



**DTPA-AMID SZÁRMAZÉK LIGANDUMOK
LANTANIDA(III)-, RÉZ(II)- ÉS CINK(II)-IONOKKAL
KÉPZETT KOMPLEXEINEK EGYENSÚLYI,
SZERKEZETI ÉS KINETIKAI SAJÁTSÁGAI**

doktori (PhD) értekezés

Jászberényi Zoltán

Debreceni Egyetem
Debrecen, 2005.

Ezen értekezést a Debreceni Egyetem TTK *Kémiai tudományok* Doktori Iskola *Koordinációs kémia* programja keretében készítettem a Debreceni Egyetem TTK doktori (PhD) fokozatának elnyerése céljából.

Debrecen, 2005. 03. 21.

.....
Jászberényi Zoltán

Tanúsítom, hogy *Jászberényi Zoltán* doktorjelölt 2001 - 2005 között a fent megnevezett Doktori Iskola *Koordinációs kémia* programjának keretében irányítással végezte munkáját. Az értekezésben foglalt eredményekhez a jelölt önálló alkotó tevékenységével meghatározóan hozzájárult. Az értekezés elfogadását javasolom.

Debrecen, 2005. 03. 21.

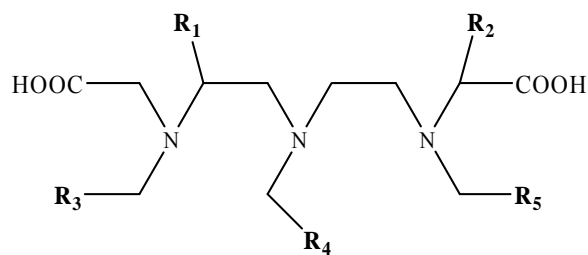
.....
Dr. Brücher Ernő

TARTALOMJEGYZÉK

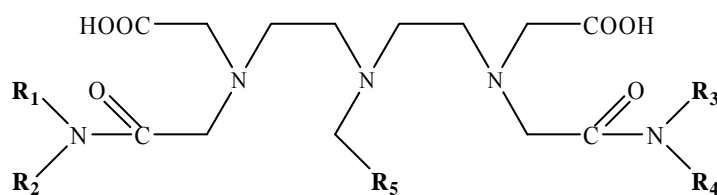
I. BEVEZETÉS.....	1
II. IRODALMI ÁTTEKINTÉS.....	5
II.1. A ritkaföldfém(III)-komplexek tulajdonságai.....	5
II.2. MRI kontrasztanyagok.....	10
II.2.1. Szuperparamágneses vas-oxid részecskék.....	11
II.2.2. Nitroxil szabadgyökök.....	12
II.2.3. Paramágneses fémkomplexek.....	14
II.2.3.1. A Gd^{3+} -komplexek relaxivitása.....	15
II.2.3.2. A kontrasztanyagok fejlesztésének főbb irányai.....	16
II.3. DTPA és DTPA-amid származékok komplexei.....	19
II.3.1. A Ln^{3+} -DTPA és -DTPA-amid származék komplexek szerkezete.....	19
II.3.2. A Ln^{3+} -DTPA és -DTPA-amid származék komplexek stabilitása.....	21
II.3.3. A Ln^{3+} -DTPA és -DTPA-amid származék komplexek kinetikai viselkedése.....	22
II.3.3.1. Ln^{3+} -komplexek vízcserereakciói.....	22
II.3.3.2. Ln^{3+} -komplexek fémcsere reakciói.....	23
III. ALKALMAZOTT VIZSGÁLATI MÓDSZEREK.....	25
III.1. Az Y(DTPA-bA) komplex NMR spektroszkópiás vizsgálata.....	25
III.2. DTPA-bisz- és -trisz(amid) származék komplexek egyensúlyi vizsgálata.....	25
III.3. $[Gd(DTPA-bbBA)(H_2O)]$ és $[Gd(DTPA-tra)(H_2O)]^+$ komplexek vízcseresebességének vizsgálata.....	27
III.4. Gd^{3+} -DTPA-bisz- és -trisz(amid) származék komplexek fémcsere kinetikájának vizsgálata.....	27
IV. EREDMÉNYEK.....	29
IV.1. Az Y(DTPA-bA) komplex NMR spektroszkópiás vizsgálata.....	29
IV.2. DTPA-bisz- és -trisz(amid) származék komplexek egyensúlyi vizsgálata.....	38
IV.3. Gd^{3+} -DTPA-bisz- és -trisz(amid) származék komplexek relaxivitásának vizsgálata.....	49
IV.3.1. Gd^{3+} -DTPA-bisz- és -trisz(amid) származék komplexek relaxivitásának hőmérsékletfüggése.....	50
IV.3.2. Gd^{3+} -DTPA-bisz- és -(trisz)amid származék komplexek relaxivitásának pH-függése.....	53
IV.3.3. Gd^{3+} -DTPA-bisz- és -trisz(amid) származék komplexek relaxivitása HSA-ban.....	56
IV.4. $[Gd(DTPA-bbBA)(H_2O)]$ és $[Gd(DTPA-tra)(H_2O)]^+$ komplexek	

vízcserebességének vizsgálata.....	58
IV.4.1. UV-látható spektrofotometriás vizsgálatok.....	59
IV.4.2. ^{17}O -NMR és ESR mérések.....	60
IV.4.3. Nagynyomású ^{17}O -NMR.....	68
IV.5. Gd^{3+} -DTPA-bisz- és -trisz(amid) származék komplexek fémcsere kinetikájának vizsgálata.....	70
V. KÍSÉRLETI RÉSZ.....	89
V.1. A vizsgált ligandumok előállítása ill. származási helye, koncentrációjuk meghatározása.....	89
V.2. A komplexek vizsgálata során felhasznált törzsoldatok elkészítése.....	92
V.3. Az Y(DTPA-bA) komplex NMR spektroszkópiás vizsgálata.....	93
V.4. A Gd^{3+} -DTPA-bisz-és-trisz(amid) származék komplexek egyensúlyi vizsgálata.....	93
V.5. Gd^{3+} -DTPA-bisz- és -trisz(amid) származék komplexek relaxivitása.....	96
V.6. $[\text{Gd}(\text{DTPA-bbBA})(\text{H}_2\text{O})]$ és $[\text{Gd}(\text{DTPA-tra})(\text{H}_2\text{O})]^+$ komplexek vízcserebességének vizsgálata.....	97
V.7. Gd^{3+} -DTPA-bisz- és -trisz(amid) származék komplexek fémcsere kinetikájának vizsgálata.....	98
VI. ÖSSZEFOGLALÁS.....	101
VII. SUMMARY.....	103
IRODALMAK.....	107

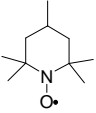
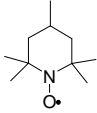
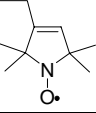
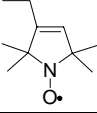
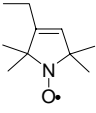
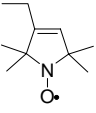
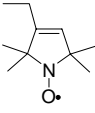
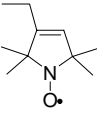
Az értekezésben előforduló ligandumok képletei:

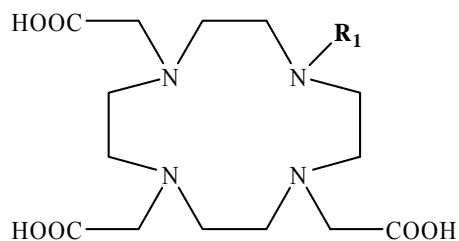


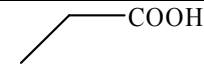
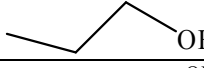
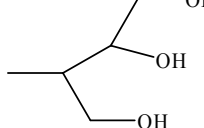
R_1	R_2	R_3	R_4	R_5	Ligandum
H	H	COOH	COOH	COOH	H₅DTPA
	H	COOH	COOH	COOH	H₅EOB-DTPA
H		COOH	COOH	COOH	H₅BOPTA
H	H	CONHMe	COOH	COOH	H₄DTPA-N-MA
H	H	COOH	CONHMe	COOH	H₄DTPA-N'-MA



R_1	R_2	R_3	R_4	R_5	Ligandum
H	Me	H	Me	COOH	H₃DTPA-BMA
H	Et-O-Me	H	Et-O-Me	COOH	H₃DTPA-BMEA

R₁	R₂	R₃	R₄	R₅	Ligandum
H	H	H	H	COOH	H₃DTPA-bA
H	n-Bu	H	n-Bu	COOH	H₃DTPA-bBA
n-Bu	n-Bu	n-Bu	n-Bu	COOH	H₃DTPA-bbBA
n-Bu	n-Bu	n-Bu	n-Bu	CONH-Me	H₂DTPA-tra
H		H		COOH	H₃DTPA-bNOPA
H		H		COOH	H₃DTPA-bNOPMA
				COOH	H₃DTPA-bbNOPMA



R₁	Ligandum
	H₄DOTA
	H₃HPDO3A
	H₃DO3AB

A ligandumok hétköznapi, nem hivatalos elnevezése:

H₅DTPA :	dietilén-triamin-N,N,N',N'',N'''-pentaecetsav
H₅EOB-DTPA :	4-((4'-etoxi)-benzil)-dietilén-triamin- N,N,N',N'',N'''-pentaecetsav
H₅BOPTA	2-((benziloxi-metil)-dietilén-triamin- N,N,N',N'',N'''-pentaecetsav
H₄DTPA-N-MA :	dietilén-triamin-N,N,N',N'',N'''-pentaecetsav-N-mono(metilamid)
H₄DTPA-N'-MA :	dietilén-triamin-N,N,N',N'',N'''-pentaecetsav-N'-mono(metilamid)
H₃DTPA-BMA :	dietilén-triamin-N,N,N',N'',N'''-pentaecetsav-N,N''- bisz(metilamid)
H₃DTPA-BMEA :	dietilén-triamin-N,N,N',N'',N'''-pentaecetsav-N,N''-bisz(metoxi- etilamid)
H₃DTPA-bA :	dietilén-triamin-N,N,N',N'',N'''-pentaecetsav-N,N''-bisz(amid)
H₃DTPA-bBA :	dietilén-triamin-N,N,N',N'',N'''-pentaecetsav-N,N''- bisz(n-butilamid)
H₃DTPA-bbBA :	dietilén-triamin-N,N,N',N'',N'''-pentaecetsav-N,N''- bisz[bisz(n-butilamid)]
H₂DTPA-tra :	dietilén-triamin-N,N,N',N'',N'''-pentaecetsav- N,N''-bisz[bisz(n-butilamid)]-N'-metilamid
H₃DTPA-bNOPA :	dietilén-triamin-N,N,N',N'',N'''-pentaecetsav-N,N''- bisz(1-oxil-2,2,6,6-tetrametil-4-pirolidin)amid
H₃DTPA-bNOPMA :	dietilén-triamin-N,N,N',N'',N'''-pentaecetsav-N,N''- bisz(1-oxil-2,2,5,5-tetrametil-3-pirolin-3-metilén)amid
H₃DTPA-bbNOPMA :	dietilén-triamin-N,N,N',N'',N'''-pentaecetsav-N,N''- bisz(bisz(1-oxil-2,2,5,5-tetrametil-3-pirolin-3-metilén)amid
H₄DOTA :	1,4,7,10-tetraazaciklododekán-1,4,7,10-tetraecetsav
H₃HPDO3A :	10-(2'-hidroxipropil)-1,4,7,10-tetraazaciklododekán-1,4,7- triecetsav
H₃DO3AB :	10-(2',3'-dihidroxil-(1'-hidroximetil)-propil)-1,4,7,10-tetraaza- ciklododekán-1,4,7-triecetsav

I. BEVEZETÉS

A gadolínium a periódusos rendszer 64. elemeként a lantanidák (lantánszerű elemek) csoportjába tartozik. A lantánt és az azt követő 14 elemet az ittriummal és a szkandiummal együttesen ritkaföldfémeknek nevezik.

A ritkaföldfémek koordinációs kémiáját az ötvenes években kezdték el intenzíven vizsgálni. Ekkor a kutatások a rendkívül nagy kémiai hasonlóságot mutató fémionok egymástól való elválasztására irányultak. Az ipari méretekben is használatos elválasztásuk főként oldószer-extrakcióval történik, majd további tisztításukra ioncserélő kromatográfiát dolgoztak ki.¹

Az 1970-es években a koordinációs kémiai kutatások középpontjában az Eu^{3+} , Pr^{3+} és Yb^{3+} komplexei álltak, melyek fehérjék, enzimek fémkötő helyeinek felderítésére vagy NMR eltolódást növelő, ún. „shift”-reagensként alkalmazhatók a kisebb vagy makromolekulák szerkezetének meghatározásában. Ekkor váltak fontossá a technikai alkalmazásaik is, mint pl. a Nd-lézer, mely a négynívós lézerek csoportjába tartozik, vagy az Eu-tartalmú foszforok, melyek a színes TV képernyők fontos anyagai.² A lantanidákat eredményesen alkalmazzák továbbá a kerámia-, elektronikai- valamint híradástechnikai iparban is.³

Napjainkban azonban a kutatások egyik legfontosabb területe a ritkaföldfémek kelátképző ligandumokkal alkotott komplexeinek *in vivo* alkalmazása. Ennek eredményeképpen a lantanida(III)-poliaza-polikarboxilát és -polifoszfónát komplexek alkalmazása biológiai vizsgálatokban, az orvosi diagnosztikában és terápiában jelentősen megnőtt.^{4,5} Az egyik leghatékonyabb orvos-diagnosztikai képalkotó eljárásban, a mágneses rezonanciás képalkotásban (Magnetic Resonance Imaging, MRI), Gd^{3+} -poliaza-polikarboxilát komplexeket alkalmaznak a kép élességét növelő ún. kontrasztanyagként.^{2,4,6} Továbbá kutatások folynak olyan lantanida(III)-komplexek előállítására, melyek segítségével *in vivo* körülmények között enzimaktivitást, az oxigén parciális nyomását, hőmérsékletet és pH-t tudnak mérni mágneses rezonancia tomográfias módszerekkel, valamint a szervspecifikus kontrasztanyagok kifejlesztése is egy igen fontos kutatási irány.⁷

A lantanida(III) komplexeknek egy másik jelentős diagnosztikai alkalmazása a fluoreszcenciás immunanalízis, mely során monoklonális antitesthez kötnek Eu^{3+} , Tb^{3+} , Sm^{3+} ritkábban Dy^{3+} vagy Nd^{3+} komplexeket.⁸ Ezzel a módszerrel igen nagy érzékenységgel és szelektivitással határoznak meg

antigéneket, biológiai és szintetikus vegyületeket, a fémkomplexek fluoreszcenciás tulajdonságait felhasználva.

A diagnosztikai alkalmazás mellett vizsgálják a lantanida(III)-komplexek terápiás alkalmazásainak lehetőségeit is. Például poliaza-polikarboxilátok ^{90}Y -nel vagy ^{177}Lu -tel képzett komplexeit monoklonális antitestekhez vagy fehérjékhez kötve, azok eljuttathatók meghatározott szervekbe, ahol β -sugárzásuk (^{90}Y : $E_{\beta}=2,25$ MeV, ^{177}Lu : $E_{\beta}=497$ KeV) roncsoló hatást fejt ki a rosszindulatú daganatos sejtekre.⁹

Nagy az érdeklődés a szintén β -sugárzó ^{153}Sm (805 KeV) és a ^{166}Ho (1,86 MeV) polifoszfónatokkal képzett komplexei iránt, mivel ezeknek a komplexeknek fájdalomcsillapító hatásuk miatt a csontáttétek kezelésében van fontos szerepük.^{10,11,12}

Legújabban ígéretes kísérletek történnek a mágneses rezonanciás képalkotás (MRI), mint diagnosztika és a gadolínium neutronbefogásos rákterápia (Gd-NCT) összekapcsolására.^{13,14,15} Ennek során a tumorhoz eljuttatott Gd^{3+} -komplext lassú neutronokkal sugározzák be. A lejátszódó magreakció hatására a tumoros szövetek elpusztulnak, és a terápia hatásosságát MRI vizsgálatokkal lehet nyomon követni.

A ritkaföldfém(III)-poliamino-polikarboxilát komplexek tulajdonságainak vizsgálata tehát fontos a különböző orvos-diagnosztikai és terápiás alkalmazások szempontjából, azonban ezeknek a vizsgálatoknak van egy igen fontos alapkutatás jellegű célja is, megismerni és megérteni a fémion-ligandum kölcsönhatás változását a ligandum szerkezetének és a fémion méretének függvényében, bővíteni a lantanidákkal kapcsolatos koordinációs kémiai ismereteinket.

A Debreceni Egyetem Szervetlen és Analitikai Kémiai Tanszékén már régóta folynak kutatások nyíltláncú poliamino-polikarboxilát ligandumok ritkaföldfém(III)-ionokkal képzett komplexei szerkezeti, egyensúlyi és kinetikai sajátosságainak tanulmányozására. Az utóbbi években a vizsgált ligandumok köre kiterjedt a karboxilát helyett, amidcsoportot tartalmazó származékokra is, melyek közül néhányat már rutinszerűen alkalmaznak a klinikai gyakorlatban. Ezek a vizsgálatok elsősorban a Gd^{3+} -komplexek MRI kontrasztanyagként való alkalmazhatóságának koordinációs kémiai problémáira vonatkoznak, de az esetleges gyakorlati alkalmazási lehetőségektől függetlenül is érdekesek, mivel a fémkomplexek koordinációs kémiai viselkedésére vonatkozóan új információkat

kapunk. A munkám is ezen területhez kapcsolódik, melyen belül a DTPA-amidszármazék komplexek tulajdonságainak részletes vizsgálatát tűztük ki célul:

A DTPA-bisz(amid) származékok Gd^{3+} -komplexeit a gyakorlatban is használják MRI kontrasztanyagként⁵, de a ligandumok koordinációs kémiai tulajdonságait részletesen még nem vizsgálták. Nem ismert a Gd^{3+} -komplexek aránylag nagy szelektivitásának oka és az és az *in vivo* alkalmazások lehetőségét a kedvező egyensúlyi tulajdonságokkal (az egyensúlyok gyors *in vivo* kialakulását feltételezve) magyarázták¹⁶, a komplexek kinetikai stabilitásának jelentőségével nem foglalkoztak.

A Tanszéken korábban végzett vizsgálatok szerint a $Gd(DTPA)^{2-}$, a $Gd(DTPA-N'-MA)^-$ és a $Gd(DTPA-BMA)$ kinetikai stabilitása közel azonosnak adódott¹⁷, ezért érdekesnek látszott a DTPA-amid származékok komplexképző tulajdonságainak részletesebb, rendszeres vizsgálata. A felmerült fontosabb kérdések, problémák a következők:

- Hogyan befolyásolja a DTPA karboxilát csoportjainak fokozatos amidcsoportra történő cseréje a DTPA-amid származékok komplexképző sajátosságait? A lantanida(III)-ionok és az amid funkciós csoport kölcsönhatás mértékére kevés adat ismert, így egyensúlyi és kinetikai viselkedését is tanulmányozzuk a DTPA-bisz- és -trisz(amid) ligandumok esetében. (A DTPA-monoamidokat a Tanszéken korábban már vizsgálták.)
- Az irodalomban gyakorlatilag nincs adat arról, hogy az amidcsoporton bekövetkező szubsztitúció hogyan befolyásolja a képződő komplexek termodinamikai és kinetikai stabilitását. Ezért előállítottuk a DTPA ligandum olyan biszamid származékait, melyek a terminális nitrogéneken egy-egy $-CONH_2$, $-CONHBu$ és $-CONBu_2$ csoportokat tartalmaznak és azokat részletes egyensúlyi és kinetikai vizsgálatoknak vetjük alá.
- A különbözőképpen szubsztituált DTPA-bisz- és -trisz(amid) ligandumok Gd^{3+} -komplexei esetében hogyan változik a vízprotonokra gyakorolt relaxációs hatás (relaxivitás), illetve hogyan módosul a komplex belső szférájában koordinált vízmolekula cseresebessége?
- A Gd^{3+} -komplexek relaxációs hatása elvben növelhető, a ligandumhoz stabilis szabadgyökök kapcsolásával. Ilyen típusú, szabadgyököt tartalmazó DTPA-bisz(amid) származék komplexek termodinamikai és

kinetikai stabilitását korábban még egyáltalán nem, illetve Gd^{3+} -komplexeik relaxációs hatását is csak részben vizsgálták.

- A DTPA-bisz(amid) ligandumok lantanida(III) komplexei NMR spektroszkópiás vizsgálata során több izomer létezését is kimutatták, de a 1H - és ^{13}C -NMR spektrumok teljes azonosítását, illetve a jelek egyes izomerekhez történő rendelését, az izomerek arányának megállapítását még nem végezték el. Ezért egy aránylag egyszerűbb ligandum, a DTPA-bA esetében az ittrium-komplex részletes NMR vizsgálatát is célul tűztük ki.

II. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

II.1. A ritkaföldfém(III)-komplexek tulajdonságai

A ritkaföldfém(III) kationok (Ln^{3+} : $[\text{Xe}]4f^{1-14}$) tulajdonságaikat tekintve a periódusos rendszer legegységesebb csoportját képezik. A komplexeik tulajdonságát nagymértékben befolyásolja, hogy a fémionok 4f pályái a betöltött $5s^25p^6$ pályák által árnyékolta. Ennek következtében az ionok mérete, a magtöltés (rendszer) növekedtével, a La^{3+} -tól (116 pm) a Lu^{3+} -ig (98 pm)³ monoton csökken (lantanida kontrakció).

A lantanida(III)-ionok, az alkáliföldfém-ionokhoz hasonlóan „hard” fémionok, így az általuk kialakított kötések inkább ionos jellegűek. Kötést elsősorban a következő donoratomokkal létesít: $\text{O} > \text{N} > \text{S}$ és $\text{F} > \text{Cl}$. A lantanidák által a legkedveltebb donoratom az oxigén¹⁸, így az Ln-N kötések általában hosszabbak, mint az Ln-O kötések.

A lantanida(III)-akva ionok belső koordinációs szférájában lévő vízmolekulák száma sokáig nem volt pontosan ismert. Az irodalomban közölt koordinációs szám 6 és 10 között változott, a legnagyobb közölt érték 12 volt.¹⁹ Az általánosan elfogadott volt, hogy a fémionok belső koordinációs szférájában nagy számú vízmolekula található, de azok számát illetően a különböző mérési módszerek eredményei miatt megoszlottak a vélemények.

Lantanida(III)-ionok vizes oldataiban felvett röntgen-²⁰ és neutron-szóródási²¹, valamint Raman spektrumok²² alapján a nagyobb kationokra (La^{3+} -tól a Nd^{3+} -ig) a hidratációs számot 9,0-9,3-nak találták, s ezek szerkezetét háromszorosan lapcentrált trigonális prizmának azonosították. Azonban a kisebb ionok esetében (Dy^{3+} - Lu^{3+}) a hidratációs szám 7,5-8,0-nak adódott, s ezen akva-ionok szerkezetét pedig egyszerűen lapcentrált négyzetes antiprizmának találták. A Sm^{3+} -tól a Tb^{3+} -ig a hidratációs szám a két érték közé esett, amit a különböző hidratáltságú részecskék egyensúlyával magyaráztak. Lumineszcenciás vizsgálatok alapján Horrocks és Sudnick²³, Eu^{3+} - Tb^{3+} , H_2O - D_2O keverékben az Eu^{3+} -ra 9,6-ot, míg a Tb^{3+} -ra 9,0-et kaptak a hidratációs számra. Azonban Johansson és Wakita röntgen diffrakciós²⁴ valamint Brücher és munkatársai által végzett ^1H és ^{35}Cl -NMR vizsgálatok²⁵ alapján azt mutatták ki, hogy a La^{3+} -tól a Lu^{3+} -ig az első koordinációs szférában lévő vízmolekulák száma nem változik, értéke 9.

Manapság a klorid és perklorát sók vizes oldatainak röntgen és neutrondiffrakciós vizsgálatai alapján²⁶ azt mondhatjuk, hogy a hidratációs szám a Nd^{3+} -ig 9, a Sm^{3+} -ra és az Eu^{3+} -ra 8 vagy 9, a Gd^{3+} -tól a Lu^{3+} -ig 8. Ezeket az eredményeket Yamaguchi és munkatársai EXAFS mérésekkel is alátámasztották.²⁷

A lantanida(III)-komplexek **optikai tulajdonságait** a 4f elektronok határozzák meg. A ritkaföldfém kationok f-pályáinak energiaszintjei a spin-pálya csatolás miatt felhasadnak. Ezen energia szintek közötti átmeneteket a kation környezetében lévő anionok és poláris molekulák csak minimális mértékben tudják perturbálni a lantanida kation f-pályáinak az árnyékoltsága miatt. Az átmenetifémek széles d-d abszorpciós sávjaival ellentétben, a lantanidák f-f sávjai szilárd és oldat fázisban is majdnem olyan keskenyek, mint gáz-fázisban, továbbá az f-f átmenetekre alig van hatással a ligandumok kristálytere. Az f-f átmenetek tiltottak (Laport-szabály), ezért kis intenzitásúak ($\epsilon \leq 10 \text{ cm}^{-1}\text{M}^{-1}$)²⁸, de ezek eredményezik a lantanida(III)-ionok színét. Az Eu^{3+} -ion esetén jelentkezik egy kis intenzitású sáv az 579-581 nm tartományban, ami az ${}^5\text{D}_0 \leftarrow {}^7\text{F}_0$ átmenetnek felel meg.²⁹ Ez a sáv érzékeny az Eu^{3+} -komplex belső koordinációs szférájának változásaira, segítségével meg lehet határozni az Eu^{3+} -ionhoz közvetlenül koordinálódó vízmolekulák számát.

Komplekképződés szempontjából jelentékenyebbek az $5d \leftarrow 4f$ átmenetek, mivel az 5d héjra nem hat annyira a külső pályák árnyékoló hatása. A Ce^{3+} , Pr^{3+} , Tb^{3+} esetén ezek viszonylag nagy intenzitású abszorpciós sávok már az UV-tartományban észlelhetők ($\epsilon \leq 1000 \text{ cm}^{-1}\text{M}^{-1}$).

A ligandum-fém töltésátviteli sávok szintén alkalmasak lehetnek a komplekképződés követésére. Például az Eu^{3+} esetében ez a sáv az UV-tartományban, 200-270 nm között jelentkezik.

A ritkaföldfém(III)-ionok, az Y^{3+} -ot, La^{3+} -t és Lu^{3+} -ot kivéve (f^0 , f^{14}), **lumineszcenciás** tulajdonságokat mutatnak, gyakorlati szempontból az Eu^{3+} (${}^7\text{F}_{0-4} \leftarrow {}^5\text{D}_{0-1}$) és a Tb^{3+} (${}^7\text{F}_{0-6} \leftarrow {}^5\text{D}_4$) átmenetei a legjelentősebbek. A fémionok lumineszcenciás sajátosságait például komplekképződés követésére, a fémion kémiai környezetének felderítésére⁴, a fémionhoz kötött vízmolekulák számának²³, proteinekben a fémkötőhelyek távolságainak,³⁰ valamint lantanida komplexek ligandumcsere sebességének meghatározására használják.³¹

Ha a lantanidák **mágneses** tulajdonságait vizsgáljuk, akkor a legfontosabb jellemző, amit velük kapcsolatban kiemelhetünk, az a paramágnesesség. Csak az Y^{3+} , La^{3+} (f^0) és a Lu^{3+} (f^{14}) diamágneses.

