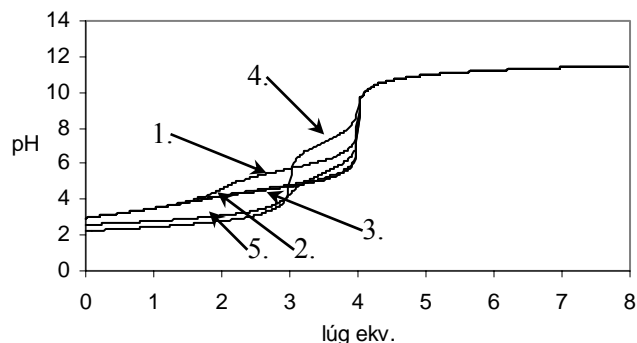
Ligandumok	ODDA-Gly		ODDA <sup>[41]</sup>	ODDM <sup>[29]</sup>
Közeg	1,0 M KCl	1,0 M KNO <sub>3</sub>	0,1 M KNO <sub>3</sub>	0,1 M KCl
$\log K_1^H$	6,06 (0,03)	6,15 (0,01)	8,45	7,95
$\log K_2^H$	5,38 (0,02)	5,49 (0,01)	7,80	7,35
$\log K_3^H$	3,63 (0,04)	3,64 (0,01)	2,90	3,03
$\log K_4^H$	2,70 (0,04)	3,11 (0,01)	-	-

A táblázat adatai alapján szembetűnő, hogy az ODDA-Gly ligandum első két protonálódási állandója, ami valószínűleg a gyűrű amin-N-ek protonálódási folyamatait jellemzi, kb. két nagyságrenddel kisebb, míg a harmadik, ami az egyik karboxilátsoprot protonálódásához rendelhető, kb. ugyanennyivel nagyobb, mint az ODDA és ODDM ligandumok megfelelő protonálódási állandója. Az ODDA-Gly ligandum gyűrű amin-N-ek kisebb bázicitását a dipeptidekhez hasonló viselkedés is eredményezheti, mivel ismert, hogy a peptidek terminális aminocsoportjának bázicitása kisebb, mint az aminosavaké. Ugyanakkor a gyűrű amin-N-ek bázicitásában bekövetkező változás meghaladja a peptidszerű viselkedésből várható csökkenést, amit feltehetően az amidcsoport elektronszívó hatása eredményez. Ezzel szemben a karboxilátok protonálódásának megfelelő  $\log K_3^H$ ,  $\log K_4^H$  protonálódási állandók nagyobbak, mint a acetát analóg ODDA és ODDM ligandumoké, ami az ODDA-Gly ligandum dipeptidszerű viselkedésére és a karboxilátoknak a makrociklusos gyűrűtől való viszonylag távoli elhelyezkedésére utalnak. Az ODDA-Gly ligandum protonálódási sorrendjét  $^1\text{H-NMR}$  spektroszkópiás vizsgálatokkal határoztuk meg. A ligandum nem labilis protonjainak pH függvényében feltüntetett kémiai eltolódásai a IV.3.2 ábrán láthatók.

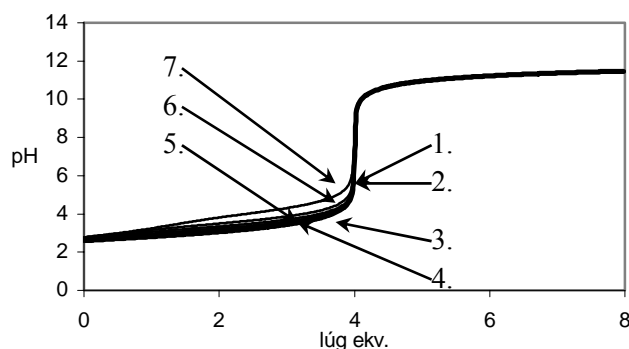
IV.3.2 ábra A ODDA-Gly  $^1\text{H-NMR}$  titrálási görbéje

Az ODDA-Gly ligandum  $^1\text{H-NMR}$  spektrumában 5 jel található, amelyeket a pH növekedésével bekövetkező kémiai eltolódás változásaik alapján sikerült beazonosítanunk. Feltételeztük, hogy a karboxilátcsoportok protonálódása elsősorban az oldallánc  $\text{NH-CH}_2\text{-COOH}$  (e) protonok, míg a gyűrű amin-N atomjainak protonálódása mind az amid  $\text{N-CH}_2\text{-CO}$  (d), mind a gyűrű  $\text{N-CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$  (b,c) és kis mértékben az  $\text{O-CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$  (a) metilén protonok árnyékoltóságára van hatással. Savas pH tartományban (pH=2-4) csak a karboxilát metilén  $\text{NH-CH}_2\text{-COOH}$  (e) protonok kémiai eltolódásában következik be változás, alátámasztva az első két deprotonálódási folyamat karboxilátokhoz történő rendelését. A pH további növelésének hatására (pH=4,5-8) elkezdődik a gyűrű amin-N-ek deprotonálódása, aminek hatására megnövekszik az amid  $\text{N-CH}_2\text{-CO}$  (d), a gyűrű  $\text{N-CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$  (b,c) és kis mértékben a gyűrű  $\text{O-CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$  (a) metilén protonok árnyékoltósága és jelük eltolódik a nagyobb térerő irányába. A pH=8-13 tartományban nem következik be változás a protonok kémiai eltolódásában, ami a deprotonálódási folyamatok befejeződésére utal. Mindenképpen meg kell említenünk, hogy a gyűrű  $\text{N-CH}_2$  (c) és  $\text{O-CH}_2$  (b) protonjainak jele tripllett a közöttük létrejövő spin-spin csatolás következtében, míg a gyűrű  $\text{O-CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$  protonjainak jele szingulett a molekula  $\text{C}_2$  szimmetriájának, a gyűrű flexibilitásának és a protonált/deprotonált donortatomok közötti gyors protoncserének köszönhetően. Az  $\text{N-CH}_2$  (c) és az  $\text{O-CH}_2$  (b) protonok kémiai eltolódásának meghatározásánál a triplettek centrumát vettük figyelembe.

Az ODDA-Gly ligandum a gyűrű amin-N-ek kisebb bázicitása miatt várhatóan jóval kisebb stabilitású fémkomplexeket képez, mint az acetát analóg ODDA és ODDM ligandumok. Az ODDA-Gly komplexek képződése elegendően gyors volt a közvetlen pH-potenciometriás vizsgálatokhoz, melyek adataiból számítottuk a komplexek stabilitási állandóit. A kapott titrálási görbéket a IV.3.3 és a IV.3.4 ábrákon tüntettük fel.



**IV.3.3 ábra** Az ODDA-Gly ligandum 1:1 ZnL (1.), 1:1 SrL (2.), 1:1 CaL (3.), 1:1 PbL (4.) és 1:1 CdL (5.) összetételű rendszereinek titrálási görbéi. ( $[L]=[Zn^{2+}]=[Ca^{2+}]=[Sr^{2+}]=[Pb^{2+}]=[Cd^{2+}]=2 \times 10^{-3}$  M; 25 °C; 1,0 M KCl és 2 ekv. HCl, illetve a  $Pb^{2+}$  és a  $Cd^{2+}$  esetében 1,0 M  $KNO_3$  és 2 ekv.  $HNO_3$  hozzáadása mellett)



**IV.3.4 ábra** Az ODDAA-Gly ligandum 1:1 LaL (1.), 1:1 CeL (2.), 1:1 NdL (3.), 1:1 EuL (4.), 1:1 GdL (5.), 1:1 DyL (6.) és 1:1 YbL (7.) összetételű rendszereinek titrálási görbéi. ( $[L]=[La^{3+}]=[Ce^{3+}]=[Nd^{3+}]=[Eu^{3+}]=[Gd^{3+}]=[Dy^{3+}]=[Yb^{3+}]=2 \times 10^{-3}$  M; 25 °C; 0,1 M KCl; 2ekv. HCl hozzáadása mellett)

A titrálási görbék alakja arra utal, hogy az ML összetételű komplexek képződése mellett egyéb protonált komplexek is kialakulnak. A számítások során a titrálási görbe  $V_{lúg}$ -pH adatpárjainak legjobb illeszkedését abban az esetben kaptuk, ha a deprotonált ML és a protonált MHL komplexek képződésének feltételezésével éltünk. A kapott  $\log K_{ML}$  és  $\log K_{MHL}$  értékeket a IV.3.2 táblázatban foglaltuk össze. (A komplexek stabilitási és protonálódási állandóinak definícióját III.1.2 és III.1.3 egyenletek adják (39. oldal)).

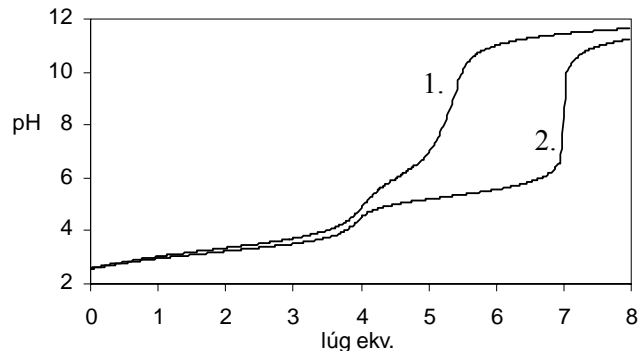
**IV.3.2 táblázat** Az ODDA-Gly és ODDA komplexek stabilitási és protonálódási állandói  
(25 °C, 1,0 M KCl illetve 1,0 M KNO<sub>3</sub>)

	ODDA-Gly		ODDA <sup>[41]</sup>
	$\log K_{ML}$	$\log K_{MHL}$	$\log K_{ML}$
<b>Ca<sup>2+</sup></b>	5,39 (0,02)	3,26 (0,03)	8,39
<b>Sr<sup>2+</sup></b>	5,18 (0,01)	3,04 (0,02)	8,29
<b>Zn<sup>2+</sup></b>	2,64 (0,02)	-	8,42
<b>Pb<sup>2+</sup></b>	9,76 (0,03)	7,21 (0,02)	13,55
<b>Cd<sup>2+</sup></b>	7,98 (0,04)	5,47 (0,02)	11,07
<b>La<sup>3+</sup></b>	8,84 (0,03)	3,19 (0,02)	12,21
<b>Ce<sup>3+</sup></b>	9,18 (0,04)	3,27 (0,02)	12,23
<b>Nd<sup>3+</sup></b>	9,22 (0,03)	3,21 (0,01)	12,21
<b>Eu<sup>3+</sup></b>	8,45 (0,04)	2,99 (0,05)	12,02
<b>Gd<sup>3+</sup></b>	8,06 (0,03)	2,77 (0,04)	11,93
<b>Dy<sup>3+</sup></b>	7,53 (0,01)	-	11,57
<b>Yb<sup>3+</sup></b>	6,41 (0,05)	-	10,90

Az alkáliföldfém ODDA-Gly komplexek stabilitása kicsi és a Sr<sup>2+</sup>-ion esetében a Ca<sup>2+</sup>-ionnal szemben várt szelektivitás elmarad az ODDM ligandumhoz képest. Az eltérő viselkedést feltételezhetően az amidcsoport karbonil-O-jeinek a kisebb méretű Ca<sup>2+</sup>-ionhoz történő erősebb koordinációja okozza, ami lecsökkenti a gyűrű méretszelektivitását. A Zn<sup>2+</sup>-, Pb<sup>2+</sup>- és Cd(ODDA-Gly) komplexek stabilitása több nagyságrenddel kisebb, mint a megfelelő acetát analóg ODDA komplexeké. Az ODDA komplexekben a karboxilátcsoport részt vesz a fémion koordinációjában 5-tagú kelátgyűrűt kialakítva<sup>163</sup>. Azonban az ODDA-Gly ligandum karboxilátcsoportja viszonylag távol helyezkedik el a makrociklusos gyűrűtől, így közvetlen koordinációja meglehetősen nehéz, ami mindenképpen stabilitás csökkenést eredményez. Feltételezhetően a töltéssel nem rendelkező gyűrű amin-N-ek és a amid-O-ek vesznek részt a fémionok koordinációjában, ami nagyobb méretű fémionok esetében különösen igaz, ahol a gyűrű-O-ek is kis mértékben közreműködhetnek a központi fémion koordinációjában. Az ODDA-Gly és ODDA

Zn(II)-komplexek stabilitása között tapasztalt nagy különbség a  $Zn^{2+}$ -ion kis méretével magyarázható, ami miatt a  $Zn([18]ánN_2O_4)^{2+}$  komplex stabilitása is kicsi ( $\log K_{ZnL}=3$ )<sup>41</sup>. Ugyanakkor figyelemre méltó a  $Zn^{2+}$ - és az  $Pb(ODDA-Gly)$  komplexek stabilitási állandóinak a nagymértékű eltérése, aminek alapján az ODDA-Gly szelektivitása az  $Pb^{2+}$ -ra nagyobb, mint az ODDA ligandumé. Az ODDA-Gly komplexek stabilitási állandóinak számításakor figyelembe kellett vennünk protonált komplexek képződését a jobb illeszkedés érdekében. A  $Ca^{2+}$ -,  $Sr^{2+}$ - és  $Ln(ODDA-Gly)^+$  komplexek protonálódási állandói egy karboxilátcsoporthoz, míg a viszonylag „soft” karakterű fémionok esetében ( $Pb^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$ ) érdekes módon egy bázikusabb, gyűrű amin-N-hez rendelhető.

Az átmenetifém-ionok közül meghatároztuk még a  $Cu(ODDA-Gly)$  komplex stabilitási állandóját szintén közvetlen pH-potenciometriás titrálással. A  $Cu^{2+}$ : ODDA-Gly 1:1 illetve 2:1 fém-ligandum arányú titrálási görbéit a IV.3.5. ábrán tüntettük fel.

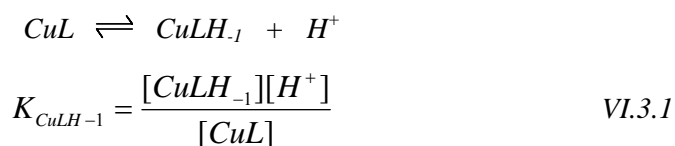


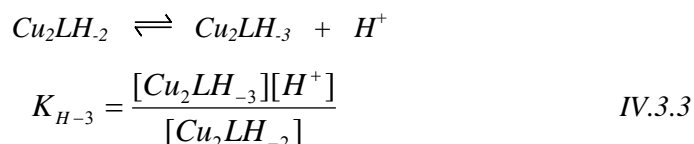
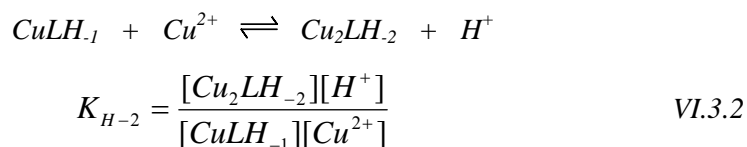
**IV.3.5 ábra** A  $Cu^{2+}$ :ODDA-Gly 1:1 (1.) és 2:1 koncentráció arányú rendszerek titrálási görbéi. ( $[L]=[Cu^{2+}]=0,005$  M (1.); ( $[L]=0,005$  M,  $[Cu^{2+}]=0,01$  M (2.); 25 °C; 1,0 M  $KNO_3$ )

A  $Cu^{2+}$ -ionok kis méretük ellenére viszonylag stabilis komplexet képeznek a nagy makrociklusos üreggel rendelkező ODDA ligandummal. ( $\log K_{Cu(ODDA)}= 14,49$ )<sup>41</sup>. A makrociklusos amin-N donoratomjai rendkívül erősen koordinálnak a  $Cu^{2+}$ -ionhoz, míg az éter típusú oxigének viszonylag távol helyezkednek el a fémion koordinációs szférájától, így szerepük valószínűleg nagyon csekély a fémion

koordinációjában. A Cu(ODDA) komplex röntgendiffrakciós szerkezetvizsgálata alapján megállapították, hogy a gyűrű amin-N-ek és a makrociklus síkja alatt és felett transz térhelyzetben lévő karboxilátcsoportok síknégyszetes geometriában vesznek részt a  $\text{Cu}^{2+}$ -ion koordinációjában<sup>163</sup>.