A 3d átmeneti fémeknél a sorozaton belül a mágneses momentum maximuma, a maximális számú párosítatlan elektront tartalmazó ionnál van (Fe^{3+}), mivel a paramágnesességet csak a spin momentum határozza meg. Azonban a lantanida sorozaton belül 2 maximum is található (Nd^{3+} , Dy^{3+} - Ho^{3+}), de egyik sem a Gd^{3+} (f^7)-nél, mivel a spin és pálya hozzájárulásokat is figyelembe kell venni.⁴

A paramágneses Ln^{3+} -komplexek NMR jelei a diamágneses komplexekhez képest kiszélesednek és eltolódnak. A jelek kiszélesedését az okozza, hogy a paramágneses Ln^{3+} -ionok a környezetükben lévő magok relaxációsebességét megnövelik.³² A Gd^{3+} -ion jelszélesítő hatása a legjelentősebb, mivel az elektronrelaxációs ideje 10^{-9} s, ami négy nagyságrenddel nagyobb a többi Ln^{3+} -ion elektronrelaxációs idejénél (10^{-13} s). Az NMR jelek eltolódása a Fermi kontakt (skaláris) és pszeudo-kontakt (dipoláris) eltolódásból tevődik össze.³³ A kontakt eltolódás a kémiai kötésén keresztül, míg a pszeudo-kontakt eltolódás a téren át érvényesülő hatásra jellemző. A kontakt eltolódásokból a kapcsolódó atomok, míg a pszeudo-kontakt eltolódásokból a komplex térbeli elrendeződésére kaphatunk információt.

A komplexek termodinamikai stabilitása a lantanida sorozaton belül háromféleképpen változhat.³⁴

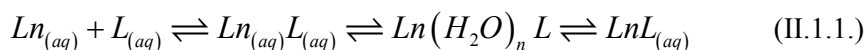
- 1, A rendszám növekedésével a stabilitási állandó értéke monoton növekszik, bár a sorozat második felében ez a növekedés kisebb mértékű (pl. imino-diacetát és EDTA-komplexek) (H_4EDTA = etiléndiamintetraecetsav)
- 2, A stabilitási állandók a Sm^{3+} -ig nőnek, majd közelítőleg állandóak maradnak pl. (acetil-acetonát és HEDTA-komplexek) (H_3HEDTA = N-hidroxi-etil-etiléndiamin-N,N',N'-triacetsav)
- 3, A stabilitási állandók maximumgörbe szerint változnak. A maximum általában a sorozat második felében a Dy^{3+} környékén jelentkezik (DTPA komplexek).

Mindhárom esetben a stabilitási állandók értékének változásában az elektrosztatikus tényezőkön kívül fontos szerepet játszanak a szerkezeti és szterikus

hatások is, melyet részben a központi ion és a ligandumok méretviszonyai, részben a központi ion és a ligandumok szerkezete határoz meg.³⁵

A makrociklusos ligandumok esetén azonban újabb hatásokkal is számolni kell³⁶, melyek befolyásolják a képződő komplex stabilitását. Ezek közül a legfontosabbak a ligandum koordinálódó atomjai által kialakított gyűrű vagy koordinációs kalitka mérete és a ligandum konformációja és merevsége.

A lantanida(III)-ionok kinetikai sajátosságait tekintve, a Ln^{3+} -kationok és az egyszerű ligandumok közötti *komplekképződés* igen gyors, a kialakuló kötések ionos természete miatt. Ezek a folyamatok csak relaxációs módszerekkel vizsgálhatók³⁷ és az Eigen-Tamm mechanizmussal írhatók le:³⁸



A komplekképződési reakcióban az 1. lépés a leggyorsabb, ami diffúziókoordinált. A 2. lépés a külsőszféra komplex képződése, míg a 3. lépés a belsőszféra komplex létrejöttét írja le. A $\text{Gd}_{(aq)}^{3+}$ vízcseresebességét 10^9 s^{-1} -nek, míg a GdSO_4^+ képződési sebességét $7 \times 10^8 \text{ s}^{-1}$ -nek találták³⁹. Mivel a két érték nagyon közel van egymáshoz megállapítható, hogy az egyszerű ligandumok esetében a komplekképződés sebessége döntően a fémionra jellemző vízcseresebességtől függ, míg a kelátképző ligandumok esetén gyakran a kelátgyűrűképződés a sebességmeghatározó folyamat. A vízcseresebességet, mivel az igen gyors, nehéz mérni. Megbízható NMR-relaxációs módszert eddig csak a nehezebb lantanida(III)-ionokra tudtak kidolgozni Cossy és munkatársai.⁴⁰ Mivel módszerükben a kinetikai effektus a diamágneses környezethez viszonyított kémiai eltolódás négyzetével arányos ($\Delta\omega^2$), ami a könnyebb Ln^{3+} -ionokra kicsi, így azokra eddig nem tudtak megbízhatóan vízcseresebességet meghatározni.

Megvizsgálva a LnSO_4^+ képződési sebesség értékeit, illetve a nehezebb lantanidák vízcseresebességeit, melyek a La^{3+} -tól az Eu^{3+} -ig nőnek, majd a Lu^{3+} -ig csökkennek, megállapították, hogy a sorozat elején a vízcsere mechanizmusa inkább disszociatív az Eu^{3+} -után pedig asszociatív. Ennek ismerete a reakciómechanizmusok vizsgálata szempontjából igen fontos.⁴

A protonált, többfunkciós ligandumok komplekképződési reakciói lényegesen lassabbak lehetnek, ha a sebességmeghatározó lépés a kelátgyűrű

záródása, vagy valamilyen protontranszfer folyamat.⁴¹ A makrociklusos ligandumok fokozott merevsége, előrendezettsége jelentősen lassítja a komplexképződés sebességét, amit a ligandum konformációja, a gyűrű mérete, a ligandum bázicitása tovább befolyásol.^{42,43}

A *fémioncsere reakciók*, mint a szubsztitúciós reakciók, asszociatív és disszociatív mechanizmussal mehetnek végbe. A csere lejátszódhat a kicserélő fémion közvetlen támadásával, egy kétmagvú köztitermék képződésén keresztül (LnLM), minek során a ligandum funkciós csoportjai a Ln³⁺-ionról a kicserélődő fémre tevődnek át.⁴⁴ A másik út a lantanida(III)-komplex spontán, vagy H⁺-katalizált disszociációja, mely egy lassú disszociatív folyamat, melyet a szabad ligandum és a kicserélő fémion gyors reakciója követ.⁴⁵

A ritkaföldfém(III)-komplexek *ligandumcsere reakciói* is végbemehetnek a komplex H⁺-katalizált disszociációjával, illetve a komplex és a szubsztituáló ligandum direkt ütközésével⁴⁶, ha a koordinált ligandum nem foglalja el a lantanida(III)-ion összes koordinációs helyét.

II.2. MRI kontrasztanyagok

A magmágneses rezonanciás képalkotás (MRI) széleskörben való elterjedéséhez nagymértékben hozzájárult a módszer nagy felbontása valamint, hogy segítségével különbséget lehet tenni a lágy szövetek között is.⁷ 1973-ban Lauterbur⁴⁷ felfedezte, hogy a mágneses tér gradienséből kétdimenziós kép hozható létre és az így kapott jeleket Mansfield⁴⁸ elemezte matematikailag. Később, 1978-ben Lauterbur, Mendoca-Dias és Rudin⁴⁹ mutatták ki elsőként, hogy a paramágneses anyagok alkalmasak a különböző szövetek megkülönböztetésére a szövetekben lévő vízprotonok relaxációs viselkedése alapján. 1981-ben Young és munkatársai⁵⁰ végezték az első humán kísérleteket, FeCl₃-ot adtak szájon keresztül az emésztőrendszer vizsgálatára. 1984-ben Carr és munkatársai⁵¹ alkalmazták először a Gd(DTPA)²⁻ komplexet intravénásan agytumoros betegeknél az agyvérzés helyeinek felderítésére. Ezek után indult meg a terület intenzív kutatása, 1987-ben még kb. 40, míg 2004-ben már több mint 1000 publikáció jelent meg a témában. 2003-ban az orvosi Nobel-díjat Lauterbur és Mansfield kapták az MRI kifejlesztéséért.

Az MRI vizsgálatok során a relaxációs idő meghatározására leggyakrabban alkalmazott impulzus szekvencia a spin-echo. A képek élessége, kontrasztossága alapvetően három tényezőtől függ: egy adott térfogatban a protonspinek sűrűségétől ($N(H)$) és ezen spinek longitudinális és transzverzális relaxációs ideitől (T_1 , T_2). A kapott jel intenzitását (SI) az alábbi egyenlet írja le:⁴

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

ahol, TR a repetíciós idő és TE az echo késleltetési idő.

A lágy szövetekben a protonsűrűség nem változik jelentékenyen, míg a relaxációs idők a különböző típusú szövetekben igen eltérőek. Azonban a relaxációs idők is csak kis mértékben különböznek az egészséges és a beteg szövetekben, ezért van szükség a vizsgálatok során kontrasztanyagokra.⁷ MRI kontrasztanyagként olyan paramágneses vegyületek terjedtek el, melyek képesek a vízprotonok relaxációsebességét megnövelni.

A kontrasztanyagok $1/T_1$ relaxációsebességét növelő hatásának mértéke a **relaxivitás** (r_1), ami a paramágneses anyag 1 mM-os oldatára vonatkoztatott relaxációsebesség növekedés a diamágneses környezethez képest.⁵

A kontrasztanyagokkal szemben fontos követelmény a nagy termodinamikai stabilitás, kinetikai inertség, jó vízoldhatóság, kis ozmolitikus koncentráció, szervspecifikusság, valamint maximális kontrasztnövelés minimális dózis mellett.^{4,6}

Manapság az MRI vizsgálatok mintegy 35%-nál alkalmaznak kontrasztanyagot, ami a jövőben a hatékonyabb és specifikus kontrasztanyagok kifejlesztése révén nagy valószínűséggel növekedni fog.⁵² Ezen vegyületek többféle csoportosítása lehetséges. Egyrésztől megkülönböztetünk T₁- és T₂-kontrasztanyagokat, attól függően, hogy az adott anyag hatása a longitudinális (1/T₁) vagy a transzverzális relaxációsebességre (1/T₂) nagyobb. A longitudinális relaxációsebesség növekedése a jel intenzitásának növekedését, a képen világosodást (*pozitív kontraszt*) idéz elő, míg a transzverzális relaxációsebesség növekedése a jel intenzitásának csökkenését, a képen sötétedést (*negatív kontraszt*) okoz.

A kémiai tulajdonságaikat illetően a kontrasztanyagokat három csoportba sorolják: szuperparamágneses vas-oxidok, nitroxid szabadgyökök és paramágneses fémkomplexek.

II.2.1. Szuperparamágneses vas-oxid részecskék

Mivel ezek a vegyületek igen jelentősen megnövelik a vízprotonok relaxációsebességét, alkalmasak arra, hogy MRI kontrasztanyagként használják őket. Az elmúlt 10 évben ez a kutatási terület rendkívül sokat fejlődött, s mára már néhány ilyen vegyületet eredményesen alkalmaznak az orvosi gyakorlatban (LumiremTM, AbdoscanTM, EndoremTM).^{53,54,55} A szuperparamágneses vas-oxid részecskéket rendkívül sokféleképpen lehet előállítani (összetétel, különböző szemcseméret szempontjából) és így a fizikai-kémiai tulajdonságaikban jelentősen különböznek.

A kristályszerkezetük alapján az $Fe_2^{3+}O_3M^{2+}O$ általános képlet jellemző rájuk, ahol, M²⁺: Fe²⁺, Mn²⁺, Ni²⁺, Co²⁺ és Mg²⁺ lehet.

A nagyobb szemcseméretűeket 1/T₂ növelő (negatív), a kisebbeket 1/T₁ növelő (pozitív) kontrasztanyagként alkalmazzák.

A szuperparamágneses vas-oxidok négy nagy típusát különböztetjük meg a hidrodinamikai átmérőjüktől függően: (A hidrodinamikai átmérő egy elméleti

gömb átmérője, melyet az oldatban lévő szolvatált részecskére határoznak meg.) Orális vagy nagy (SPIO, 300 nm), standard (SSPIO, 50-150 nm), ultrakicsi (USPIO, 10-40 nm) és monokristályos vas-oxid nanorészecske (MION, <10 nm). A SPIO részecskéket szájon át adva nem feloldódó, nem lebomló mátrixszal bevonva a belek vizsgálatára használják. Az SSPIO és USPIO részecskéket intravénásan beadva máj, lép, porc ill. csontvelő, az USPIO részecskéket, pl. angiográfias vizsgálatokra használják. A MION részecskék eljuthatnak az extravascularis térbe, továbbá kísérletek folynak különböző tumorspecifikus kontrasztanyagok kifejlesztésére, amikor monoklonális antitestekhez kötnek a MION részecskéket.⁵⁶

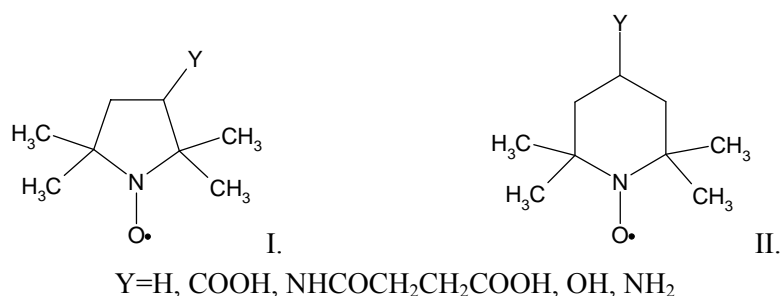
II.2.2. Nitroxid szabadgyökök

Az MRI vizsgálatok során olyan szabadgyökök hatását tanulmányozták, melyek 5 vagy 6 tagú gyűrűből állnak és a nitroxid szabadgyök csoporttal tercier alkil csoportok szomszédosak. (II.2.1. ábra)

Más szabadgyökökhöz hasonlóan a nitroxidokat is lehet oxidálni vagy redukálni. Az elektrontranszfer és a reverzibilitás az oldószertől függ. Vizes közegben redukció hatására hidroxilamin (RRNOH), oxidáció hatására oxoammónium kation (RRNO⁺) keletkezik.⁵⁷ Biológiai rendszerekben mind a három oxidációs állapotuk létezhet, ahol a nitroxid/oxoammónium pár egy hatékony, elektrokémiai reverzibilis redox párként viselkedik.⁵⁸

A nitroxid szabadgyökök relaxitásának értelmezésében rendkívül fontos az elektron-proton kölcsönhatásnak az oldószertől vízprotonok relaxációjához való hozzájárulásának a megértése. Benett és munkatársai⁵⁹ azonosítani tudták a proton-nitroxid kölcsönhatás korrelációs idejét és bizonyították, hogy a belső szféra hozzájárulás elhanyagolható a gyors forgómozgást végző, komplexbe ténylegesen nem kötött nitroxidra. Így a szabad nitroxidok esetén a külső szféra folyamatok határozzák meg a vízprotonok relaxációsebességét.

Az nitroxidoknak a vízprotonok relaxációjára gyakorolt hatását, mint az $1/T_1$ (r_1) és $1/T_2$ (r_2)-ként definiált proton relaxációsebességet a koncentráció függvényében különböző típusú nitroxid származékokra (5-tagú piperidin és 6-tagú piperidin gyűrűk) közöltek Weinmann és munkatársai.⁶⁰



II.2.1. ábra Stabilis nitroxid szabadgyökök

Az átlagos r_1 és r_2 értékek a II.2.1. ábrán felsorolt öt csoport esetén, foszfát pufferben (pH=7,4) az I. vegyület csoportra rendre 0,37 és 0,33 $s^{-1}mM^{-1}$, míg a II. vegyület csoportra 0,42 és 0,35 $s^{-1}mM^{-1}$ közöttinek adódtak. Ugyanezen vegyületek esetén plazmában a következő átlagértékeket kapták: I. csoportban $r_1=0,42$ és 0,63 $s^{-1}mM^{-1}$, II. csoport esetében $r_1=0,55$ és $r_2=0,54 s^{-1}mM^{-1}$. Ezek az értékek valamivel nagyobbak, mint a pufferben kaptak, amit a plazmában lévő makromolekulákkal képzett asszociátumok létrejöttével lehet magyarázni.

A kontrasztanyag molekuláris méretének növelésével, melynek hatására csökken a molekula forgó mozgása és növekszik a rotációs korrelációs ideje, továbbá a párosítatlan elektronok számának növelésével is lehet a molekula relaxivitását növelni. Sosnovsky és munkatársai⁶¹, a nitroxid szabadgyököt szarvasmarha szérumban albuminához (BSA) kötötték, így a molekula mérete jelentősen megnövekedett és a vártnak megfelelően a relaxitás értékek is megnövekedtek. Az öttagú nitroxidokra 40 $s^{-1}mM^{-1}$, míg a hattagúakra 49±1 $s^{-1}mM^{-1}$ adódott attól függően, hogy hány etilén-amino-acetát csoport közreműködésével kötötték a nitroxidot a BSA-hoz.

A párosítatlan elektronok számát egy molekulában úgy növelhetjük, hogy két vagy több nitroxid gyököt kapcsolunk egy molekulához, vagy a nitroxid gyököt egy Gd^{3+} -komplexhez kötjük.⁶² A legtöbb, de nem minden esetben, a két szabadgyököt tartalmazó molekula nagyobb relaxivitást mutat a plazmában ($r_1=1,0 s^{-1}mM^{-1}$ és $r_2=0,7 s^{-1}mM^{-1}$), mint az egy szabadgyököt tartalmazók, de a szerkezettől függően jelentős eltéréseket tapasztaltak.

Igen jelentős relaxitás növekedést tapasztaltak Sosnovsky és munkatársai, ha a Gd^{3+} -komplexhez szabadgyököt és szarvasmarha szérumban

albumint kapcsoltak. Három különböző esetben is $369\text{-}432\text{ s}^{-1}\text{mM}^{-1}$ relaxivitás értéket tapasztaltak.⁶¹

Az állatkísérletek alapján Janzen⁵⁷ valamint Krishna és munkatársai⁵⁸ kimutatták, hogy megfelelő hatékonyságú MRI kontrasztanyagot akkor lehet ezen nitroxid gyökök segítségével előállítani, ha azok a redukáló hatásnak minél inkább ellenállnak.

II.2.3. Paramágneses fémkomplexek

A paramágneses fémionok (Gd^{3+} , Mn^{2+} , Mn^{3+} , Fe^{3+} , Cu^{2+}) is képesek a protonok relaxációsebességét növelni, így alkalmasak MRI kontrasztanyagoknak. Mivel a fémionok akva-komplexei erősen toxikusak, *in vivo* körülmények között csak stabilis kelát-komplexei formájában lehet őket biztonsággal alkalmazni. Az említett fémionok közül minden szempontból a Gd^{3+} rendelkezik a legkedvezőbb tulajdonságokkal: 7 párosítatlan elektron, nagy mágneses momentum és megfelelően hosszú elektronrelaxációs idő (10^{-9}s).⁶³ Mindezek miatt a klinikai gyakorlatban nagy részben a Gd^{3+} -kelátkomplexei terjedtek el. Fontos azonban megjegyezni, hogy mivel a Gd^{3+} -ion nem fordul elő az élőszervezetekben, nincs biológiai körforgása⁶⁴, ezért kísérletek folynak a „környezetbarátabb” másik 4 ion kontrasztanyagként való alkalmazására is.

Jelenleg a Gd^{3+} -alapú kontrasztanyagokat igen elterjedten használják, az orvosi gyakorlatban, mintegy évi 30 tonna gadolíniumot használnak fel kontrasztanyagként. (Általában 0,1-0,3 mmol/testsúly kg dózisban alkalmazzák, ami vizsgálatonként kb. 25 cm^3 0,5 M-os kontrasztanyag intravénás bejuttatását jelenti.)⁶³

Az első klinikai gyakorlatban is használt kontrasztanyag a $\text{Gd}(\text{DTPA})^{2-}$ (Magnevist)^{60,65} volt, ezt több mint 10 éve használják és már több mint 20 millió páciensnek adták be.⁵ A nyíltláncú $\text{Gd}(\text{DTPA})^{2-}$ -hoz hasonlóan ma már piacon levő makrociklusos kontrasztanyag a $\text{Gd}(\text{DOTA})^{-}$ (Dotarem).⁶⁶ A komplexek negatív töltése miatt az injekálás helyén nagy ozmózis-terhelés lép fel, ami egyes betegeknél fájdalommal járhat. Az ozmotikus koncentráció csökkentése érdekében semleges komplexeket fejlesztettek ki, a DTPA vagy DOTA ligandumok egy vagy két karboxil csoportjának semleges alkoholos-hidroxi, vagy amidcsoportra történő cseréjével.^{16,67,68} Ez mindenképpen a termodinamikai stabilitási állandó

csökkenésével jár, de a komplexek kinetikai inertsége nem romlik lényegesen, (amint ezt a későbbiekben megmutatjuk), ami az alkalmazhatóságnak fontosabb követelménye. Ilyen kereskedelmi forgalomban lévő anyagok a Gd(DTPA-BMA) (Omniscan), Gd(DTPA-BMEA) (Optimark), Gd(HP-DO3A) (Prohance), Gd(DO3AB) (Gadovist). Ezek az anyagok nagyon hasonló farmakokinetikai tulajdonságokkal rendelkeznek, az extracelluláris térben dúsulnak és a vesén keresztül ürülnek ki. A máj vizsgálatára az előzőekhez hasonló, de lipofil kontrasztanyagokat is kifejlesztettek: Gd(EOB-DTPA)²⁻ (Eovist)⁶⁹, és a Gd(BOPTA)²⁻ (Multihance).⁷⁰

II.2.3.1. A Gd³⁺-komplexek relaxivitása

Gd³⁺-komplexek jelenlétében a mért relaxációsebesség ($1/T_{1obs}$) a diamágneses ($1/T_{1d}$) és a paramágneses ($1/T_{1p}$) hozzájárulás összegeként adható meg:

$$\frac{1}{T_{1obs}} = \frac{1}{T_{1d}} + \frac{1}{T_{1p}} = \frac{1}{T_{1d}} + r_1[Gd] \quad (II.2.2.)$$

ahol r_1 a relaxivitas.⁵

A paramágneses fémkomplex relaxivitása a fémion belső (r_{1p}^{is}) és külső (r_{1p}^{os}) koordinációs szférájának, valamint egy második koordinációs szférának (r_{1p}^{2nd}) a relaxációsebesség-növelő hatásából tevődik össze.⁷¹

$$r_{1p}^m = r_{1p}^{is} + r_{1p}^{2nd} + r_{1p}^{os} \quad (II.2.3)$$

A jelenleg használt kontrasztanyagoknál a belső szféra hozzájárulása a teljes relaxivitáshoz kb. 50%.² A belső szféra relaxivitáshoz való hozzájárulás a paramágneses fémion és a hozzá közvetlenül koordinálódott vízmolekulák protonjai közötti dipól-dipól kölcsönhatásból származik, így a belső koordinációs szférában lévő vízmolekulák száma (q) alapvető fontosságú. A dipól-dipól kölcsönhatást befolyásolják a komplex rotációs korrelációs ideje (τ_R), az elektron-spin relaxációs idő (τ_S) és a belső szférában kötött vízmolekulák átlagos élettartama (τ_m) ($1/\tau_m = k_{ex}$, vízcsere sebesség), valamint a Gd-H távolság (r_{GdH}).

A belső szféra hozzájárulást a Swift-Connick elmélet alapján, az alábbi módon lehet kifejezni:⁷²

$$r_{1p}^{is} = \frac{cq}{55,55} \frac{1}{T_{1m}^H + \tau_m} \quad (\text{II.2.4})$$

ahol, T_{1m}^H a fémionokhoz kötött vízmolekulák protonjainak relaxációs ideje:⁷³

$$\frac{1}{T_{1m}^H} = k \frac{1}{r_{GdH}^6} f(\tau_R, \tau_S, \tau_m) \quad (\text{II.2.5})$$

A külső szféra hatásnak kis molekulatömegű Gd^{3+} -komplexek esetében lehet jelentős hozzájárulása a mért relaxációsebességhez. Ezt a Freed-féle elmélettel^{74,75} veszik figyelembe, ami a paramágneses fémionok elektronrelaxációs idejének felhasználásával, a paramágneses komplex közelében a vízmolekulák szabad diffúzióját írja le. A vízmolekulák szabad diffúziója azonban a Gd^{3+} -poliamino-polikarboxilát, -poliamino-foszfónát komplexek esetében durva közelítés^{76,77}, mivel a vízmolekulák a ligandum karboxilát csoportjaihoz közelkerülve, azokkal H-kötést tudnak kialakítani és így a paramágneses centrum közelében tudnak maradni egy ideig. Ez az idő azonban hosszabb, mint az a korrelációs idő, melyet a szabad translációs diffúzióból megbecsülhetünk. Ezek a vízmolekulák egy második koordinációs szférát alkotnak, amely hozzájárul az össz-relaxivitáshoz. Ezt a tagot Aime és munkatársai javaslatára vezették be, később Chen és munkatársai⁷⁸ kimutatták, hogy bizonyos esetekben a r_{1p}^{2nd} hozzájárulás a 30%-ot is elérheti.

II.2.3.2. A kontrasztanyagok fejlesztésének főbb irányai

A klinikai gyakorlatban használt kontrasztanyagok relaxivitása ($4\text{--}7 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$) egyelőre messze elmarad az elméletileg elérhető értéktől ($100 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$)⁵, így továbbra is intenzív kutatások folynak az említett relaxivitást meghatározó paraméterek optimalizálására.

A jelenlegi kontrasztanyagok nem specifikusak, még akkor sem, ha nem homogén a szerkezetbeli eloszlásuk. A kontrasztanyagok hatékonyságának növelése érdekében újabb és újabb specifikus anyagokat fejlesztenek ki.

Egyik ilyen vegyületcsalád az erek vizsgálatára kifejlesztett komplexek.⁶³ Ahhoz, hogy az érrendszert hatékonyan lehessen vizsgálni, a kontrasztanyagnak hosszabb időn keresztül a véráramban kell maradni és nem diffundálhat ki a

sejtközötti állományba. Ezek általában makromolekulák, melyeknek a hosszabb rotációs korrelációs idejük miatt (II.2.5. egyenlet) a relaxivitásuk is nagyobb. Ilyenek például a liposzómális kontrasztanyagok (a liposzóma belsejébe kapszulázzák a paramágneses fémiont tartalmazó komplexet)⁷⁹, a polimer kontrasztanyagok (több Gd^{3+} -iont tartalmazó lineáris vagy makrociklusos vegyületek)⁸⁰ és a plazma proteinjeihez nem kovalensen kötődő lipofil Gd^{3+} -komplexek.⁸¹

Egy másik fejlesztési irány a tumorspecifikus kontrasztanyagok kifejlesztése, melyek a tumorsejtek felületén kötődnek. Ezt leggyakrabban úgy érik el, hogy a Gd^{3+} -komplexet monoklonális antitesthez kapcsolják, ami specifikusan kötődik a tumorsejt felületén lévő receptorokhoz.⁸² A tumorokról nagy felbontású képet kapva, segítheti a még precízebb sebészeti vagy más terápiás kezelést.

A szövetek fizikai-kémiai állapotáról is nyerhetünk információkat az ún. intelligens kontrasztanyagok (smart contrast agents) alkalmazásával.⁷ Ezeknek a kontrasztanyagoknak a segítségével külső beavatkozás nélkül mérhetnek az adott szövetben hőmérsékletet⁸³, pH-t⁸⁴, az oxigén parciális nyomását⁸⁵, enzimaktivitást⁸⁶ és bizonyos fémionok koncentrációját (pl. Ca^{2+} , Fe^{3+}).^{87,88}

A hőmérsékletadatok a gyulladás helyeiről adnak információt, valamint a hipo- és hipertermiás kezelésekkor ily módon akár közvetlenül a szövetben is ellenőrizhető a hőmérséklet.

A pH-érzékeny kontrasztanyagok iránt az érdeklődés azért nőtt meg, mert kimutatták, hogy a tumoros sejtek sejtközötti állományában a pH = 6,8-6,9, tehát savasabb, mint a tumoros sejtben magában (pH = 7,2) ill. az egészséges szövetek sejtközötti állományában (pH=7,4).

A szövetekben az oxigén parciális nyomásának ismerete lehetőséget biztosít, hogy különbséget tegyünk vénás és artériás vér között, felismerjük az elhalt szövetrészeket, illetve a tumoros szöveteket.

Enzimaktivitás vizsgálatakor az adott kontrasztanyag szubsztrátként viselkedhet és az enzimkatalizált reakcióban megnő a kontrasztanyag relaxivitása.

Az MRI-t más diagnosztikai eljárással együtt is alkalmazzák, például komputer tomográfiával (CT) vagy pozitron emissziós tomográfiával (PET) kombinálva háromdimenziós képek, mozgóképek is kaphatók.

Az egyéb diagnosztikai alkalmazásokon kívül terápiás módszerekkel is próbálják összekapcsolni az MRI-t, mint például a gadolínium neutronbefogásos

ráktérápiával (GdNCT).^{13,14} A jelenleg is használt MRI kontrasztanyagok (Gd(DTPA)²⁻, Gd(BOPTA)²⁻) továbbfejlesztésével tumorspecifikus anyagokat állítanak elő, melyeket, miután a tumorhoz kötődtek, a terápia során termikus neutronokkal sugároznak be. A lejátszódó magreakció során (¹⁵⁷Gd(n,γ)¹⁵⁸Gd) a keletkező gamma-sugárzás (max. 7,8 MeV) és Auger-elektronok (max. 41 KeV) képesek a tumor-szövetet elpusztítani. A ¹⁵⁷Gd-nak számos előnye van a már gyakorlatban is alkalmazott ¹⁰B vegyületekkel szemben a következők miatt:¹⁵

- Az összes stabilis izotóp közül a ¹⁵⁷Gd-nak van a legnagyobb termikus neutron befogási hatáskeresztmetszete: 254.000 barn (¹⁰B: 3840 barn).
- A stabilis Gd³⁺-komplexeknek (MRI-kontrasztanyagok) igen nagy irodalma van, több mint 15 éve már eredményesen alkalmazzák őket és továbbfejlesztésükkel új, hatékony terápiás módszer fejleszthető.
- A terápia során MRI-vel nyomon lehet követni a kezelés hatásosságát, újabb kontrasztanyag beadása nélkül.

A Gd³⁺-poliaza-polikarboxilát komplexek tulajdonságainak vizsgálata, az egyre bővülő gyakorlati alkalmazások miatt is, egy fontos tudományterület. A kapott eredmények felhasználásával a jövőben egyre hatékonyabb és biztonságosabb vegyületek fejleszthetők.

II.3. DTPA és DTPA-amid származékok komplexei

A DTPA (dietylén-triamin-penaecetsav) egy széles körben elterjedt komplexképző ligandum. A gyógyászatban előszeretettel alkalmazzák a különböző radioaktív elemekkel képzett komplexeit a nukleáris medicinában⁸⁹, illetve Gd^{3+} -komplexét MRI kontrasztanyagként (Magnevist).⁶ A DTPA-amid származékok irodalma viszont csak kis részben kapcsolódik más fémionok pl. az In^{3+} stb. orvosi biológiai alkalmazásához⁹⁰, elsősorban az MRI kontrasztanyagok témakörén belül jelent meg igen sok publikáció. A $Gd(DTPA)^{2-}$ MRI kontrasztanyagként való alkalmazásának egyik hátránya a komplex negatív töltése (lásd 14. o.), aminek kiküszöbölésére számos töltés nélküli biszamid származékot szintetizáltak. A $Gd(DTPA-BMA)$ és a $Gd(DTPA-BMEA)$ klinikai gyakorlatban való elterjedése újabb és újabb biszamid származék előállítására sekkentette a kutatókat. Azért, hogy minél nagyobb relaxivitású, termodinamikai stabilitású és kinetikai inertségű komplexeket állítsanak elő a DTPA-BMA-ban lévő metil csoportokat különböző alkil vagy aril csoportokra cserélték le^{91,92,93,94,95,96,97,98,99,100}, ciklikus DTPA-származékokat^{101,102,103}, DTPA-bisz(amid)-alkil kopolimereket szintetizáltak^{80b}, illetve legújabban C-szubsztituált $GdDTPA$ -bisz(amid) származékokat¹⁰⁴ is előállítottak.

II.3.1. A Ln^{3+} -DTPA és -DTPA-amid származék komplexek szerkezete

Az $Ln(DTPA)^{2-}$ komplexek szerkezetét illetően, 1H és ^{13}C -NMR-es vizsgálatok alapján Jenkins és Lauffer¹⁰⁵ megállapították, hogy oldatban a DTPA 8 fogú ligandumként koordinálódik a ritkaföldfém ionokhoz, az 5 karbonil-oxigéneken és a három amin nitrogéneken keresztül. A Ln^{3+} -ion a dietylén-triamin rész három nitrogénjéhez való koordinációja a középső amin nitrogén kiralitását eredményezi, de a két enantiomert NMR-rel nem lehet megkülönböztetni. ^{17}O -NMR-es mérésekkel Gerald és munkatársai¹⁰⁶ mutatták ki, hogy a fémion belső koordinációs szférájában még egy vízmolekula található, melyet Eu^{3+} -lumineszcenciás vizsgálatokkal is alátámasztottak. A koordinált vízmolekulák számát a lantanida(III)-ion minőségétől függetlenül találták, így a $Ln(DTPA)^{2-}$ komplexekben a fémion teljes koordinációs száma 9.

A $\text{Ln}(\text{DTPA})^{2-}$ -származékok szilárd komplexeinek röntgenkristallográfias vizsgálatai alapján az oldatszerkezethez hasonló kristályszerkezetet azonosítottak, ahol az elemi cellákat háromszorosan lapcentrált trigonális prizmának találták.⁶³

Az *LnDTPA-monoamidoknál* is, ahol az amid-funkciós csoport a középső glicin egységhez kapcsolódik, feltételezhető, mint az $\text{Ln}(\text{DTPA})^{2-}$ esetén, a két izomer létezése. A $\text{La}(\text{DTPA-N}'\text{-MA})^+$ és $\text{Lu}(\text{DTPA-N}'\text{-MA})^+$ esetében $^1\text{H-NMR}$ vizsgálatokkal Sarka és munkatársai bizonyítani is tudták létezésüket.¹⁰⁷ Az acetát metilénekre két AB multipletet találtak, mivel az Ln-N kötés élettartama hosszú az NMR-időskálán, továbbá bizonyították, hogy az etilén hidak a koordinált ligandumban két különböző konformációban léteznek. Azoknál a *LnDTPA-monoamid* komplexeknél, ahol az amidcsoport az egyik szélső glicin-részhez kapcsolódik elvileg újabb két izomert feltételezhetünk. Az $\text{Ln}(\text{DTPA-N-MA})^+$ esetén ^1H és $^{13}\text{C-NMR}$ spektrumok segítségével a 4 izomer megkülönböztethető oldatban.

Az *LnDTPA-biszamid származék* komplexek $^{13}\text{C-NMR}$ spektrumai alapján Gerald és munkatársai megállapították, hogy ezen komplexek szerkezete hasonló a $\text{Ln}(\text{DTPA})^{2-}$ komplexek szerkezetéhez.⁹⁵ A ligandum 3 amin nitrogénen, három karboxilát csoport karbonil oxigénjén és két amidcsoport karbonil oxigénjén keresztül koordinálódik a Ln^{3+} -ionokhoz. Ezekben a komplexekben is egy vízmolekula található és a szerkezetüket torzult, háromszorosan lapcentrált trigonális prizmának azonosították. A szilárdfázisú komplexek röntgenkristallográfias vizsgálatai is ezt a szerkezetet támasztották alá.

Franklin és Raymond vizsgálták a *Ln(18-DTPA-dien)* komplexeket, melyekben a DTPA-bisz(amid) rész egy 18-tagú makrociklus tagja.¹⁰² A La^{3+} és Eu^{3+} komplexek kristályszerkezeteinek vizsgálata során oligomer szerkezeteket azonosítottak, melyek oldatban 0,2-0,5 M-os töménység mellett azonban nem jelentkeztek. Ezekben a komplexekben a lantanida(III)-ionhoz a DTPA-egységek ugyanúgy koordinálódnak, mint a nyíltláncú biszamid ligandumok esetében. Mivel az amidcsoportok makrociklusba vannak zárva, ezeknél a komplexeknél csak 2 enantiomer pár kedvezményezett térbelileg, melyeket $^1\text{H-NMR}$ spektrumok alapján azonosítani is tudtak.

II.3.2. A Ln³⁺-DTPA és -DTPA-amid származék komplexek stabilitása

A hard ritkaföldfém-ionok a poliaza-polikarboxilát ligandumokkal nagy stabilitású kelát-komplexeket képeznek. Az Ln(DTPA)²⁻ komplexek stabilitási állandóinak a Dy³⁺ és a Ho³⁺ körül van maximuma, melyet a csökkenő fémion méret miatt a ligandum funkció csoportjai között fellépő szterikus gátlással lehet magyarázni.

Ha az Ln(DTPA)²⁻ komplexben, a ligandum egy karboxil csoportját amid vagy észter csoportra cserélünk ki, akkor a ligandum továbbra is nyolcfunkciós marad, de ennek az ionos csoportnak egy nem-ionos csoportra történő kicserélése a Gd³⁺-komplex stabilitási állandójában kb. három nagyságrend csökkenést eredményez, mivel a komplexek stabilitásában a ligandum karjainak a töltése valamint a donorcsoportok bázicitása igen fontos szerepet játszanak.

Igen nagyszámú DTPA-bisz(amid) származékot állítottak elő, illetve vizsgáltak az elmúlt években,^{91,92,93,94,95,96,97,98,99,100} aminek az egyik oka, hogy ezek a ligandumok DTPA-biszanhidridből és a megfelelő aminből viszonylag könnyen előállíthatók, illetve a komplexek stabilitásához a különböző nem-ionos funkció csoport közül (amid, észter, hidroxialkil) az amid karbonil oxigénnek van a legnagyobb hozzájárulása.

A stabilitási állandókhoz az amidcsoport jelentős hozzájárulását Paul-Roth és Raymond igazolta.⁹⁶ A Gd³⁺-biszmetil-dietilén-triamin-triacetát (GdDTTA-BM) és a Gd(DTPA-BMA) stabilitási állandójának az összehasonlításával, ahol a Gd(DTPA-BMA) stabilitása 3,73 logK egységgel nagyobbak adódott. Ez az összehasonlítás nem csak a két amidcsoport hozzájárulását demonstrálja, mivel a DTTA-BM ligandumban a N-donoratomok bázicitása sokkal nagyobb, mint a DTPA-BMA-ban, ahol az amidcsoportok karbonil oxigénjén lévő parciális negatív töltés rontja az amin N-ek bázicitását.⁹⁶

Azonban attól függetlenül, hogy az amidcsoportok jelentékenyen hozzájárulnak a komplexek stabilitásához, a GdDTPA-bisz(amid) származékok stabilitási állandója 4-6 nagyságrenddel kisebb, mint a Gd(DTPA)²⁻ komplexeké. Itt kell megemlíteni, hogy a GdDTPA-bisz(amid) származékok ezen stabilitáscsökkenés ellenére nem toxikusabbak, mint a Gd(DTPA)²⁻, mivel az endogén Ca²⁺-mal, Zn²⁺-kel és Cu²⁺-zel legalább ugyanilyen mértékű stabilitáscsökkenés következik be.

A ciklikus DTPA-bisz(amid) származékok esetében érdekes jelenséget figyelt meg Carvalho és Kim.¹⁰¹ A gyűrűtagszám növelésével a Gd^{3+} -komplexek stabilitási állandója nőtt, míg a Zn^{2+} -komplexeké nem változott. Így ezen ligandumok esetében igen nagy szelektivitás is elérhető a Gd^{3+} -ra a Zn^{2+} -kel szemben.

II.3.3. A Ln^{3+} -DTPA és -DTPA-amid származék komplexek kinetikai viselkedése

II.3.3.1. Ln^{3+} -komplexek vízcseré reakciói

A Gd^{3+} -poliáza-polikarboxilát komplexek belső szférájában koordinált vízmolekula és a környező víztömeg közötti cserereakció lényegesen lassabb, mint a $[Gd(H_2O)_8]^{3+}$ akva-komplex esetében. [Ennek a vízcseré reakciónak igen fontos szerepe van a Gd^{3+} -komplex relaxivitása szempontjából (14.old)]. A vízcseré reakció sebességi állandója pl. a $[Gd(DTPA)(H_2O)]^{2-}$ esetében $k_{ex} = 4,1 \times 10^6 s^{-1}$,¹⁰⁸ míg a $[Gd(H_2O)_8]^{3+}$ esetében $k_{ex} = 8 \times 10^8 s^{-1}$.¹⁰⁹ A nyolcas koordinációjú akva-ion rendkívül gyors vízcseréje azzal magyarázható, hogy hidratációs egyensúlyban van a kismennyiségben jelenlevő $[Gd(H_2O)_9]^{3+}$ akva ionokkal¹¹⁰, mivel a ritkaföldfém sorozatban a rendszám növekedtével, a majdnem szomszédos Sm^{3+} -iontól változik a koordinációs szám 9-ről 8-ra. Így a $[Gd(H_2O)_8]^{3+}$ esetén a sebességmeghatározó, asszociatív lépés aktiválási energiája nem túl nagy, s ez eredményezi a gyors vízcserét. Ezzel szemben a 9-es koordinációs számú Gd^{3+} -poliáza-polikarboxilát komplexekben a sebességmeghatározó lépés disszociatív, melynek aktiválási energiája nagy, ami lassú cseréhez vezet. A poliamino-polikarboxilát komplexek merev belső koordinációs szférájának az átalakulása viszonylag nagy energiát igényel, az akvaion flexibilis belső koordinációs szférájához képest, ami szintén lassítja a vízcserét.

Abban az esetben, ha a $[Gd(DTPA)(H_2O)]^{2-}$ -ban egy karboxilát donorcsoportot amidcsoportra cserélünk, csökken a vízcserésebesség a $[Gd(DTPA-N-MA)(H_2O)]^-$ és $[Gd(DTPA-N'-MA)(H_2O)]^-$ esetén ($k_{ex} = 1,3 \times 10^6 s^{-1}$ és $1,9 \times 10^6 s^{-1}$).¹¹¹ Ennek okát Bligh és munkatársai⁹⁴ a Gd^{3+} -komplex koordinációs szférájában bekövetkező szterikus zsúfoltság csökkenésével valamint André és munkatársai¹¹² a ligandum negatív töltésének csökkenésével magyaráznak. A $GdDTPA$ -bisz(amid) komplexeknél a vízcserésebességekben további csökkenés

tapasztható $\{[\text{Gd}(\text{DTPA-BMA})(\text{H}_2\text{O})] \quad k_{\text{ex}}=0.45 \times 10^6 \text{ s}^{-1}, \quad [\text{Gd}(\text{DTPA-BMEA})(\text{H}_2\text{O})] \quad k_{\text{ex}}=0.39 \times 10^6 \text{ s}^{-1}\}.$ ¹¹³

A GdDTPA-biszamid-polietilén-glikol (PEG)¹¹⁴ ill. GdDTPA(DTPA-biszamid)-alkil $[-(\text{CH}_2)_n- \quad n=6, 10 \text{ és } 12]$ kopolimerek^{80b} vízcserejét Tóth és munkatársai vizsgálták. A hidrofil és hidrofób szegmensekből álló polimerláncok felületaktív anyagként viselkednek és az alkilsoportok hidrofób kölcsönhatásai miatt micellákat képeznek. Mivel a hidrofil Gd^{3+} -komplexekben a víz koordinációs helye az oldat fele helyezkedik el, így az oldószervíz korlátozás nélkül hozzáférhet, és a polimerek vízcsere sebessége és mechanizmusa nem változik a monomerekéhez képest.

II.3.3.2. Ln^{3+} -komplexek fémcseré reakciói

A nyíltláncú poliamino-polikarboxilát (pl. EDTA; 1,2-Diamino-ciklohexán-tetraecetsav (CDTA), Etilén-glikol-bisz(2-aminoetiléter)-N,N,N',N'-tetraecetsav, (EGTA); DTPA stb.) ligandumokkal képzett átmeneti fém(II, III) és a lantanida(III)-komplexek fém és ligandumcsere reakciói a $4 < \text{pH} < 8$ tartományban viszonylag lassan játszódnak le. Az ilyen típusú reakciókat az 1970-es évek közepével bezáróan Margerum és munkatársai¹¹⁵ foglalták össze, és azt találták, hogy minél nagyobb a komplexek termodinamikai stabilitása, annál inertebbnek mutatkoznak a kicserélődési reakciókban. A Ln^{3+} -komplexek izotópkicserélődési reakciói elsősorban protonkatalizált disszociációval mennek végbe, a kicserélő fém közvetlen támadásával végbemenő reakció csak kismértékben járul hozzá a reakció lejátszódásához.¹¹⁶ Mivel a Ln^{3+} -ionok koordinációs száma 8 vagy 9, a hatfogú EDTA- vagy CDTA-komplexekben a ligandumoknak nincs szabad donoresoportja, így csak kis valószínűséggel tudnak kétmagvú komplexek kialakulni, ami a fém közvetlen támadásával lejátszódó reakcióútnak egy igen fontos feltétele.

Az $\text{Ln}(\text{DTPA})^{2-}$ komplexeknél más a helyzet, mivel a kétszeres negatív töltés eredményeképpen növekszik a fém közvetlen támadásával lejátszódó reakcióút valószínűsége. Számos $\text{Ln}(\text{DTPA})^{2-}$ -komplex (Ln^{3+} : La^{3+} , Nd^{3+} , Gd^{3+} , Ho^{3+} , Lu^{3+}) Eu^{3+} -mal történő cseréjét tanulmányozták spektrofotometriás módszerrel az Eu^{3+} töltésátviteli sávján^{44b,45} vagy izotópcseré reakcióban.^{116c}

A Gd(DTPA)-amid származékokkal (DTPA-N-MA, DTPA-N'-MA, DTPA-BMA) Sarka és munkatársai¹⁷ végeztek részletes kinetikai vizsgálatokat az

Eu^{3+} , Cu^{2+} , illetve Zn^{2+} -ionokkal történő cserereakciók esetében. A cserereakciók egyrészt a Gd^{3+} -komplex protonkatalizált disszociációjával mehetnek végbe, másrészt a kicserélő fémionnak a nem-protonált, GdL komplexen történő közvetlen támadásával. Ha minden lehetséges reakcióutat figyelembe vettek, a $\text{Gd}(\text{DTPA})^{2-}$ és a $\text{Gd}(\text{DTPA-BMA})$ kinetikai stabilitása elég hasonlóan adódott, ami meglepő, hiszen a $\text{Gd}(\text{DTPA})^{2-}$ -nak kb. 6 nagyságrenddel nagyobb a termodinamikai stabilitása. Ezek az eredmények a ligandumban található amid funkciós csoport fontosságát hangsúlyozzák.

A ciklikus $\text{GdDTPA-bisz}(\text{amid})$ származékok Cu^{2+} -vel történő cserereakcióit Choi és munkatársai¹¹⁷ vizsgálták a $\text{pH} = 4-5$ tartományban. A komplexek protonkatalizált disszociációja a gyűrűtagszám növelésével nem túl nagy mértékben növekedett, míg a kétszerprotonált komplexek disszociációjának sebessége nem változott. A $\text{pH} > 6$ felett dominánssá váló, a Cu^{2+} -ion közvetlen támadásával történő reakcióút sebességi állandóját közel megegyezőnek találták. Mivel a Cu^{2+} -ion részvételével lefolyó csere sebessége a $\text{Gd}(\text{DTPA-BMA})$ esetében is hasonló, így *in vivo* alkalmazás estén, ahol a protonkatalizált disszociáció nem játszik jelentős szerepet, a ciklikus $\text{DTPA-bisz}(\text{amid})$ származékok, a kinetikai stabilitás terén nem mutatnak előnyösebb tulajdonságokat, mint az aciklikus Gd^{3+} -komplexek.

III. ALKALMAZOTT VIZSGÁLATI MÓDSZEREK

III.1. Az Y(DTPA-bA) komplex NMR spektroszkópiás vizsgálata

Az Y(DTPA-bA) komplex oldatban létező izomereinek és azok arányának felderítésére a legtöbb információt szolgáltató kísérleti módszer ^1H -NMR, ^{13}C -NMR spektrumok 1D és 2D változatainak felvétele. Mivel a komplex ^1H -NMR spektruma a ligandumban található metilén csoportok által adott AB dublettek átlapolása miatt meglehetősen bonyolult, ezért elsősorban a ^{13}C -NMR és a 2D-NMR spektrumok elemzésére hagyatkozhatunk. Az alábbi kétdimenziós NMR vizsgálatokat végeztük¹¹⁸:

COSY: (Correlation Spectroscopy) A legfontosabb és a leggyakrabban használt kétdimenziós kísérlet. ^1H - ^1H korrelációs spektroszkópia, melyben a keresztcsúcsok alapján lehet azonosítani az egymással skaláris csatolásban ($^1J_{\text{HH}}$) lévő protonokat.

NOESY: (Nuclear Overhauser Enhancement Spectroscopy) Azok között az NMR jelek között ad keresztcsúcsokat, amelyek egymáshoz térben közel helyezkednek el.

EXSY: (Exchange Spectroscopy) Azok a protonok adnak egymással keresztcsúcsokat, amelyek között elegendően gyors kémiai csere játszódik le.

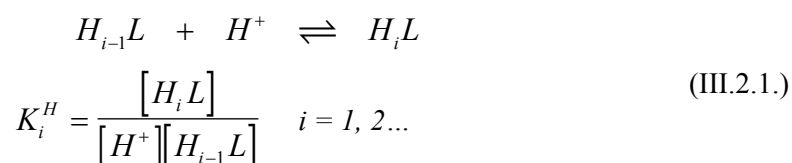
HETCOR: (Heteronuclear Correlation Spectroscopy) Ezzel a módszerrel olyan ^1H - ^{13}C keresztcsúcsokat detektálunk, amelyek akkor jönnek létre, ha a két atommag közvetlenül egymáshoz kötődik a molekulában, és így közöttük egy kötéson keresztüli skaláris csatolás van.

HMBC: (Heteronuclear Multiple Bond Correlation) Ugyanazon az elven alapszik, mint a HETCOR. A különbség az, hogy inverz (proton) detektálást végzünk, minek következtében a detektálási idő lényegesen lecsökkenthető és a több kötéson keresztüli csatolások ($^2J_{\text{CH}}$, $^3J_{\text{CH}}$) figyelhetők meg.

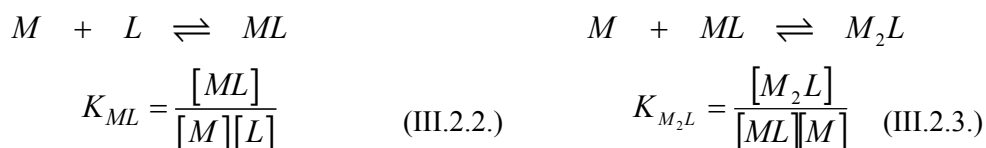
III.2. DTPA-bisz- és -trisz(amid) származék komplexek egyensúlyi vizsgálata

A poliaza-polikarboxilát-ligandumok fémkomplexei stabilitási állandóinak vizsgálatára az egyik leghatékonyabb módszer a pH-potenciometriás titrálás, mivel

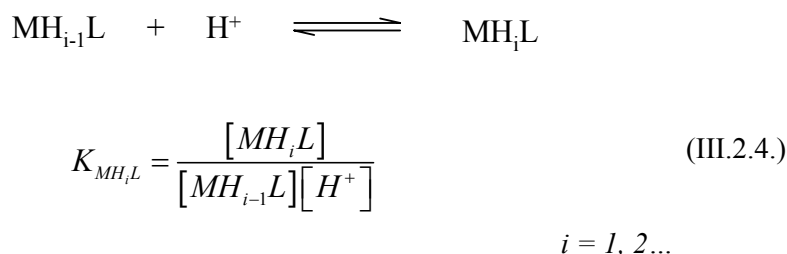
a komplexek képződése során a fém és a különböző mértékben protonált ligandum kölcsönhatása megváltoztatja az oldat H^+ -ion koncentrációját. A fémkomplexek stabilitási állandóinak számításához ismernünk kell a ligandum protonálódási állandóit, melyet a következő folyamattal és egyensúlyi állandóval írhatunk le:



Az 1:1 és 2:1 (kétmagvú) komplexek stabilitási állandóit a következőképpen definiálhatjuk:



Gyakran használjuk a komplex protonálódási állandóját is:



A III.2.4. egyenlet megfordításával a komplex deprotonálódási folyamatát írhatjuk le, melyet az ott feltüntetett egyensúlyi állandó reciproka jellemez (deprotonálódási állandó). A nagystabilitású lantanida(III)-komplexek esetében gyakran előfordul, hogy a komplexképződés már $pH < 2$ esetében is közel 100%-ban bekövetkezik, ahol a pH-mérés bizonytalan az üvegelektrod kisebb érzékenysége miatt. Ilyenkor kompetíciós titrálást alkalmazunk, azért hogy a komplexképződést a jobban vizsgálható nagyobb pH értékek irányába toljuk el. A kompetíciós titrálás során egy segédligandummal (L') versengésre kényszerítjük a

fém koordinációjáért a vizsgálandó ligandumot (L), mely folyamat protonálódással vagy H^+ -ion felszabadulással jár:



III.3. [Gd(DTPA-bbBA)(H₂O)] és [Gd(DTPA-tra)(H₂O)]⁺ komplexek vízcseresebességének vizsgálata

A paramágneses lantanida(III)-komplexek belső koordinációs szférája és az oldószer víz közötti vízcseré folyamat jól tanulmányozható ¹⁷O-NMR módszerrel. A semleges körüli pH-tartományban a vízcseré sebessége megegyezik a protoncsere sebességével, így elvileg a ¹H-NMR is alkalmas lenne a vízcseresebesség meghatározására, azonban az oxigén, mivel közvetlenül koordinálódik a fém-ionhoz sokkal érzékenyebb a paramágneses hatásra. A különböző hőmérsékleteken mért paramágneses ion okozta ¹⁷O jelek eltolódásaiból ($\Delta\omega$) és az ¹⁷O-relaxációsebességek ($1/T_1$, $1/T_2$) változásaiból kiszámítható a paramágneses komplex vízcseresebessége, rotációs korrelációs ideje, az ESR mérésekből a paramágneses komplexre jellemző elektron relaxációs paraméterek. Nagynyomású ¹⁷O-NMR mérésekből következtetni lehet a vízcseresebesség mechanizmusára, a kiszámított aktiválási térfogatok (ΔV^\ddagger) alapján.

III.4. Gd³⁺-DTPA-bisz- és -tris(amid) származék komplexek fémcseré kinetikájának vizsgálata

A fémcseré reakciókat pszeudo-elsőrendű feltételeket biztosítva, általában a kicserélő fém nagy feleslegét alkalmazva, állandó pH-ra pufferolt közegben vizsgálhatjuk. Ezen reakciók során lehetőség szerint arra kell törekedni, hogy vagy csak a kiindulási komplexnek, vagy csak a kicserélő fémmel kialakuló komplexnek legyen fényelnyelése, ill. paramágneses relaxációsebességet növelő hatása.

A Gd³⁺-komplexek Eu³⁺- és Cu²⁺-csere vizsgálatai során spektrofotometriás (mivel csak az Eu³⁺- és Cu²⁺-komplexeknek van a vizsgált rendszerben fényelnyelése) míg a Lu³⁺- és Zn²⁺-csere folyamán ¹H-relaxometriás

módszer használható. Ez utóbbira az ad lehetőséget, hogy a Gd^{3+} -komplex hatása a vízprotonok relaxációsebességére kisebb, mint a szabad Gd^{3+} -ioné, a relaxációsebességre gyakorolt hatása arányos a koncentrációval, változása jól mérhető.

A komplexek fémioncsere reakcióit, a kicserélő fémion feleslege jelenlétében, a következő sebességi egyenlettel írhatjuk le:

$$-\frac{d[GdL]_t}{dt} = k_{obs} [GdL]_t \quad (III.4.1.)$$

ahol a k_{obs} pszeudo-elsőrendű sebességi állandó. A t alsóindex a komplex teljes koncentrációját jelöli.

A k_{obs} meghatározása, a jelintenzitás növekedése esetén, a III.4.2. egyenlet alapján történik a módszerre jellemző paraméter különböző t időpillanatokban történő mérésével.

$$I_t = (I_r - I_v) e^{-k_{obs} t} + I_v \quad (III.4.2.)$$

A mért I_t paraméter a spektrofotometriás módszer alkalmazásakor az abszorbancia, míg a relaxometriában az I/T_1 relaxációsebesség a t időben, az I_r a reaktánsok, I_v a végtermékek abszorbancia ill. I/T_1 értékei.