A  $\text{Cu}^{2+}$ : ODDA-Gly 1:1 és 2:1 koncentráció arányú rendszerek titrálási görbéjében a  $\text{H}_2\text{L}+2\text{ekv. HCl}$  formából kiindulva 5,5 és 7 ekvivalens lúg fogyása figyelhető meg. A titrálási görbék első szakaszát ( $\text{pH}<4,0$ )  $\text{CuHL}$  és  $\text{CuL}$  összetételű részecskék képződésével, majd  $\text{pH}>4,5$  tartományban az egyik amid-NH proton disszociációjával és a  $\text{CuLH}_{-1}$  összetételű részecske kialakulásával tudtuk értelmezni. Azonban a  $\text{pH}>7,0$  tartományban bekövetkező további lúgfogyást a másik amid-NH csoport deprotonálódásával lehetne magyarázni, de  $\text{CuLH}_2$  részecske képződésével a titrálási görbe 0,5 ekvivalensnyi lúgfogyása nem volt leírható. A  $\text{Cu}^{2+}$ :ODDA-Gly 1:1 arányú rendszer 0,5 ekvivalens lúgfogyását  $\text{Cu}_2\text{LH}_3$  összetételű vegyes ligandumú hidroxokomplex képződése és a ligandum fele mennyiségének szabaddá válása eredményezi, amit az  $^1\text{H-NMR}$  spektrum felvételével bizonyítottunk. Ez igen figyelemreméltó eredmény, mivel a korábban vizsgált 1:1  $\text{Cu}^{2+}$ -ligandum arányú rendszerekben kétmagvú komplexek spontán képződését nem tudták kimutatni. Ez mindenképpen a kétmagvú komplex kitüntetetten nagy stabilitására utal. A 2:1 arányú  $\text{Cu}^{2+}$ :ODDA-Gly rendszer titrálási görbéjén a  $\text{pH}=6-10,5$  tartományban (7 lig. ekvivalensnél) egy jelentékeny pH ugrás figyelhető meg, ami a  $\text{Cu}_2\text{LH}_3$  összetételű vegyes ligandumú hidroxokomplex teljes kialakulásának és dominanciájának az eredménye. Ez a kétmagvú komplex rendkívül stabilis, mivel  $\text{Cu}(\text{OH})_2$  csapadék kiválását nem tapasztaltunk. A  $\text{Cu}^{2+}$ :ODDA-Gly 1:1 és 2:1 arányú rendszerek titrálási görbéinek leírásához a következő egyensúlyi folyamatokat és állandókat vettük figyelembe:





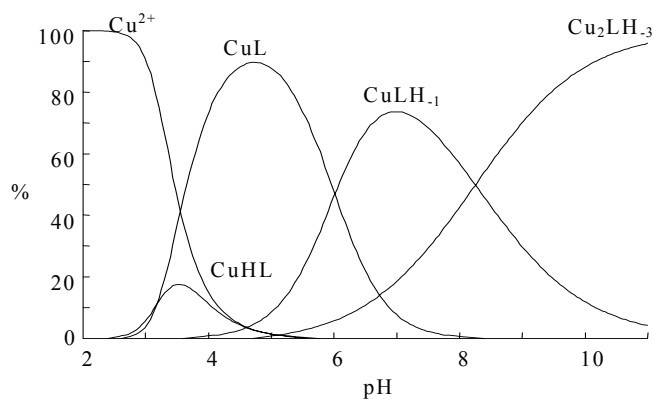
A számítások során kapott protonálódási, stabilitási és egyensúlyi állandókat a IV. 3.3 táblázat tartalmazza.

**IV.3.3 táblázat** Cu<sup>2+</sup>-ODDA-Gly rendszerben képződő komplexek stabilitási, protonálódási és egyensúlyi állandói (25 °C; 1,0 M KNO<sub>3</sub>)

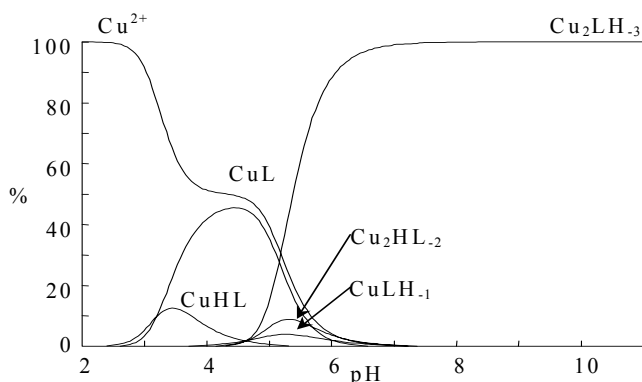
	<b>ODDA-Gly</b>
$\log K_{CuL}$	7,63 (0,02)
$\log K_{CuHL}$	3,19 (0,04)
$\log K_{CuLH_{-1}}$	6,03 (0,02)
$\log K_{H-2}$	-2,64 (0,03)
$\log K_{H-3}$	-4,61 (0,02)

A táblázat adatai alapján megállapítható, hogy a CuL komplex stabilitása jóval kisebb, mint az Cu(ODDA) komplexé és az amid-NH protonok disszociációja valamivel nagyobb pH-n következik be, mint a di-, illetve a triglicin esetében<sup>119</sup>. A Cu<sub>2</sub>LH<sub>-2</sub> összetételű részecske képződését nem tudtuk kimutatni. A Cu<sub>2</sub>LH<sub>-3</sub> összetételű komplex képződése valószínűleg egy OH<sup>-</sup> -ion belépéséhez és vegyes ligandumú OH<sup>-</sup> -hidas kétmagvú komplex kialakulásához rendelhető, amit feltételezhetően a makrociklus két amin-N-jének nagy távolsága tesz

kedvezményezetté. A  $\text{Cu}^{2+}$ :ODDA-Gly 1:1 és 2:1 arányú rendszerek eloszlási diagramjai IV.3.6 és IV.3.7 ábrákon láthatóak.



IV.3.6 ábra Az 1:1  $\text{Cu}^{2+}$ -ODDA-Gly rendszer eloszlási diagramja ( $[\text{L}]=[\text{Cu}^{2+}]=5\times 10^{-3}$  M)

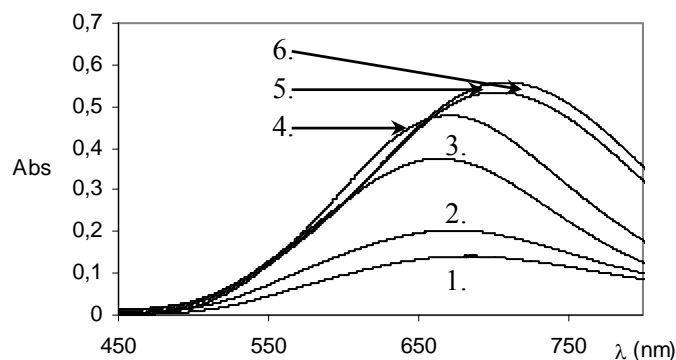


IV.3.7 ábra Az 2:1  $\text{Cu}^{2+}$ -ODDA-Gly rendszer eloszlási diagramja ( $[\text{L}]=5\times 10^{-3}$  M,  $[\text{Cu}^{2+}]=0,01$  M)

Az 1:1 fém-ligandum arányú rendszerben a protonált CuHL és CuL összetételű részecskék képződése párhuzamosan megy végbe a  $\text{pH}=3-4,5$  tartományban. Feltételezhetően a ODDA ligandummal mutatott nagy mértékű hasonlósága alapján a gyűrű két amin-N-je és az oldalláncok amid-O-jei transz helyzetben vesznek részt a  $\text{Cu}^{2+}$ -ion koordinációjában<sup>163</sup>. Az egyik oldallánc amid-NH-csoportjának ionizációja, koordinációja és a  $\text{CuLH}_1$  összetételű részecske kialakulása  $\text{pH}>5,5$  esetében következik be. A pH további növelésével  $\text{pH}>7$  esetében egy időben lejátszódik a másik oldallánc amid-NH-csoportjának deprotonálódása, a kétmagvú

komplex képződése és mindkét  $\text{Cu}^{2+}$ -ionhoz egy időben koordinálódó hid helyzetű  $\text{OH}^-$ -ion belépése. Az említett  $\text{OH}^-$ -hidas vegyes ligandumú  $\text{Cu}_2\text{LH}_3$  összetételű komplex dominál a  $\text{pH} > 9$  tartományban. A 2:1 arányú rendszer eloszlási diagramja alapján megállapítható, hogy az 1:1 arányú rendszerrel azonos összetételű, de lényegesen kisebb koncentrációknál megy végbe az egyes részecskék kialakulása és  $\text{pH} > 5,5$  esetében már kizárólag csak a  $\text{Cu}_2\text{LH}_3$  komplex van jelen oldatfázisban.

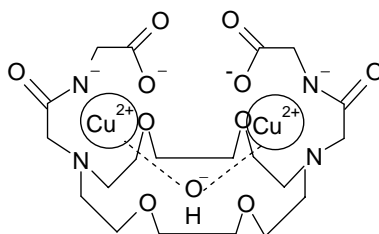
A  $\text{Cu}^{2+}$ :NOTA-Gly és  $\text{Cu}^{2+}$ :DOTA-Gly-hez hasonlóan a  $\text{Cu}^{2+}$ :ODDA-Gly rendszerben is spektrofotometriás vizsgálatokat végeztünk a képződő komplexek kötémódjának felderítése érdekében. Az 1:1 arányú  $\text{Cu}^{2+}$ -ODDA-Gly rendszer különböző pH értékeknél felvett abszorpciós spektrumait a IV.3.8 ábrán tüntettük fel.



**IV.3.8 ábra** Az 1:1 arányú  $\text{Cu}^{2+}$ -ODDA-Gly rendszer abszorpciós spektrumai különböző pH-on. ( $\text{pH}=3,29$  (1.),  $3,52$  (2.),  $5,63$  (3.),  $7,08$  (4.),  $9,30$  (5.),  $11,56$  (6.);  $[\text{Cu}^{2+}]=[\text{L}]=5 \times 10^{-3}$  M  $25^\circ\text{C}$ ;  $1,0$  M  $\text{KNO}_3$ )

A  $\text{pH}=3-5$  tartományban a  $\text{CuL}$  összetételű részecske dominál, melyben mindkét amin-N és amid-O részt vesz a fémion koordinációjában. A  $\text{Cu}(\text{ODDA-Gly})$  komplex abszorpciós maximuma  $680$  nm körül található. A  $\text{Cu}(\text{ODDA-Gly})$  komplex egyik amid-NH csoportjának deprotonálódásával a  $\text{CuLH}_1$  összetételű komplex kerül tulsúlyba  $\text{pH} > 5$ -nél, ami a  $\text{Cu}(\text{II})$ -oligopeptid komplexek amid-NH csoportjának ionizációjához és koordinációjához hasonlóan  $15-20$  nm-es „kék” eltolódást eredményez (IV.1.1 fejezet). A  $\text{CuLH}_1$  összetételű komplexben a két

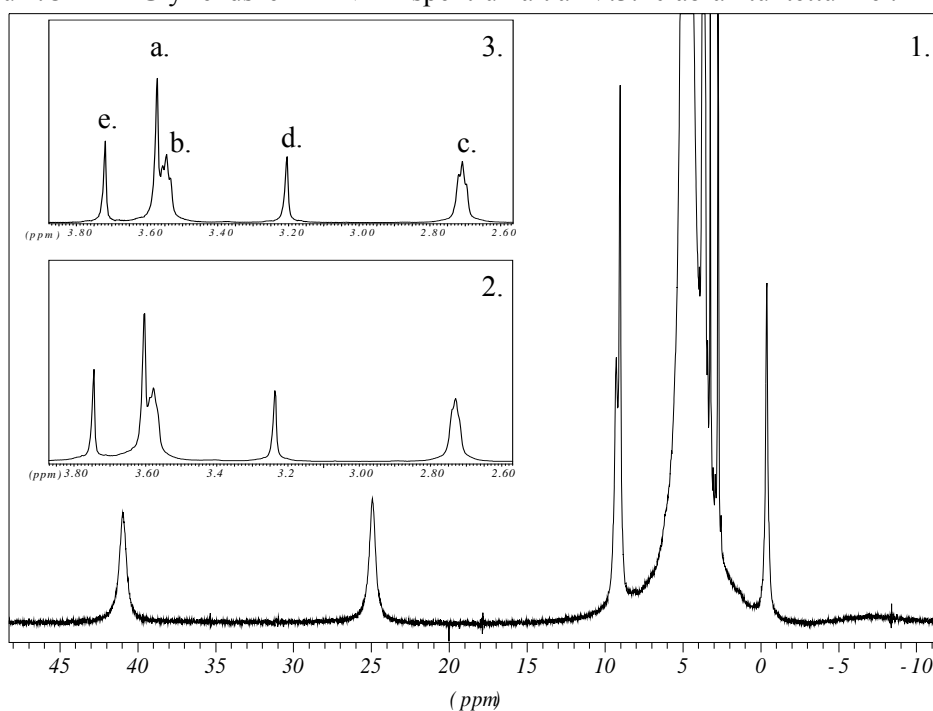
gyűrű amin-N, egy karbonil-O, egy amid-N<sup>-</sup> és valószínűleg egy karboxilátcsoport vesz részt a Cu<sup>2+</sup>-ion koordinációjában. A pH további növelésének hatására feltételezhetően egy újabb Cu<sup>2+</sup>-ion belépésével bekövetkezik a másik amid-NH csoport deprotonálódása és azt követően egy OH<sup>-</sup>-ion koordinációja vegyes ligandumu OH<sup>-</sup>-hidas kétmagvú Cu<sub>2</sub>LH<sub>3</sub> komplex képződését eredményezve, ami 30-40 nm-es „vörös” eltolódást okoz a Cu<sup>2+</sup>-ODDA-Gly rendszer d-d elektronátmeneteihez tartozó abszorpciós sávjának maximumában. A Cu<sub>2</sub>LH<sub>3</sub> összetételű kétmagvú komplexben egy amid-N<sup>-</sup> és karboxilát-O koordinálódik egy-egy Cu<sup>2+</sup>-ionhoz a gyűrű amin-N-ek mellett. A Cu<sup>2+</sup>-ionokat a gyűrű síkjához feltételezhetően közel elhelyezkedő OH<sup>-</sup>-híd köt össze. A Cu<sup>2+</sup>-ionok koordinációs szférája azonos a CuLH<sub>1</sub> és az igen kis koncentrációban jelenlévő Cu<sub>2</sub>LH<sub>2</sub> összetételű részecskében, aminek köszönhetően nem észlelünk jelentősebb változást a Cu<sup>2+</sup>-ODDA-Gly rendszer abszorpciós spektrumában a Cu<sub>2</sub>LH<sub>2</sub> részecske megjelenésével. Azonban a Cu<sub>2</sub>LH<sub>3</sub> összetételű komplexben a OH<sup>-</sup>-ion belépésével egyel több negatív töltésű (OH<sup>-</sup>) donortom vesz részt a Cu<sup>2+</sup>-ion koordinációjában a CuLH<sub>1</sub> komplexhez képest, ami mindenképpen „vörös” eltolódást eredményez a Cu<sup>2+</sup>-ODDA-Gly rendszer abszorpciós sávjának maximumában, alátámasztva a komplex feltételezett szerkezetét és a koordinálódó donor atomok kémiai minőségét. A Cu<sub>2</sub>LH<sub>3</sub> összetételű komplex feltételezett szerkezete a IV.3.9 ábrán látható.



IV.3.9 ábra A Cu<sub>2</sub>LH<sub>3</sub> összetételű komplex feltételezett szerkezete

A  $\text{Cu}^{2+}$ :ODDA-Gly rendszerek pH-potenciometriás és spektrofotometriás vizsgálatai alátámasztották az amid-NH csoportok deprotonálódását, a  $\text{Cu}^{2+}$ -ionok koordinációjában való részvételét, a kétmagvú  $\text{OH}^-$ -hidas  $\text{Cu}_2\text{LH}_3$  komplex képződését és kitüntetetten nagy stabilitását, amit feltételezhetően a makrociklus flexibilitása, a gyűrű nitrogén és a kapcsolt N-acetil-glicinát funkciós csoport dipeptidszerű viselkedése eredményez.

A  $\text{Cu}_2\text{LH}_3$  összetételű, kétmagvú komplexben a  $\text{OH}^-$  híd közvetítésével kölcsönhatás alakul ki a  $\text{Cu}^{2+}$ -ionok párosítatlan elektronjai között, ami lecsökkenti a komplex paramágneses jellegét. A  $\text{Cu}^{2+}$ - $\text{OH}^-$ - $\text{Cu}^{2+}$  antiferromágneses kölcsönhatás kialakulását és a  $\text{Cu}_2\text{LH}_3$  összetételű kétmagvú komplex oldatfázisú szerkezetét  $^1\text{H-NMR}$  spektroszkópiás módszerekkel vizsgáltuk meg. Az 1:1 arányú  $\text{Cu}^{2+}$ :ODDA-Gly rendszer  $^1\text{H-NMR}$  spektrumait a IV.3.10 ábrán tüntettük fel.



**IV.3.10 ábra** Az 1:1 arányú  $\text{Cu}^{2+}$ :ODDA-Gly rendszer  $^1\text{H-NMR}$  spektruma ( $[\text{Cu}^{2+}] = [\text{ODDAGly}] = 0,03 \text{ M}$ ,  $\text{pH} = 11,8$  (1.); az 1. spektrum 2,6 – 3,9 ppm közötti szakasza kinagyítva (2.); a szabad ligandum spektruma  $[\text{ODDA-Gly}] = 0,015 \text{ M}$  (3.))