IV. EREDMÉNYEK

IV.1. Az Y(DTPA-bA) komplex NMR spektroszkópiás vizsgálata

A DTPA-bisz(amid) származék ligandumok, mint nyolcfogú ligandumok, három amin nitrogéne, három karboxilát csoport karbonil oxigénjén és két amidcsoport karbonil oxigénjén keresztül koordinálnak a ritkaföldfém ionokhoz. Ezekben a komplexekben egy vízmolekula található még a belső koordinációs szférában és a szerkezetüket torzult, háromszorosan lapcentrált trigonális prizmának azonosították.⁹⁵

Az LnDTPA-bisz(amid) komplexekben a dietilén-triamin váz terminális nitrogénjei királisak, ami a centrális nitrogénnel együtt már 3 királis nitrogén atomot eredményez. A három királítás központot tartalmazó komplexnek 2^3 optikai izomere létezhet és így az enantiomerek 4 diasztereomer párját lehet megkülönböztetni (transz, szin, anti és cisz attól függően, hogy az amidcsoportok a háromszorosan lapcentrált trigonális prizmában egymáshoz képest hogyan helyezkednek el).

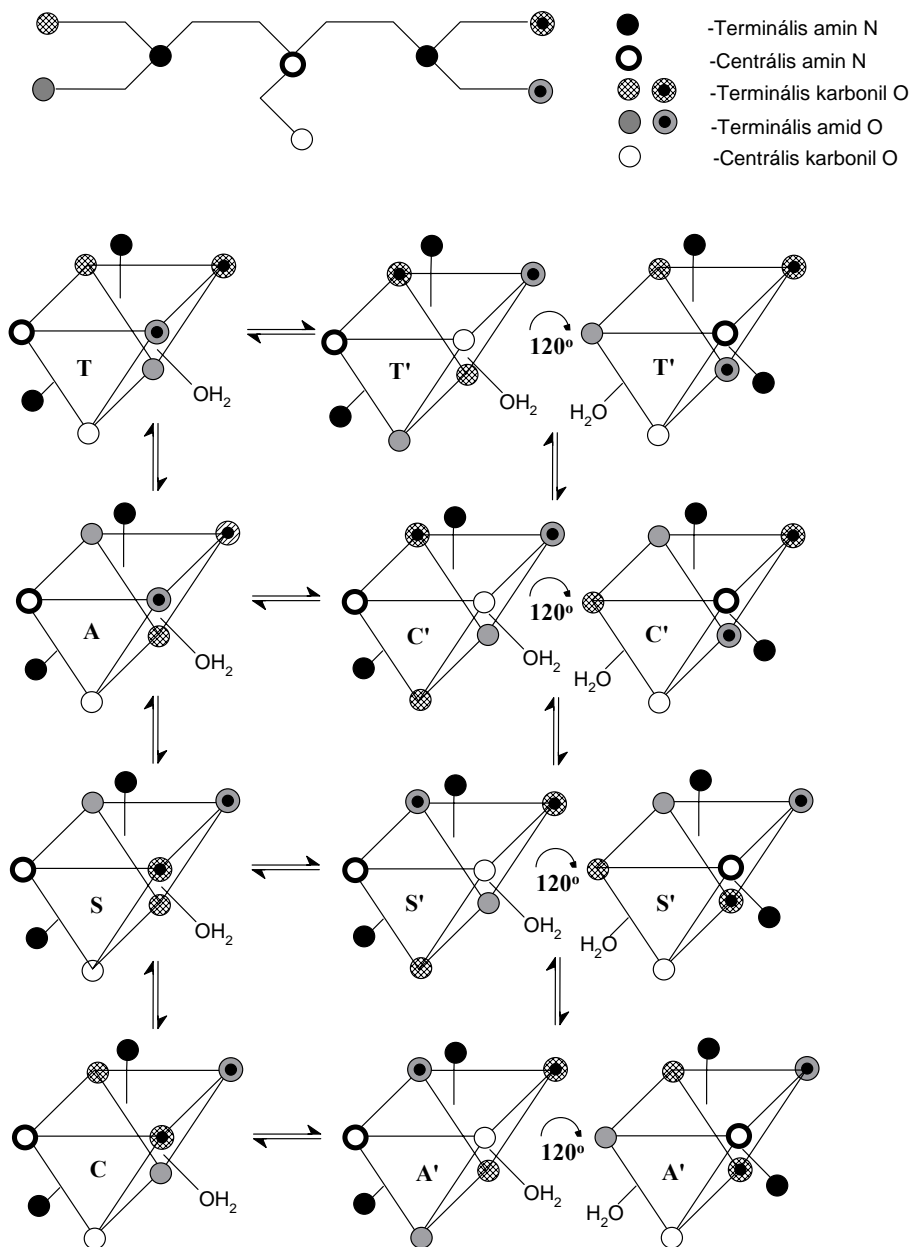
La(DTPA-BMA) és Lu(DTPA-BMA) komplexek esetén, Rizkalla és munkatársai⁶⁷ ^1H -NMR vizsgálattal legalább két izomert azonosított, míg White¹¹⁹ ill. Aime és munkatársai⁹⁸, a diamágnese Lu(DTPA-BMEA) és Lu(DTPA-BBA) komplexek ^{13}C -NMR vizsgálata során legalább három izomer jelenlétét tudták bizonyítani, melyek „lassú csere” kapcsolatban állnak egymással. [$\text{H}_3\text{DTPA-BBA}$ = dietilén-triamin-N,N,N',N'',N'''-pentaecetsav-N,N'''-bisz(benzil-amid)]. Geraldés és munkatársainak⁹⁵ alacsony hőmérsékleten (-30°C) sikerült mind a 4 diasztereomer párt kimutatni, ^{13}C -NMR segítségével a Nd(DTPA-bisz-propil-amid) β -metilén jeleinek vizsgálatával.

Az általunk vizsgált DTPA-bisz(amid) származék ligandumok közül a legegyszerűbb ligandum Y^{3+} -komplexének próbáltuk az oldatbeli szerkezetét felderíteni. A Gd^{3+} -ion helyett, annak nagy mágnese momentumuma miatt, ilyen jellegű vizsgálatokra a gyakorlatban diamágnese lantanidákat vagy az itriumot használják. Mi az utóbbit választottuk, mivel mérete közel azonos a Gd^{3+} -ionéval, de attól némileg kisebb, melynek hatására a komplexben lévő fluxionális mozgások némileg lassabbak és így azok könnyebben tanulmányozhatók ^1H - és ^{13}C -NMR segítségével.

A komplex egydimenziós $^1\text{H-NMR}$ spektruma bonyolult, mivel a különböző izomerek metilén protonjai által adott AB dublettek átlapolnak, így a spektrum nehezen tanulmányozható. Ezért az egy dimenziós $^1\text{H-NMR}$ spektrumok felvételén túl az Y(DTPA-bA) oldatbeli szerkezetének felderítésére, az izomerarányok meghatározására és az izomerek azonosítására $^{13}\text{C-NMR}$, COSY, NOESY, EXSY, HETCOR és HMBC vizsgálatokat végeztünk.

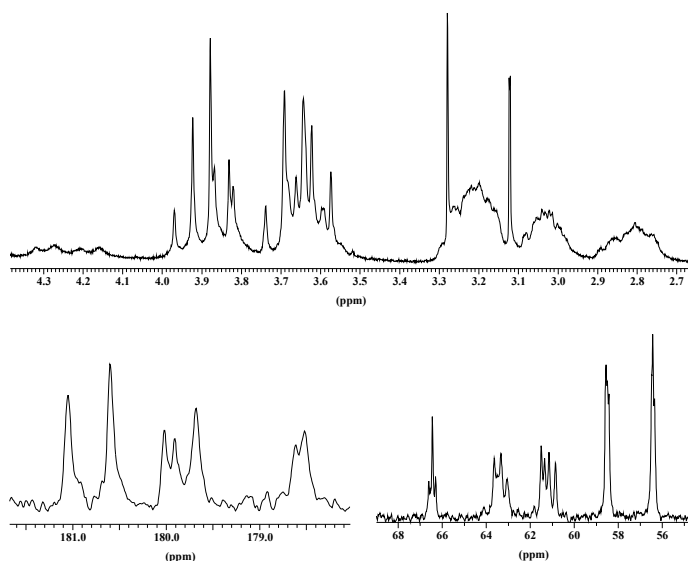
Az izomerek egymásba alakulásának vizsgálata során két folyamatot lehet elkülöníteni, egyrészt a dietilén-triamin váz középső N-jének (IV.1.1. ábra vízszintes nyilak), másrészt a terminális N-jeinek (IV.1.1. ábra függőleges nyilak) a racemizációját. (Ezen átalakulások bemutatására a IV.1.1. ábra tetején látható jelöléseket használjuk.)

A középső nitrogének racemizációja során a fém-N kötések változatlanul maradnak, csak a karbonil-csoportok „körbejárása” figyelhető meg a háromszorosan lapcentrált trigonális prizma szerkezetben. Ez a mozgás csak két állapot között jöhet létre, mert a centrális nitrogén rögzített volta csak ezt engedi meg. Ha a trigonális prizma merőleges tengely körül egy 120° -os forgatást végzünk, akkor a *transz* és a *szin* izomerek esetén a kiindulási állapot tükörképi párjait kapjuk. Ezek az enantiomer párok akirális közegben NMR-rel megkülönböztethetetlenek. Az *anti* és a *cisz* izomerek esetén a középső N racemizációja egy diasztereomert eredményez, ami az *anti* izomer esetén (IV.1.1. ábra 2. sor) éppen a *cisz* izomer tükörképi párja. [A *cisz* izomer középső N-jének racemizációja során pedig az *anti* izomer tükörképi párjához jutunk (IV.1.1. ábra 4. sor).] Az ily módon kapott diasztereomerek NMR-rel megkülönböztethetőek. A centrális nitrogén racemizációja, mivel nem jár a fém-N koordinációs kötés felhasadásával gyorsabb, mint az ún. terminális N-ek racemizációja (IV.1.1. ábra függőleges nyilak), ahol az Y^{3+} -N kötés is felhasad.⁹⁵ A molekula térszerkezetének tanulmányozása azt mutatja, hogy az azonos oldali $-\text{CONH}_2$ és $-\text{COO}^-$ karbonil-oxigén donor atomok egymással való helycseréje, a ligandum teljes imino(mono)acetát-(mono)amid fragmensének $(\text{NCH}_2\text{COO}^-)(\text{CH}_2\text{CONH}_2)$ disszociációjával jöhet csak létre. E változás során minden esetben egy másik diasztereomer keletkezik. Ezek természetesen NMR-rel megkülönböztethetők.



IV.1.1. ábra Az Y(DTPA-bA) komplexek izomerjeinek átalakulásai a trigonális prizma modellnek megfelelően. A jobb oldali oszlopban egy 120° -os forgatással az összehasonlítást tesszük lehetővé. A betűjelek a négyzetes anti-prizmás ábrázolás jelei, a kezdőbetűk szerint C *cisz*, T *transz*, A *anti* és S *szin*. A felső vessző az enantiomerek jele.

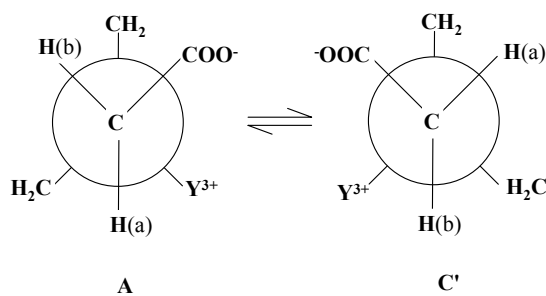
Mivel nagyobb hőmérsékleten a középső N-racemizációja várhatóan gyors lesz mind a ^1H - mind ^{13}C -NMR időskálán, ezért egyszerűbb spektrumok reményében a ^1H - és ^{13}C -NMR méréseket 323 K-en végeztük (IV.1.2. ábra).



IV.1.2. ábra Az Y(DTPA-bA) komplex ^1H és ^{13}C -NMR spektruma 323 K-en

Ha megfigyeljük az IV.1.1. ábrát láthatjuk, hogy koordinált DTPA-bA ligandum egyetlen szénatomja sem ekvivalens mágnesesen. Természetesen ebből az következik, hogy a rajtuk lévő protonok sem, ami a IV.1.2. ábrán mutatott jelgazdag NMR spektrumokat eredményezi. A dietilén-triamin lánc CH_2 protonjai 2,7 és 3,3 ppm között jelennek meg széles átfedő jelek formájában. Valószínű az előzőekben vázolt és ezen túl még a C-C kötés „billegő” mozgása miatt megjelenő dinamikai jelenségek okozzák ezt és teszik kiértékelhetlenné szerkezeti szempontból a spektrumnak ezt a részét. A CH_2COO^- proton jelei általában AB dublett párok. Ha a csere folyamatoktól eltekintünk, akkor egy-egy disztereomernek 5 AB dublettje van, azaz 20 ilyen típusú multiplétt alkotja a ^1H -NMR spektrumot, ha mind a négy diasztereomer jelen van az oldatban. Az enantiomerek közötti csere folyamat, bár két olyan részecske között játszódik le, amelyek NMR spektruma azonos, mégis egyszerűsíti a spektrumot, mert egy jellé olvad össze e folyamat következtében a két-két terminális CH_2COO^- és a CH_2CONH_2 AB dublettje. A centrális CH_2COO^- AB dublettje pedig egy szinguletté alakul, azaz a

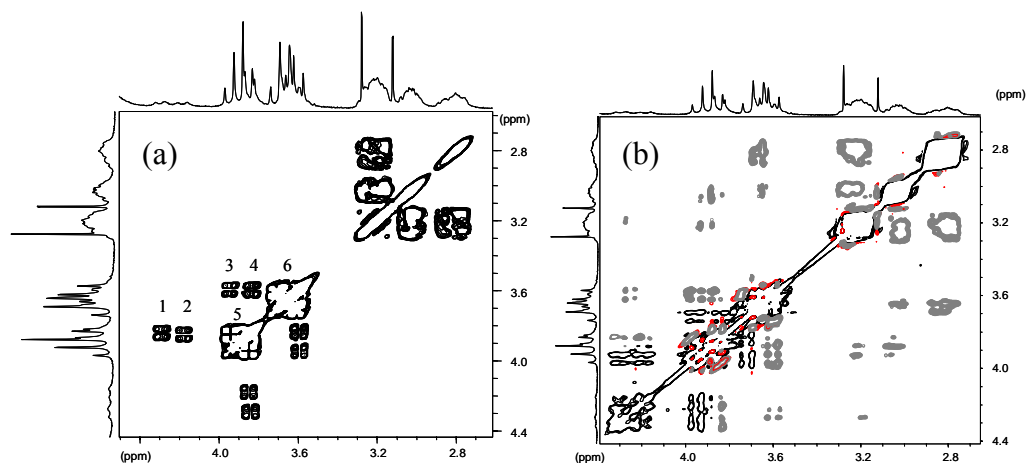
két hidrogén atom helyet cserél. Ez igen gyakori a DTPA-származék komplexeknél, hogy a centrális acetát kar CH_2COO^- szingulettet ad.¹⁰⁷ Ebből az következik, hogy magasabb hőmérsékleten a *transz* és *szin* izomerek ^1H -NMR spektrumában egyaránt 2 AB dublett és egy szingulett várható. Ezek fontos tulajdonsága, hogy egymásba át nem alakulhatnak, mert több koordinatív kötés egyidejű felhasadása valószínűtlen, tehát közöttük közvetlen kémiai csere folyamat nem várható. A IV.1.2. ábra szerint a *cisz* (C) izomer a centrális nitrogén racemizációjával gyors folyamatban *anti* (A') izomerré alakulhat át 323 K-en. Ez azt jelenti, hogy e két részecskének 5 AB dublettet kellene adnia a kiátlagolódtott spektrumban. Ez hasonlóképpen igaz a A és C' közötti csere folyamatra. Továbbá, mivel A és A' és C és C' NMR spektruma azonos mert enantiomerek, arra következtethetünk, hogy a négy részecske (A, A', C, C') egyetlen „jelkészletet” azaz 5 AB dublettet adna. Viszont, a centrális acetát metilén protonokra a gyors csere következtében nem AB dublettet, hanem szingulettet kell hogy kapjunk, mivel a centrális CH(a)H(b) csoportban a H-atomok helyet cserélnek (IV.4.3. ábra) az $A \rightarrow C'$ átalakulás során. Ebből az következik, hogy az *anti* és a *cisz* diasztereomerek együttesen a négy AB dublettet és egy szingulettet adnak.



IV.1.3. ábra A *anti* és *cisz* diasztereomer egymásba alakulásának Newman-projekciója a centrális CH_2 szénatomját és a centrális nitrogén atomot és véve tengelynek.

Az Y(DTPA-bA) komplexre 323 K-en a CH_2COO^- protonok tartományában összesen 6 AB dublettet találunk a COSY spektrumban (IV.1.4. (a) ábra), melyeket meg is számoztunk. A ^1H NMR spektrumok dekonvolúciója alapján kiderült, hogy négy közülük azonos intenzitású (1-4), viszont kettő intenzitása közel a duplája (5, 6). Ha feltételezzük, hogy az *anti* és *cisz* izomerek NMR kémiai eltolódásai nem különböznek lényegesen, akkor az 1-4 AB dublett a

transz és a *szin* izomerekhez, míg 5-6 dupla intenzitású AB dublett, pedig az *anti* és a *cisz* izomerekhez rendelhetők, melyek kb. azonos mennyiségben vannak jelen 323 K-en. A hat AB dublett azonosítását a NOESY spektrum elemzésével támaszthatjuk alá (IV.1.4. (b) ábra).



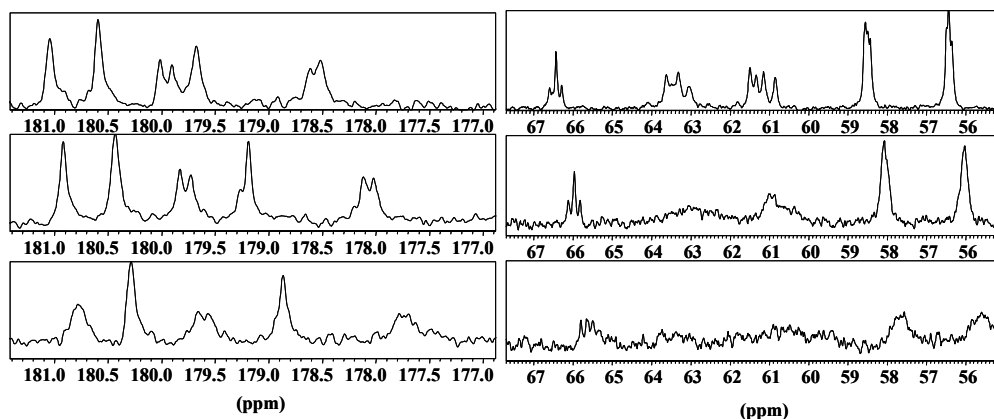
IV.1.4. ábra Az Y(DTPA-bA) komplex ^1H COSY (a) és NOESY (b) spektruma. $T=323\text{ K}$, $\text{pH}=5,9$. A szürke színű keresztcsúcsok antifázisúak, azaz ún. NOE csúcsok.

A IV.1.1. ábra azt is mutatja, hogy a *transz* és a *szin* diasztereomerek között cserefolymat nem következhet be, hiszen az egyszerre két terminális nitrogén de-koordinációját követelné meg. Ennek valószínűsége kicsi. Azaz a *transz* diasztereomer *szin* diasztereomerré alakulása a *cisz* vagy az *anti* izomeren keresztül történik nagy valószínűséggel. Ezt tükrözi a IV.1.4. (b) ábrán a NOESY spektrum, amely szerint a csere keresztcsúcsok (fekete) éppen ezek között a jelek között vannak, de nincsenek a *transz* és a *szin* AB dublettjei között. A szingulették közötti keresztcsúcsok is igazolhatnák ezt az elgondolást, de sajnos ez a zsúfolt spektrumban nem láthatóak. Azaz a ^1H -NMR spektrumok eddigi elemzése alátámasztja azt, hogy az Y(DTPA-bA) komplex oldatában 323 K-en a négy lehetséges disztereomer azonos koncentrációban van jelen.

A ligandumban található C-atomok mágnesesen nem egyenértékűek, ezért a 4 diasztereomernek megfelelően minden egyes szénatomra négy jelet várhatunk ^{13}C -NMR spektrumban, ha a 4 diasztereomer azonos arányban van jelen, ahogyan

azt feltételezzük. A felvett spektrumban (IV.1.2. ábra) 55-70 ppm tartományban 5 jelcsoport található, melyek mindegyike több jelből áll, ami a 4 izomer jelenlétét feltételezi. A ^1H - ^{13}C HETCOR kísérletekben az 56,5 ppm és 58,5 ppm-nél lévő C-jelek a 2,6-3,3 ppm között található 3 széles jelet adó láncprotonokkal adnak keresztcsúcsot, azaz ezeket a dietilén-triamin váz CH_2 -jeleiként azonosíthatjuk.

Az acetát metilének szenei 3 jelcsoportot adnak, amit azzal magyarázhatunk, hogy a 2-2 terminális $-\text{CH}_2\text{COO}^-$ és $-\text{CH}_2\text{CONH}_2$ csoportok a magas hőmérsékleten létrejövő gyors racemizáció következtében 1-1 jelet adnak, melyek 61 és 63,5 ppm-nél jelentkeznek 323 K-en. Ezek négy csúcsot mutatnak jelcsoportonként, igen közeli kémiai eltolódásokkal. Az inverz gated módon (kvantitatív) felvett ^{13}C NMR spektrum alapján 66,5 ppm-nél lévő csúcs a középső karboxilát metilénekhez tartozik. Az intenzitás itt 1:1:2 ami ugyancsak a négy, azonos arányú diasztereomerek jelenlétét igazolja. Ha a ^{13}C NMR spektrum hőmérséklet-függését megvizsgáljuk látható, hogy a középső CH_2COO^- szénatomok jelei (66,5 ppm) kevésbé érzékenyek a hőmérséklet változtatására. Az mindenesetre látszik, hogy a jelek szélesednek ha a hőmérséklet csökken, azaz az enantiomerek közötti „gyors csere” feltétel 323 K-en fennáll.

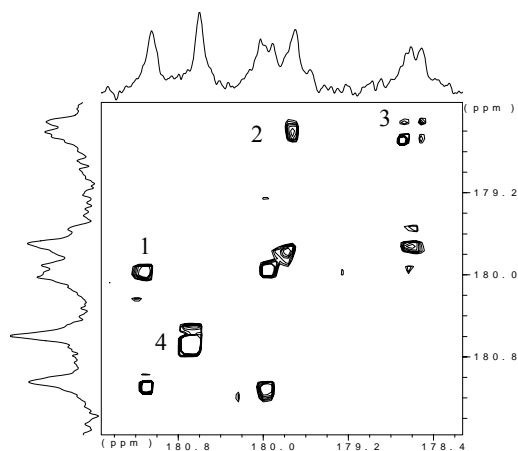


IV.1.5. ábra Az Y(DTPA-bA) ^{13}C -NMR spektruma 323, 298 és 274 K-en (felülről lefelé haladva)

A ^{13}C -NMR spektrum 177-182 ppm tartományában jelentkeznek a karbonil szenei jelei, összesen 5 jelcsoport. Egy izomer 3 karbonil-szén jelet ad (terminális $-\text{CH}_2\text{COO}^-$, centrális $-\text{CH}_2\text{COO}^-$ és $-\text{CH}_2\text{CONH}_2$) a magas hőmérséklet következtében bekövetkező gyors izomerizációs folyamatok miatt. Ha az egyes

jeleket integráljuk (összesen 12), az is azt mutatja, hogy 323 K hőmérsékleten a négy lehetséges izomerből mind a négy jelen van, kb. azonos arányban.

A 25 °C-on felvett 2D EXSY spektrumban nem találtunk cserére utaló keresztcsúcsokat a karbonil oxigén szén jelei között, míg a 323 K-en felvett EXSY spektrumban igen (IV.1.6. ábra).



IV.1.6. ábra Az Y(DTPA-bA) 2D ^{13}C EXSY NMR spektruma. (pH = 5,9; T = 323 K a keveredési idő 1 s)

Két intenzív keresztcsúcs azonosítható (1) a 180,0 és 181,1 ppm-nél jelentkező csúcsok, illetve (2) a 179,7 és 178,55 ppm-es jelek között. Ez azt jelenti, hogy ezek azonos típusú karbonilok, vagy $-\text{COO}^-$ -k vagy $-\text{CONH}_2$ -k. Megfigyelhető, hogy az intenzív keresztcsúcsot adó jelpárok egyike mindkét esetben két jelből áll. Ezek valószínűleg a *transz* és az *szin* izomerek $-\text{COO}^-$ illetve $-\text{CONH}_2$ jelei. Az is látszik, hogy ezek keresztcsúcsot csak a dupla intenzitású jelekkel adnak, azaz azokkal amelyek feltevésünk szerint a *cisz* és *anti* izomerek közös jelei, vagy a gyakorlatilag azonos kémiai eltolódású jelei (a proton spektrumok alapján). Látható még egy kis intenzitású keresztcsúcs (3) 178,65 és 178,55 ppm-es jelek között, ami *trans* \rightarrow *anti* cserére utal, azonban a keresztcsúcs jóval kisebb intenzitásából a közvetett cserére, azaz a *trans* \rightarrow (*cisz*) \rightarrow *anti* cserefolyamat megjelenésére következtethetünk.

A 180,6 ppm-nél lévő jel (4) nem ad keresztcsúcsot más csúcsokkal, ez a HETCOR és a HMBC spektrumok alapján a centrális karboxilát kar karbonil szénként ($-\text{COO}^-$) azonosítható.

Az ^{13}C - és ^1H - NMR spektrumok alapján sikerült az YDTPA-bA komplex esetében megállapítani azt, hogy nagy valószínűséggel a négy lehetséges diasztereomer azonos koncentrációban van jelen 323 K hőmérsékleten. Ez a tapasztalat különbözik a H-helyett hosszabb R (alkil) csoportot tartalmazó LnDTPA-bisz(amid) komplexek esetében feltételezett arányoktól⁹⁸, de ez a H atom kis térkitöltése miatt nem meglepő.

IV.2. DTPA-bisz- és –trisz(amid) származék komplexek egyensúlyi vizsgálata

Az elmúlt években igen nagy számú DTPA-bisz(amid) ligandum származékot állítottak elő, mivel ezek töltés nélküli komplexet képeznek a Gd^{3+} -mal és MRI kontrasztanyagként, a véráramba történő injektálásuk során az ozmolitikus terhelés lényegesen kisebb, mint a $Gd(DTPA)^{2-}$ vagy $Gd(DOTA)^-$ esetében. Azonban számos kísérleti eredmény alapján úgy tűnik, hogy a ligandumokon történő egy anionos donor csoport (karboxilát csoport) nem-ionosra történő cseréje a Gd^{3+} -komplexek stabilitási állandóját kb. 2-3 nagyságrenddel csökkenti. Így pl. az irodalomban eddig közölt $GdDTPA$ -bisz(amid) ligandumok stabilitási állandója átlagosan kb. 4-6 nagyságrenddel kisebb, mint a $Gd(DTPA)^{2-}$ komplexé. Ezen jelentős stabilitás csökkenés ellenére a $Gd(DTPA-BMA)$ és a $Gd(DTPA-BMEA)$ ma is biztonságosan használt MRI kontrasztanyagok, mivel önmagában csak a Gd^{3+} -komplex stabilitási állandója alapján nem lehet megjósolni egy anyag használhatóságát.