Az 1:1 arányú  $\text{Cu}^{2+}$ :ODDA-Gly rendszer eloszlási diagramja alapján  $\text{pH} > 8$  tartományban a  $\text{Cu}_2\text{LH}_3$  összetételű komplex képződésével szabaddá váló ligandum mennyisége egyre jelentősebbé válik, aminek jelei megjelennek a  $\text{Cu}^{2+}$ -ODDA-Gly rendszer  $^1\text{H-NMR}$  spektrumában is, utalva a  $\text{Cu}_2\text{LH}_3$  összetételű komplex és a szabad ODDA-Gly ligandumok közötti lassú cserére. A  $\text{Cu}^{2+}$ :ODDA-Gly rendszer  $^1\text{H-NMR}$  spektrumában a jelek szélessége sokkal kisebb, mint a paramágneses  $\text{Cu(II)}$ -komplexek esetében általában tapasztalni lehet, ami utal a  $\text{Cu}^{2+}$ - $\text{OH}^-$ - $\text{Cu}^{2+}$  kölcsönhatás antiferromágneses jellegére. A  $\text{pH} = 11,8$  esetében a  $\text{Cu}^{2+}$ :ODDA-Gly rendszer  $^1\text{H-NMR}$  spektrumában öt 1:1:2:1:1 integrál arányú jel található a szabad ligandum jelein kívül, melyek kémiai eltolódása jelentősen megnövekedett a komplex fennmaradó paramágneses jellegének köszönhetően. A jelek metil csoportokhoz történő rendelése nehéz, mivel a protonok kémiai eltolódását nem csak a paramágneses centrumtól mért távolságuk, hanem egymáshoz viszonyított kötésszögük és a koordinatív kötések kovalens jellege is befolyásolja<sup>2,6,7</sup>. A kétmagvú komplex szerkezetének pontos ismeretéhez szükség lenne röntgendiffrakciós vizsgálatokra is, de sajnos a mérésekhez alkalmas egykristályt nem sikerült előállítanunk. Feltételeztük, hogy a gyűrű amin-N-ek, az amid- $\text{N}^-$ -ek, a karboxilát-O-ek és a híd helyzetű  $\text{OH}^-$ -ion közelítőleg síknégyzetesen, míg a gyűrű éter-O atomjai viszonylag gyengén axiális pozícióban koordinálódnak a  $\text{Cu}^{2+}$ -ionokhoz. A metil protonok eltérő kémiai környezetéből (árnyékoltság) és a szomszédos donoratomok koordinációs viszonyaiból arra következtettünk, hogy a 41 ppm-nél található széles szingulett az oldallánc amidcsoportjához kapcsolódó  $\text{N-CH}_2\text{-CO}$  (d), míg a 25 ppm-nél található széles szingulett az oldallánc karboxilátcsoportjához kapcsolódó  $\text{N-CH}_2\text{-COO}^-$  (e) metilén protonokhoz rendelhető. A  $\text{Cu}^{2+}$ :ODDA-Gly rendszer  $^1\text{H-NMR}$  spektrumának 9,5, 9, 3,5, és -0,5 ppm-nél található jelei a makrociklus három különböző típusú ( $\text{O-CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$  (a),  $\text{N-CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$  (b),  $\text{N-CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$  (c)) metilén protonjaihoz tartoznak. A komplex kialakulásával a makrociklus szerkezete merevebbé válik és a viszonylag hosszú élettartamú fém-donoratom

kötés miatt a korábban kémiaiailag ekvivalens metilén protonok nem-ekvivalensekké válnak. A szomszédos metilén protonok spin-spin csatolása miatt jeleik felhasadnak, amelyek a gyengébb paramágneses hatás eredményeképp átfedésbe is kerülhetnek megnehezítve jeleik közvetlen beazonosítását.

Mágneses szuszeptibilitás mérések alapján nem csak a paramágneses komplexek mágneses tulajdonságaira lehet következtetni, hanem a kétmagvú komplexekben a paramágneses fémionok egymáshoz viszonyított helyzetére is<sup>164</sup>. A  $\text{Cu}_2\text{LH}_3$  összetételű komplexben a  $\text{Cu}^{2+}$ -ionok között kialakuló antiferromágneses kölcsönhatás jelentősen befolyásolja a komplex mágneses tulajdonságait, amit az Evans-módszer alapján oldatfázisban, NMR spektroszkópiás vizsgálatokkal tanulmányoztunk<sup>165</sup>. Az eljárás lényege, hogy a paramágneses és diamágneses környezetben lévő referencia protonok (esetünkben az oldatban lévő 10 % tercier-butanol metilén protonjai) kémiai eltolódása különböző, a paramágneses környezetben lévő protonok jele a nagyobb frekvenciák irányába tolódik el. A  $^1\text{H}$ -NMR-s vizsgálatok során kapillárisban 10 % tercier-butanolt tartalmazó  $\text{D}_2\text{O}$ -s oldatot helyeztünk a  $\text{Cu}_2\text{LH}_3$  komplex szintén 10 % tercier-butanolt tartalmazó  $\text{D}_2\text{O}$ -s oldatába és meghatároztuk a két különböző környezetben lévő tercier-butanol metilén protonjainak kémiai eltolódásbeli különbségét ( $\Delta\delta$ ). A paramágneses részecskék által a referencia protonok kémiai eltolódásában indukált változást négy különböző folyamat ( $\Delta\delta_d$  diamágneses-,  $\Delta\delta_k$  kontak-,  $\Delta\delta_{pk}$  pszeudo-kontakt- és a  $\Delta\delta_{\text{BMS}}$  közeg mágneses szuszeptibilitása által indukált eltolódás) eredményezi<sup>165</sup>.

$$\Delta\delta = \Delta\delta_d + \Delta\delta_k + \Delta\delta_{pk} + \Delta\delta_{\text{BMS}} \quad \text{IV.3.4}$$

A diamágneses-eltolódást a paramágneses részecske egyes atomjainak induktív effektusai határozzák meg, de ez általában kicsi a paramágneses hozzájárulások hatásához képest, így gyakorlatilag elhanyagolható. A referencia protonok rezonancia frekvenciájának kontakt- és pszeudo-kontakt-eltolódása a paramágneses fémion és a referencia protonok közvetlen (kémiai kötés) vagy téren keresztüli

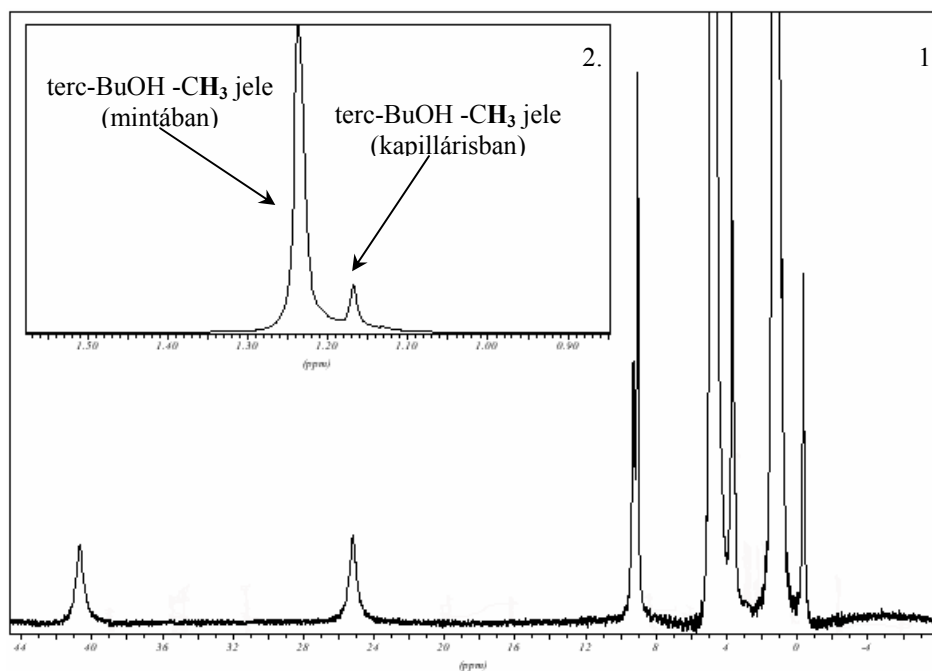
kölcsönhatásokor alakul ki. A közeg mágneses szuszceptibilitása által indukált kémiai eltolódás változást a paramágneses részecskék mágneses tér irányába történő részleges rendeződése és az általuk kifejtett árnyékoló hatás eredményezi. Az általunk alkalmazott kísérleti körülmények között gyakorlatilag csak a közeg mágneses szuszceptibilitása határozza meg a tercier-butanol metilén protonjainak kémiai eltolódás változását, amelyből a IV.3.5 és IV.3.6 egyenletek alapján számítható a  $\text{Cu}_2\text{LH}_3$  komplex mágneses momentuma ( $\mu_{\text{eff}}$ )<sup>166</sup> és az egy  $\text{Cu}^{2+}$ -centrumra jutó átlagos párosítatlan elektronok száma (N):

$$\Delta\delta = \frac{4\pi c s}{T} \left( \frac{\mu_{\text{eff}}}{2,84} \right)^2 \times 10^3 \quad \text{IV.3.5}$$

$$\mu_{\text{eff}} = \sqrt{N(N + 2)} \quad \text{IV.3.6}$$

ahol  $c$  a paramágneses részecske koncentrációját ( $\text{mol}/\text{dm}^3$ ),  $T$  az abszolút hőmérsékletet és az  $s$  egy állandót jelöl, melynek értéke függ a mágneses tér jellegétől, a minta alakjától és a mágneses térhez viszonyított helyzetétől, ami esetünkben  $s = \frac{1}{3}$  (kriomágnes)<sup>165</sup>. A  $\text{Cu}_2\text{LH}_3$  komplex 10 % tercier-butanol jelenlétében felvett  $^1\text{H}$ -NMR spektrumát a IV.3.11 ábrán tüntettük fel. A tercier-butanol  $-\text{CH}_3$  protonjainak kémiai eltolódásbeli különbsége alapján számítottuk a  $\text{Cu}_2\text{LH}_3$  komplex effektív mágneses momentumát;  $\mu_{\text{eff}} = 2,26$  B.M. ( $25^\circ\text{C}$ ) és az egy  $\text{Cu}(\text{II})$  centrumra jutó átlagos párosítatlan elektronjainak számát;  $N=0,51$ . Az Evans-módszer alapján végzett  $^1\text{H}$ -NMR spektroszkópiás vizsgálatok eredményei alátámasztották a kétmagvú  $\text{Cu}_2\text{LH}_3$  komplexben a  $\text{Cu}^{2+}$ -ionok közötti antiferromágneses kölcsönhatás kialakulását, amely lecsökkenti a komplexben kötött  $\text{Cu}^{2+}$ -ionok mágneses momentumát. Az egy  $\text{Cu}^{2+}$ -ionra jutó mágneses momentum a  $\text{Cu}_2\text{LH}_3$  komplexben  $\mu_{\text{eff}}/\text{Cu} = 1,13$  B.M., ami a  $\text{Cu}^{2+}_{\text{aq}}$ -ionokénál ( $\mu_{\text{eff}} = 2,06$  B.M., amit ugyancsak az Evans-módszerrel állapítottunk meg) lényegesen kisebb. Ez valószínűleg a komplexben kötött  $\text{OH}^-$ -ion, mint

hídcsoporton keresztül létrejövő spin-spin csatolásnak tulajdonítható, amelynek köszönhetően a  $\text{Cu}_2\text{LH}_3$  komplex részben diamágnesessé válik és ESR jeleinek intenzitása is az egymagvú CuL komplex jeleihez képest jelentősen, annak mintegy 2-3%-ra csökken.



**IV.3.11 ábra** Az 2:1 arányú  $\text{Cu}^{2+}$ :ODDA-Gly rendszer  $^1\text{H}$ -NMR spektruma ( $[\text{Cu}^{2+}] = 0,0156 \text{ M}$ ,  $[\text{ODDAGly}] = 7,8 \times 10^{-3} \text{ M}$ , 10 % tercier-butanol,  $25 \text{ }^\circ\text{C}$ ,  $\text{pH} = 10,0$  (1); az 1. spektrum 1,0 – 1,5 ppm közötti szakasza kinagyítva (2.)

Számos hasonló szerkezetű kétmagvú Cu(II)-komplexet korábban már kimutattak az irodalomban mágneses momentum mérések segítségével, amelyek mágneses szuszceptibilitása jelentősen függött a  $\text{Cu}^{2+}\text{-OH}^-\text{-Cu}^{2+}$  kötőszögtől<sup>167</sup>. Hay, Thimbeault és Hoffman elméleti számítások alapján kimutatták, hogy a közel  $180^\circ$   $\text{Cu}^{2+}\text{-L-Cu}^{2+}$  kötőszög nagyon erős spin-spin kölcsönhatást tesz lehetővé a  $\text{Cu}^{2+}$ -ionok között, amikor a  $\text{Cu}^{2+}\text{-Cu}^{2+}$  közötti spin-spin kölcsönhatást jellemző  $-2J$  csatolási állandó értéke  $1000 \text{ cm}^{-1}$  körüli és a komplex gyakorlatilag diamágneses. (A  $-2J$  csatolási állandó a spin-spin kölcsönhatáskor kialakuló

szingulett és tripllett állapotok közötti energia különbséget jelenti). A  $90^\circ$  kötőszög esetén a vegyület gyengén ferromágneses jellegű, míg  $100\text{ cm}^{-1}$  körüli  $-2J$  érték esetén a kötőszög értéke  $97\text{-}100^\circ$  körül van<sup>164</sup>. A  $-2J$  csatolási állandó a  $\text{Cu}_2\text{LH}_3$  komplex különböző hőmérsékleteken meghatározott mágneses momentumainak ( $\mu_{\text{eff}}$ ) ismeretében a IV.3.7. egyenlet alapján számítható<sup>168</sup>. Ezek mellett a IV.3.8 egyenlettel kiszámítottuk a  $\text{Cu}_2\text{LH}_3$  komplex molszuszeptibilitás ( $\chi_M$ )<sup>168</sup> értékeit, amelyeket a számított  $-2J$  csatolási állandókkal együtt a IV.3.4 táblázatban tüntettük fel.

$$\mu_{\text{eff}} = \sqrt{\frac{6g^2}{3 + e^{\frac{-2J}{kT}}} \mu_B} \quad \text{IV.3.7}$$

$$\chi_M = \frac{\mu_0 N_A \mu_B^2}{3kT} (6g^2) \left[ 3 + e^{\frac{-2J}{kT}} \right]^{-1} \quad \text{IV.3.8}$$

Az egyenletekben szereplő  $g$  a szabad elektron  $g$ -tényezője ( $g=2,00232$ ),  $\mu_0$  a vákuum permeabilitása ( $\mu_0=1,25663706 \times 10^{-6} \text{ T}^2\text{m}^3\text{J}^{-1}$ ),  $\mu_B$  a Bohr-magneton ( $\mu_B=9,27400899 \times 10^{-24} \text{ JT}^{-1}$ ),  $N_A$  az Avogadro-állandó ( $N_A=6,02212 \times 10^{23} \text{ mol}^{-1}$ ),  $k$  a Boltzmann-állandó ( $k=1,38066 \times 10^{-23} \text{ J}\cdot\text{K}^{-1}$ ) és a  $T$  az abszolút hőmérséklet (K).

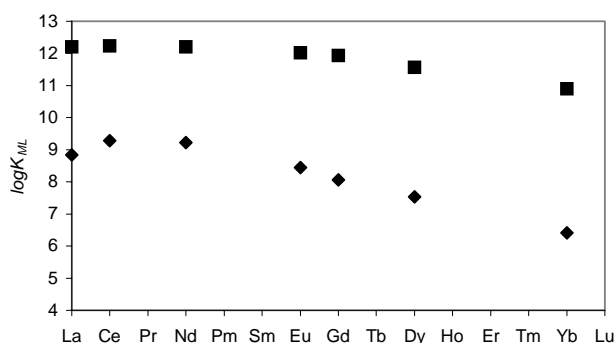
**IV.3.4 táblázat**  $\text{ACu}_2\text{LH}_3$  komplex különböző hőmérsékleteken meghatározott mágneses momentuma ( $\mu_{\text{eff}}$ ), molszuszeptibilitása ( $\chi_M$ ) és spin-spin csatolási állandói ( $-2J$ ).

T (K)	$\mu_{\text{eff}}$ (B.M.)	$\chi_M$ ( $\text{cm}^3\text{mol}^{-1}$ )	$-2J$ ( $\text{cm}^{-1}$ )
274	2,28	$2,98 \times 10^{-2}$	92,8
298	2,26	$2,69 \times 10^{-2}$	111,1
323	2,29	$2,55 \times 10^{-2}$	103,7

A kétmagvú  $\text{Cu}_2\text{LH}_3$  OH<sup>-</sup>-hidas komplex <sup>1</sup>H-NMR spektroszkópiás módszerekkel meghatározott mágneses momentuma és a csatolási állandója alapján gyenge spin-

spin kölcsönhatás alakul ki a komplex két  $\text{Cu}^{2+}$ -ionja között, ami a  $\text{Cu}^{2+}\text{-OH}^-\text{-Cu}^{2+}$  kötés  $97\text{-}100^\circ$  körüli kötésszög kialakulását teszi valószínűvé<sup>164</sup>.

A ligandum koordinációs kémiai viselkedésének megértése szempontjából fontos a Ln(III)-komplexek stabilitásának ismerete. A  $\text{Ln}(\text{ODDA})^+$  és  $\text{Ln}(\text{ODDA-Gly})^+$  komplexek stabilitási állandói a  $\text{Ln}^{3+}$ -ionok rendszámának a függvényében a IV.3.11 ábrán láthatóak.



IV.3.11 ábra Az LnL komplexek stabilitási állandói ( $\text{Ln}(\text{ODDA-Gly})^+$  (◆),  $\text{Ln}(\text{ODDA})^+$  (■))

Az ODDA ligandum esetében azt feltételezték, hogy a 18 tagú makrociklusos gyűrűbe a nagyobb méretű  $\text{Ln}^{3+}$ -ionok illeszkednek jobban, így ezek komplexei stabilisabbak, mint a sorozat vége fele található  $\text{Ln}^{3+}$ -ionok komplexei<sup>41</sup>. Ehhez hasonló változás figyelhető meg a  $\text{Ln}(\text{ODDA-Gly})^+$  komplexek stabilitási állandóinak lantanoida sorozaton belül mutatott menetében. Mindkét ligandum esetében a  $\text{Pr}^{3+}\text{-Nd}^{3+}$ -ig közel állandó, ezt követően pedig a  $\text{Lu}^{3+}$ -ig csökkenés figyelhető meg a stabilitási állandók értékeiben. Valószínűleg a töltéssel nem rendelkező amid-O-ek gyengébb koordinációja felelős az  $\text{Ln}(\text{ODDA-Gly})^+$  komplexek kisebb stabilitási állandói értékeiért és a fémionok méretének csökkenésével bekövetkező nagyobb mértékű csökkenéséért, ami a makrociklus gyűrű jelentősebb méretszelektivitását eredményezi. A  $\log K_{ML}$  értékek jelentékeny csökkenése a  $\text{Nd}^{3+}$ -ot követő elemek esetében azt is jelzi, hogy a komplexek képződésében a makrociklus donor atomjai és a  $\text{Ln}^{3+}$ -ionok kölcsönhatásának is

fontos szerepe van és a  $\text{Ln}^{3+}$ -ionok feltehetően a makrociklusos gyűrűben helyezkednek el.