Korábban már viszonylag nagy számú DTPA-bisz(amid) származék ligandumot előállítottak, de részletesen még nem vizsgálták az amidcsoportokon lévő szubsztituensek számának hatását a termodinamikai stabilitásra. A DTPA-bA, DTPA-bBA és DTPA-bbBA ligandumok Gd^{3+} , Cu^{2+} valamint Zn^{2+} -komplexeinek stabilitási állandóját e célból határoztuk meg. A DTPA-tra ligandum vizsgálatával az irodalomban elsőként, a DTPA-származékokban egy harmadik amidcsoport szerepéről kívántunk meggyőződni, arról, hogy a Gd^{3+} -komplexekben bekövetkező stabilitás csökkenés tovább folytatódik-e. A DTPA-bNOPA, DTPA-bNOPMA és DTPA-bbNOPMA ligandumok Gd^{3+} -komplexeinek stabilitási állandóját is azért határoztuk meg, hogy az amidcsoporton levő szabadgyököt tartalmazó szubsztituensek minőségének ill. számának változtatásával információt kapjunk ezeknek a stabilitási állandót befolyásoló szerepéről.

Az MRI kontrasztanyagok (Gd^{3+} -komplexek) szervezetben való viselkedése, kiürülésük, a testfolyadékokban található fémionokkal ill. ligandumokkal történő esetleges kölcsönhatásuk, a Gd^{3+} -komplexek disszociációja egy jelentősen kutatott terület manapság. Például, néhány egyszerűsített plazma-modell használható a vérplazmában található szabad Gd^{3+} -ionok (az MRI kontrasztanyag injektálása után) koncentrációjának kiszámítására.^{16,120} Az ilyen

jellegű számításokhoz ismerni kell az adott biológiai rendszerben jelenlevő fémionokat ill. ligandumokat, az ezekből képződő komplexek összetételét, a lehetséges részecskék stabilitási állandóit és a ligandumok protonálódási állandóit. A szervezet testfolyadékában, elsősorban a vérplazmában található fémionok közül a legfontosabb a Zn^{2+} , ami relatíve nagy kicserélhető koncentrációban (1×10^{-5} M), ill. a Cu^{2+} , amiből a kicserélhető mennyiség egy nagyságrenddel kisebb (1×10^{-6} M) mennyiségben van jelen.¹²¹ Ezért határoztuk meg az általunk vizsgált ligandumok Zn^{2+} és Cu^{2+} komplexeinek a stabilitási állandóit.

A fémkomplexek stabilitási állandóinak meghatározásához szükséges protonálódási állandókat minden esetben pH-potenciometriás titrálással határoztuk meg. A ligandumok titrálási görbéi a IV.2.1-7. ábrákon (43-45. o.) láthatók.

A titrálási adatokból (180-220 ml-pH adatpár) kiszámított protonálódási állandókat a IV.2.1. táblázatban tüntettük fel. Összehasonlítás céljából a DTPA, DTPA-BMA és a DTPA-bisz(metil-metoxietil)amid (DTPA-BMMEA) ligandumok protonálódási állandóját is feltüntettük (zárójelben a számított standard deviáció értékek szerepelnek).

A DTPA-bA protonálódási állandóját korábban Geraldes és munkatársai már meghatározták 0,1 M NaCl ionerősség mellett. Az általunk meghatározott pK_i^H értékek elfogadható egyezést mutatnak az ő eredményeikkel. (DTPA-bA: 9,2; 4,5; 3,2)¹²² a DTPA-bBA esetében is (9,36; 4,44; 3,31; 0,1 M KNO_3).⁹⁰

A DTPA-bisz(amid) ligandumok protonálódási sorrendjét NMR-es vizsgálatokkal határozták meg.^{122,123} Az első protonálódási állandó ($\log K_1^H$) a ligandumokban található dietilén-triamin váz középső amin N-jének protonálódásához rendelhető, mely az általunk vizsgált DTPA-bisz(amid) ligandumokra ill. a DTPA-BMA, DTPA-BMMEA ligandumokra nagyon hasonló érték. A DTPA-tra esetén ez némileg kisebb, aminek az oka, hogy a centrális N-hez kapcsolódó -C-NH-Me csoport amidprotonja H-kötést tud képezni ezzel az amin N-el, melynek így a bázicitása lecsökken. A ligandumra fellépő második proton a dietilén-triamin váz egyik terminális N-jét protonálja, miközben az első proton, döntően a másik terminális N-re kerül. A harmadik proton a középső amin N-hez kapcsolódik ill. részben, a DTPA-biszamidok esetében, a hozzá kapcsolódó karboxiláthoz. A további protonok a karboxilát csoportokat protonálják.^{122,123} A második protonálódási állandó ($\log K_2^H$) értékei a nem szubsztituált (DTPA-bA) és a monoszubsztituált (DTPA-bBA) DTPA-bisz(amid) származékok esetében kb. 2

nagyságrenddel kisebbek, mint a diszubsztituált ligandumok (DTPA-bbBA, DTPA-tra) esetében. Hasonló eredményeket kaptak a DTPA-BMA és a DTPA-BMMEA esetén is, melyet a DTPA-BMA amidprotonjai és a terminális N-ek vagy a karboxilát csoportok között létrejövő erős H-kötésekkel magyaráztak.^{122,123}

IV.2.1. táblázat A vizsgált ligandumok valamint a DTPA, DTPA-BMA és DTPA-BMMEA protonálódási állandói (25 °C, 0,1 M KCl)

Ligandum	$\log K_1^H$	$\log K_2^H$	$\log K_3^H$	$\log K_4^H$	$\log K_5^H$	$\sum \log K_i^H$
DTPA-bA	9,47 (0,02)	4,74 (0,02)	3,06 (0,02)	1,40 (0,03)	-	18,67
DTPA-bBA	9,36 (0,02)	4,50 (0,03)	3,50 (0,03)	0,7 (0,09)	-	18,06
DTPA-bbBA	9,77 (0,02)	6,72 (0,03)	4,08 (0,03)	2,54 (0,03)	-	23,11
DTPA-tra	8,50 (0,02)	6,53 (0,02)	2,82 (0,02)	-	-	17,85
DTPA-bNOPA	9,13 (0,07)	5,40 (0,09)	3,87 (0,09)	2,90 (0,09)	1,56 (0,08)	22,86
DTPA-bNOPMA	8,99 (0,03)	5,07 (0,04)	3,81 (0,04)	2,57 (0,05)	1,26 (0,06)	21,70
DTPA-bbNOPMA	9,46 (0,05)	5,82 (0,07)	4,21 (0,07)	3,01 (0,07)	2,04 (0,06)	24,54
DTPA^[124]	10,49	8,60	4,28	2,64	2,03	28,04
DTPA-BMA^[67]	9,37	4,38	3,31	1,43	-	18,49
DTPA-BMMEA^[123]	9,40	6,22	3,99	2,26	-	21,87

Hasonló H-kötések jöhetnek létre a DTPA-bA és a DTPA-bBA esetén is, de a diszubsztituált származékoknál, mivel nincs amidproton, ezek a kötések nem jöhetnek létre. Ez a jelenség a szabadgyököket tartalmazó ligandumok esetén is megfigyelhető, bár ott ez a második protonálódási állandóban bekövetkező csökkenés nem olyan szembetűnő, tehát a DTPA-bNOPA és DTPA-bNOPMA ligandumokban ezeknek a H-kötéseknek a képződése kisebb valószínűségű, vagy más a ligandumok bonyolultságából származó okokkal, valószínűleg térbeli gátlással magyarázható.

A $\log K_1^H$, $\log K_2^H$ és $\log K_3^H$ értékek alapján azt mondhatjuk, hogy a vizsgált ligandumokban a N atomok bázicitása lényegesen kisebb, mint a DTPA esetén. Azt várhatjuk, hogy a DTPA-hoz képest az amin N-ek kisebb bázicitása miatt, a Zn^{2+} -kel és Cu^{2+} -zel képzett DTPA-bisz- és -trisz(amid) komplexek stabilitási állandói jobban csökkennek, mint a Gd^{3+} -komplexeiknek a stabilitási állandói (a Zn^{2+} és Cu^{2+} -ionok a nitrogén donor atomokat jobban kedvelik, mint a Gd^{3+}). Ez azt jelenti, hogy 1:1 komplexek képződésével a Gd^{3+} -ra a Cu^{2+} és Zn^{2+} -ionokkal szemben nagyobb szelektivitás lenne várható a DTPA-bisz- és -trisz(amid) ligandumokra, mint a DTPA esetén.

A vizsgált ligandumok Gd^{3+} -komplexeinek stabilitási állandóit pH-potenciometriásan határoztuk meg. A DTPA-bA, DTPA-bBA, DTPA-bbBA valamint a DTPA-tra ligandumok Gd^{3+} komplexeinek stabilitási állandóit kompetíciós titrálással állapítottuk meg, mivel a Gd^{3+} -komplexek képződése már kb. 2,5 pH-n gyakorlatilag 100%-osnak tekinthető, így direkt titrálással pontosan nem határozhatók meg. A kompetíciós ligandum DTPA vagy EDTA volt. A Gd^{3+} - DTPA-bA - DTPA, Gd^{3+} - DTPA-bBA - DTPA, Gd^{3+} - DTPA-bbBA - EDTA vagy a Gd^{3+} - DTPA-tra - DTPA rendszereket a GdL , $Gd(DTPA)^{2-}$, $GdH(DTPA)^-$ vagy $Gd(EDTA)^-$ és $GdH(EDTA)$ részecskékkel lehet leírni. A DTPA és az EDTA protonálódási állandóit valamint a Gd^{3+} -komplexeik protonálódási állandóit független pH-potenciometriás titrálásokkal határoztuk meg (Kísérleti rész 95. o.). A $Gd(DTPA)^{2-}$ és $Gd(EDTA)^-$ stabilitási állandó értékeit az irodalomból vettük.¹²⁴

A szabadgyököt tartalmazó ligandumok esetében (DTPA-bNOPA, DTPA-bNOPMA és DTPA-bbNOPMA) a Gd^{3+} -komplexek stabilitási állandóit direkt titrálással határoztuk meg, mivel 1,7 pH-n, ahonnan a titrálások indultak a komplexképződés 50-60%-os volt, és pH=3 körül fejeződtek be. Ebben a pH-tartományban felvett titrálási adatokból még elfogadható hibával tudtuk számítani a Gd^{3+} -komplexek stabilitási állandóit.

Protonált Gd^{3+} -komplexet ($GdHL$) titrálásaink során nem tudtunk egyik esetben sem azonosítani, valamint kétmagvú Gd^{3+} -komplex (Gd_2L) sem képződik, mivel a ligandumok donoratomjainak a száma gyakorlatilag megegyezik a Gd^{3+} -ion koordinációs számával. A Gd^{3+} -komplexek stabilitási állandóit a IV.2.2. táblázat tartalmazza.

IV.2.2. táblázat A vizsgált ligandumok komplexeinek stabilitási állandói (25°C, 0,1M KCl)

Ligandum	Gd ³⁺	Zn ²⁺	ZnL	ZnHL	ZnL	Cu ²⁺	CuL	CuL	CuL
	+ L	+ L	+ H ⁺	+ H	+ Zn ²⁺	+ L	+ H ⁺	+ Cu ²⁺	- H ⁺
DTPA-bA	14,6 (0,09)	12,68 (0,04)	4,45 (0,03)	-	2,32 (0,05)	13,72 (0,02)	3,44 (0,01)	3,39 (0,07)	9,29 (0,02)
DTPA-bBA	16,5 (0,12)	13,45 (0,01)	4,08 (0,01)	-	2,53 (0,06)	14,93 (0,03)	3,47 (0,03)	3,59 (0,07)	10,24 (0,06)
DTPA-bbBA	19,0 (0,03)	16,38 (0,09)	4,84 (0,04)	-	3,15 (0,06)	17,85 (0,04)	3,87 (0,04)	3,65 (0,07)	-
DTPA-tra	17,93 (0,08)	13,36 (0,03)	3,92 (0,03)	2,09 (0,05)	2,20 (0,10)	13,75 (0,03)	3,77 (0,02)	2,93 (0,06)	9,94 (0,04)
DTPA- bNOPA	18,51 (0,05)	14,06 (0,03)	5,27 (0,02)	3,20 (0,02)	3,97 (0,09)	-	-	-	-
DTPA- bNOPMA	17,80 (0,07)	13,63 (0,03)	4,56 (0,01)	2,78 (0,06)	3,57 (0,06)	-	-	-	-
DTPA- bbNOPMA	19,87 (0,05)	15,18 (0,02)	4,92 (0,01)	2,85 (0,01)	3,30 (0,02)	-	-	-	-
DTPA^[124]	22,46	18,6	5,43		4,4	21,5	4,79	5,5	-
DTPA- BMA^[67]	16,38	12,04	3,99	-	-	13,05	3,36	-	-
DTPA- BMMEA^[123]	17,68	-	-	-	-	-	-	-	-

Korábban a Gd(DTPA-bA) stabilitási állandóját Geraldés és munkatársai 0,1 M NaCl ionerősség mellett már meghatározták.¹²² Az általuk kapott 15,9-es állandó gyakorlatilag egyezik az általunk meghatározottal, az eltérés az ionerősség beállítására használt elektrolitból származhat.

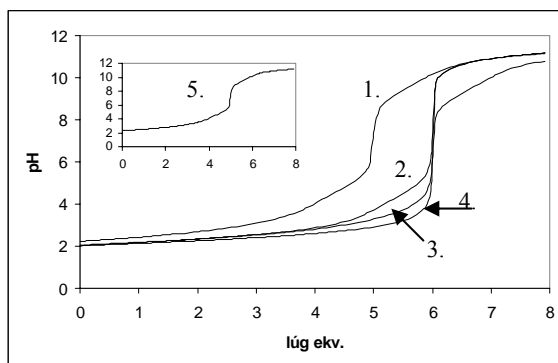
Megfigyelhető, hogy a DTPA-bisz(amid) ligandumoknál az amidcsoport szubsztituensei számának növelésével (Gd(DTPA-bA), Gd(DTPA-bBA), Gd(DTPA-bbBA)) jelentősen nő a Gd³⁺-komplexek stabilitási állandója. Hasonló a helyzet a szabadgyököt tartalmazó ligandumok esetében is, mivel a diszubsztituált ligandumok összbázicitása ($\sum \log K_i^H$) nagyobb, mint a nem- vagy monoszubsztituált ligandumoké.

Ugyanígy tendenciák figyelhetők meg a Cu²⁺- és Zn²⁺-komplexek esetében, amikor az amid szubsztituensek számának növekedésével szintén nő a Cu²⁺- és Zn²⁺-komplexek stabilitási állandója, melyeket minden esetben direkt pH-

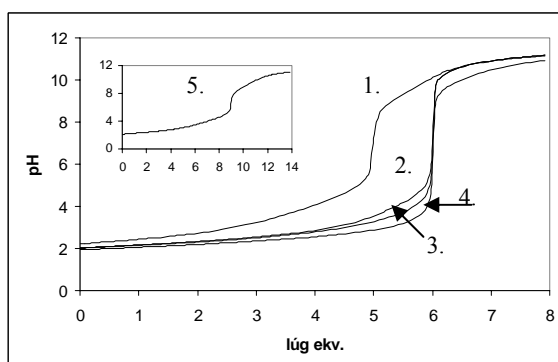
potenciometriás titrálással határoztunk meg (IV.2.2. táblázat.). A titrálási görbék a IV.2.1-7. ábrákon láthatók.

A harmadik karboxilát csoport amidcsoportra történő cseréje tovább csökkenti az amin N-ek bázicitását, így a DTPA-bbBA ligandum komplexeihez képest, a DTPA-*tra* Gd³⁺-mal, Cu²⁺-vel és Zu²⁺-vel képzett komplexei kisebb stabilitásúak.

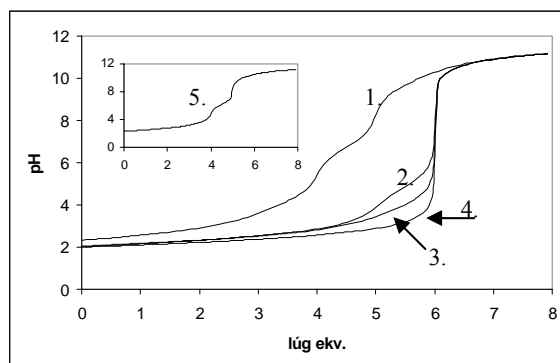
A szabadgyököket tartalmazó ligandumok esetében Cu²⁺-vel nem tudunk vizsgálatokat végezni, mivel a Cu²⁺-ion és a nitroxid szabadgyökök között redoxi folyamat is lejátszódik.



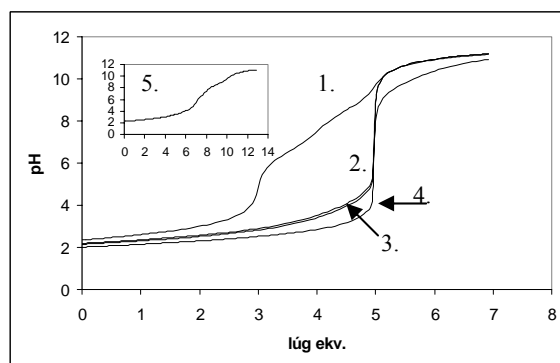
IV.2.1. ábra DTPA-bA ligandum (L) (1.), ZnL (2) 1:1, CuL (3.) 1:1, GdL (4) 1:1 és Gd³⁺:DTPA-bA:DTPA (5) 1:1:1 rendszerek titrálási görbéi [L]=[Zn²⁺]=[Cu²⁺]=[Gd³⁺]=
=2×10⁻³M



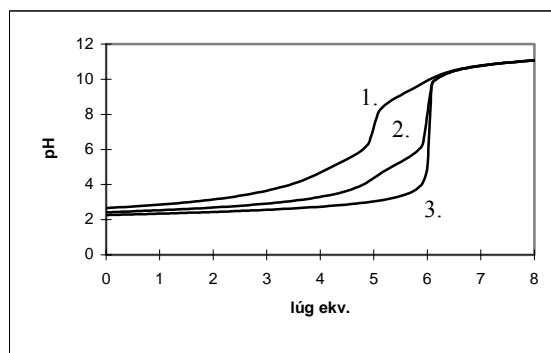
IV.2.2. ábra DTPA-bBA ligandum (L) (1.), ZnL (2) 1:1, CuL (3.) 1:1, GdL (4) 1:1 és Gd³⁺:DTPA-bBA:DTPA (5) 1:1:2 (+6 ekv. hozzáadott sav) rendszerek titrálási görbéi [L]=[Zn²⁺]=[Cu²⁺]=[Gd³⁺]=2×10⁻³M



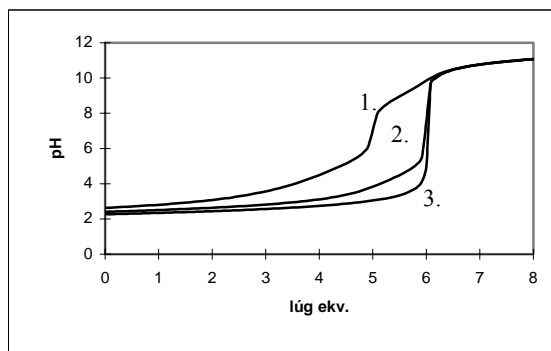
IV.2.3. ábra DTPA-bbBA ligandum (L) (1.), ZnL (2) 1:1, CuL (3.) 1:1, GdL (4) 1:1 és Gd^{3+} :DTPA-bbBA:EDTA (5) 1:1:1 rendszerek titrálási görbéi $[L]=[Zn^{2+}]=[Cu^{2+}]=[Gd^{3+}]=2 \times 10^{-3}M$



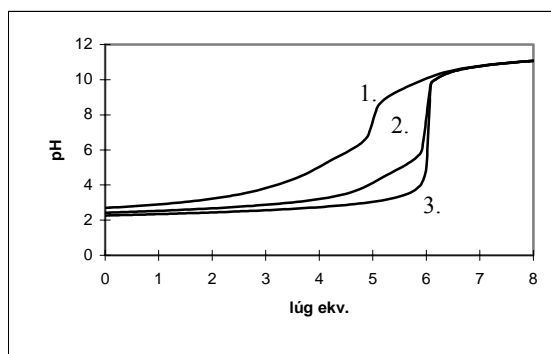
IV.2.4. ábra DTPA-tra ligandum (L) (1.), ZnL (2) 1:1, CuL (3.) 1:1, GdL (4) 1:1 és Gd^{3+} :DTPA-tra:DTPA (5) 1:1:2 (+6 ekv. hozzáadott sav) rendszerek titrálási görbéi $[L]=[Zn^{2+}]=[Cu^{2+}]=[Gd^{3+}]=2 \times 10^{-3}M$



IV.2.5. ábra DTPA-bNOPA ligandum (L) (1.), ZnL (2.) 1:1 rendszer és a GdL (3.) 1:1 rendszer titrálási görbéi, $[L]=[Zn^{2+}]=[Gd^{3+}]=2 \times 10^{-3}M$



IV.2.6. ábra DTPA-bNOPMA ligandum (L) (1.), ZnL (2.) 1:1 rendszer és a GdL (3.) 1:1 rendszer titrálási görbéi, $[L]=[Zn^{2+}]=[Gd^{3+}]=2 \times 10^{-3} M$



IV.2.7. ábra DTPA-bbNOPMA ligandum (L) (1.), ZnL (2.) 1:1 rendszer és a GdL (3.) 1:1 rendszer titrálási görbéi, $[L]=[Zn^{2+}]=[Gd^{3+}]=2 \times 10^{-3} M$

DTPA-bA, DTPA-bBA és DTPA-tra ligandumok Cu^{2+} jelenlétében ($Cu:L=1:1$) felvett titrálási görbéken $pH=7$ felett további lúgfogyás figyelhető meg. Ez a ligandumokban található amidprotonok disszociációjával magyarázható, mikoris az amid N-ek (N^-) koordinálnak a Cu^{2+} -ionokhoz, s nem a karbonil oxigén. Ugyanezt a jól ismert jelenséget már megfigyelték glicin-amid vagy oligopeptidek Cu^{2+} -komplexei esetében is, amikor az amidprotonok $pH=4-7$ tartományban disszociálnak. Ez a disszociáció csak akkor megy végbe, ha a N atom, mint horgony atom (oligopeptideknél a terminális NH_2 csoport) erősen koordinálódik a Cu^{2+} -hoz.¹²⁵

UV-spektrofotometriás vizsgálatokkal támasztottuk alá, hogy a pH>7 feletti lúgfogyás az amidprotonok deprotonálódásához rendelhető. Ugyanis a deprotonálódás során a vizsgált Cu²⁺-komplexek d-d abszorpciós sávjának a maximuma kb. 680 nm-ről 670 nm-re tolódott. Ez a „kék” eltolódás (pH~6,1) kisebb, mint a Cu²⁺-oligopeptid komplexek amid N-jének koordinációjakor (pH~10) tapasztalható 30-40 nm-es eltolódás. Azonban pl. a Cu(EDTA)²⁻ abszorpciós sávjának a maximuma 720-730 nm körül van, míg a Cu(EDDA)-é 680 nm-nél, azaz a Cu(EDTA)²⁻-ban a karboxilát csoportok axiális pozícióba történő koordinálódása egy gyenge „vörös” eltolódást eredményez. (H₂EDDA=etilén-diamin-N-N'-dicetsav). Így a DTPA-bA, DTPA-bBA és DTPA-tra Cu²⁺-komplexei abszorpciós spektrumában bekövetkező változást az amidprotonok disszociációjával magyarázhatjuk. A meghatározott deprotonálódási állandók a IV.2.2. táblázatban találhatók.

Cacheris és munkatársai¹⁶ vezették be a szelektivitási állandó fogalmát, melynek segítségével jellemezni lehet a Gd³⁺-ion ligandumhoz való kötődését fiziológiás körülmények között. Ez a szelektivitási állandó valójában egy látszólagos stabilitási állandó, mely a ligandum H⁺-nal, Zn²⁺, Cu²⁺ és Ca²⁺-ionokkal végbemenő mellékreakcióit veszi figyelembe:

$$K_{sel} = \frac{K_{GdL}}{\alpha_L^H + \alpha_L^{Cu} + \alpha_L^{Zn} + \alpha_L^{Ca}} \quad (IV.2.1.)$$

Korábbi vizsgálatok során csak azt feltételezték, hogy a DTPA-bisz(amid) származékok Cu²⁺ ill. Zn²⁺ jelenlétében csak ML, MHL, MH₂L összetételű komplexeket képeznek.^{16,67} Ezek alapján Cacheris és munkatársai¹⁶ szerint a DTPA-BMA esetén a Gd³⁺-ra vonatkoztatott szelektivitási állandó nagyobb, mint a DTPA esetében. Ezért a Gd(DTPA-BMA) biztonságosan alkalmazható kontrasztanyag. Ennek azonban ellentmond a Puttagunta és munkatársai¹²⁶ által kapott kísérleti eredmény, melyet a Gd(DTPA)²⁻ és Gd(DTPA-BMA) Zn²⁺-cserereakciói során tapasztaltak. A fiziológiás körülményekhez képest, viszonylag nagy koncentrációban alkalmazták a reaktánsokat ([GdL] = [Zn-citrát] = 20 mM) s azt tapasztalták, hogy a Gd(DTPA-BMA) és Zn²⁺-ionok fémcsere reakciója kb. háromszor nagyobb konverzióval végbement, mint a Gd(DTPA)²⁻ és Zn²⁺ közötti cserereakció.

Ez az ellentmondás abból adódhat, hogy korábban nem vizsgálták teljes részletességgel a DTPA-bisz(amid) származékok Gd^{3+} és az endogén fémekkel (Cu^{2+} , Zn^{2+}) képzett komplexeinek egyensúlyi tulajdonságait. Ugyanis a DTPA-bisz(amid) származék ligandumoknak a DTPA-hoz hasonlóan szintén 8 donoratomjuk van, melyek a komplexképzésben részt vehetnek, s ezek alapján feltételezhető, hogy ezek a ligandumok kétmagvú komplexeket is képezhetnek.

Cu^{2+} és Zn^{2+} feleslegben (M:L=2:1) felvett titrálási görbékből pH=2-5,5 tartományban az M_2L kétmagvú komplexek stabilitási állandóját meg is tudtuk határozni (IV.2.2. táblázat) a protonok és a Cu^{2+} vagy a Zn^{2+} közötti kompetíció alapján.

A vizsgált ligandumok esetében a Gd^{3+} -komplexek (GdL), Cu^{2+} - és Zn^{2+} -ionokkal képzett komplexek (ML , MHL , MH_2L , M_2L) stabilitási állandóinak segítségével, az IV.2.2-3. egyenletek alapján, figyelembe lehet venni a kétmagvú komplexek Gd^{3+} -ra nézve történő szelektivitás csökkentő hatását is. (Fiziológiás körülmények között (pH=7,4) a protonált ligandumok koncentrációja (így az α_L^H) elhanyagolható, valamint az α_L^{Ca} is, mivel $\log K_{CaL} \ll \log K_{ZnL}$ és $\log K_{CaL} \ll \log K_{CuL}$.) Így értelmezhetővé válnak a Puttagunta és munkatársai¹²⁶ által nagyobb koncentrációknál kapott eredmények.

$$\alpha_L^{Cu} = K_{CuL} [Cu^{2+}] + K_{CuL} K_{Cu_2L} [Cu^{2+}]^2 \quad (IV.2.2.)$$

$$\alpha_L^{Zn} = K_{ZnL} [Zn^{2+}] + K_{ZnL} K_{Zn_2L} [Zn^{2+}]^2 \quad (IV.2.3.)$$

Mivel a testfolyadékokban a Zn^{2+} - és a Cu^{2+} -ionok kicserélhető koncentrációi kicsik (1×10^{-5} , 1×10^{-6} M) az egyenletek 2. tagja gyakorlatilag elhanyagolható. A vizsgált DTPA-bisz- és -tris(amid) ligandumok szelektivitása Gd^{3+} -ra nézve Cu^{2+} -vel és Zn^{2+} -vel szemben, a Gd(DTPA-bA) ligandumot kivéve nagyobb, ill. a DTPA-tra ligandumra lényegesen nagyobb, mint a DTPA esetén (IV.2.3. táblázat). Ez azt jelenti, hogy fiziológiás körülmények között a Gd(DTPA-bBA), Gd(DTPA-bbBA) és Gd(DTPA-tra)⁺ komplexek az egyensúlyi adatok alapján biztonságosan alkalmazhatóak lennének, hasonlóan a Gd(DTPA-BMA)-hoz (ami szintén biszamid származék), mely már a gyakorlatban is használt MRI kontrasztanyag.