## V. KÍSÉRLETI RÉSZ

### V.1 A vizsgált ligandumok előállítása és koncentrációjuk meghatározása

A NOTA-Gly és az ODDA-Gly ligandumok előállítására Dr. Iványi Tímea és Dr. Lázár István dolgozott ki módszert<sup>169</sup>. Ugyancsak ők állították elő a DOTA-Gly ligandumot a korábban leírt eljárás szerint<sup>26</sup>. A ligandumok előállítása több lépésben történt. Elsőként az oldalláncot szintetizálták. Azeotróp desztillációval glicil-benzilészter *p*-toluol-szulfonsav sóit állítottak elő, amelyből a lúgos extrációval felszabadított glicil-benzilésztert bróm-acetil-bromiddal reagáltatva az 1-Br-(benziloxi-glicin-karboxil-metil) oldalláncot nyerték. Az így előállított vegyület  $S_N$  reakcióban HBr kilépése közben kapcsolódott az 1,4,7-triazaciklononán, az 1,4,7,10-tetraazaciklododekán és az 1,4,10,13-tetraoxa-7,16-diaza-ciklooktadekán gyűrűkhöz, majd a benzilcsoport katalitikus hidrogénezésével történő eltávolításával a kívánt ligandumokat nyerték.

A DOTAM ligandumot Dr. Tóth Éva, a Lausanne-i Szövetségi Műszaki Egyetem (EPFL) Kémiai Intézetéből bocsátotta rendelkezésünkre.

Az anyagokat, melyek legalább 99%-os tisztaságúak voltak, további tisztítás nélkül használtuk a vizsgálatokhoz. A ligandumokból készített törzsoldatok koncentrációját pH-potenciometriás módszerrel, 50-szeres  $Ca^{2+}$ -felesleg jelenlétében és távollétében felvett titrálási görbékből határoztuk meg, figyelembe véve a protonálódási lépcsőknek megfelelő ekvivalens lúgmennyiségeket. A  $Ca^{2+}$ -felesleg jelenlétében történt mérések során a fémion a komplex képződéssel párhuzamosan „leszorítja” a ligandumról az összes disszociábilis protont, ami alapjául szolgált a ligandumhoz tartozó teljes protonkoncentráció meghatározásának. Ezekben az esetekben a fémionfelesleg a mérést nem zavarja, mivel hidrolízis számottevő módon csak egészen nagy pH-n következik be.

## V.2 A vizsgálatok során felhasznált törzsoldatok elkészítése és koncentrációjuk meghatározása

A ritkaföldfém(III)-klorid törzsoldatokat 99,9% tisztaságú (Fluka) ritkaföldfém-oxidokból készítettük, 1:1 hígítású (~6 M) sósavban való oldással. A sósavfelesleget vízfürdőn végzett óvatos bepárlással távolítottuk el. A ritkaföldfém(III)-klorid törzsoldatok koncentrációját komplexometriás titrálással, standardizált  $\text{Na}_2\text{H}_2\text{EDTA}$  mérőoldattal, hexametilén-tetraamin puffer alkalmazásával (pH=5,8-6), xilenolnarancs indikátor mellett határoztunk meg.

Az alkáliföldfém- és átmenetifém-klorid és -nitrát törzsoldatok analitikai tisztaságú szilárd alkáliföldfém- és átmenetifém-kloridokból és -nitrátokból (Sigma) készültek kétszer desztillált vízben való oldással. A törzsoldatok koncentrációinak meghatározása szintén komplexometriásan történt  $\text{Na}_2\text{H}_2\text{EDTA}$  mérőoldattal<sup>170</sup>.

Az ionerősség állításához és pufferként használt oldatok alt. minőségű vagy átkristályosított vegyszerekből készültek közvetlen beméréssel.

## V.3 A NOTA-Gly, a DOTA-Gly és az ODDA-Gly ligandumok és fémkomplexeik pH-potenciometriás vizsgálata

A pH-potenciometriás vizsgálatok során Radiometer PHM 93 Reference pH-mérőt, PHG 211 üveg- és K401 telített kalomelelektrodokat, Radiometer ABU 80 automatabürettát alkalmaztunk. A titrálásokat 15 cm<sup>3</sup>-es oldattérfogatban, állandó kevertetés és termosztálás (25±0,2 °C), valamint 0,1 vagy 1,0 M (KCl, KNO<sub>3</sub>) ionerősségek mellett 0,2 M KOH-oldattal végeztük, amelynek koncentrációját ismert koncentrációjú KH-ftalát pufferoldat titrálásával határoztunk meg. A mérések előtt és alatt a karbonátosodás elkerülése érdekében N<sub>2</sub>- vagy Ar-gázt buborékoltattunk át a rendszeren.

A pH-mérő két pontos kalibrációjára KH-ftalát puffer 0,05 M oldatát (pH=4,005), valamint bórax puffer szén-dioxidtól elzárt, N<sub>2</sub>-atmoszféra alatt tartott 0,01 M oldatát (pH=9,180) használtuk.

A minták állandó ionerősségű oldata és a kalomelelektrod telített kálium-klorid-oldata között kialakuló potenciálkülönbség nem egyezik meg a pH-mérő beállítására használt KH-ftalát, illetve bórax-oldatok és a kalomelelektrod KCl-oldata között kialakuló diffúziós potenciálkülönbséggel. Az eltérésből származó hibát az *Irving* és munkatársai által kidolgozott módszerrel vettük figyelembe<sup>171</sup>, amelynek megfelelően egy 0,01 M HCl-oldatot az adott ionerősség mellett lúggoldattal titrálva meghatároztuk a mért és a számított pH különbségét. Vizsgálataink során ezt az értéket használtuk fel a H<sup>+</sup>-ion-koncentrációnak a leolvasott pH értékekből történő kiszámítására.

A protonálódási és a stabilitási állandókat a pH-potenciometriás titrálások adataiból a PSEQUAD számítógépes program segítségével számítottuk<sup>172</sup>.

A ligandumok protonálódási állandóinak meghatározása során ismert mennyiségű és pontos koncentrációjú HCl-oldattal a ligandumok 0,002 M oldatainak pH értékeit 1,7-1,8 körülire állítottuk és állandó ionerősség mellett (0,1 M, 1,0 M KCl vagy KNO<sub>3</sub>) 0,2 M KOH-oldattal titráltuk pH=11,5-ig. A  $\log K_i^H$  értékeket mindegyik ligandum esetében 180-220 V<sub>lúg</sub>-pH adatpár felhasználásával számítottuk.

Az alkáliföldfémekkel, átmenetifémekkel és lantanoidákkal képződő NOTA-Gly és ODDA-Gly komplexek, valamint az alkáliföldfém- és átmenetifém-DOTA-Gly komplexek stabilitási és protonálódási állandóinak meghatározásakor gyakorlatilag 1:1 fém-ligandum arányt állítottunk be úgy, hogy kb. 0,5% ligandumfelesleget alkalmaztunk. A pH-potenciometriás titrálásokat 0,002 M fém és ligandum koncentrációjú oldatokban az 1,8-11,5 pH tartományban végeztük. A komplexek stabilitási és protonálódási állandóinak számítása az 1,8-7,0 pH tartományban meghatározott 40-80 V<sub>lúg</sub>-pH adatpárokból történtek. Azokban az esetekben, ahol a pH>7 tartományban további deprotonálódási folyamatok

következtek be ((Cu(NOTA-Gly)<sup>-</sup>, Zn(NOTA-Gly)<sup>-</sup>, Cd(NOTA-Gly)<sup>-</sup>, Cu(ODDA-Gly)) az egyensúlyi állandókat ( $\log K_{MLH-1}$ ,  $\log K_{MLH-2}$ ) további 60-90  $V_{l\ddot{u}g}$ -pH adatpárokból számítottuk ki.

A kétmagvú  $Gd^{III}[Cu^{II}(NOTA-Gly)]^{2+}$  és  $Gd^{III}[Zn^{II}(NOTA-Gly)]^{2+}$  komplex stabilitási állandóit szintén pH-potenciometriásan határoztuk meg a kb. 2-6 pH tartományban kapott titrálási adatokból ( $[Gd^{3+}]=[Cu^{2+}]=[NOTA-Gly]=0,002$  M;  $[Gd^{3+}]=[Zn^{2+}]=[NOTA-Gly]=0,002$  M). A kétmagvú komplexek stabilitási állandóinak meghatározása során a számításokat 40-70  $V_{l\ddot{u}g}$ -pH adatpárból végeztük az 1:1 fém-ligandum aránynál kiszámított stabilitási és protonálódási állandók ( $\log K_{ML}$ ,  $\log K_{MHL}$ ,  $\log K_{MH2L}$ ) felhasználásával.

A Ln(DOTA-Gly)<sup>-</sup> komplexek stabilitási állandóit a lassú komplexképződés miatt külön mintás pH-potenciometriás módszerrel határoztuk meg, Nyolc-nyolc egyenként 4 ml térfogatú különálló mintát készítettünk, 1:1 fém-ligandum aránynál ( $[Ln]=[L]=0,002$  M), a pH=2,6-3,8 tartományban. A minták pH értékeit az egyensúly beálltát követően (5 hét, 25 °C) mértük. A Ln(DOTA-Gly)<sup>-</sup> komplexek stabilitási állandóinak számításához felhasználtuk a ligandum és a komplexek protonálódási állandóit. Utóbbiakat a Ln(DOTA-Gly)<sup>-</sup> komplexek 0,002 M koncentrációjú, pH=6 oldatainak ismert koncentrációjú HCl-oldattal történő pH-potenciometriás titrálása során kapott 50-60  $V_{l\ddot{u}g}$ -pH adatpár alapján számítottunk.

A  $Gd^{III}[Cu^{II}(DOTA-Gly)]^{+}$  és  $Ce^{III}[Ce^{III}(DOTA-Gly)]^{2+}$  kétmagvú komplexek stabilitási állandóit az 1:1 arányú  $Gd^{3+}$ -Cu(DOTA-Gly)<sup>2-</sup> és  $Ce^{3+}$ -Ce(DOTA-Gly)<sup>-</sup> ( $[Gd^{3+}]=[Cu^{2+}]=[DOTA-Gly]=0,002$  M;  $[Ce^{3+}]=[Ce(DOTA-Gly)]^{-}=0,002$  M) rendszerek pH=7.0 oldatait ismert koncentrációjú HCl-oldattal titrálva pH-potenciometriásan határoztuk meg. A kétmagvú komplexek stabilitási állandóinak számítása a titrálások 40-50  $V_{l\ddot{u}g}$ -pH adatpárjaiból történt, amihez felhasználtuk a Cu(DOTA-Gly)<sup>2-</sup> komplex stabilitási és protonálódási állandóit, illetve a Ce(DOTA-Gly)<sup>-</sup> komplex protonálódási állandóit.

A  $\text{Cu}^{2+}$ -ODDA-Gly és  $\text{Cu}^{2+}$ -DOTA-Gly rendszerek pH-potenciometriás vizsgálatát 1:1 ( $[\text{Cu}^{2+}]=[\text{ODDA-Gly}]=0,005 \text{ M}$ ;  $[\text{Cu}^{2+}]=[\text{DOTA-Gly}]=0,002 \text{ M}$ ) és 2:1 ( $[\text{Cu}^{2+}]=0,01 \text{ M}$ ,  $[\text{ODDA-Gly}]=0,005 \text{ M}$ ;  $[\text{Cu}^{2+}]=0,004 \text{ M}$ ,  $[\text{DOTA-Gly}]=0,002 \text{ M}$ ) fém-ligandum arányú oldataikban végeztük és a stabilitási, az egyensúlyi és a protonálódási állandókat a két titrálás során kapott 220-230  $V_{\text{úg}}$ -pH adatpár közös illesztésével számítottuk.

#### **V.4 A NOTA-Gly, az ODDA-Gly és DOTA-Gly ligandumok $\text{Cu}^{2+}$ -komplexeinek, valamint a $\text{Ce}(\text{DOTA-Gly})^-$ és a $\text{Ce}(\text{DOTAM})^{3+}$ komplexek UV-látható spektrofotometriás vizsgálata**

Az amid-NH-csoport deprotonálódását, a képződő  $\text{Cu}(\text{II})$ -komplexek, valamint a  $\text{Ce}^{3+}$ -DOTA-Gly és  $\text{Ce}^{3+}$ -DOTAM rendszerben a fémionok koordinációs viszonyait és a spektrumok időbeli változását UV-látható spektrofotometriás módszerrel Cary 1E spektrofotométerrel 25 °C-on, 1 cm-es kvarc kivetta alkalmazásával tanulmányoztuk.

Az 1:1 arányú  $\text{Cu}^{2+}$ -NOTA-Gly, a  $\text{Cu}^{2+}$ -DOTA-Gly és a  $\text{Cu}^{2+}$ -ODDA-Gly rendszerekben ( $[\text{Cu}^{2+}]=[\text{L}]=5 \times 10^{-3} \text{ M}$ ) a pH=2,5-11,5 tartományban 400-800 nm között vettünk fel spektrumokat.

A  $\text{Ce}^{3+}$ -DOTA-Gly és a  $\text{Ce}^{3+}$ -DOTAM rendszerekben a komplex képződést a  $\text{Ce}^{3+}$   $5d \leftarrow 4f$  átmenetéhez tartozó abszorpciós sávjain, 220-330 nm-es tartományban különböző időközönként felvett egyedi spektrumokkal követtük nyomon, ami egyben alapjául szolgált a komplex képződéshez szükséges idő és egyensúlyi pH tartomány meghatározásának. A  $\text{Ce}^{3+}$ -DOTA-Gly rendszer 1:1 fém-ligandum arányú ( $[\text{Ce}^{3+}]=[\text{DOTA-Gly}]= 5 \times 10^{-4} \text{ M}$ ,  $[\text{NaOAc}]=0,01 \text{ M}$ , pH=4,85), míg a  $\text{Ce}^{3+}$ -DOTAM rendszer 100:1 fém-ligandum arányú ( $[\text{Ce}^{3+}] = 0,05 \text{ M}$ ,  $[\text{DOTAM}] = 5 \times 10^{-4} \text{ M}$ ,  $[\text{NaOAc}]=0,01 \text{ M}$ , pH=4,58) oldatai abszorpciós spektrumát a komplex képződés előrehaladtával bizonyos időközönként vettük fel. A  $\text{Ce}^{3+}$  felesleg fényabszorpcióját kompenzáltuk. Az UV-látható

spektrofotometriás vizsgálatok spektrális paramétereit a V.4.1 táblázatban tüntettük fel.

**V.4.1 táblázat** A spektrofotometriás mérések paramétereit.

<b>Paraméterek</b>	<b>Cu<sup>2+</sup></b>	<b>Ce<sup>3+</sup></b>
Hullámhossz (nm)	400-800	220-330
Küvetthossz (cm)	1,0	1,0
Koncentráció (mol/dm <sup>3</sup> )	0,005	5·10 <sup>-4</sup> ; 0,05
Spektrális sáv szélesség (nm)	2,0	2,0
Adatköz (nm)	0.5	0,250
Átlagolási idő (s)	0,1	0,3
Felvételi sebesség (nm/s)	300	50

A pH-t Radelkis OP-208/1 pH-mérővel és Radiometer PHC 2406 kombinált elektróddal mértük. A pH-mérő kétpontos kalibrációja során NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> puffert (pH=6,865), valamint KH<sub>2</sub>Ptálát puffert (pH=4,005) használtunk. A minták pH értékeit cc. HCl-val és szilárd KOH-dal állítottuk be.

### **V.5 A Gd(DOTA-Gly)<sup>-</sup> komplex relaxivitásának mérése**

A vízprotonok longitudinális relaxációs idejét MS-4 típusú NMR spektrométerrel (Jožef Stephan Institut, Ljubljana) 9 MHz protonrezonancia frekvencián, 0,2 cm<sup>3</sup> oldattérfogatban, mágneszettség inverzió módszerrel (inversion recovery impulzus szekvenciával 180°-τ-90°) határoztuk meg. Az egyes mérések során 6-8 különböző késleltetési időt (τ) alkalmaztunk, amit a készülék automatikusan állít be, és egy adott késleltetési időnél 5-9 mérés átlagolásával számítottuk az adott T<sub>1</sub> értékeket. A mérések során a hőmérséklet állandóságát ultratermosztáttal temperált levegő befűtésével biztosítottuk. A Gd(DOTA-Gly)<sup>-</sup> komplex 0,001 M koncentrációjú oldatát 1% ligandumfelesleg alkalmazásával állítottuk elő, melynek pH-ját cc. HCl és szilárd KOH-dal állítottuk be 7,0 körüli

értékre. A vizsgált oldatok pH mérése és a pH-mérő kalibrálása az V.4 részben leírtak alapján történt.

A  $\text{Gd}(\text{DOTA-Gly})^-$  komplex relaxivitása **hőmérsékletfüggésének** vizsgálatok a fentiekben leírtak alapján elkészített oldatok relaxitását mértük  $7.0\text{ }^\circ\text{C} - 50\text{ }^\circ\text{C}$ -os tartományban, amit ultratermosztát segítségével állítottunk be.

A  $\text{Gd}(\text{DOTA-Gly})^-$  relaxitásának **pH-függése** vizsgálatok a komplex  $0,001\text{ M}$  koncentrációjú oldatának pH értékeit  $2,0$  és  $12,5$  között változtattuk cc.  $\text{HCl}$  és szilárd  $\text{KOH}$  felhasználásával. Az oldatok elkészítésekor puffert nem alkalmaztunk és a pH értékek beállítása mindig közvetlenül a mérés előtt történt. A vizsgálatokat  $25\text{ }^\circ\text{C}$ -on végeztük.

#### **V.6 A $\text{Ln}(\text{DOTA-Gly})^-$ és $\text{Ln}(\text{DOTAM})^{3+}$ komplexek képződésének, valamint az $\text{Eu}(\text{DOTA-Gly})^-$ komplex disszociációjának kinetikai vizsgálata**

A  $\text{Ce}^{3+}$  - és az  $\text{Eu}(\text{DOTA-Gly})^-$  komplexek képződési kinetikai vizsgálatait Cary 1E típusú spektrofotométerrel  $320$  és  $250\text{ nm}$ -en,  $1\text{ cm}$ -es küvettában és  $25\text{ }^\circ\text{C}$ -on termosztált küvetta tartó alkalmazásával végeztük a következő, pszeudo-első rendű feltételeknek megfelelő mintákban:  $[\text{DOTA-Gly}] = 3 \times 10^{-4}\text{ M}$ ;  $[\text{Ce}^{3+}] = [\text{Eu}^{3+}] = 3 \times 10^{-3} - 1,5 \times 10^{-2}\text{ M}$ . A  $\text{Ln}(\text{DOTA-Gly})^-$  komplexek kialakulását a  $\text{pH} = 4, 7-5, 8$  tartományban,  $1,0\text{ M}$   $\text{KCl}$ -os állandó ionerősség mellett és  $\text{N}$ -metil-piperazinnal puffertolt ( $[\text{NMP}] = 0,03\text{ M}$ ) oldatokban tanulmányoztuk.

A  $\text{Ce}^{3+}$  - és  $\text{Eu}(\text{DOTAM})^{3+}$  komplexek kialakulását közvetlenül ( $320$  és  $250\text{ nm}$ -en), míg a  $\text{Gd}^{3+}$ -,  $\text{Er}^{3+}$ - és  $\text{Yb}(\text{DOTAM})^{3+}$  komplexek képződését közvetve, brómkrezolzöld indikátor jelenlétében ( $2,5 \times 10^{-5}\text{ M}$ ,  $616\text{ nm}$ -en) a komplex kialakulásával párhuzamosan a ligandumról felszabaduló protonok okozta pH csökkenést követve vizsgáltuk Cary 1E típusú spektrofotométerrel. A vizsgálatokat  $25\text{ }^\circ\text{C}$ -on, a  $\text{pH} = 4, 7-5, 8$  tartományban,  $1,0\text{ M}$   $\text{KCl}$ -os ionerősség mellett gyengén puffertolt oldatokban végeztük, ahol a pH változás  $0,07-0,1$  pH egység volt. A  $\text{Ce}^{3+}$ - és az  $\text{Eu}(\text{DOTAM})^{3+}$  komplexek esetében  $[\text{Ln}^{3+}] = 3 \times 10^{-3} - 1,5 \times 10^{-2}\text{ M}$  tartományban

4 fémion koncentrációjánál, míg a  $\text{Gd}^{3+}$ -,  $\text{Er}^{3+}$ - és  $\text{Yb}(\text{DOTAM})^{3+}$  komplexeknél  $6 \times 10^{-3}$  M és  $1,0 \times 10^{-2}$  M fémion-koncentrációjánál határoztuk meg a pszeudo-elsőrendű sebességi állandókat, a ligandum koncentráció  $3 \times 10^{-4}$  M volt. Az indikátor módszerrel meghatározott pszeudo-elsőrendű sebességi állandókat a V.6.1 táblázatban foglaltuk össze.

**V.6.1 táblázat** A  $\text{Gd}^{3+}$ -,  $\text{Er}^{3+}$ - és  $\text{Yb}(\text{DOTAM})^{3+}$  komplexek képződésének indikátor módszerrel meghatározott pszeudo-elsőrendű sebességi állandói ( $k_{obs}$ ,  $\text{s}^{-1}$ )  
 ([DOTAM]=  $3 \times 10^{-4}$  M, 1,0 M KCl, 25°C)

$\text{Ln}^{3+}$	pH	$10^3 \times k_{obs}$ ( $\text{s}^{-1}$ )	
		$6 \times 10^{-3}$ M	$1,0 \times 10^{-2}$ M
$\text{Gd}^{3+}$	5.01	0.58	1.11
	5.35	1.91	2.81
	5.46	3.45	6.99
	5.54	4.78	10.7
	5.68	9.55	22.5
$\text{Er}^{3+}$	5.20	0.13	0.26
	5.56	0.72	1.29
	5.71	1.77	2.63
	5.90	3.85	6.54
$\text{Yb}^{3+}$	5.19	0.15	0.25
	5.44	0.49	0.66
	5.54	1.22	1.98
	5.66	2.55	3.69

Az  $\text{Eu}(\text{DOTA-Gly})^-$  komplex disszociációjának kinetikai vizsgálatát szintén spektrofotometriásan 250 nm-en, 25 °C-on, 1,0 M ionerősség mellett ( a  $\text{HClO}_4$  és a  $\text{NaClO}_4$  koncentrációjának összege 1,0 M volt), 0,001 M  $\text{Eu}(\text{DOTA-Gly})^-$  koncentrációt alkalmazva, a 0,1-1,0 M  $[\text{H}^+]$  tartományban végeztük el.

Az adott OH<sup>-</sup>, fémion- és H<sup>+</sup>-koncentrációkhoz tartozó pszeudo-elsőrendű sebességi állandókat legalább 3 mérés átlagolásával kapott kinetikai görbék III.2.2, illetve a III.2.3 egyenletekkel (42. oldal) történő illesztésével, a SCIENTIST<sup>®</sup> program segítségével a legkisebb négyzetek elve alkalmazásával számítottuk.

#### V.7 A NOTA-Gly, DOTA-Gly, DOTAM és ODDA-Gly ligandumok és fémkomplexeik <sup>1</sup>H-NMR spektroszkópiás vizsgálata

A NOTA-Gly, DOTA-Gly és ODDA-Gly ligandumok és fémkomplexeik <sup>1</sup>H-NMR spektroszkópiás vizsgálatai D<sub>2</sub>O-val készült oldataikban Bruker Avance 360 spektrométerrel történtek. A minták hőmérsékletét Bruker VT-1000 hőmérsékletszabályozó egységgel tartottuk állandó értéken (298 K).

A ligandumok és fémkomplexeik koncentrációját 0,02-0,03 M között változtattuk és a fémkomplexeik vizsgálatakor 5%-os fémion-felesleget alkalmaztunk a szabad ligandum zavaró proton jeleinek elkerülése végett.

A DOTAM ligandum protoncsere-sebesség vizsgálatai során a méréseket 0,1 M-os H<sub>2</sub>O oldatban végeztük D<sub>2</sub>O-t tartalmazó kapilláris alkalmazása mellett.

A D<sub>2</sub>O-os minták pD értékeit cc. DCI- és 2 M NaOD-oldatokkal állítottuk be ( $pD = pH_{mért} + 0,4$ )<sup>173</sup>. A vizes oldatok pH értékeinek beállítása, a pH-mérő kalibrálása és a minták pH mérése a V.4 részben leírtak alapján történt.

A spektrumok kiértékelését a Bruker Winnmr<sup>®</sup> szoftvercsomaggal végeztük.

#### V.8 A Cu(HNOTA-Gly) komplex röntgendiffrakciós szerkezetvizsgálata

A Cu(HNOTA-Gly) komplex szilárd fázisú szerkezetét egykristályának röntgendiffrakciós vizsgálatával határoztuk meg. Üvegkapilláris tetejére epoxigyantával rögzített Cu(HNOTA-Gly)×4H<sub>2</sub>O kristály monokromatikus Mo K $\alpha$  sugárzással ( $\lambda = 0,71073 \text{ \AA}$ ) adott reflexióit 293 (1) K-en  $\omega$ -2 $\theta$  mozgatóval Euraf Nonius MACH3 diffraktométerrel gyűjtöttük. Abszorpciós korrekciót „psi

scan” módszerrel végeztük. A kristályszerkezetet SIR-92<sup>174</sup> program segítségével határoztuk meg és a legkisebb négyzetek módszerével SHELX-97<sup>175</sup> programmal finomítottuk. A H-atomok kivételével minden egyes atom helyzetét anizotrópikusan számítottuk. A H atomokat geometriai pozíciókba tettük. Néhány víz-hidrogénatom pozícióját a különbség elektron sűrűség térkép alapján határoztuk meg, míg a többi víz-hidrogénatom helyzetét a kialakuló erős H-kötés alapján állapítottuk meg. Végző finomítások során az O – H kötéstávolságot 0,85 Å közelében tartottuk, de a hidrogénatomok koordinátáit finomítottuk. A szerkezeti ábrákat WINGX-97<sup>176</sup> programmal készítettük.

## VI. ÖSSZEFOGLALÁS

A munkám során az acetyl-glicinát funkciós csoportot tartalmazó makrociklusos triaza, tetraaza és diaza-tetraoxa ligandumok és lantanoida(III)-, alkáliföldfém- és néhány átmentifém-ionnal képzett komplexeinek egyensúlyi és szerkezeti, valamint a lantanoida(III)-DOTA-tetraamid komplexek kinetikai tulajdonságait vizsgáltam. Ezek a vizsgálatok főként a ligandumok koordinációs kémiai viselkedésének felderítésére irányultak alapkutatási jelleggel, de esetleges orvosi vagy biológiai alkalmazásuk esetében, főleg MRI kontrasztanyagok fejlesztése során gyakorlati szempontból is érdekesek lehetnek. Vizsgálataink elvégzését indokolta, hogy az  $\text{Eu}(\text{DOTA-Gly})^-$  és a  $\text{Dy}(\text{DOTA-Gly})^-$ , valamint az  $\text{Eu}(\text{DOTAM})^{3+}$  komplexeket egy most fejlesztés alatt álló MRI technikában kontrasztnövelő anyagként alkalmazzák. Ugyanakkor a komplexek kémiai tulajdonságairól – melyek a felhasználás vonatkozásában fontosak – nagyon kevés ismeret áll rendelkezésre. Az elért új tudományos eredmények a következők:

A NOTA-Gly alkáliföldfém-, átmenetifém- és lantanoida(III)komplexeinek stabilitási állandói közelítőleg 3-4 nagyságrenddel kisebbek, mint az acetát analóg NOTA komplexeké. A komplexek stabilitásának csökkenését a koordinációban résztvevő töltés nélküli donoratomok (3 gyűrű amin-N és 3 amid-O) eredményezik, szemben a NOTA-val, ahol ezt a szerepet a 3 gyűrű amin-N és 3 karboxilát- $\text{O}^-$  tölti be. A NOTA-Gly ligandum egyensúlyi vizsgálatai során kiderült, hogy a ligandum a dipeptidekkel mutat rokonságot és a makrociklus gyűrű flexibilitásának köszönhetően  $\text{Cu}^{2+}$ -ionok jelenlétében a gyűrű amin-N-ek „horgony csoport” szerepet tölthetnek be, ami lehetővé teszi az egyik amid-NH-csoport deprotonálódását és koordinációját a  $\text{Cu}^{2+}$ -ionokhoz. Hasonló deprotonálódási folyamatot észleltünk a  $\text{Zn}^{2+}$ - és a  $\text{Cd}^{2+}$ -NOTA-Gly rendszerek pH-potenciometriás vizsgálatai során pH>8 esetén, amely feltételezhetően vegyes ligandumú hidroxokomplexek képződéséhez rendelhető. A viszonylag hosszabb és több

donoratomot tartalmazó acetyl-glicinát funkciós csoport a NOTA-Gly ligandum esetében kétmagvú komplexek képződésére nyújt lehetőséget, amelyek stabilitása a várakozásokkal ellentétben nem túl nagy. A Cu(HNOTA-Gly) komplex egykristályának ( $\text{Cu(HNOTA-Gly)} \times 4\text{H}_2\text{O}$ ) röntgendiffrakciós szerkezetvizsgálata rámutatott, hogy a fémionok koordinációjában torzult oktaédes elrendezésben a 3 gyűrű amin-N és 3 amid-O vesz részt, míg a karboxilátok az említett koordinációs üregtől viszonylag távol elhelyezkedve függetlenül protonálódhatnak.

A DOTA-Gly komplexek stabilitási állandója több nagyságrenddel kisebb, mint az acetát analóg DOTA komplexeké, amit a NOTA-Gly ligandumhoz hasonlóan a koordinációban résztvevő töltés nélküli donoratomok eredményeznek. A  $\text{Ln(DOTA-Gly)}^-$  komplexek stabilitási állandóinak a lantanoida sorozaton belül mutatott menete inkább a  $\text{Ln(DOTAM)}^{3+}$  komplexekhez hasonlít. A  $\text{Ln(DOTA-Gly)}^-$  komplexekben a 4 gyűrű amin-N és 4 amid-O vesz részt a fémionok koordinációjában a  $\text{Ln(DOTA)}^-$  komplexekhez hasonló szerkezetet kialakítva. A  $\text{Ln}^{3+}$ -ionok fennmaradó egy koordinációs helyét egy vízmolekula tölti be axiális pozícióban koordinálódva. Mivel a karboxilátok viszonylag távol helyezkednek el az említett donoratomok által határolt koordinációs kalitkától, így nem vesznek részt közvetlenül a fémionok koordinációjában, aminek köszönhetően függetlenül protonálódhatnak vagy koordinálódhatnak más fémionokhoz viszonylag kis stabilitású kétmagvú komplexeket kialakítva.

A  $\text{Gd(DOTA-Gly)}^-$  komplex relaxivitása lassú vízcseréjének köszönhetően főként külsőszférás folyamatok hozzájárulásaiból tevődik össze, amit a reaktivitás hőmérsékelt függésének vizsgálata is alátámasztott. A  $\text{Gd(DOTA-Gly)}^-$  relaxitásának pH-függéséből megállapítható, hogy a protonált karboxilátcsoportok protonjai savas tartományban, míg a belsőszférás vízmolekula protonok savas és lúgos tartományban katalizált protoncserében vesznek részt az oldószer vízmolekulákkal, amelyek szintén hozzájárulnak komplex teljes relaxitásához. A hőmérséklet növelése a relaxitást előbb csökkenti (10-25 °C),

majd növeli (25-50 °C). Utóbbi a koordinált víz cseresebessége növekedésének követelménye.

A  $Ce^{3+}$ - és a  $Eu(DOTA-Gly)^-$  komplexek képződése a  $pH=4,7-5,8$  tartományban a  $Ln(DOTA)^-$  komplexekéhez hasonlóan, de számottevően lassabban megy végbe. A reakció során egyszer és kétszer protonált köztitermék képződését tudtuk kimutatni, amelyek protonálódási egyensúlyban vannak egymással. A reakció sebességmeghatározó lépése az egyszer protonált köztitermék deprotonálódása és terméké váló átrendeződése, amiben főként a  $OH^-$  -ionok működnek közre katalizátorként.

A  $Ln(DOTA-Gly)^-$  komplexek disszociációja igen lassú folyamat. Az  $Eu(DOTA-Gly)^-$  komplex 0,1-1,0 M  $HClO_4$ -ban lejátszódó „spontán” disszociációja gyorsabban, míg protonkatalizált disszociációja lassabban játszódik le, mint az  $Eu(DOTA)^-$  megfelelő disszociációs folyamatai. Feltételezhetően az ilyen körülmények között képződő  $Eu(H_4DOTA-Gly)^{3+}$  komplexben a protonok gyorsabb áthelyeződése a karboxilátsoportokról a gyűrű amin-N-re eredményezi az  $Eu(DOTA-Gly)^-$  komplex gyorsabb spontán disszociációját.

A DOTAM és DOTA-Gly ligandumok hasonló egyensúlyi a komplexképző tulajdonságaik ellenére a  $Ln(DOTAM)^{3+}$  komplexek képződése eltérő módon, köztitermék kialakulása nélkül, a fémion és a teljesen deprotonált ligandum találkozásával játszódik le másodrendű reakcióban, amit a ligandum viszonylag lassú protoncsere folyamatai nem befolyásolnak.