A stabilis nitroxid szabadgyököket tartalmazó komplexek szelektivitási állandóit csak egymással lehet összehasonlítani, mivel a Cu^{2+} -komplexeik

egyensúlyi állandóit nem tudtuk meghatározni. A három érték azonos nagyságrendűnek tekinthető.

IV.2.3. táblázat A fiziológias körülményekre a IV.2.1-3. egyenletekkel kiszámított szelektivitási állandók (pH=7,4; $[Zn^{2+}]=1 \times 10^{-5}$ M, $[Cu^{2+}]=1 \times 10^{-6}$ M)

Komplex	K_{sel}
Gd(DTPA)²⁻	$9,0 \times 10^6$
Gd(DTPA-BMA)	$1,1 \times 10^9$
Gd(DTPA-bA)	$4,0 \times 10^6$
Gd(DTPA-bBA)	$2,8 \times 10^7$
Gd(DTPA-bbBA)	$1,1 \times 10^7$
Gd(DTPA-tra)⁺	$3,0 \times 10^9$
Gd(DTPA-bNOPA)	$2,8 \times 10^9$
Gd(DTPA-bNOPMA)	$1,5 \times 10^9$
Gd(DTPA-bbNOPMA)	$4,9 \times 10^9$

A várakozásoknak megfelelően a ligandumok amin N-jeinek kisebb bázicitása miatt, ezen ligandumok Gd³⁺-komplexei kisebb vagy közel azonos mértékben vehetnek részt endogén fémekkel történő kicserélődési reakciókban a testfolyadékokban, mint a Gd(DTPA)²⁻. Azaz a kisebb vagy hasonló toxicitásuk miatt, biztonságosan alkalmazható MRI kontrasztanyagokká fejleszthetők.

IV.3. Gd^{3+} -DTPA-bisz- és -trisz(amid) származék komplexek relaxivitásának vizsgálata

A relaxitás mérések a Gd^{3+} -komplexek, mint lehetséges kontrasztanyagok hatékonyságára adnak információt. A szabadgyököket tartalmazó Gd^{3+} -komplexek relaxitásának vizsgálata során, arra keressük a választ, hogy esetleg van-e csatolás a Gd^{3+} és a szabadgyökök spinjei között, ami relaxitás növekedést vagy csökkenést eredményezne.

A mért longitudinális relaxációs idők reciproka ($1/T_{1obs}$) adja a relaxációsebességet (r_1) a II.2.2. egyenletnek (15. oldal) megfelelően.

A relaxitás értékek a Gd^{3+} -komplexek esetén a fémion belső (r_{1p}^{IS}) és külső (r_{1p}^{OS}) koordinációs szférájának illetve egy ún. második koordinációs szféra (r_{1p}^{2nd}) hozzájárulásából tevődnek össze (II.2.3. egyenlet). Kis móltömegű komplexek esetén a belső szféra hozzájárulás kb. 50%, amit a belső koordinációs szférában található vízmolekulák számán túl a komplex rotációs korrelációs ideje (τ_R), az elektron-spin relaxációs idő (τ_S), a vízcsere sebesség (k_{ex}) valamint a Gd-H távolság (r) határozza meg (II.2.3-5 egyenletek). A külső és a második koordinációs szféra hozzájárulását elsősorban a Gd^{3+} -komplex közelében levő vízmolekulák diffúzió sebessége határozza meg. (A külső és második koordinációs szféra hozzájárulást általában együtt kezelik, a továbbiakban csak külső szférás hatásként hivatkozunk rá.)

A $Gd(DTPA-bA)$, $Gd(DTPA-bBA)$, $Gd(DTPA-bbBA)$ és $Gd(DTPA-tra)^+$ komplexek 9 MHz-en mért (25 °C) relaxitás értékeit a IV.3.1. táblázat tartalmazza. Ha a relaxitás értékeket megvizsgáljuk egyértelmű növekedés figyelhető meg a növekvő moláris tömegekkel. Botteman és munkatársai a DTPA-bisz(amid) származék komplexek vizsgálata során hasonló eredményeket kaptak.¹²⁷ A komplex molekuláris tömegének (és méretének) növekedése a komplex mozgékonyágát csökkenti, ami a rotációs korrelációs idők növekedéséhez és ezen keresztül (II.2.5. egyenlet) a relaxitás növekedéséhez vezet.

A stabilis nitroxid szabadgyököket tartalmazó ligandumok ill. Gd^{3+} -komplexeik 9 MHz-en (25 °C) mért relaxitása a IV.3.1. táblázatban található. Az 5- és 6-tagú stabilis nitroxid szabadgyökök relaxitása 0,26 $mM^{-1}s^{-1}$ körüli érték (9 MHz, 25 °C).⁶⁰ Ezen értékeket összehasonlítva láthatjuk, hogy a DTPA-bNOPA és a DTPA-bNOPMA esetén a relaxitás értékek egy kicsivel nagyobbak, mint a

két nitroxid szabadgyök egység relaxitását összege, míg a DTPA-bbNOPMA esetén a relaxitás némileg kisebb, mint a 4 szabadgyök egység relaxitását összege. Sosnowsky és munkatársai ESR vizsgálatok alapján feltételezték, hogy az EDTA-hoz ill. DTPA-hoz kapcsolt szabadgyökök esetén^{61,62}, a szabadgyök egységek párosítatlan elektronjai között gyenge kölcsönhatás léphet fel.

IV.3.1. táblázat Relaxitás értékek vízben (pH=5,5, 25 °C, 9 MHz)

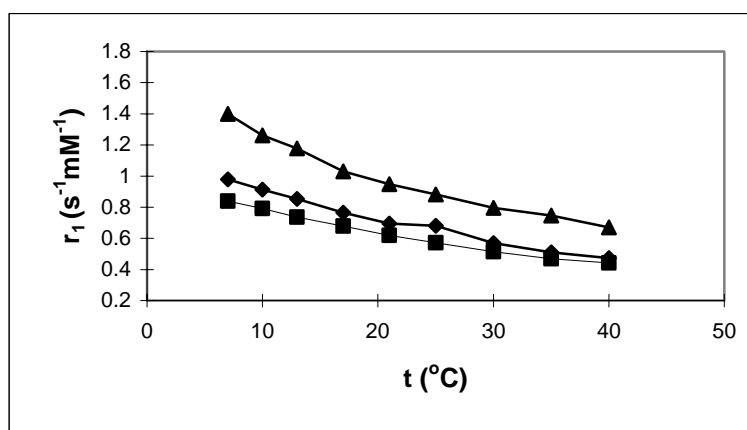
Ligandum/Komplex	r_1 (mM ⁻¹ s ⁻¹)	Komplex	r_1 (mM ⁻¹ s ⁻¹)
DTPA-bNOPA	0,7	Gd(DTPA-bNOPA)	7,5
DTPA-bNOPMA	0,6	Gd(DTPA-bNOPMA)	6,1
DTPA-bbNOPMA	0,9	Gd(DTPA-bbNOPMA)	6,6
Gd(DTPA-bA)	4,7	Gd(DTPA-BMA) ^[128]	5,5
Gd(DTPA-bBA)	5,9		
Gd(DTPA-bbBA)	6,8		
Gd(DTPA-tra) ⁺	7,1		

A Gd(DTPA-bNOPA) Gd(DTPA-bNOPMA) és Gd(DTPA-bbNOPMA) komplexek relaxitása egy kicsivel nagyobb, mint a Gd(DTPA-BMA)-é, ami a nitroxid szabadgyökök GdDTPA-bisz(amid) komplexekhez történő hozzákapcsolódása eredményezhet. Ez a növekedés csekély mértékű, mivel a szabadgyökök és a Gd³⁺-ion párosítatlan elektronjai között a kölcsönhatás elhanyagolható, mivel a szabadgyökök nem koordinálódnak a Gd³⁺-ion belső koordinációs szférájához.

IV.3.1. Gd³⁺-DTPA-bisz- és -tris(amid) származék komplexek relaxitásának hőmérsékletfüggése

A Gd³⁺-komplexek relaxitásának belső szférás hozzájárulását (r_{1p}^{IS}) jelentősen befolyásolja a vízcseresebesség, melyről kvalitatív információt kaphatunk a Gd³⁺-komplexek relaxitásainak hőmérsékletfüggéseiből.

A szabad ligandumok közül csak a szabadgyököket tartalmazó ligandumok vizsgálhatóak, (IV.3.1. ábra) mivel a többi ligandum (diamágnesesek) relaxivitása $0 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$.

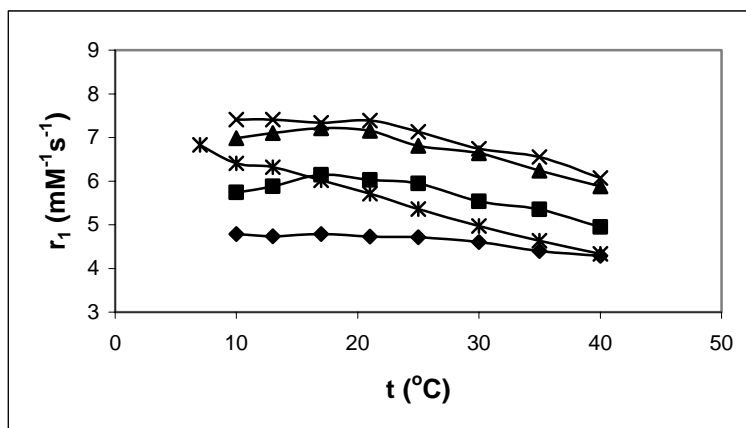


IV.3.1. ábra DTPA-bNOPA (◆), DTPA-bNOPMA (■), DTPA-bbNOPMA (▲) relaxitásának hőmérséklet függése. (pH=5,5, [L]= 1×10^{-3} M, 9 MHz)

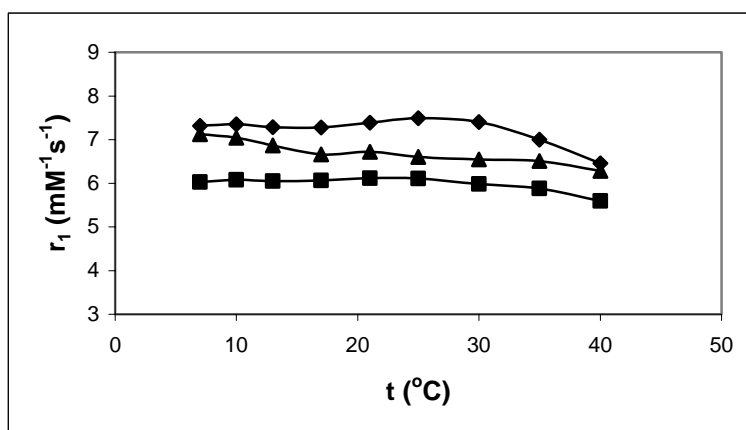
A DTPA-bNOPA, DTPA-bNOPMA és DTPA-bbNOPMA ligandum relaxitása a hőmérséklet növelésével csökken. A szabadgyökök relaxitását a vízmolekulák paramágneses centrum melletti translációs diffúziója határozza meg. A hőmérséklet növelése növeli a diffúziósebességet, ami a relaxitásértékek csökkenéséhez vezet.

A GdDTPA-bisz és -trisz(amid) komplexek relaxitásainak hőmérséklet függése (IV.3.2-3. ábra) hasonló a más Gd(DTPA-biszamid) származékokra talált eredményekhez.^{98,127,128} Közelítőleg a 10-20 °C tartományban az r_1 értékek állandók vagy enyhén növekednek [Gd(DTPA-bBA), Gd(DTPA-bbBA)]. Ez a konstans szakasz a stabilis nitroxidokat tartalmazó ligandumok komplexei esetén nagyobb (kb. 10-30 °C). Ez a trend a belső szférás relaxitás nem-monoton változásával magyarázható, mivel a külső szférás tag (r_{1p}^{OS}) monoton csökken. A r_{1p}^{IS} szintén csökken a hőmérséklet növekedésével, ha a vízmolekulák átlagos élettartama (τ_m) a belső koordinációs szférában kicsi, azaz a vízcseresebesség gyors, mint a Gd(DTPA)(H₂O)²⁻ esetén,^{128,129} ahol a relaxitás értékekben

monoton csökkenés, tapasztalható, mivel a külső szférás és a belső szférás hozzájárulás is egyaránt csökken a hőmérséklet emelésével.



IV.3.2. ábra Gd(DTPA-bA) (◆), Gd(DTPA-bBA) (■), Gd(DTPA-bbBA) (▲), Gd(DTPA-tra)⁺ (×), és Gd(DTPA)²⁻ (*) relaxivitásának hőmérséklet függése. (pH=5,5, [GdL]=1×10⁻³ M, 9 MHz)



IV.3.3. ábra Gd(DTPA-bNOPA) (◆), Gd(DTPA-bNOPMA) (■) és Gd(DTPA-bbNOPMA) (▲) relaxivitásának hőmérséklet függése. (pH=5,5, [GdL]=1×10⁻³ M, 9 MHz)

Az irodalomból ismert^{127,128,130}, hogy a GdDTPA-bisz(amid) származékok τ_M értékei viszonylag hosszúak, azaz a vízcseresebességük lassabb, ami kb. 25 °C alatt kisebb relaxivitás értékeket eredményez. A hőmérséklet növelésével, mivel

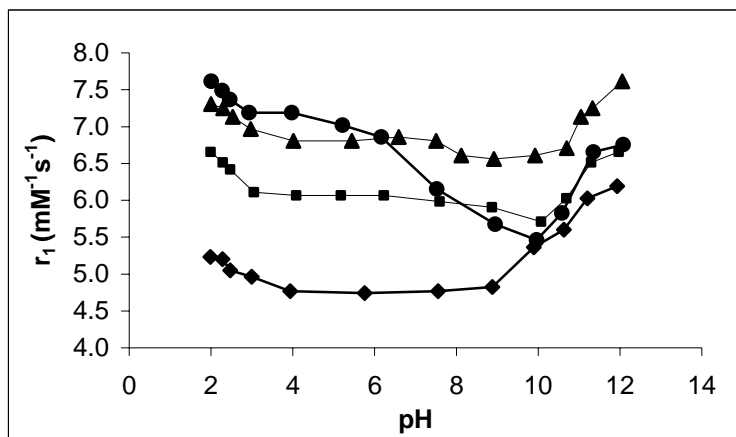
növekszik a vízcsere sebesség, azaz az r_{1p}^{IS} hozzájárulás nőne, nő a relaxitás, de ezt a növekedést az r_{1p}^{OS} tag csökkenése kompenzálja, így lényegében a relaxitás 10-20 °C-ig (a szabadgyökös ligandumoknál 10-30 °C-ig) gyakorlatilag állandó értéket mutat. Magasabb hőmérsékleten (25-30 °C felett) viszont annyira megnő a vízcsere sebesség, a τ_M értékek annyira kicsik lesznek, hogy az r_{1p}^{IS} tagra gyakorolt hatásuk elhanyagolható és a relaxitás értékek csökkennek a hőmérséklet növelésével, az r_{1p}^{OS} tag monoton csökkenése miatt. A szabadgyököket tartalmazó komplexek esetében ez a csökkenés csak kb. 30-35 °C felett figyelhető meg (IV.3.3. ábra), amiből azt a következtetést vonhatjuk le, hogy azok vízcsere sebessége kisebb, mint a többi általunk vizsgált GdDTPA-bisz- és -trisz(amid) származék vízcsere sebessége.

A Gd(DTPA-BMA) relaxitása, hasonlóan a szabadgyököket tartalmazó komplexekéhez, szintén gyakorlatilag függetlennek mondható a hőmérséklettől ebben a hőmérséklet tartományban, ami arra enged következtetni, hogy ezen komplexek vízcsereje a Gd(DTPA-BMA) vízcsere sebességével ($k_{ex} = 4,3 \times 10^5 \text{ s}^{-1}$, 25 °C)¹³⁰ esik azonos nagyságrendbe. A Gd(DTPA-bbBA) és Gd(DTPA-tra)⁺ vízcsere sebességének meghatározása (IV.4 fejezet) ezen következtetéseinket alá is támasztja.

IV.3.2. Gd³⁺-DTPA-bisz- és -trisz(amid) származék komplexek relaxitásának pH-függése

A Gd³⁺-komplexek és az oldószer víz közötti protoncsere folyamatok sebességére kaphatunk információt a relaxitások pH függvényében való vizsgálata során. A vizsgált Gd³⁺-komplexek és az oldószer víz között kétféle protoncsere folyamat valósulhat meg, egyrészt a Gd³⁺-ion belső koordinációs szférájában levő vízmolekula protonjai, másrészt az amidprotonok (kivéve a Gd(DTPA-bbBA)) léphetnek cserekapcsolatba az oldószer vízmolekulák protonjaival.

A Gd(DTPA-bA), Gd(DTPA-bBA), Gd(DTPA-bbBA) és Gd(DTPA-tra)⁺ komplexek relaxitásának pH-függése a IV.3.4. ábrán látható.



IV.3.4. ábra Gd(DTPA-bA) (◆), Gd(DTPA-bBA) (■), Gd(DTPA-bbBA) (▲) és Gd(DTPA-tra)⁺ (●) relaxivitásának pH függése. (25 °C, [GdL]=1×10⁻³ M, 9 MHz)

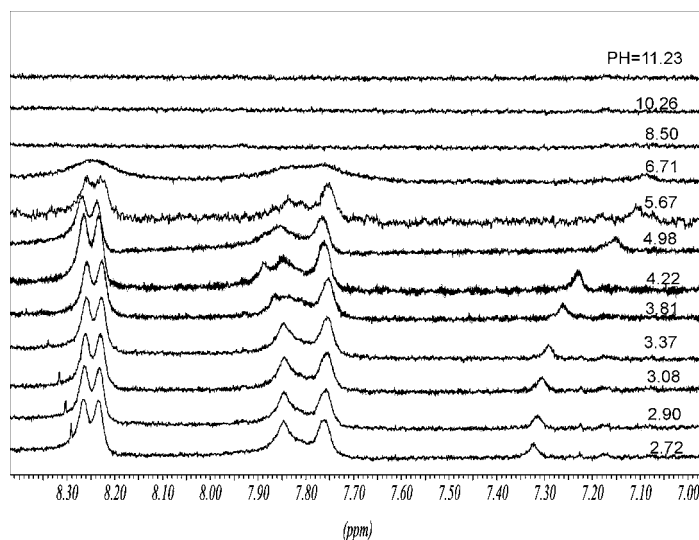
Megfigyelhető, hogy a DTPA-bisz(amid) származékok Gd³⁺-komplexei esetén a relaxitás értékek pH= 4-9 tartományban gyakorlatilag állandóak, mivel ebben a pH tartományban a vízcsere sebesség gyorsabb, mint a protoncsere, vagy pedig egyenlő vele.^{98,128} pH<4 és pH>9 tartományokban a relaxitás növekszik, mivel a protoncsere a proton- és hidroxid-katalízis következtében jelentősen megnő.¹³¹

A Gd(DTPA-tra)⁺ esetén azonban más a helyzet. pH<3 tartományban a relaxitás értékek növekednek a növekvő H⁺-ion koncentrációval, a H⁺-ion katalizálta protoncsere következményeként. Viszont pH=3-6 tartományban egy lassú csökkenés majd pH= 6-9 tartományban egy jelentős csökkenés figyelhető meg a relaxitás értékekben. pH>9 tartományban a relaxitás növekszik a növekvő pH-val, de ez a növekedés már nem olyan jelentős, mint a Gd(DTPA-bbBA) komplex esetében, mely komplex ligandum csak egy -NHMe-csoportban különbözik a DTPA-tra ligandumtól. A Gd(DTPA-tra)⁺ által mutatott pH függés nagyon hasonló a Gd(DOTTA)³⁺ relaxitásának pH-függéséhez.¹³² [DOTTA = 1,4,7,10-tetraazaciklododekán-1,4,7,10-tetrakis(dimetil-acetamid).]

A jelenséget a komplex pozitív töltésével magyarázhatjuk, ugyanis így nagyobb valószínűséggel következik be a OH⁻-ionok és a belső koordinációs szférában található vízmolekula szubsztitúciója (kb. pH=7-8 felett), melynek következményeként [Gd(DTPA-tra)(OH)]⁰ illetve [Gd(DOTTA)(OH)]²⁺

komplexek keletkeznek. A koordinált OH^- és a környező vízmolekulák közötti csere nagyon lassú¹³² és valószínűleg a koordinált H_2O és a szabad OH^- , valamint a koordinált OH^- és a szabad vízmolekulák közötti protoncsere is sztérikusan gátolt. Valószínűleg ezért csökkenek a relaxitás értékek pH=6-9 tartományban. A sztérikus gátlást a diszubsztituált amidcsoportok alkil szubsztituenseinek jelenlétével magyarázhatjuk, melyek a komplex felszínét hidrofóbbá teszik.

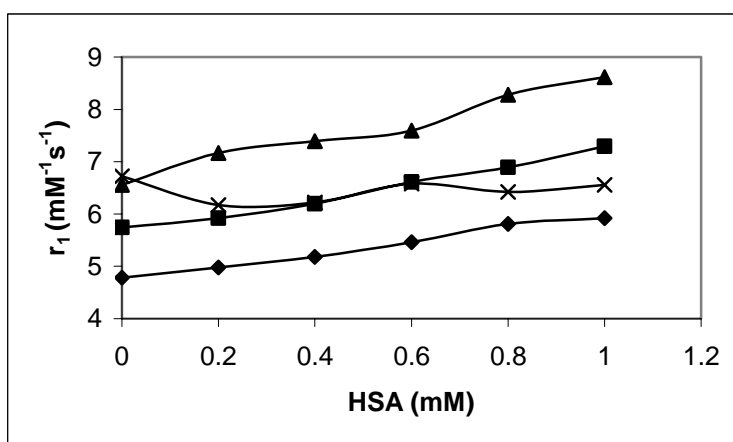
A $\text{Gd}(\text{DTPA-bA})$, $\text{Gd}(\text{DTPA-bBA})$ és $\text{Gd}(\text{DTPA-tra})^+$ komplexek amidprotonjainak cseréje azonban valószínűleg nem járul jelentősen hozzá a teljes protoncsere folyamathoz, mivel 4-es pH alatt az amidprotonok NMR jel-alakjai [7,80 és 8,25 ppm $\text{Y}(\text{DTPA-bA})$ esetén (IV.3.5. ábra)] nem változnak. 6-os pH felett az amidprotonok jelei jelentősen szélesednek, de a relaxitás értékek növekedése csak 9-es pH felett valósul meg. Továbbá annak ismeretében, hogy a $\text{Gd}(\text{DTPA-bbBA})$ esetén is, amely komplex nem tartalmaz amidprotonokat, pH<4 ill. pH>9 tartományokban növekszenek a relaxitás értékek, azt mondhatjuk, hogy a komplex és az oldószer víz között megvalósuló protoncserében elsődleges szerepet a komplexek belső koordinációs szférájában található vízmolekula protonjai játszanak.



IV.3.5. ábra $\text{Y}(\text{DTPA-bA})$ ^1H -NMR spektrumai a pH-függvényében

IV.3.3. Gd^{3+} -DTPA-bisz- és -tris(amid) származék komplexek relaxivitása HSA-ban

A humán szérum albumin (HSA) jelenlétében történő relaxivitas mérések a vér fehérjével való kölcsönhatásokra adnak információt.⁶ Ha a vizsgált komplex másodlagos kölcsönhatásokkal kötődik a fehérjéhez, akkor megnő a komplex rotációs korrelációs ideje, ami a relaxivitas növekedését eredményezi (II.2.5. egyenlet). A Gd(DTPA-bA), Gd(DTPA-bBA), Gd(DTPA-bbBA) és Gd(DTPA-tra)⁺ komplexekre kapott eredmények a IV.3.6. ábrán láthatóak. A GdDTPA-bisz(amid) származékok esetén az amidcsoporton a hidrofób szubsztituensek (n-butil) számának növelésével valamelyest nő a relaxivitas, ami a fehérjékkel meglévő gyenge kölcsönhatás meglétére utal. Azonban a Gd(DTPA-tra)⁺ esetén gyakorlatilag nem tapasztalunk változást, amit csakis a komplex pozitív töltésével, a fehérjékkel bekövetkező másodlagos kölcsönhatások hiányával magyarázhatunk.



IV.3.6. ábra Gd(DTPA-bA) (◆), Gd(DTPA-bBA) (■), Gd(DTPA-bbBA) (▲) és Gd(DTPA-tra)⁺ (×) relaxivitása HSA-ban. (pH=5,5, 25 °C, [GdL]= 1×10^{-3} M, 9 MHz)

Hasonlóan a Gd(DTPA-tra)⁺ komplexhez a szabadgyököket tartalmazó komplexek esetén sem tapasztalunk jelentős növekedést a relaxivitasokban (IV.3.2. táblázat), sőt a Gd(DTPA-bNOPA) esetén kismértékű csökkenést figyelhetünk meg. Ezek a változások a mérések hibahatárán belül vannak, tehát azt

mondhatjuk, hogy a vizsgát nitroxid szabadgyököket tartalmazó komplexek az irodalomnak megfelelően nem lépnek kölcsönhatásba a vér fehérjékkel.¹³³

IV.3.2. táblázat Relaxitás értékek 1mM-os HSA-ban és HSA távollétében (pH=5,5, 25 °C, [GdL]= 1×10^{-3} M, 9 MHz)

Komplex	r_1 (mM⁻¹s⁻¹)	r_1 (mM⁻¹s⁻¹)
	[1mM HSA]	[HSA nélkül]
Gd(DTPA-bNOPA)	6,8	7,5
Gd(DTPA-bNOPMA)	6,7	6,1
Gd(DTPA-bbNOPMA)	7,3	6,6

IV.4. [Gd(DTPA-bbBA)(H₂O)] és [Gd(DTPA-tra)(H₂O)]⁺ komplexek vízcseresebességének vizsgálata

A kontrasztanyagként használatos komplexekben a Gd³⁺-ionnak 9 a koordinációs száma, míg a ligandumok nyolcfogúak és így a fém körüli kilencedik koordinációs helyet egy vízmolekula foglalja el. A Gd³⁺ paramágneses hatása részben (vagy jelentős részben) ennek a vízmolekulának a cseréjén keresztül tevődik át a környező víztömegre. A [Gd(DTPA)(H₂O)]²⁻ vízcseresebessége (k_{ex}) kb. 200-szor kisebb a Gd³⁺.aq-ionhoz képest. Ez éppen ellentétes azzal, amit a 3d átmeneti fémeknél tapasztaltak, ahol a koordinálódó ligandum labilizálja a fém-víz kötést, ezáltal gyorsítja a vízcserét. Szintén érdekes, hogy a [Gd(DTPA-N'-MA)(H₂O)]⁻ és [Gd(DTPA-BMA)(H₂O)] vízcseresebességének vizsgálata során azt találták, hogy egy karboxilát csoport amidcsoportra történő cseréjével a vízcseresebesség harmadára, negyedére csökken. Ezt részben a Gd³⁺-ion körül kialakuló kisebb szterikus zsúfoltsággal magyarázzák, mivel a Gd³⁺ amid-oxigén távolság némileg hosszabb, mint a Gd³⁺-karboxilát oxigéné.⁹⁴ Ezenkívül a DTPA negatív töltésű karboxilát csoportjainak semleges amidcsoportokra történő cseréje csökkenti a cserélő vízmolekula környezetében a negatív töltést. Ez a koordinált vízmolekula lassabb disszociációjához vezet, ami a Gd³⁺-poliamino-polikarboxilát komplexek vízcseresebességének meghatározó lépése.¹⁰⁸

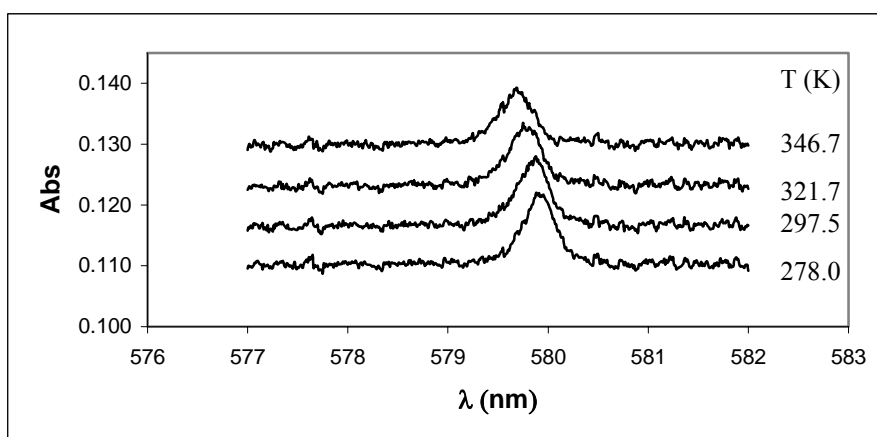
Az MRI kontrasztanyagok fejlesztése szempontjából tehát szükség van a Gd³⁺-komplexek vízcseresebességének mélyebb megismerésére és az azt befolyásoló tényezők vizsgálatára. Hasznos annak az ismerete is, hogy milyen szerepe van a ligandum nitrogénjein levő funkcionális csoportoknak, illetve a koordinációban részt nem vevő funkcionális csoportoknak. Ilyen összehasonlító vizsgálatok elvégzése szempontjából két (korábban nem vizsgált) ligandumot találtunk érdekesnek.