Az ODDA-Gly komplexek stabilitási állandói a NOTA-Gly és a DOTA-Gly komplexekéhez hasonlóan több nagyságrenddel kisebbek, mint az acetát analóg ODDA komplexeké és a  $Sr^{2+}$ -ionokra vonatkozó  $Ca^{2+}$ -ionnal szemben az ODDA-bisz(malonát) esetében tapasztalt szelektivitás elmarad. A két pozitív töltésű fémionok koordinációjában a gyűrű amin-N-ek és az amid-O-ek vesznek részt, míg a karboxilátok közvetlen koordinációja viszonylag távoli elhelyezkedésük miatt meglehetősen nehéz. A nagyobb méretű fémionok, így az  $Pb^{2+}$ - és a  $Ln^{3+}$ -ionok esetében valószínűleg az amid-O-ek gyengébb koordinációja

miatt a makrociklusos gyűrű-O-ek is közreműködnek a fémionok koordinációjában, ami a ligandum  $Pb^{2+}$ -és  $Ln^{3+}$ -ionokkal szemben mutatott méretszelektivitását eredményezi. A lantanoida(III)komplexek stabilitási állandói a La-tól a Nd-ig kicsit növekednek, majd a sorozatban továbbhaladva az ion méret csökkenésével határozottan csökkennek, ami éppen fordított irányú változás a nyíltláncú amino-karboxilátok esetében (pl. EDTA) tapasztaltakkal. Az ODDA-Gly ligandum dipeptidszerű viselkedésére utal, hogy a NOTA-Gly ligandumhoz hasonlóan a  $Cu^{2+}$ -ionok jelenlétében bekövetkezik az amid-NH-csoportok deprotonálódása és koordinációja, amit a gyűrű flexibilisebb szerkezetének köszönhetően a „horgony csoport” szerepet betöltő gyűrű amin-N-ek tesznek lehetővé. Az 1:1 fém-ligandum arányú rendszerben a  $pH > 7$  esetében bekövetkező  $Cu_2LH_3$  összetételű vegyes ligandumu  $OH^-$  hidas kétmagvú komplex spontán képződése és kitüntetetten nagy stabilitása nagyon figyelemre méltó eredmény, mivel korábban hasonló jelenséget nem tapasztaltak. A  $Cu_2LH_3$  összetételű kétmagvú komplexben feltételezhetően a két gyűrű amin-N, két amid- $N^-$ , két karboxilát- $O^-$ , a gyűrű-O-ek és egy híd helyzetű  $OH^-$  -ion vesz részt a  $Cu^{2+}$ -ionok koordinációjában. A  $Cu_2LH_3$  összetételű komplexben az Cu(II)-ion mágneses momentuma 1,16 B.M., a kapott ESR jel intenzitása csak mintegy 2-3%-a az egymagvú CuL komplex esetében tapasztaltak, amelyek jelzik a két Cu(II)-ion közötti, az  $OH^-$ -híd közvetítésével kialakuló antiferromágneses kölcsönhatást.

## VII. SUMMARY

In this work we studied the complexation properties of the 9-membered triaza, 12-membered tetraaza and 18-membered diaza-tetraoxa macrocyclic ligands, containing pendant acetyl-glycinate functional groups. The equilibrium and structural properties of complexes formed between the ligands and some alkaline earth, transition metal and lanthanide(III) ions were studied by pH-potentiometry and NMR spectroscopy. The kinetics of formation and dissociation reactions of some lanthanide(III) complexes formed with the tetraaza-tetraamide derivative ligands was also investigated. The results of the work may have some interest for coordination chemistry, for basic research, but some aspects of the work can be valuable for the possible biological use of some lanthanide(III) complexes.

The stability constants of the complexes of NOTA-Gly, DOTA-Gly and ODDA-Gly formed with some alkaline earth, transition metal and lanthanide(III) ions are significantly lower than those of the analogous NOTA, DOTA and ODDA complexes. The large differences in the stability constants are probably the result of the differences in the quality of the coordinated donor atoms. In the complexes of NOTA-Gly, DOTA-Gly and ODDA-Gly all the coordinated donor atoms – the ring nitrogens and amide oxygens – are neutral, while in the complexes of NOTA, DOTA and ODDA, beside the ring nitrogens, three, four and two carboxylate O<sup>-</sup> oxygens are coordinated, respectively. The carboxylate groups of the NOTA-Gly, DOTA-Gly and ODDA-Gly are far from the coordination sites and so they can be protonated or can be coordinated to an other metal ion with the formation of dinuclear complexes. In the lower stability constants of the amide derivative complexes the lower basicities of the ring nitrogens also play an important role which is the result of the electronwithdrawing effect of the amide groups.

The stability constants of the lanthanide complexes of NOTA-Gly and DOTA-Gly increase from La<sup>3+</sup> to the middle of the series and slightly decrease

with the further decrease of the ionic size. This trend indicates that the most favourable match of the  $\text{Ln}^{3+}$  ions into the coordination cage, formed by the ring N and amide O donor atoms, occurs for the medium size  $\text{Ln}^{3+}$  ions. The  $\log K_{\text{ML}}$  values of the  $\text{Ln}(\text{ODDA-Gly})^+$  complexes are higher for the ions of larger size and slightly increase from the  $\text{La}^{3+}$  to  $\text{Nd}^{3+}$ , then definitely decrease with lowering ionic size. The trend of the  $\log K_{\text{ML}}$  values indicates that the ring oxygens also participate in the complexation and the best "size match" of the ring and  $\text{Ln}^{3+}$  ion is at the  $\text{Nd}^{3+}$ . The ligand ODDA-Gly has a high size selectivity for the  $\text{Pb}^{2+}$  over  $\text{Zn}^{2+}$ , since the stability constant of  $\text{Zn}(\text{ODDA-Gly})$  is very low. However, in contrast to the ligand ODDAM, which show a selectivity for  $\text{Sr}^{2+}$  over  $\text{Ca}^{2+}$ , the stability constants of the  $\text{Ca}^{2+}$  and  $\text{Sr}^{2+}$  complexes of ODDA-Gly are similar.

The solid state structure of the protonated complex  $\text{Cu}(\text{HNOTA-Gly}) \times 4\text{H}_2\text{O}$  is distorted octahedral, as it was found by single crystal X-ray diffraction studies. The ligand is coordinated with three ring N and three amide O to the Cu(II) and one of the carboxylate groups is protonated.

The N-acetylglycinate functional groups may behave like diglycinate groups in the Cu(II) complexes formed with the flexible NOTA-Gly and ODDA-Gly. In these complexes the amide NH hydrogens dissociate at higher pH values and instead of the amide O, the amide  $\text{N}^-$  is coordinated to the  $\text{Cu}^{2+}$ , when the ring nitrogens play the role of the "anchor" atom. The coordination of the amide  $\text{N}^-$  has been detected by the changes in the visible spectra of the Cu(II) complexes. The behaviour of the complex  $\text{Cu}(\text{ODDA-Gly})$  is very unique, since parallel with the dissociation of the amide hydrogens a dinuclear complex  $\text{Cu}_2\text{LH}_3$  is spontaneously formed with the release of a half equivalent of the ligand, in which presumably an  $\text{OH}^-$  group is in bridging position between the two  $\text{Cu}^{2+}$ . The  $\text{OH}^-$  bridge probably has an important role in the formation of the antiferromagnetic interaction between the two  $\text{Cu}^{2+}$  in the  $\text{Cu}_2\text{LH}_3$  complex. The partial diamagnetic properties of the complex  $\text{Cu}_2\text{LH}_3$  resulted in by the spin-spin coupling between the two  $\text{Cu}^{2+}$  ion, which have been indicated by the relatively low magnetic susceptibility value

( $\mu_{eff}/Cu = 1,16$  B.M.) and the  $^1\text{H-NMR}$  spectrum of the complex can also be recorded.

The relaxivity of  $\text{Gd}(\text{DOTA-Gly})^-$  is very low at room temperature since it is determined by the outer sphere relaxivity because of the slow exchange of the coordinated water molecule. The increase of temperature between  $10\text{ }^\circ\text{C}$  and  $25\text{ }^\circ\text{C}$  results in a decrease of the outer sphere relaxivity but above  $25\text{ }^\circ\text{C}$  the rise of temperature leads to the increase of the relaxivity because of the growing exchange rate of the inner sphere water molecule. The pH dependance of the relaxivities indicates the contribution of the  $\text{H}^+$  and  $\text{OH}^-$  catalyzed proton exchange at lower ( $\text{pH} < 5$ ) and higher pH values ( $\text{pH} > 9$ ), respectively.

The  $^1\text{H-NMR}$  spectra of the complex  $\text{Zn}(\text{NOTA-Gly})^-$  indicate that the protonation of the complex occurs at the carboxylate groups, which has practically no influence on the coordination of the ring nitrogens and amide oxygens.

The pH dependence of the  $^1\text{H-NMR}$  spectra of the  $\text{DOTA-Gly}$  shows that in the monoprotonated ligand the proton exchange is slow in the NMR time-scale. The  $^1\text{H-NMR}$  spectra of the  $\text{La}(\text{DOTA-Gly})^-$  indicate the coordination of the four amine nitrogens and amide oxygens and also the formation of H-bond between the amide hydrogen and carboxylate oxygen atom. The protonation of the complex occurs at the carboxylate groups.

The complex  $\text{Eu}(\text{DOTA-Gly})^-$  slowly dissociates in  $0.1 - 1.0\text{ M HCl}$  solution. The dissociation of the predominating species  $\text{Eu}(\text{H}_4\text{DOTA-Gly})^{3+}$  occurs via spontaneous and proton assisted pathways. The proton assisted dissociation is slower than that of  $\text{Eu}(\text{DOTA})^-$  but the spontaneous dissociation in acidic solution occurs faster. However, the dissociation of  $\text{Eu}(\text{DOTA-Gly})^-$  under physiological condition is extremely slow and the complex is a potential contrast agent in CEST investigations.

The kinetics of formation of the complex of  $\text{Ln}(\text{DOTA-Gly})^-$  is very similar to those of  $\text{Ln}(\text{DOTA})^-$ . The reactions take place via the fast formation of mono- and diprotonated intermediates, in which the carboxylate groups are

coordinated to the  $\text{Ln}^{3+}$  ion which is outside of the coordination cage. The rate determining step is the loss of the last proton and the rearrangement of the intermediate. The loss of the proton occurs mainly with the assistance of  $\text{OH}^-$  ions.

The kinetics of formation of the lanthanide complexes with the ligand DOTAM, which does not contain charged functional groups, differs considerably from that of  $\text{Ln}(\text{DOTA-Gly})^-$  or  $\text{Ln}(\text{DOTA})^-$ . In these reactions the formation of intermediates can not be detected. The formation reaction occurs with the direct encounter of the  $\text{Ln}^{3+}$  ion and the deprotonated ligand in a second order process. The formation reactions are very slow in the pH range 4 – 6 because of the very low concentration of the deprotonated ligand species. The second order rate constants show a maximum curve in the lanthanide series, indicating that the rate of water exchange has some role in the formation reactions.

---

**VIII. SOMMARIO**

In questo lavoro sono state studiate le proprietà coordinanti di diversi leganti macrociclici contenenti il gruppo acetil-glicinico nei confronti di alcuni metalli alcalini, metalli di transizione e ioni lantanoidei. Le proprietà termodinamiche, cinetiche e strutturali dei complessi con macrocicli a 9 (triaza), 12 (tetraaza) e 18 (diaza-tetraoxy) membri, sono state investigate attraverso misure potenziometriche e indagini NMR.

I risultati ottenuti sono di interesse sia nella chimica di coordinazione che nella ricerca di base, ma alcuni aspetti di questo lavoro riguardano il potenziale utilizzo in ambito biomedico di alcuni complessi lantanoidei.

Le costanti di stabilità che i leganti NOTA-Gly, DOTA-Gly e ODDA-Gly formano con alcuni metalli alcalini, metalli di transizioni e ioni lantanoidei, sono sensibilmente inferiori rispetto a quelli misurate per gli analoghi leganti non funzionalizzati NOTA, DOTA e ODDA. Tale differenza è probabilmente il risultato della diversa capacità coordinante degli atomi donatori tra le due serie di leganti. Nei leganti funzionalizzati tutti gli atomi donatori, azoti macrociclici e ossigeni dei gruppi ammidici, sono neutri, mentre i leganti di riferimento NOTA, DOTA e ODDA, oltre agli azoti macrociclici, presentano rispettivamente tre, quattro e due ossigeni di gruppi carbossilato. Anche i leganti funzionalizzati contengono gruppi carbossilici deprotonati a pH fisiologico, ma la loro posizione è troppo lontana dalla gabbia di coordinazione ed il loro comportamento non è pertanto sostanzialmente modificato dalla complessazione. Ad esempio, possono essere protonati e possono essere liberi di coordinare altri ioni metallici formando complessi di nucleari. La diminuita stabilità dei complessi dei leganti funzionalizzati è anche il risultato della ridotta basicità degli azoti macrociclici causata dall'effetto elettronattrattore dei gruppi ammidici.

Le costanti di stabilità dei complessi lantanoidei dei leganti NOTA-Gly e DOTA-Gly aumenta dal  $\text{La}^{3+}$  verso il centro della serie e poi diminuisce

leggermente mano a mano che le dimensioni ioniche diminuiscono. Per questo motivo gli ioni che si coordinano più stabilmente con questi leganti sono quelli con dimensioni intermedie.

I valori di  $\log K_{ML}$  per i complessi Ln(ODDA-Gly) sono più elevati per gli ioni di dimensioni maggiori, aumentando leggermente dal  $La^{3+}$  al  $Nd^{3+}$ , per poi diminuire nel resto della serie. La tendenza dei valori di  $\log K_{ML}$  indica che anche gli ossigeni del macrociclo partecipano alla coordinazione e le dimensioni del  $Nd^{3+}$  sono quelle che meglio si adattano alla coordinazione. Il legante ODDA-Gly mostra un'elevata selettività per il  $Pb^{2+}$  rispetto allo  $Zn^{2+}$ , poichè la costante di stabilità di Zn(ODDA-Gly) è molto bassa. Comunque, a differenza del legante ODDAM che è selettivo per lo  $Sr^{2+}$  rispetto al  $Ca^{2+}$ , le costanti di stabilità dei complessi di  $Ca^{2+}$  e  $Sr^{2+}$  del legante ODDA-Gly sono simili.

La struttura allo stato solido del complesso protonato  $Cu(HNOTA-Gly) \times 4H_2O$  corrisponde ad un ottaedro distorto, come ottenuto da studi di diffrazione a raggi X su singolo cristallo. Il legante coordina il metallo impiegando i tre azoti macrociclici ed i tre ossigeni ammidici e solo uno dei gruppi carbossilici risulta protonato. Il gruppo funzionale N-acetil-glicinato può comportarsi come i gruppi diglicinato nei complessi di Cu(II) formati con i leganti flessibili NOTA-Gly e ODDA-Gly. In questi complessi gli idrogeni dei gruppi ammidici si dissociano a pH elevati e, a seguito della deprotonazione, l'azoto ammidico coordina il metallo di preferenza rispetto all'atomo di ossigeno.

La coordinazione dell'azoto ammidico deprotonato è stata rilevata analizzando gli spettri visibili dei complessi di Cu(II) in funzione del pH. Il comportamento del complesso Cu(ODDA-Gly) è del tutto peculiare, poichè simultaneamente alla deprotonazione dell'azoto ammidico si forma spontaneamente in soluzione il complesso dinucleare  $Cu_2LH_3$  con il conseguente rilascio della metà degli equivalenti di legante presente originariamente. E' presumibile che in questo complesso un gruppo OH possa trovarsi a ponte tra i due centri metallici. Il ponte OH probabilmente gioca un ruolo rilevante nel

promuovere l'interazione antiferromagnetica tra i due ioni  $\text{Cu}^{2+}$  nel complesso  $\text{Cu}_2\text{LH}_3$ . Il parziale diamagnetismo del complesso  $\text{Cu}_2\text{LH}_3$ , legato all'accoppiamento spin-spin tra i due centri metallici, è indicato dalla relativamente bassa suscettività magnetica ( $\mu_{\text{eff}}/\text{Cu} = 1,16$  B.M.) ed è confermato dall'analisi degli spettri  $^1\text{H-NMR}$  del complesso.

La rilassività del complesso  $\text{Gd}(\text{DOTA-Gly})$  è molto bassa a temperatura ambiente ed è governata dal solo contributo di sfera esterna, indicando che la velocità di scambio molecola di acqua coordinata al centro metallico è troppo lenta per poter contribuire al rilassamento dei protoni dell'acqua della soluzione. Aumentando la temperatura da  $10\text{ }^\circ\text{C}$  a  $25\text{ }^\circ\text{C}$  si osserva una diminuzione della rilassività a causa della ridotta efficienza del contributo di sfera esterna, ma continuando ad aumentare la temperatura la rilassività inizia ad aumentare a causa della catalisi dello scambio della molecola di acqua coordinata al  $\text{Gd}(\text{III})$ . La dipendenza della rilassività dal pH suggerisce un contributo alla rilassività causato dalla catalisi acida (a  $\text{pH} < 5$ ) e basica (a  $\text{pH} > 9$ ) dello scambio dei protoni dell'acqua coordinata.

Lo spettro  $^1\text{H-NMR}$  del complesso  $\text{Zn}(\text{NOTA-Gly})$  indica che la protonazione del complesso interessa il gruppo carbossilico e non influenza la gabbia di coordinazione del complesso.

La dipendenza dal pH degli spettri  $^1\text{H-NMR}$  del legante  $\text{DOTA-Gly}$  suggerisce che nel legante monoprotonato lo scambio protonico è lento sulla scala dei tempi NMR.

Gli spettri del complesso  $\text{La}(\text{DOTA-Gly})$  indicano non solo che il metallo è coordinato dai quattro azoti del macrociclo e dai quattro atomi di ossigeno ammidici, ma evidenziano anche la formazione di un legame ad idrogeno tra il protone ammidico e l'atomo di ossigeno del gruppo carbossilico. La protonazione del complesso avviene a livello del gruppo carbossilico.

Il complesso  $\text{Eu}(\text{DOTA-Gly})$  dissocia lentamente in soluzioni  $0.1\text{-}1.0$  M di  $\text{HCl}$ . La dissociazione della specie predominante  $\text{Eu}(\text{H}_4\text{DOTA-Gly})$  avviene

attraverso meccanismi spontanei ed assistiti dai protoni. Quest ultimo meccanismo è più lento rispetto a quanto osservato per Eu(DOTA), mentre la dissociazione spontanea avviene più velocemente.

In ogni caso, la dissociazione del complesso Eu(DOTA-Gly) in condizioni fisiologiche è estremamente lenta ed il complesso è potenzialmente utilizzabile come agente di contrasto CEST.

La cinetica di formazione dei complessi Ln(DOTAM-Gly) è molto simile a quella osservata per Ln(DOTA). Le reazioni avvengono attraverso la formazione rapida di intermedi mono- e di-protonati, nei quali i gruppi carbossilati sono coordinati allo ione Ln<sup>3+</sup> non ancora coordinato agli azoti del macrociclo.

Il processo che controlla la velocità di reazione è la perdita dell'ultimo protone con il conseguente riarrangiamento dell'intermedio. La perdita del protone avviene principalmente attraverso l'assistenza degli ioni OH<sup>-</sup>.

La cinetica di formazione dei complessi di ioni lantanoidei con il legante DOTAM, che non contiene gruppi funzionali cariche, è molto diversa da quella dei corrispondenti complessi con i leganti DOTA-Gly e DOTA. In questo caso, la formazione degli intermedi non può essere rivelata. La reazione di formazione avviene a seguito del contatto tra lo ione metallico ed il legante deprotonato attraverso un processo del secondo ordine. Le reazioni di formazione sono molto lente nell'intervallo di pH 4-6 a causa della bassissima concentrazione del legante nella sua forma deprotonata. La costante di velocità del secondo ordine mostra un massimo lungo la serie dei lantanidi, indicando che la velocità di scambio dell'acqua influenza la cinetica della reazione di formazione del complesso.

## IX. IRODALMJEGYZÉK

- <sup>1</sup> B. Weaver, in *Ion Exchange and Solvent Extraction*, J. A. Marinsky and Y. Marcus, eds., Vol. 6, Chap. 4, New York: Marcel Dekker Inc., **1974**.
- <sup>2</sup> J.-C. G. Bünzli, G. R. Choppin, eds., *Lanthanide Probes in Life*, Chemical and Earth Sciences: Theory and Practice. Elsevier, Amsterdam, **1989**.
- <sup>3</sup> D. Parker, A. A. G. Williams, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, **1996**, 3613.
- <sup>4</sup> F. S. Richardson, *Chem. Rev.*, **1982**, 82, 541.
- <sup>5</sup> E. Nieboer: *Structure and Bonding*, **1975**, 22, 1.
- <sup>6</sup> J. Reuben: *Prog. NMR Spectroscopy*, **1973**, 9, 1.
- <sup>7</sup> J. A. Peters, J. Huskens, D. J. Raber: *Prog. NMR Spectroscopy*, **1996**, 28, 283.
- <sup>8</sup> É. Tóth, L. Helm and A. E. Merbach, In *The Chemistry of Contrast Agents in Medical Magnetic Resonance Imaging*, É. Tóth and A. E. Merbach, eds., Chichester: John Wiley & Sons, **2001**.
- <sup>9</sup> R. B. Lauffer: *Chem. Rev.*, **1987**, 87, 901.
- <sup>10</sup> I. Hemmilä: *Applications of Fluorescence in Immunoassays*, N. Y. Wiley, **1991**.
- <sup>11</sup> D. Parker: *Chem. Soc. Rev.* **1990**, 19, 271.
- <sup>12</sup> N. V. Jarvis, J. M. Wagener, G. E. Jackson, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, **1995**, 1411.
- <sup>13</sup> W. K. A. Louw, I. C. Dormehl, A. J. Van Rensburg, N. Hugo, A. S. Alberts, O. E. Forsyth et al., *Nuclear Medicine and Biology*, **1996**, 23, 935.
- <sup>14</sup> Wynn A. Volker and Timothy J. Hoffman, *Chem. Rev.*, **1999**, 99, 2269.
- <sup>15</sup> A. Matsumara, T. Zhang, T. Yamamoto, et al., *Anticancer Research*, **2003**, 23(3B), 2451.
- <sup>16</sup> H. Kobayashi, S. Kawamoto, T. Saga, N. Sato, T. Ishimori, J. Konishi, K. Ono, K. Togashi, M. W. Brechbiel, *Bioconjugate Chem.*, **2001**, 12, 587.
- <sup>17</sup> F. Shikata, H. Tokumitsu, H. Ichikawa, Y. Fukumori, *Eur. J. Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, **2002**, 53, 57.

- <sup>18</sup> P. Caravan, J. J. Ellison, T. J. McMurry, R. B. Lauffer, *Chem. Rev.* **1999**, *99*, 2293.
- <sup>19</sup> K. Micskei, L. Helm, E. Brücher, A. E. Merbach, *Inorg. Chem.* **1993**, *32*, 3844.
- <sup>20</sup> S. Aime, A. Barge, M. Botta, D. Parker, A. S. DeSousa, *J. Amer. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 4767.
- <sup>21</sup> S. Aime, A. Barge, A. S. Batsanov, M. Botta, D. D. Castelli, F. Fedeli, A. Mortillaro, D. Parker, H. Puschmann, *Chem. Commun.* **2002**, 1120.
- <sup>22</sup> S. Zhang, K. Wu, A. D. Sherry, *J. Amer. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 4226.
- <sup>23</sup> S. Zhang, P. Winter, K. Wu, A. D. Sherry, *J. Amer. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 1517.
- <sup>24</sup> S. Zhang, L. Michaudet, S. Burgess, A. D. Sherry, *Angew. Chem., Int. Ed.* **2002**, *41*, 1919.
- <sup>25</sup> S. Aime, D. D. Castelli, E. Terreno, *Angew. Chem., Int. Ed.* **2002**, *41*, 4334.
- <sup>26</sup> S. Aime, A. Barge, D. D. Castelli, F. Fedeli, A. Mortillaro, F. U. Nielsen, E. Terreno, *Magn. Reson. Med.* **2002**, *47*, 639.
- <sup>27</sup> S. Zhang, M. Merrit, D. E. Woessner, R. E. Lenkinski, A. D. Sherry, *Acc. Chem. Res.* **2003**, *36*, 783.
- <sup>28</sup> R. A. Bulman, "The Chemistry of Chelating Agents in Medical Sciences", in Structure and Bonding, M. J. Clarke, J. B. Goodenough, et al., eds., **1987**, *67*, 93.
- <sup>29</sup> E. Brücher, B. Györi, J. Emri, S. Jakob, Z. Kovács, P. Solymosi, I. Tóth, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, **1995**, 3353.
- <sup>30</sup> Szilágyi Erika: *Nyíltláncú és makrociklusos poliaza-polikarboxilát ligandumok lantanida(III) komplexeinek képződési kinetikája és egyensúlyi sajátosságai.* Doktori értekezés, Debrecen, **1999**.
- <sup>31</sup> R.D. Shannon: *Acta Cryst.*, **1976**, *A32*, 751.
- <sup>32</sup> L. Helmoltz: *J. Am. Chem. Soc.*, **1939**, *61*, 1544.
- <sup>33</sup> W. deW. Horrocks, Jr., R. Sudnick, *J. Am. Chem. Soc.*, **1979**, *101*,
- <sup>34</sup> a, L. Helm, A. E. Merbach, *Eur. J. Solid State Inorg. Chem.*, **1991**, *28*, 245.  
b, H. Habenschuss, F. H. Spedding, *J. Chem. Phys.*, **1980**, *73*, 442.

- c, A. I. Ryss, M. K. Lesocitskaya, I. M. Shapovalov, *Chem. Abst.*, **1978**, 89, 95116.
- d, T. Yamaguchi, S. Tanaka, H. Wakita, M. Misawa, I. Okada, A. K. Soper, S. W. Howells, *Z. Naturforsch.*, **1991**, A46, 84.
- e, G. Johansson, L. Ninitso, H. Wakita, *Acta Chem. Scand.*, **1985**, A39, 359.
- <sup>35</sup> Y. Yamaguchi, M. Nomura, H. Wakita, H. Ohtaki, *J. Chem. Phys.*, **1988**, 89, 5153.
- <sup>36</sup> R. D. Peacock: *Structure and Bonding*, **1975**, 22, 83.
- <sup>37</sup> J. H. Forsberg, *NMR studies of Paramagnetic Lanthanide Complexes and Shift Reagents*. In K. A. Gschneider, Jr. and L. Eyring, eds., *Handbook on the Physics and Chemistry of Rare Earth*, Vol. 23, Amsterdam, Elsevier, **1996**.
- <sup>38</sup> J.H. Forsberg, R. M. Delaney, Q. Zhao, G. Harakas, R. Chaudran, *Inorg. Chem.*, **1995**, 34, 3705.
- <sup>39</sup> T. Moller, D. F. Martin, L. C. Thompson, R. Ferrus, G. Feistel, W. J. Randall, *Chem. Rev.*, **1965**, 65, 1.
- <sup>40</sup> O. Carugo, C. B. Castellani, *Inorg. Chim. Acta*, **1992**, 191, 115.
- <sup>41</sup> C. A. Chang, M. E. Rowland, *Inorg. Chem.*, **1983**, 22, 3866.
- <sup>42</sup> C. A. Chang, V. E. Ochaya, *Inorg. Chem.*, **1986**, 25, 355.
- <sup>43</sup> Zuborné Solymosi Piroska: *Nyílt láncú és makrociklusos poliaza-polikarboxilátok komplexképző sajátosságai*. Doktori értekezés, Debrecen, **1994**.
- <sup>44</sup> a, D. Fay, D. Litchinski, N. Purdie, *J. Phys. Chem.*, **1969**, 73, 544.  
b, V. L. Garza, N. Purdie, *J. Phys. Chem.*, **1970**, 74, 275.
- <sup>45</sup> M. Eigen, K. Tamm, *Z. Electrochem.*, **1962**, 66, 107.
- <sup>46</sup> S. F. Lincoln, *Adv. Inorg. Bioinorg. Mech.*, **1986**, 4, 217.
- <sup>47</sup> C. Cossy, L. Helm, A. E. Merbach, *Inorg. Chem.*, **1988**, 27, 1973.
- <sup>48</sup> G. A. Nyssen, D. W. Margerum, *Inorg. Chem.*, **1970**, 9, 1814.
- <sup>49</sup> É. Tóth, E. Brücher, I. Lázár, I. Tóth, *Inorg. Chem.*, **1994**, 33, 4070.
- <sup>50</sup> S. L. Wu, W. deW. Horrocks, Jr., *Inorg. Chem.*, **1995**, 34, 3724.
- <sup>51</sup> E. Brücher, G. Laurency, *J. Inorg. Nucl. Chem.*, **1981**, 43, 2089.

- <sup>52</sup> E. Brücher, A. D. Sherry, *Inorg. Chem.*, **1990**, *29*, 1555.
- <sup>53</sup> K. Kumar, T. Jin, X. Wang, J. F. Desreux, M. F. Tweedle, *Inorg. Chem.*, **1994**, *33*, 3823.
- <sup>54</sup> P. K. Pulukkody, T. J. Norman, D. Parker, L. Royle, C. J. Broan, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2*, **1993**, 605.
- <sup>55</sup> E. Brücher, I. Bányai, *J. Inorg. Nucl. Chem.*, **1980**, *42*, 749.
- <sup>56</sup> G. F. Smith, D. W. Margerum, *Inorg. Chem.*, **1969**, *8*, 135.
- <sup>57</sup> L. Sarka, L. Burai, E. Brücher, *Chem. Eur. J.*, **2000**, *6*, 719.
- <sup>58</sup> V. Jacques, J. F. Desreux, *New Classes of MRI Contrast Agents*. In: W. Krause, eds., *Topics in Current Chemistry*, Vol. 221: *Contrast Agents I. Magnetic Resonance Imaging*, Berlin: Springer-Verlag, **2002**.
- <sup>59</sup> P. C. Lauterbur, *Nature (London), New Biol.*, **1973**, *242*, 190.
- <sup>60</sup> P. C. Lauterbur, M. H. Mendoca Dias, A. M. Rudin. In *Frontier of Biological Energetics*, P. L. Dutton, L. S. Leigh, A. Scarpa, eds., New York: Academic P., **1978**
- <sup>61</sup> K. M. Ward, A. H. Aletas, R. S. Balaban, *J. Magn. Reson.* **2000**, *143*, 79.
- <sup>62</sup> H. J. Weinmann, R. C. Brasch, W. R. Press, G. E. Webey, *Am. J. Roentgenol.*, **1984**, *142*, 619.
- <sup>63</sup> H. Gries, H. Miklautz, *Physiol. Chem. Phys. Med. NMR*, **1984**, *16*, 105.
- <sup>64</sup> J. Desreux, P. P. Barthélemy, *Nucl. Med Biol.*, **1988**, *15*, 9.
- <sup>65</sup> a, E. N. Rizkalla, G. R. Choppin, *Inorg. Chem.*, **1993**, *32*, 582.  
b, W. P. Cacheris, S. C. Quay, S. M. Rocklage, *Mag. Reson. Imaging*, **1990**, *8*, 467.
- <sup>66</sup> K. Kumar, C. A. Chang, M. F. Tweedle, *Inorg. Chem.*, **1993**, *32*, 587.
- <sup>67</sup> F. Uggerli, S. Aime, P. L. Anelli, M. Botta, M. Brochetta, C. de Haen, G. Ermondi, M. Grandi, P. Paoli, *Inorg. Chem.*, **1995**, *34*, 633.
- <sup>68</sup> H. Schmitt-Willich, M. Brehm, C. L. J. Evers, G. Michl, A. Müller-Fahrnow, O. Petrov, J. Platzek, B. Radüchel, D. Sülzle, *Inorg. Chem.*, **1999**, *38*, 1134.
- <sup>69</sup> I. K. Adzamlı, H. Gries, D. Johnson, M. Blau, *J. Med. Chem.*, **1989**, *32*, 139.

- <sup>70</sup> T. Bach-Gensamo, *Acta Radiol.*, **1993**, 387, 1.
- <sup>71</sup> P. Reimer, Tombach, *Eur. Radiol.*, **1998**, 8, 1198.
- <sup>72</sup> S. Grubnic, A. R. Padhani, P. B. Revell, J. E. Husband, *Am. J. Roentgenol.*, **1999**, 173, 173.
- <sup>73</sup> Yi-Xang, J. Wang, S. M. Hussain, G. P. Krestin, *Eur. Radiol.*, **2001**, 11, 2319.
- <sup>74</sup> E. G. Janzen, R. A. Towner, *Aminoxy Radicals as MRI Contrast Agents*, In Bioact. Spin Labels, R. I. Zhadov ed., Springer, Berlin, **1992**.
- <sup>75</sup> M. C. Krishna, W. DeGraff, O. H. Hankowszky, C. P. Sár, T. Kállai, J. Jekő, A. Russo, J. B. Mitchell, K. Hideg, *J. Med. Chem.*, **1998**, 41, 3477.
- <sup>76</sup> S. Forsén, R. A. Hoffman, *J. Chem. Phys.*, **1963**, 39, 2892.
- <sup>77</sup> R. A. Dwek, *Nuclear Magnetic Resonance (N.M.R.) in Biochemistry*, London, Oxford Univ. Press, **1973**.
- <sup>78</sup> E. I. Goldenthal, *Toxicol. App. Pharmacol.* **1971**, 18, 185.
- <sup>79</sup> S. D. Wolff, R. S. Balaban, *J. Magn. Reson.*, **1990**, 86, 164.
- <sup>80</sup> K. M. Ward, S. R. Balaban, *Magn. Res. Med.*, **2000**, 44, 799.
- <sup>81</sup> S. Aime, A. Barge, J. I. Bruce, M. Botta, J. A. K. Howard, J. M. Moloney, D. Parker, A. S. De Sousa, M. Woods, *J. Am. Chem. Soc.*, **1999**, 121, 5762.
- <sup>82</sup> F. A. Dunand, S. Aime, A. E. Merbach, *J. Am. Chem. Soc.*, **2000**, 122, 1506.
- <sup>83</sup> S. Zhang, K. Wu, M. C. Biewer, A. D. Sherry, *Inorg. Chem.* **2001**, 40, 4284.
- <sup>84</sup> S. Aime, M. Botta, M. Fasano, M. P. M. Marques, C. F. G. C. Geraldés, D. Pubanz, A. E. Merbach, *Inorg. Chem.*, **1997**, 36, 2059.
- <sup>85</sup> E. Terreno, D. D. Castelli, G. Cravatto, L. Milone, S. Aime, *Invest. Radiology*, **2004**, 39, 1.
- <sup>86</sup> S. Aime, M. Botta, S. G. Crich, G. B. Giovenzana, R. Pagliarin, M. Piccinini, M. Sisti, E. Terreno, *J. Biol. Inorg. Chem.*, **1997**, 2, 470.
- <sup>87</sup> Z. Luz, S. Meiboom, *J. Chem. Phys.*, **1964**, 40, 1058.
- <sup>88</sup> R. A. Dwek, R. J. P. Williams, A. V. Xavier: Application of Paramagnetic Probes in Biochemical Chemistry. In: *Metal Ions in Biological Systems*, Vol. 4., A. Sigel, H. Sigel, eds., New York: Marcel Dekker Inc, **1974**.