A [Gd(DTPA-bbBA)(H₂O)] komplex esetén a diszubsztituált amidcsoportok hatására, míg a [Gd(DTPA-tra)(H₂O)]⁺ vizsgálata során arra voltunk kíváncsiak, hogy a harmadik karboxilát kar amidcsoportra történő cseréjével folytatódik-e a [Gd(DTPA)(H₂O)]²⁻ > [Gd(DTPA-N'-MA)(H₂O)]⁻ > [Gd(DTPA-BMA)(H₂O)] komplexek során megfigyelt vízcseresebesség csökkenés.¹¹¹

A belső koordinációs szférában lévő vízmolekulák számát UV-látható spektrofotometriás mérésekkel vizsgáltuk. A vízcseresebességet, a komplex forgását, az elektronrelaxációt valamint a proton relaxációt leíró paraméterek meghatározására változó hőmérsékletű ¹⁷O-NMR és ESR méréseket, míg a vízcseresebesség mechanizmusának felderítésére nagy nyomású ¹⁷O-NMR-es vizsgálatokat végeztünk.

IV.4.1. UV-látható spektrofotometriás vizsgálatok

Különböző hőmérsékleteken végzett spektrofotometriás mérésekkel megbizonyosodhatunk a belső koordinációs szférában különböző számú vízmolekulát tartalmazó izomer komplexek esetleges létezéséről. Ilyen vizsgálatokra az Eu³⁺-komplexek ⁵D₀ ← ⁷F₀ átmenetének megfelelő sávot találták alkalmasnak az 577,5-581,5 nm tartományban.²⁹ Az Eu(DTPA-bbBA) komplex esetén egy, a hőmérséklettől független abszorpciós sávot találtunk ebben a tartományban (IV.4.1. ábra), ami kizárja a hidratációs egyensúlyt, a két különböző hidratáltságú komplex jelenlétét, a vizsgált hőmérséklettartományban (5-74 °C). (Az abszorpciós sávok a hőmérséklet növelésével csak gyengén eltolódnak, de nem hasadnak fel két sávra, mint a hidratációs egyensúly esetén.)



IV.4.1. ábra Az Eu(DTPA-bbBA) komplex Uv-látható abszorpciós spektrumai a hőmérséklet függvényében

Ismerve a ligandumok szerkezetét, a koordinálódó csoportokat és a korábbi szerkezetvizsgálatokat,^{93,134} azt feltételezhetjük a vizsgált komplexek hasonlósága miatt, hogy az Eu^{3+} -komplexek belső koordinációs szférájában egy vízmolekula található. A Gd^{3+} - és az Eu^{3+} -ion méretének nagy hasonlósága miatt ez várhatóan a Gd^{3+} -komplexekre is érvényes.

IV.4.2. ^{17}O -NMR és ESR mérések

^{17}O -NMR. A paramágneses iont tartalmazó oldatokban mért ^{17}O -NMR relaxációsebességekből ($1/T_1$, $1/T_2$) és a $^{17}\text{OH}_2$ jel eltolódásából (ω), valamint a paramágneses iont nem tartalmazó, diamágneses minta azonos paramétereiből ($1/T_{1A}$, $1/T_{2A}$, ω_A) a Swift-Connick egyenletek¹³⁵ alapján (IV.4.1.-3.) számíthatók a redukált relaxációsebességek ($1/T_{1r}$, $1/T_{2r}$) és a kémiai eltolódás ($\Delta\omega_r$). Diamágneses külső standardként ^{17}O -ban dúsított, HClO_4 oldatot (pH=3,4) használtunk. A redukált relaxációsebességek és a kémiai eltolódás értékek logaritmusát a $[\text{Gd}(\text{DTPA-bbBA})(\text{H}_2\text{O})]$ és $[\text{Gd}(\text{DTPA-tra})(\text{H}_2\text{O})]^+$ esetén IV.4.2 ábrán (65. o.) mutatjuk be $1/T$ függvényében.

$$\frac{1}{T_{1r}} = \frac{1}{P_m} \left[\frac{1}{T_1} - \frac{1}{T_{1A}} \right] = \frac{1}{T_{1m} + \tau_m} \quad (\text{IV.4.1.})$$

$$\frac{1}{T_{2r}} = \frac{1}{P_m} \left[\frac{1}{T_2} - \frac{1}{T_{2A}} \right] = \frac{1}{\tau_m} \frac{T_{2m}^{-2} + \tau_m^{-1} T_{2m}^{-1} + \Delta\omega_m^2}{(\tau_m^{-1} + T_{2m}^{-1})^2 + \Delta\omega_m^2} \quad (\text{IV.4.2.})$$

$$\Delta\omega_r = \frac{1}{P_m} (\omega - \omega_A) = \frac{\Delta\omega_m}{(1 + \tau_m T_{2m}^{-1})^2 + \tau_m^2 \Delta\omega_m^2} + \Delta\omega_{os} \quad (\text{IV.4.3.})$$

A Swift-Connick egyenletekben az $1/T_{1m}$ és $1/T_{2m}$ a paramágneses ion belső koordinációs szférájában kötött vízmolekula relaxációsebessége, $\Delta\omega_m$ a kötött és a paramágneses ion hatását már nem érző vízmolekulák kémiai eltolódásának különbsége, P_m a belső koordinációs szférában levő vízmolekulák móltörtje és τ_m a belső koordinációs szférában levő vízmolekulának az átlagos élettartama. Az $1/T_{1os}$, $1/T_{2os}$ és $\Delta\omega_{os}$ a külső szféra hozzájárulását jellemzi a redukált

relaxációsebességekhez és kémiai eltolódáshoz; Micskei és munkatársai¹⁰⁸ kimutatták, hogy az $1/T_{1os}$, $1/T_{2os}$ elhanyagolható.

Korábban már igen sok Gd³⁺-kompleyre kimutatták, hogy a vizsgált rendszer alacsonyabb hőmérsékleteken (általában 30-40 °C alatt) az NMR időskálán a lassú csere tartományban, míg magasabb hőmérsékleten a gyors csere tartományban van. A lassú csere tartományban a ¹⁷O-relaxációsebességet a vízcseresebesség (k_{ex}) határozza meg, azaz a folyamat cserekontrollált, míg a gyors csere tartományban a relaxációsebességet a paramágneses ion belső szférájában kötött vízmolekula transzverzális relaxációsebessége ($1/T_{2m}$) határozza meg, azaz a folyamat relaxációkontrollált. A csere- és a relaxációkontrollált tartomány közötti átmenetet az $\ln(1/T_{2r})-1/T$ ábrán maximum, illetve a $\Delta\omega_r - 1/T$ görbéken (IV.4.2. ábra) inflexió pont jelez. A $\Delta\omega_m$ -et a hiperfinom vagy skaláris csatolási állandó (A/\hbar) határozza meg:

$$\Delta\omega_m = \frac{g_L \mu_B S(S+1) B}{3k_B T} \frac{A}{\hbar} \quad (\text{IV.4.4.})$$

ahol B a mágneses tér, S az elektron spin ($S=7/2$), a g_L az izotóp Landé g-faktor és μ_B a Bohr magneton.

A külső szféra hozzájárulása ($\Delta\omega_{os}$) a $\Delta\omega_r$ -hez a lassú csere tartományban válik meghatározóvá, ennek számítása a következő egyenlet alapján történik (C_{os} egy empirikus állandó):

$$\Delta\omega_{os} = C_{os} \times \Delta\omega_m \quad (\text{IV.4.5.})$$

A ¹⁷O longitudinális relaxációsebesség ($1/T_{1m}$) a következő egyenlettel adható meg:

$$\frac{1}{T_{1m}} = \left[\frac{1}{15} \left(\frac{\mu_0}{4\pi} \right)^2 \frac{\hbar^2 \gamma_1^2 \gamma_s^2}{r_{\text{GdO}}^6} S(S+1) \right] \times \left[6\tau_{d1} + 14 \frac{\tau_{d2}}{1 + \omega_s^2 \tau_{d2}^2} \right] + \frac{3\pi^2}{10} \frac{2I+3}{I^2(2I-1)} \chi^2 (1 + \eta^2/3) \tau_{RO} \quad (\text{IV.4.6.})$$

$$\frac{1}{\tau_{di}} = \frac{1}{\tau_m} + \frac{1}{\tau_{RO}} + \frac{1}{T_{ie}} \quad i = 1, 2 \quad (\text{IV.4.7.})$$

ahol γ_s az elektron γ_1 a ^{17}O mag giromágneses hányadosa ($\gamma_s = 1,76 \times 10^{11} \text{rads}^{-1}\text{T}^{-1}$, $\gamma_1 = 3,626 \times 10^7 \text{rads}^{-1}\text{T}^{-1}$) μ_0 a vákuum permeabilitása, r az effektív távolság a párosítatlan elektron töltése és a belső koordinációs szférában kötött ^{17}O mag között, I a magspin (^{17}O -re $5/2$), χ a kvadrupólus csatolási állandó és η egy asszimmetria paraméter. τ_{RO} a Gd-O tengely rotációs korrelációs ideje, amely kisméretű komplexek esetében megegyezik az egész molekula rotációs korrelációs idejével. A τ_{RO} rotációs korrelációs idő hőmérsékletfüggésére exponenciális függést feltételezünk:

$$\tau_{RO} = \tau_{RO}^{298} \exp \left\{ \frac{E_R}{R} \left(\frac{1}{T} - \frac{1}{298.15} \right) \right\} \quad (\text{IV.4.8.})$$

ahol E_R az aktiválási energia, τ_{RO} a rotációs korrelációs idő 298,15 K-en és R az egyetemes gázállandó.

A transzverzális relaxációsebességet ($1/T_{2m}$) a skaláris hozzájárulás ($1/T_{2sc}$) (kötéseken keresztül ható kölcsönhatás) határozza meg:

$$\frac{1}{T_{2m}} \cong \frac{1}{T_{2sc}} = \frac{S(S+1)}{3} \left(\frac{A}{\hbar} \right)^2 \tau_{s1} \quad (\text{IV.4.9.})$$

ahol az $1/\tau_{s1}$ a vízcseresebesség (a belső koordinációs szférában kötött vízmolekula átlagos kötődési idejének reciproka, $1/\tau_m = k_{\text{ex}}$) és az elektron-spin relaxációsebesség összege $1/T_{1e}$:

$$\frac{1}{\tau_{sl}} = \frac{1}{\tau_m} + \frac{1}{T_{1e}} \quad (\text{IV.4.10.})$$

A vízcseresebességi állandó hőmérsékletfüggését az Eyring egyenlettel adhatjuk meg:

$$\frac{1}{\tau_m} = k_{\text{ex}} = \frac{k_B T}{h} \exp\left\{\frac{\Delta S^\ddagger}{R} - \frac{\Delta H^\ddagger}{RT}\right\} = \frac{k_{\text{ex}}^{298} T}{298.15} \exp\left\{\frac{\Delta H^\ddagger}{R} \left(\frac{1}{298.15} - \frac{1}{T}\right)\right\} \quad (\text{IV.4.11.})$$

ahol ΔS^\ddagger és ΔH^\ddagger a vízcserereakció aktiválási entrópiája és entalpiája, valamint a k_{ex}^{298} , a vízcseresebesség 298,15 K hőmérsékleten.

Oldatban a paramágneses fémionok ($S > 1/2$) párosítatlan elektronjainak a relaxációsebességét ($1/T_e$) elsősorban a zérus-tér felhasadás határozza meg (ZFS)¹³⁶, melyeket a következő egyenletekkel vesszünk figyelembe.

$$\left(\frac{1}{T_{1e}}\right)^{\text{ZFS}} = \frac{1}{25} \Delta^2 \tau_v \{4S(S+1) - 3\} \left(\frac{1}{1 + \omega_S^2 \tau_v^2} + \frac{4}{1 + 4\omega_S^2 \tau_v^2} \right) \quad (\text{IV.4.12.})$$

$$\left(\frac{1}{T_{2e}}\right)^{\text{ZFS}} = \Delta^2 \tau_v \left[\frac{5.26}{1 + 0.372\omega_S^2 \tau_v^2} + \frac{7.18}{1 + 1.24\omega_S^2 \tau_v^2} \right] \quad (\text{IV.4.13.})$$

ahol Δ^2 a zérus-tér felhasadás tenzorának a jele, τ_v a ZFS változásának korrelációs ideje, ami a komplex állandó torzulásából vagy a rotációjából adódhat és ω_S az elektron-spin Larmor frekvenciája. τ_v hőmérsékletfüggését az Arrhenius összefüggéssel írhatjuk le, ahol E_v a ZFS változás aktiválási energiája:

$$\tau_v = \tau_v^{298} \exp\left\{\frac{E_v}{R} \left(\frac{1}{T} - \frac{1}{298.15}\right)\right\} \quad (\text{IV.4.14.})$$

ESR. A $[\text{Gd}(\text{DTPA-bbBA})(\text{H}_2\text{O})]$ és $[\text{Gd}(\text{DTPA-tra})(\text{H}_2\text{O})]^+$ komplexek oldataikban felvett ESR spektrumokban egy sáv jelentkezett, amelynek félérték-szélességéből (ΔH_{pp}) számítottuk az $1/T_{2e}$ elektron-relaxációsebességet a IV.4.15. egyenlet alapján.

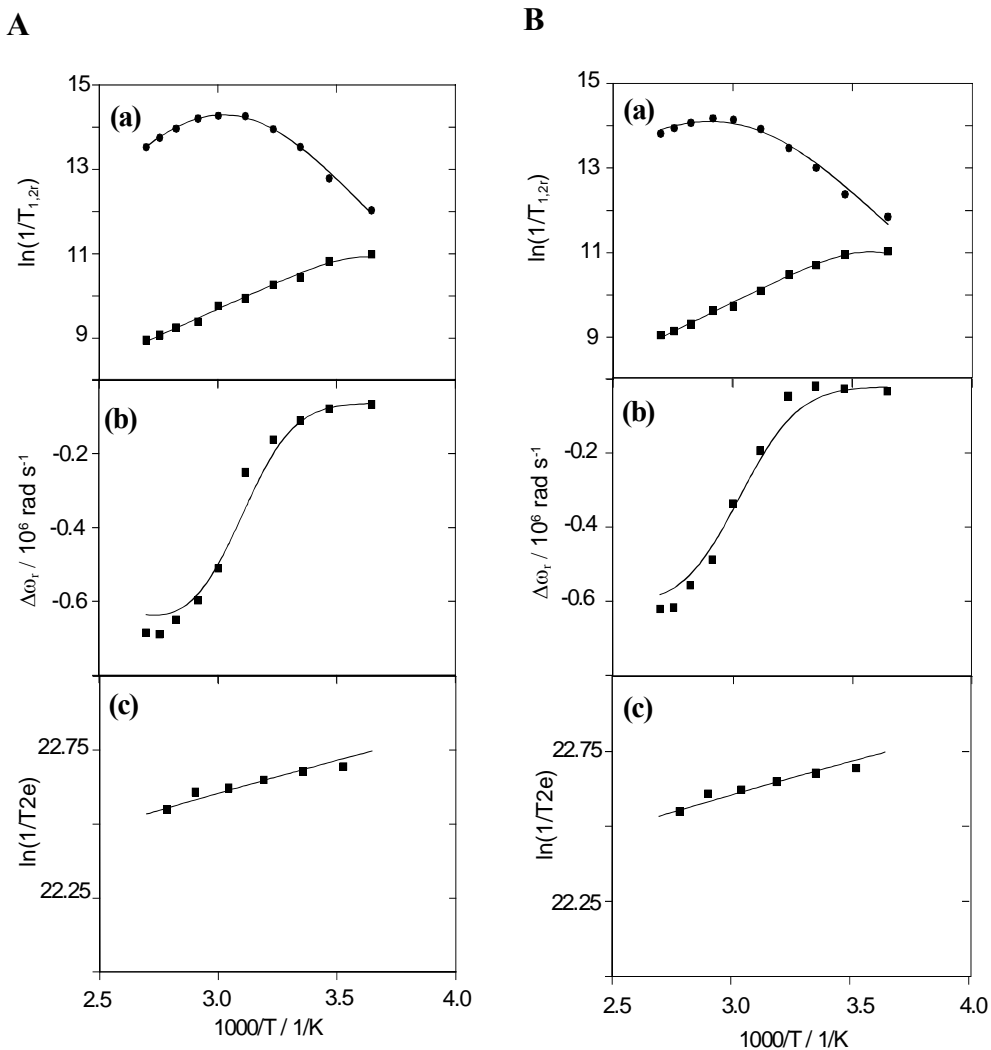
$$\frac{1}{T_{2e}} = \frac{g_L \mu_B \pi \sqrt{3}}{h} \Delta H_{pp} \quad (\text{IV.4.15.})$$

ahol g_L az izotróp Landé g-faktor ($g_L = 2,0$ a Gd^{3+} -ionra), μ_B a Bohr-magneton, h a Planck állandó.

A változó hőmérsékletű ^{17}O -NMR mérési eredményekből számolt $1/T_{1r}$ és $1/T_{2r}$ és $\Delta\omega_r$ értékeket, valamint a változó hőmérsékleten felvett ESR jelek félérték-szélességeiből számított $1/T_{2e}$ elektron transzverzális relaxációsebességeket a fenti IV.4.1-14. egyenletek alapján egyidejűleg illesztettük, a következő paraméterek és a kvadrupólus csatolási állandó számításával: k_{ex}^{298} , ΔH^\ddagger , ΔS^\ddagger , A/\hbar , C_{os} , τ_{RO}^{298} , E_R , τ_V^{298} , E_V és Δ^2 . Az illesztett görbék a $[\text{Gd}(\text{DTPA-bbBA})(\text{H}_2\text{O})]$ komplex esetén IV.4.2 A ábrán, míg a $[\text{Gd}(\text{DTPA-tra})(\text{H}_2\text{O})]^+$ esetén a IV.4.2 B ábrán láthatók. A számított paramétereket a IV.4.1. táblázatban tüntettük fel.

A longitudinális ^{17}O relaxációsebességeket kvadrupólus és dipoláris relaxációs mechanizmusok segítségével határoztuk meg. A kvadrupólus relaxációs mechanizmus egyik fontos paramétere a belső koordinációs szférában kötött víz oxigénjének kvadrupólus csatolási állandója $[\chi(1+\eta^2/3)^{1/2}]$, melyet 7,58 MHz-re rögzítettünk, míg a dipoláris relaxációs mechanizmus, a Gd^{3+} -ion és a koordinált vízmolekula oxigénjének a távolságát használja (r_{GdO}), melyet 2,5 Å-re rögzítettünk az illesztés során.¹³⁷ Az így meghatározott rotációs korrelációs idők (τ_{RO}) a Gd^{3+} -O vektor (a belső koordinációs szférában található vízmolekula oxigénje) forgására vonatkoznak és nem mutatnak jelentős eltérést a korábban a kis móltömegű Gd-poliiaza-polikarboxilát komplexekre kapott eredményektől.

Mind a két komplex vizsgálata során azt tapasztaltuk, hogy alacsonyabb hőmérsékleteken a ^{17}O -transzverzális relaxációsebességek ($1/T_{2r}$) nőnek a növekvő hőmérséklettel (IV.4.2 ábrák), ami azt jelzi, hogy mind a két rendszer a lassú csere tartományban van, ahol az $1/T_{2r}$ értékeket csak a vízcseresebesség határozza meg.



IV.4.2. ábra Redukált ¹⁷O transzverzális (■) és longitudinális (●) relaxációsebességek (a), redukált kémiai eltolódás értékek (b) 9,4 T-án és transzverzális elektronrelaxációsebességek (c) 0,34 T-án a [Gd(DTPA-bbBA)(H₂O)] (A) és [Gd(DTPA-tra)(H₂O)]⁺ (B) komplexekre a hőmérséklet reciprokanak függvényében.

IV.4.1 táblázat Az ^{17}O NMR és ESR adatok együttes illesztése során kapott paraméterek az egyes Gd^{3+} -komplexekre.

Ligandum	DTPA-bbBA	DTPA-tra	DTPA-BMA^a
$k_{\text{ex}}^{298} / 10^5 \text{ s}^{-1}$	9,8±0,3	6,0±0,3	4,3
$\Delta H^\ddagger / \text{kJ mol}^{-1}$	48,5±2,0	42,7±1,5	46,6
$\Delta S^\ddagger / \text{J mol}^{-1}\text{K}^{-1}$	+31±3	+8±5	+18,9
$\Delta V^\ddagger / \text{cm}^3 \text{ mol}^{-1}$	+11,3±1,0	+4,7±1,0	+7,3
$A/\hbar / 10^6 \text{ rad s}^{-1}$	-3,4±0,2	-3,5±0,3	-3,6
C_{OS}	0,08±0,05	0,02±0,02	0,13
$\tau_{\text{RO}}^{298} / \text{ps}$	233±7	293±11	167
$E_{\text{R}} / \text{kJ mol}^{-1}$	21,2±0,5	23,3±0,8	21,6
$\tau_{\text{v}}^{298} / \text{ps}$	9±1	9±1	34
$E_{\text{v}} / \text{kJ mol}^{-1}$	1 ^b	2,5±1,3	9
$\Delta^2 / 10^{20} \text{ s}^{-2}$	1,1±0,1	1,4±0,1	0,38

a: . Irod.¹³⁷.

b. Az érték rögzítve volt az illesztés során.

Magasabb hőmérsékleteken az $1/T_{2r}$ értékek csökkennek a hőmérséklettel (gyors csere tartomány), melyeket elsősorban az $1/T_{2m}$, a koordinált vízmolekulák relaxációsebessége, befolyásol. Az $1/T_{2m}$ értékeket pedig a vízmolekulák belső koordinációs szférában való tartózkodási ideje ($\tau_m = 1/k_{\text{ex}}$), a longitudinális elektron relaxációs idő ($1/T_{1e}$) és a hiperfinom csatolási állandó (A/\hbar) határozza meg. Az A/\hbar hiperfinom vagy skaláris csatolási állandó a Gd^{3+} -ion spinsűrűségét mutatja az oxigén-mag körül. A IV.4.1. táblázatban feltüntetett poliaza-polikarboxilát komplexek esetében az A/\hbar közel azonos értékű, ami alapján azt mondhatjuk, hogy az általunk vizsgált komplexek belső koordinációs szférájában csak egy vízmolekula tartózkodik. Az A/\hbar értékét a (IV.4.9.) egyenlet alapján számíthatjuk, míg a longitudinális elektron relaxációsebességet ($1/T_{1e}$) az ESR mérések alapján számított $1/T_{2e}$ értékekből számíthatjuk a (IV.4.12-14.) egyenletek

alapján. Adatainkat a Solomon-Bloembergen-Morgan elmélettel illesztettük, ahol az $1/T_{1e}$ és $1/T_{2e}$ mennyiségeket a zérus-tér felhasadás (ZFS) határozza meg, és (IV.4.12-14.) egyenlet alapján számíthatjuk a zérus-tér felhasadás tenzorát (Δ^2), valamint a ZFS torzulásának korrelációs idejét (τ_V) és annak aktiválási energiáját (E_V). A IV.4.1. táblázatban szereplő, számításaink során kapott elektronikus paraméterek (Δ^2 , τ_V^{298} és E_V) kevéssé megbízhatóak, de nem térnek el jelentősen a korábban kapott kismolekulájú Gd³⁺-kelátokra kapott eredményektől. Megbízhatóbb adatokat kaptunk volna, ha az illesztést a nemrég kidolgozott Rast-Borel elmélettel végezzük, melynek feltétele a több és nagy mágneses téren való ESR vizsgálat.^{138,139} Azonban nekünk csak egy mágneses téren volt lehetőségünk ESR vizsgálatokat végezni.

A várakozásoknak megfelelően a vizsgált komplexek vízcseresebességei (IV.4.1. táblázat) kisebbek, mint a [Gd(DTPA)(H₂O)]²⁻ komplex vízcseresebessége ($k_{ex}^{298} = 4,1 \times 10^6 \text{ s}^{-1}$)¹⁰⁸, és a [Gd(DTPA-tra)(H₂O)]⁺ komplex esetén a harmadik amidcsoport bevitele tovább csökkenti a vízcseresebességet. Ennek okát ugyanúgy, mint a DTPA-N-MA, DTPA-BMA vizsgálata során a karboxilát komplexekhez képest, a kötött víz helyén, bekövetkező negatív töltés és szterikus zsúfoltság csökkenésével magyarázhatjuk. Nemrégben Botteman és munkatársai¹²⁷ részletesen vizsgálták a GdDTPA-bisz(amid) származék komplexek vízcseresebességét s azt találták, hogy a mono-szubsztituált amidcsoporton a szubsztituensek szénláncának növelésével csökken a belső koordinációs szférában kötött vízmolekula tartózkodási ideje, azaz nő a vízcseresebessége ([Gd(DTPA-BA)(H₂O)]: $k_{ex} = 4,2 \times 10^5 \text{ s}^{-1}$, [Gd(DTPA-BMA)(H₂O)]: $k_{ex} = 4,5 \times 10^5 \text{ s}^{-1}$, [GdDTPA-bisz(propilamid)(H₂O)]: $k_{ex} = 5,5 \times 10^5 \text{ s}^{-1}$, [Gd(DTPA-bBA)(H₂O)]: $k_{ex} = 6,3 \times 10^5 \text{ s}^{-1}$). Azonban ez a hatás csak kismértékű, mivel a szubsztituensek a belső koordinációs szféráját nem változtatják meg a komplexnek.

A diszubsztituált amidcsoportokat tartalmazó GdDTPA-bisz(amid) származék komplexekre azonban azt találták, hogy a szubsztituenseknek nincs hatása a vízcseresebességre és értékük a nagyobb vízcseresebességgel rendelkező monoszubsztituált komplexek (pl.: [GdDTPA-bisz(amilamid)(H₂O)]: $k_{ex} = 7,8 \times 10^5 \text{ s}^{-1}$) vízcseréjéhez hasonló ([GdDTPA-bisz[bisz(metilamid)(H₂O)]: $k_{ex} = 7,2 \times 10^5 \text{ s}^{-1}$, GdDTPA-bisz[bisz(propilamid)(H₂O)]: $k_{ex} = 7,4 \times 10^5 \text{ s}^{-1}$). Az általunk [Gd(DTPA-bbBA)(H₂O)] komplexre kapott vízcseresebesség érték azonban ennél nagyobb ($k_{ex} = 9,8 \times 10^5 \text{ s}^{-1}$), amit a ligandumon lévő 4 n-butil

csoport sztérikus hatásával magyarázhatunk. Ehhez hasonló hatások lépnek fel, ha a DTPA-bisz(amid) származék ligandum etilén-diamin vázának egyik metilén protonját benzil (Gd(S)₄Bz-DTPA-BMA) és etoxi-benzil (Gd(S)EOB-DTPA-BMA) csoportra cseréljük ki. Laurent és munkatársai¹⁰⁴ nemrég mutatták ki, hogy a Gd(DTPA-BMA) lassú vízcseréjét ily módon lehet növelni [$k_{\text{ex}}(\text{Gd}(\text{S})\text{C}_4\text{Bz-DTPA-BMA}) = 1,3 \times 10^6 \text{ s}^{-1}$, $k_{\text{ex}}(\text{Gd}(\text{S})\text{EOB-DTPA-BMA}) = 1,0 \times 10^6 \text{ s}^{-1}$] és a növekedés okát a szerzők konformációs vagy sztérikus hatással magyarázták.