- <sup>89</sup> L. Hwang, J. H. Freed, *J. Chem. Phys.*, **1975**, *63*, 4017.
- <sup>90</sup> J. H. Freed, *J. Chem. Phys.*, **1978**, *69*, 4034.
- <sup>91</sup> J. W. Chen, R. L. Belford, R. B. Clarkson, *J. Phys. Chem. A.*, **1998**, *102*, 2117.
- <sup>92</sup> a, R. Shukla, M. Fernandez, R. K. Pillai, R. Ranganathan, P. C. Ratsep, X. Zhang, M. F. Tweedle, *Mag. Reson. Med.*, **1996**, *35*, 928.  
b, É. Tóth, S. Vauthey, D. Pubanz, A. E. Merbach, *Inorg. Chem.*, **1996**, *35*, 3375.
- <sup>93</sup> a, E. C. Wiener, M. W. Brechbiel, H. Brothers, R. L. Magin, O. A. Gansow, D. A. Tomalia, P. C. Lauterbur, *Magn. Reson. Med.*, **1994**, *31*, 1.  
b, É. Tóth, D. Pubanz, L. Helm, A. E. Merbach, *Chem. Eur. J.*, **1996**, *2*, 1607.
- <sup>94</sup> F. Cavagna, C. Luchinat, A. Scozzafava, Z. Xia, *Magn. Reson. Med.*, **1994**, *31*, 58.
- <sup>95</sup> a, E. C. Unger, T. Fritz, G. Wu, et al., *J. Liposome Res.*, **1994**, *4*, 811.  
b, S. Paeuser, R. Reszka, S. Wagner, K. J. Wolf, H. J. Buhr, G. Berger, *Anti-Cancer Drug Des.*, **1997**, *12*, 125.  
c, S. L. Fossheim, J. M. Collet, S. Mansson, A. K. Fahlvik, R. N. Muller, J. Klaveness, *Invest. Radiol.* **1998**, *33*, 810.
- <sup>96</sup> a, R. Rebizak, M. Schaefer, E. Dellacherie, *Bioconjugate Chem.*, **1998**, *9*, 94.  
b, É. Tóth, L. Helm, K. E. Kellar, A. E. Merbach, *Chem. Eur. J.*, **1999**, *5*, 1202.  
c. D. L. Ladd, R. Hollister, X. Peng, D. Wei, D. Delecki, R. A. Snow, J. L. Toner, K. Kellar, J. E. Vinay, C. Desay, G. Raymond, L. B. Kinter, T. S. Dessler, D. L. Rubi, *Bioconjugate Chem.*, **1999**, *10*, 361.
- <sup>97</sup> D. J. Parmelee, R. C. Walovitch, S. Ouellet-Hillori, R. B. Lauffer, *Invest. Radiol.*, **1977**, *32*, 741.
- <sup>98</sup> C. Curbet, F. Maton, T. Havet, M. Slinkin, A. Mishra, J. F. Chatel, R. N. Muller, *Invest. Radiol.*, **1998**, *33*, 752.
- <sup>99</sup> a, S. Aime, M. Botta, M. Fasano, E. Terreno, P. Kinches, L. Calabi, L. Paleari, *Magn. Reson. Med.*, **1996**, *35*, 648.

- b, S. L. Fossheim, K. A. Il'yasov, J. Hennig, A. Bjornerud, *Acta Radiol.*, **2000**, 7, 1107.
- <sup>100</sup> J. Hall, R. Häner, S. Aime, M. Botta, S. Faulkner, D. Parker, A. S. de Sausa, *New J. Chem.*, **1998**, 6, 627.
- <sup>101</sup> a, S. Aime, M. Botta, E. Gianolio, E. Terreno, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2000**, 39, 747.
- b. S. Aime, P. Ascenzi, E. Comoglio, M. Fasano, S. Paoletti, *J. Am. Chem. Soc.*, **1995**, 117, 9365.
- c. L. Burai, É. Tóth, S. Seibig, A. E. Merbach, *Chem. Eur. J.*, **2000**, 6, 3761.
- <sup>102</sup> M. Rudin, *Nat. Biotechnol.*, **2000**, 18, 383.
- <sup>103</sup> W. Li, S. E. Fraser, T. J. Meade, *J. Am. Chem. Soc.*, **1999**, 121, 1413.
- <sup>104</sup> M.K. Kim, A. E. Martell, *Biochemistry*, **1964**, 3, 1164.
- <sup>105</sup> M.K. Kim, A. E. Martell, *J. Am. Chem. Soc.*, **1966**, 88, 914.
- <sup>106</sup> T. Kiss, I. Sóvágó, A. Gergely, *J. Pure Appl. Chem.*, **1991**, 63, 597.
- <sup>107</sup> H. Sigel, R. Griesser, B. Prijs, *Z. Naturforsch. (B)*, **1972**, 27, 353.
- <sup>108</sup> M. Liler, *J. Am. Chem. Soc. (B)*, **1969**, 385.
- <sup>109</sup> R. B. Martin, *Chem. Commun.*, **1972**, 793.
- <sup>110</sup> R. B. Martin, W. C. Hutton, *J. Am. Chem. Soc.*, **1973**, 95, 4752.
- <sup>111</sup> R. B. Martin, *Nature*, **1972**, 271, 94.
- <sup>112</sup> D. W. Appleton, T. P. A. Kruck, B. Sarkar, *J. Inorg. Biochem.*, **1979**, 10, 1.
- <sup>113</sup> M. R. Udupa, B. Krebs, *Inorg. Chim. Acta*, **1978**, 31, 251.
- <sup>114</sup> H. Sigel, R. B. Martin, *Chem. Rev.*, **1982**, 82, 385.
- <sup>115</sup> I. Sóvágó, A. Gergely, *Inorg. Chim. Acta*, **1976**, 20, 27.
- <sup>116</sup> A. Gergely, I. Nagypál, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, **1977**, 1104.
- <sup>117</sup> J. W. Bunting, K. M. Thong, *Can. J. Chem.*, **1970**, 48, 1654.
- <sup>118</sup> I. Sóvágó, B. Harman, A. Gergely, B. Radomska, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, **1986**, 235.

- <sup>119</sup> I. Sóvágó, *Metal complexes of peptides and their derivatives*, ed. K. Burger, In: *Biocoordination Chemistry: Coordination Equilibria in Biologically Active Systems*, Ellis Horwood, New York, **1990**, 135-184.
- <sup>120</sup> C. H. Evans, *The Interaction of Lanthanides with Amino Acids and Proteins*, ed. E. Frieden, In: *Biochemistry of the Lanthanides*, Plenum Press, New York, **1990**, 85-90.
- <sup>121</sup> R. B. Martin, F. S. Richardson, *Quart. Rev. Biophys.*, **1979**, *12*, 181.
- <sup>122</sup> S. P. Sinha, *Complexes of the Rare Earths*, Pergamon Press, New York, **1966**.
- <sup>123</sup> L. I. Katzin, *Inorg. Chem.*, **1969**, *8*, 1649.
- <sup>124</sup> L. I. Katzin, E. Gulyás, *Inorg. Chem.*, **1968**, *7*, 2442.
- <sup>125</sup> J. C. Cassatt, R. G. Wilkins, *J. Am. Chem. Soc.*, **1968**, *90*, 6045.
- <sup>126</sup> S. Braun, H.-O. Kalinowski, S. Berger, *100 and More NMR Experiments*, VCH Publishers, New York, **1996**.
- <sup>127</sup> A. Bevilacqua, R. T. Gelb, W. B. Hobard, L. F. Zompa, *Inorg. Chem.*, **1987**, *26*, 2699.
- <sup>128</sup> W.P. Cacheris et al., *Inorg Chem.*, **1987**, *26*, 958.
- <sup>129</sup> L. Burai, I. Fábrián, R. Király, E. Szilágyi, E. Brücher, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* **1998**, 243.
- <sup>130</sup> J. F. Desreux, E. Merciny, M. F. Lincoln, *Inorg. Chem.* **1981**, *20*, 987.
- <sup>131</sup> R. Delgado, J. J. R. Frausto Da Silva, *Talanta*, **1982**, *29*, 815.
- <sup>132</sup> L. Alderighi et. al., *Eur. J. Inorg. Chem.*, **1998**, 1581.
- <sup>133</sup> D. L. Rabenstein, *Can. J. Chem.* **1972**, *50*, 1036.
- <sup>134</sup> D. A. Voss, E. R. Farquhar, W. D. Horrocks Jr., J. R. Morrow, *Inorg. Chim. Acta*, **2004**, *357*, 859.
- <sup>135</sup> Critical Stability Constants, Eds. A. E. Martell, Vol. 1., Plenum, N.Y., **1974**.
- <sup>136</sup> S. Aime, M. Botta, G. Ermondi, *Inorg. Chem.*, **1992**, *31*, 4291.
- <sup>137</sup> S. Aime, A. Barge, M. Botta, M. Fasano, J. D. Ayala, G. Bombieri, *Inorg. Chim. Acta*, **1996**, *246*, 423.

- <sup>138</sup> D. Parker, K. Pulukkody, F. C. Smith, A. Batsanov, J. A. K. Howard, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, **1994**, 689.
- <sup>139</sup> F. Benetollo, G. Bombieri, S. Aime, M. Botta, *Acta Crystallogr. Sect. C Cryst. Struct. Commun.*, **1999**, 55, 353.
- <sup>140</sup> J. P. Dubost, J. M. Leger, M. H. Langlois, D. Meyer, M. Schaefer, *C. R. Acad. Sci. Paris*, **1991**, 312, 349
- <sup>141</sup> S. Amin, J. R. Morrow, C. H. Lake, M. R. Churchill, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **1994**, 33, 773.
- <sup>142</sup> S. Aime, nem publikált eredmények
- <sup>143</sup> C. F. G. C. Geraldés, A. M. Urbano, M. C. Alpoim, A. D. Sherry, K.-T. Kuan, R. Rajagopalan, F. Maton, R. N. Muller, *Magn. Reson. Imaging*, **1995**, 13, 401.
- <sup>144</sup> W. D. Kim, G. E. Kiefer, F. Maton, K. McMillan, R. N. Muller, A. D. Sherry, *Inorg. Chem.* **1995**, 34, 2233.
- <sup>145</sup> S. Aime, M. Botta, M. Fasano, S. Paoletti, P. L. Anelli, F. Uggeri, M. Virtuani, *Inorg. Chem.* **1994**, 33, 4707.
- <sup>146</sup> E. Brücher, G. Laurenczy, Zs. Makra, *Inorg. Chim. Acta*, **1987**, 139, 141.
- <sup>147</sup> X. Wang, T. Jin, V. Comblin, A Lopez-Mut, E. Merciny, J. F. Desreux, *Inorg. Chem.*, **1992**, 31, 1095.
- <sup>148</sup> S. Amin, D. A. Voss, Jr., W. DeW. Horrocks, Jr., C. H. Lake, M. R. Churchill, J. R. Morrow, *Inorg. Chem.*, **1995**, 34, 3294.
- <sup>149</sup> D. Parker, P. K. Senanayake, J. A. G. Williams, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2.*, **1998**, 2129.
- <sup>150</sup> D. Parker, R. S. Dickins, H. Puschmann, C. Crossland, J. A. Howard, *Chem. Rew.*, **2002**, 102, 1977.
- <sup>151</sup> H. Mamuela, R. D. Hancock, L. Carlton, J. H. Reibenspies, K. P. Wainwright, *J. Am. Chem. Soc.*, **1995**, 117, 6698
- <sup>152</sup> Zs. Baranyai, E. Brücher, T. Iványi, R. Király, I. Lázár, L. Zékány, *Helv. Chim. Acta*, **2005**, 88, 604

- <sup>153</sup> A. Bianchi, L. Calabi, C. Giorgi, P. Losi, P. Mariani, P. Paoli, P. Rossi, B. Vattancoli, M. Virtuani, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, **2000**, 697
- <sup>154</sup> P. A. Stenson, A. L. Thompson, D. Parker, *Dalton Trans.*, **2006**, 3291
- <sup>155</sup> S. P. Kasprzyk, R. G. Wilkins, *Inorg. Chem.*, **1982**, *21*, 3349
- <sup>156</sup> C. Cossy, A. E. Merbach, *Pure and Appl. Chem.*, **1988**, *60*, 1785
- <sup>157</sup> L. H. Piette, W. A. Anderson, *J. Chem. Phys.*, **1959**, *30*, 899
- <sup>158</sup> D. W. Margerum, G. R. Cayley, D. C. Weatherburn, G. R. Pagenkonf  
“Coordination Chemistry”, Ed. A. E. Martell, American Chemical Society:  
Washington, D.C., **1978**, Vol. 2. p. 1-220.
- <sup>159</sup> S. F. Lincoln, A. E. Merbach, “Advances in Inorganic Chemistry”, Ed. A. G. Sykes, Academic Press, New York, **1995**, p. 1-87.
- <sup>160</sup> R. M. Fuoss, *J. Am. Chem. Soc.*, **1958**, *80*, 5059
- <sup>161</sup> I. Bányai, J. Glaser, *J. Am. Chem. Soc.*, **1989**, *111*, 3186
- <sup>162</sup> J. E. Trafton, C. Li, J. Mallen, S. R. Mallen, S. R. Miller, A. Nakano, O. F. Schall, G. W. Gokel, *Chem. Commun.*, **1990**, 1266.
- <sup>163</sup> T. Uechi, I. Ueda, M. Tazaki, A. Takagi, K. Ueno, *Acta Crystallogr. Sect. B.*, **1982**, *38*, 433.
- <sup>164</sup> P. J. Hay, J. C. Thibeault, R. Hoffman, *J. Am. Chem. Soc.*, **1975**, *97*, 4884.
- <sup>165</sup> D. M. Corsi, C. P.-Iglesias, H. Bekkum, J. A. Peters, *Magn. Reson. Chem.*, **2001**, *39*, 723.
- <sup>166</sup> SC-K. Chu, Y. Xu, J. A. Balschi, C. S. Springer, *Magn. Reson. Med.*, **1990**, *13*, 239.
- <sup>167</sup> A. Asokan, P. T. Manoharan, *Inorg. Chem.*, **1999**, *38*, 5642.
- <sup>168</sup> A. F. Orchard, *Magnetochemistry*, Oxford University Press, Oxford, **2003**.
- <sup>169</sup> Iványi Tímea: *Potenciális biológiaiilag aktív makrociklusok szintézise, analitikai alkalmazásuk és koordinációs kémiai tulajdonságuk vizsgálata*. Doktori értekezés, Debrecen, **2005**.
- <sup>170</sup> I. Sajó, *Komplexometria*, Műszaki Könyvkiadó, Budapest, **1973**.
- <sup>171</sup> H. M. Irving, M. G. Miles, L. Pettit, *Anal. Chim. Acta*, **1967**, *28*, 475.

- <sup>172</sup> L. Zékány, I. Nagypál, in *Computational Methods for Determination of Formation Constants*, ed. D. J. Legett, Plenum, New York, **1985**, p.291.
- <sup>173</sup> P. K. Glasoe, F. A. Long, *J. Phys. Chem.*, **1960**, *64*, 188.
- <sup>174</sup> A. Altmore, G. Cascarano, G. Giacobozzo, A. Guagliardi, *J. Appl. Crystallogr.*, **1993**, *26*, 343.
- <sup>175</sup> M. G. Sheldrik, *SHELX-97, A Program for Crystal Structure Refinement*, University of Göttingen, Germany, **1997**.
- <sup>176</sup> L. J. Farrugia, *WINGX-97 system*, University of Glasgow, Glasgow, U. K., **1996**.

## KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Ez úton fejezem ki köszönetemet Dr. Bücher Ernő egyetemi tanárnak, témavezetőmnek, szakmai irányításáért és egész munkámra kiterjedő sokoldalú segítségéért.

Köszönettel tartozom Dr. Király Róbert egyetemi docensnek az egyensúlyi számításokban, Dr. Bányai István egyetemi tanárnak az NMR-es mérésekben és a spektrumok kiértékelésében nyújtott segítségükért, valamint Dr. Lázár István egyetemi docensnek és Dr. Ivány Tímeának a ligandumok szintéziséért.

Külön köszönöm Silvio Aime professzornak, Dr. Enzo Terreno-nak és a Torinói Egyetem Szervetlen Kémiai Tanszék minden dolgozójának méréseim elvégzéséhez és dolgozatom megírásához nyújtott segítségüket.

Köszönöm Vanka Judit és Rózsa Béla vegyésztechnikusoknak a kísérleti munkámban való értékes részvételüket és mindazoknak, akik valamilyen formában hozzájárultak dolgozatom megírásához.

## ACKNOWLEDGEMENTS

I would like to thank, firstly, Prof. Ernő Brücher for his supervision and for the help that he gave me during the work

I would also like to thank, but in a different way, Dr. Róbert Király for the equilibrium calculations, Dr. István Bányai for his part in the NMR experiments and their analysis. Dr. István Lázár and Dr. Tímea Iványi for the synthesis of the ligands.

I would like to especially thank Prof. Silvio Aime, Dr. Enzo Terreno and everyone at the Università di Torino, Dipartimento di Chimica I.F.M. for the possibility of working in Turin, for the support given during the experimental phase and during the writing of my thesis.

Lastly I would like to thank Judit Vanka and Béla Rózsa for their contribution to the experimental part and everyone who has helped to realise my thesis.

## **RINGRAZIAMENTI**

Vorrei ringraziare per primo il Prof. Ernő Brücher per la sua supervisione e per l'aiuto che mi ha dato durante tutto il mio lavoro.

Vorrei inoltre ringraziare, ma in modo diverso, il Dott. Róbert Király per i calcoli sull'equilibrio, il Dott. István Bányai per la parte relativa agli esperimenti NMR e la loro analisi, il Dott. István Lázár e la Dott.ssa Tímea Iványi per la sintesi dei leganti.

Vorrei fare un ringraziamento speciale per il Prof. Silvio Aime, il Dott. Enzo Terreno e tutti i componenti dell'Università di Torino, Dipartimento di Chimica I.F.M., per la possibilità di lavorare a Torino, per il supporto dato sulla parte sperimentale e di scrittura della mia tesi.

In ultimo vorrei ringraziare Judit Vanka e Béla Rózsa per il loro contributo per parte sperimentale e tutti coloro che mi hanno aiutato a realizzare la mia tesi.