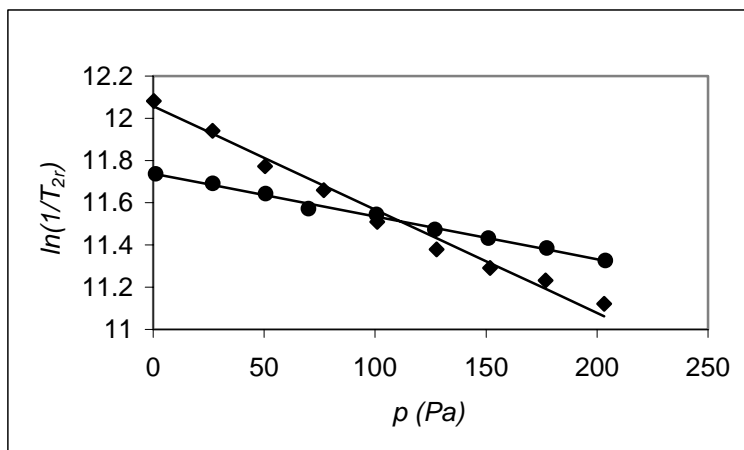
IV.4.3. Nagynyomású ¹⁷O-NMR

A vízcseresebességek nyomásfüggésének vizsgálatával a vízcseré reakció aktiválási térfogata (ΔV^\ddagger) határozható meg, melyet a következő egyenlet ír le:

$$\frac{1}{\tau_m} = k_{\text{ex}} = (k_{\text{ex}})_0^T \exp\left\{-\frac{\Delta V^\ddagger}{RT} P\right\} \quad (\text{IV.4.16.})$$

ahol $(k_{\text{ex}})_0^T$ a vízcseré sebessége 0 Pa nyomáson és T hőmérsékleten.

A lassú csere tartományban adott téren és hőmérsékleten mind a két vizsgált komplex esetében az $1/T_{2r}$ értékek csökkennek a nyomás növelésével (IV.4.3. ábra), mivel csökken a vízcseresebesség, ami disszociatív mechanizmusra utal.¹⁴⁰ Korábban kimutatták, hogy a skaláris csatolási állandó (A/\hbar) és a τ_V független a nyomástól, így a (IV.4.2., IV.4.9., IV.4.12. és IV.4.16.) egyenletek felhasználásával illesztettük a ΔV^\ddagger és $(k_{\text{ex}})_0^T$ paramétereket. Az eredményeket a IV.4.3 ábra mutatja, míg a legkisebb négyzetek elvén végzett illesztések eredményei a következők: $\Delta V^\ddagger = +11,3 \pm 0,5 \text{ cm}^3 \text{ mol}^{-1}$, $(k_{\text{ex}})_0^{276,0} = (1,7 \pm 0,1) \times 10^5 \text{ s}^{-1}$ a $[\text{Gd}(\text{DTPA-bbBA})(\text{H}_2\text{O})]$ komplexre és $\Delta V^\ddagger = +4,7 \pm 1,0 \text{ cm}^3 \text{ mol}^{-1}$, $(k_{\text{ex}})_0^{274,5} = (1,3 \pm 0,1) \times 10^5 \text{ s}^{-1}$ a $[\text{Gd}(\text{DTPA-tra})(\text{H}_2\text{O})]^+$ komplexre. Ezek az aktiválási térfogat eredmények tisztán disszociatív vízcseré mechanizmusra utalnak a $[\text{Gd}(\text{DTPA-bbBA})(\text{H}_2\text{O})]$ és disszociatív interchange mechanizmusra a $[\text{Gd}(\text{DTPA-tra})(\text{H}_2\text{O})]^+$ esetén.



IV.4.3. ábra Redukált transzverzális ¹⁷O relaxációsebességek (s⁻¹) a nyomás függvényében ([Gd(DTPA-bbBA)(H₂O)] (◆) és [Gd(DTPA-tra)(H₂O)]⁺ (●))

Az eddigi irodalomban közölt értékek a GdDTPA-bisz(amid) származékokra lényegesen kisebbek ($\Delta V^\ddagger = +5,6-7,4 \text{ cm}^3 \text{ mol}^{-1}$)^{5,127}, mint a [Gd(DTPA-bbBA)(H₂O)] esetében. Ezek a kis aktiválási térfogat értékek azt mutatják, hogy ezen komplexeknél a belépő vízmolekulának sokkal nagyobb szerepe van a sebességmeghatározó lépésben, mint a [Gd(DTPA)(H₂O)]²⁻ komplex vízcseresebessége során ($\Delta V^\ddagger = +12,5 \text{ cm}^3 \text{ mol}^{-1}$)¹⁰⁸.

A fent említett kis aktiválási térfogatokat monoszubsztituált DTPA-bisz(amid) származékoknál közölték, eddig diszubsztituált származékokat nem vizsgáltak. A [Gd(DTPA-bbBA)(H₂O)] vizsgálatok során a ligandumon levő n-butil lánc valószínűleg sztérikusan megakadályozza, hogy a belépő vízmolekula jelentős szerepet játsszon a vízcseresebességmeghatározó lépésében, ugyanakkor a [Gd(DTPA-tra)(H₂O)]⁺ komplex pozitív töltése kompenzálni tudja ezt a sztérikus hatást.

IV.5. Gd³⁺-DTPA-bisz- és -tris(amid) származék komplexek fémcsere kinetikájának vizsgálata

Az NMR tomográfias kontrasztanyagokkal szembeni követelmények között a nagy termodinamikai stabilitás és a Gd³⁺-ionra való nagy szelektivitás mellett a Gd³⁺-komplexek nagy kinetikai inertsége is szerepel, aminek az utóbbi időben egyre nagyobb jelentőséget tulajdonítanak, mivel olyan biztonságosan alkalmazható MRI kontrasztanyagok is forgalomba kerültek, melyek termodinamikai stabilitása között 6 nagyságrend különbség van ($\log K_{\text{Gd(DTPA)}} = 22,46$; $\log K_{\text{Gd(DTPA-BMA)}} = 16,38$)^{67,124}.

A kinetikai stabilitás vizsgálatára egy elterjedt módszer az adott komplex disszociációjának 0,1 M HCl-ban (vagy 0,1 M HClO₄-ban) történő vizsgálata, amikor a disszociáció elsősorban a komplex protonkatalizált disszociációjával megy végbe, azonban fiziológiás pH-n (pH=7,4) ez a reakcióút a H⁺-ionok kis koncentrációja miatt elhanyagolható. Így az MRI kontrasztanyagok kinetikai vizsgálata céljából előnyösebb a fémcsere reakciók vizsgálata, ahol mind a protonkatalizált disszociációról, mind a kicserélő fém közvetlen támadásával végbemenő reakcióútról is kapunk információt.

A Gd(DTPA)²⁻ fémcsere reakcióit korábban már részletesen vizsgálták Brücher és munkatársai.^{44b} Kimutatták, hogy pH=4-6 tartományban a nyíltláncú poliaza-polikarboxilát Ln³⁺-komplexeinek ritkaföldfémekkel való cserereakciói döntően a komplex protonkatalizált disszociációját követően a szabad ligandum és a helyettesítő Ln³⁺-ionok reakciójával mennek végbe. Nagyobb pH (pH>4,5) értékeknél Sarka és munkatársai⁴⁵ azt találták, hogy a reakciósebességek arányosak a Cu²⁺ és Zn²⁺-ionok koncentrációival és függetlenek a pH-tól, amik azt jelzik, hogy a cserereakciók a Cu²⁺ és Zn²⁺-ionoknak a Gd(DTPA)²⁻-n történő direkt támadásával mennek végbe és a protonált komplex disszociációja elhanyagolható mértékű. A Cu²⁺ és Zn²⁺-ionokkal történő fémcsere reakciók azért fontosak, mivel a Cu²⁺ és Zn²⁺-ionok viszonylag nagy kicserélhető koncentrációban találhatóak a szervezetben és ezen reakciókon keresztül a kontrasztanyagok szervezetben mutatott kinetikai inertségéről is információt nyerhetünk. A fémcsere reakciók azonban maximum pH=6-ig tanulmányozhatók a kicserélő fém hidrolízise miatt, így a komplex kinetikai stabilitására vonatkozó információt csak számítással végezhetünk pH=7,4-re, a reakciót jellemző sebességi egyenlet alapján.

A GdDTPA-amid származékainak [Gd(DTPA-N-MA)⁻, Gd(DTPA-N'-MA)⁻, Gd(DTPA-BMA)] fémcsere kinetikáját (Eu³⁺, Cu²⁺, Zn²⁺) elsősorban Sarka és munkatársai¹⁷ vizsgálták. A Gd(DTPA-BMA) esetén azt találták, hogy a Cu²⁺-zel és Zn²⁺-kel lejátszódó cserereakciók (ahol a fém közvetlen támadásával bekövetkező reakcióút a meghatározó) lassabban játszódnak le, mint Gd(DTPA)²⁻ esetén, mely termodinamikailag lényegesen stabilabb komplex. Ezt a szerzők a koordinált ligandumon jelenlevő imino-diacetát (IMDA) csoport fontos szerepével magyarázzák, ami a Cu²⁺-hez vagy a Zn²⁺-hez tud koordinálódni és így kétmagvú komplexek jöhetnek létre, mely folyamatnak sebességhatározó szerepe lehet. Azonban a Gd(DTPA)²⁻ és Gd(DTPA-N'-MA)⁻ és Gd(DTPA-N-MA)⁻ esetén az Eu³⁺-mal végbemenő cserereakciók lassabbak, mint a Cu²⁺-zel és Zn²⁺-kel lejátszódók, ugyanakkor a Zn²⁺-kel és Eu³⁺-mal képzett imino-diacetát komplexek stabilitási állandója közel azonos, míg a Cu(IMDA) komplexeké nagyobb ($\log K_{Zn(IMDA)}=7,24$, $\log K_{Eu(IMDA)}=6,73$, $\log K_{Cu(IMDA)}=10,57$)¹²⁴. Ezt az ellentmondást úgy értelmezik, hogy a Zn(IMDA)-ban Zn-N kötés erősebb, mint az Eu(IMDA)-ban az Eu-N kötés, így a kétmagvú köztitermék képződése során a ligandum többi funkciós csoportjának a Zn²⁺-re történő áttevődése nagyobb valószínűséggel játszódik le.

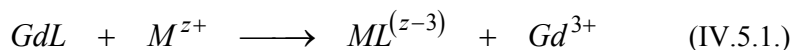
A Gd(DTPA-BMA) protonkatalizált disszociációjára Sarka és munkatársai közel hasonló értéket találtak ($12,7 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$), mint Rothermel és munkatársai¹⁴¹ a Gd(DTPA-BMEA)-ra ($8,65 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$), míg a Gd(DTPA)²⁻-é csak $0,58 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$. Azonban a Gd(DTPA-BMA) protonálódási állandóját ($K_{GdHL}<2$) sokkal kisebbnek találták, mint a Gd(DTPA)²⁻ protonálódási állandóját ($K_{GdHL}=100$). Ez azt jelenti, hogy a protonált GdH(DTPA-BMA)⁺ koncentrációja sokkal kisebb, mint a GdH(DTPA)⁻-é, következésképpen a Gd(DTPA-BMA) protonkatalizált disszociációja nem sokkal gyorsabb, mint a Gd(DTPA)²⁻-é.

Ezek alapján látható, hogy a Gd(DTPA-BMA) esetén a kicserélő fém közvetlen támadásával lejátszódó reakció lassabb, míg a protonkatalizált disszociáció közel azonos, mint a Gd(DTPA)²⁻ esetén, így arra következtethetünk, hogy az amidcsoportoknak jelentős szerepe van a kinetikai stabilitás növelésében.

Ennek felderítése érdekében végeztünk részletes kinetikai vizsgálatokat a Gd(DTPA-bA), Gd(DTPA-bBA), Gd(DTPA-bbBA) komplexekkel, ahol az amidcsoport szubsztituáltságának hatását vizsgálhattuk a kinetikai stabilitásra. A Gd(DTPA-tra)⁺ esetén a ligandumban található további (harmadik) amidcsoport

szerepéről kívántunk meggyőződni, míg a szabadgyökös komplexek vizsgálata során a komplexekben található stabilis nitroxid szabadgyökök esetleges hatását kívántuk vizsgálni a kinetikai stabilitásra.

A Gd(DTPA-bA), Gd(DTPA-bBA), Gd(DTPA-bbBA) és Gd(DTPA-tra)⁺ kinetikai stabilitásának vizsgálata során Eu³⁺, Cu²⁺ és Zn²⁺ cserereakciókat végeztünk. Míg a szabadgyökös komplexek esetén Lu³⁺ és Zn²⁺ cserereakciókat, mivel a Cu²⁺-vel nem tudtunk fémcsere reakciókat sem végezni, mert a szabadgyökökkel a Cu²⁺ redoxi reakcióba lépett. A kicserélődési reakciók általános egyenlete:



ahol: L: DTPA-bA, DTPA-bBA, DTPA-bbBA, DTPA-tra, DTPA-bNOPA, DTPA-bNOPMA és DTPA-bbNOPMA, M: Eu³⁺, Lu³⁺, Cu²⁺ és Zn²⁺

Nagy kicserélő fémion felesleg alkalmazásával pszeudo-elsőrendű reakció körülményeit teremtettük meg, amikor a cserereakció sebességi egyenletét a III.4.1. egyenlettel (28. oldal) írhatjuk fel. A pszeudo-elsőrendű sebességi állandót (k_{obs}) a III.4.2. egyenlet alapján határozhatjuk meg adott körülmények között a reaktánsok, a végtermékek és a t időpillanatban mért abszorbancia ill. relaxivitás értékek segítségével. A Gd(DTPA-bA), Gd(DTPA-bBA), Gd(DTA-bbBA) és Gd(DTPA-tra)⁺ fémcsere reakcióinak vizsgálata során minden esetben csak az egyik végterméknek van fényelnyelése (EuL ill. CuL) illetve paramágneses relaxációsebesség növelő hatása (Gd³⁺), azonban a szabadgyökös komplexek reakciói során a termék Gd³⁺-ionon kívül a LuL és ZnL komplexeknek is van paramágneses relaxációsebesség növelő hatása (mivel maga a ligandum is paramágneses), ezért a t időpillanathoz tartozó relaxivitást a mért longitudinális relaxációs időkből a II.2.2. valamint a IV.5.2. egyenletek felhasználásával számítottuk.

$$\frac{1}{T_{1p}} = \frac{1}{T_{1obs}} - \frac{1}{T_{1ML}} \quad (IV.5.2.)$$

ahol $1/T_{1p}$ a paramágneses relaxációsebesség a t időpillanatban, T_{1obs} a t időpillanatban mért relaxációs idő, T_{1ML} pedig a Lu³⁺ és Zn²⁺-komplexek relaxációs ideje, melyeket a IV.5.1. táblázatban tüntettünk fel:

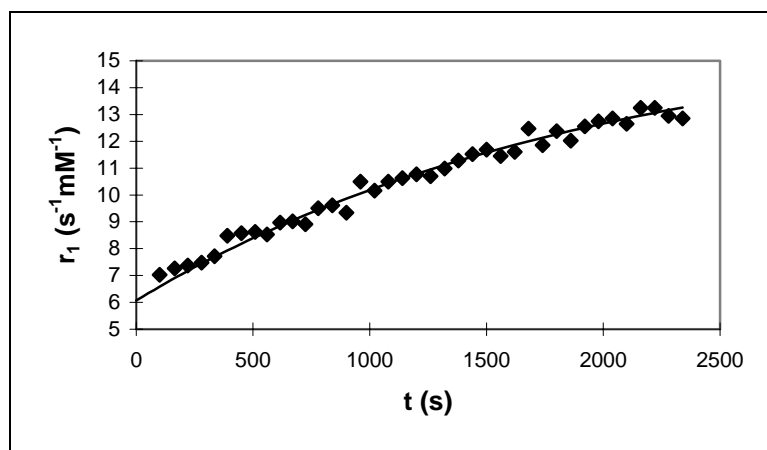
IV.5.1 táblázat A Lu³⁺- és Zn²⁺-komplexek T₁ relaxációs ideje (25°C, pH=5,0 [ML]=0,5 mM)

	LuL ¹	LuL ²	LuL ³	ZnL ¹	ZnL ²	ZnL ³
r_{1ML} (s)	1,70	1,76	1,22	1,47	1,57	1,24

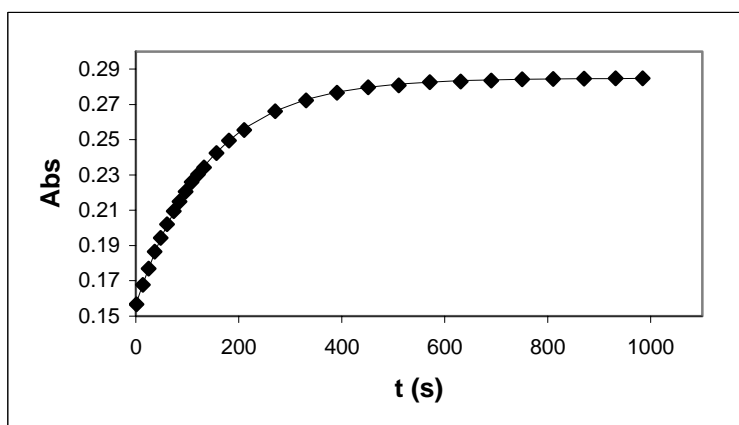
A Zn²⁺- és Cu²⁺-cserereakciók folyamán a fémcsere reakció nem megy teljesen végbe, mivel a Zn²⁺ és Cu²⁺-komplexek stabilitási állandója több nagyságrenddel kisebb, mint a Gd³⁺-komplexeké, ezért ilyenkor a k_{obs} sebességi állandót a reakció kezdeti szakaszából számítottuk, amikor az még megegyezik azzal az állandóval, mely a teljes mértékben lejátszódó fémcsere reakcióra jellemző. A Lu³⁺-mal és Eu³⁺-mal végzett cserereakciók esetén nem volt ilyen probléma, mivel a Gd³⁺-, Lu³⁺- és Eu³⁺-komplexek stabilitási állandója közel megegyezik és a nagy Lu³⁺ ill. Eu³⁺ felesleg biztosította a csere gyakorlatilag teljes lefolyását. Adott pH és kicserélő fémion koncentrációnál a pszeudo-elsőrendű sebességi állandó meghatározására egy-egy példát a IV.5.1 és IV.5.2 ábrán láthatunk, t időpillanatban felvett abszorbancia ill. relaxivitás értékek a III.4.2. egyenletre történő illesztésével.

Az adott körülményekre kapott k_{obs} pszeudo-elsőrendű sebességi állandókat az egyes ligandumok esetében a IV.5.3.-7 ábrákon (77-81. o.) tüntettük fel. Látható, hogy a k_{obs} pszeudo-elsőrendű sebességi állandó minden esetben függ a hidrogénion és majdnem minden esetben a fémion koncentrációjától. (A Gd(DTPA-bA), Gd(DTPA-bBA) és Gd(DTPA-bbBA) esetén nem találtunk Eu³⁺ függést.)

Ezek az eredmények összhangban vannak a korábban Ln(DTPA)²⁻ és származékai fémcsere reakcióinak vizsgálata során kapott eredményekkel^{45,116}, s az ott kapott tapasztalatokat felhasználhatjuk az eredményeink tárgyalása során.



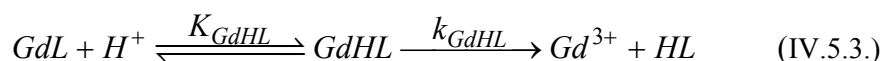
IV.5.1 ábra Gd(DTPA-bNOPMA) és a Lu³⁺ közötti cserereakció, [GdL] = 5×10⁻⁴ M, [Lu³⁺] = 0,01M pH=4,1, 25 °C, (◆) mért r₁, (—) számított r₁



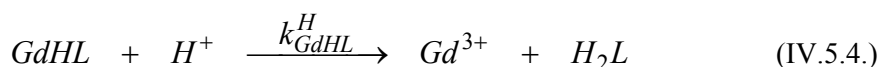
IV.5.2 ábra Gd(DTPA-bA) és az Eu³⁺ közötti cserereakció, [GdL] = 1×10⁻³ M, [Eu³⁺] = 0,02M pH=3,6, 25 °C, (◆) mért Abs, (—) számított Abs

A H⁺-ion részvétele a DTPA-amid származék ligandumokkal képzett Gd³⁺-komplexek fémioncsere reakcióiban protonált komplexek képződésén keresztül történik, mely részecskéket kis koncentrációjuk miatt, a vizsgált pH-tartományban (pH=3-5) pH-potenciometrius titrálással nem tudtuk kimutatni, azonban ezeknek nagyon fontos szerepük van a fémioncsere reakciók lefolyása során. A proton ugyanis egy karboxilát csoporthoz kapcsolódik, így a Gd³⁺-ionhoz koordinálódó csoportok száma eggyel csökken. Ezek után a proton lassan átkerülhet a

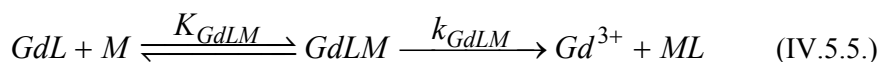
bázikusabb terminális N-atomra, miközben egy imino-monoacetát-monoamid funkciós csoport szabaddá válik, így a protonált komplex további kötések fokozatos felszakadásával disszociálhat:



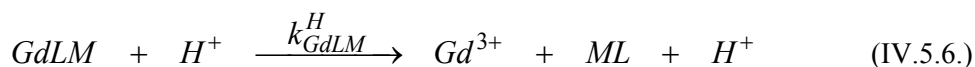
Ezt követően a kicserélő fémionok és a szabad ligandumok között nagyon gyors reakció következik be. A Gd(DTPA-bA), Gd(DTPA-bBA) és Gd(DTPA-bbBA) komplexek Eu³⁺ és Cu²⁺ cserereakciói során (IV.5.3-4 ábrák), valamint a Gd(DTPA-bNOPA) és Gd(DTPA-bNOPMA) Lu³⁺ cseréje során (IV.5.6. ábra) $k_{obs} - [H^+]$ függését másodfokú egyenlettel lehet leírni, $k_{obs} = k_0 + k'[H^+] + k''[H^+]^2$. Hasonló négyzetes függést találtak korábban az Ln(EDTA)⁻ és Ln(DTPA)²⁻ komplexek cserereakciói során is⁴⁵, amit egy második protonálódási reakció hatására bekövetkező disszociációval lehet leírni:



Amikor megvizsgáljuk a pszeudo-elsőrendű sebességi állandók értékeit a kicserélő Cu²⁺ vagy Zn²⁺-ionok függvényében (a Gd(DTPA-tra)⁺ komplex Eu³⁺-cseréje valamint a szabadgyökös komplexek Lu³⁺ cseréje során is) növekedést tapasztalunk, (IV.5.6-7 ábrákon) ami arra utal, hogy a fémcsere reakciók másik fontos reakcióútja a kicserélő fém közvetlen támadásával lejátszódó reakcióút. Ekkor kétmagvú komplex képződik a reakció során átmenetileg, majd a többfogú ligandumok funkciós csoportjai a Gd³⁺-ionról fokozatosan áttevődnek a támadó fémionra. Ezt a folyamatot az alábbi egyenlettel jellemezhetjük:



Néhány esetben a keletkező kétmagvú komplex protonkatalizált disszociációját is figyelembe kell venni a fémcsere reakciók mechanizmusának értelmezése során, melyet a következő egyenlet ír le:



A lehetséges reakcióutak alapján a kicserélődési reakciók sebessége a következőképpen fejezhető ki:

$$-\frac{d[GdL]}{dt} = k_{GdL} [GdL] + k_{GdHL} [GdHL] + k_{GdHL}^H [GdHL][H^+] + k_{GdLM} [GdLM] + k_{GdLM}^H [GdLM][H^+] \quad (IV.5.7.)$$

ahol k_{GdL} a Gd^{3+} -komplexek spontán disszociációját leíró sebességi állandó. A Gd^{3+} -komplexek teljes koncentrációját az alábbi egyenlettel írhatjuk fel:

$$[GdL]_t = [GdL] + [GdHL] + [GdLM] \quad (IV.5.8.)$$

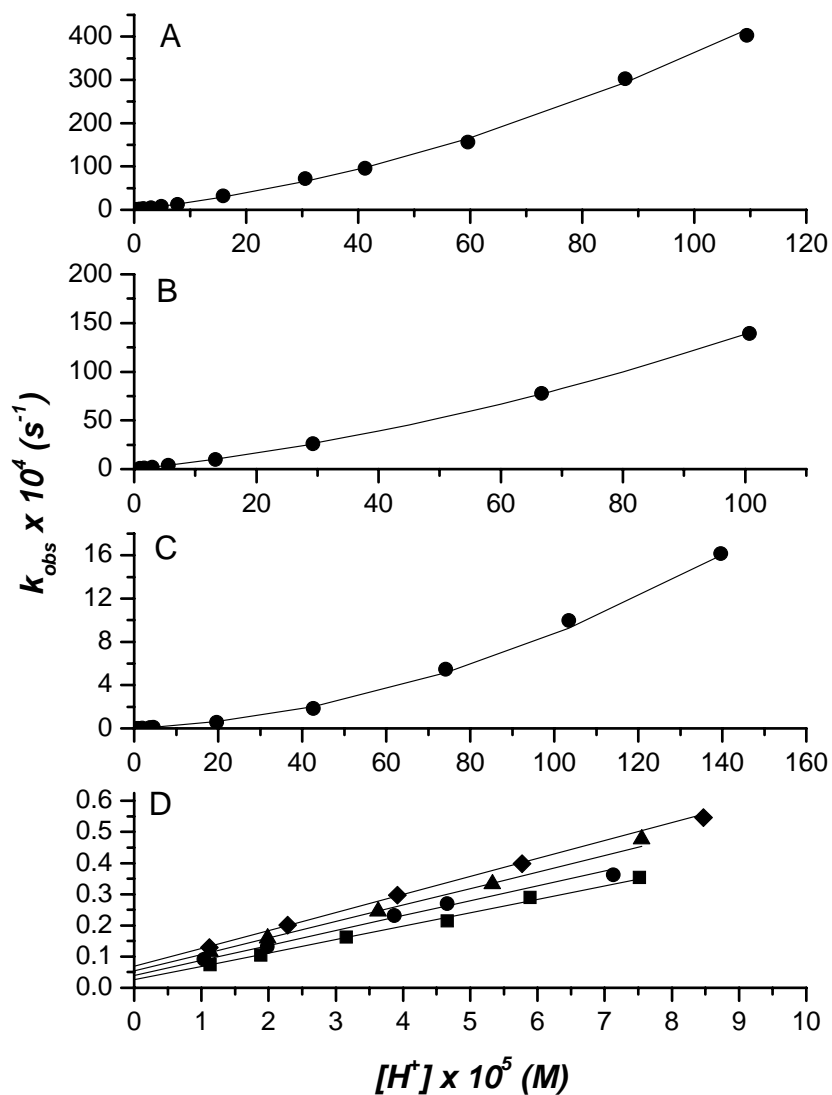
Továbbá a protonálódási állandókat (IV.5.9 egyenlet) és a kétmagvú komplexek stabilitási állandóit (IV.5.10 egyenlet) figyelembe véve a k_{obs} pszeudo-elsőrendű sebességi állandó a IV.5.11 egyenlettel fejezhető ki:

$$K_{GdHL} = \frac{[GdHL]}{[GdL][H^+]} \quad (IV.5.9.)$$

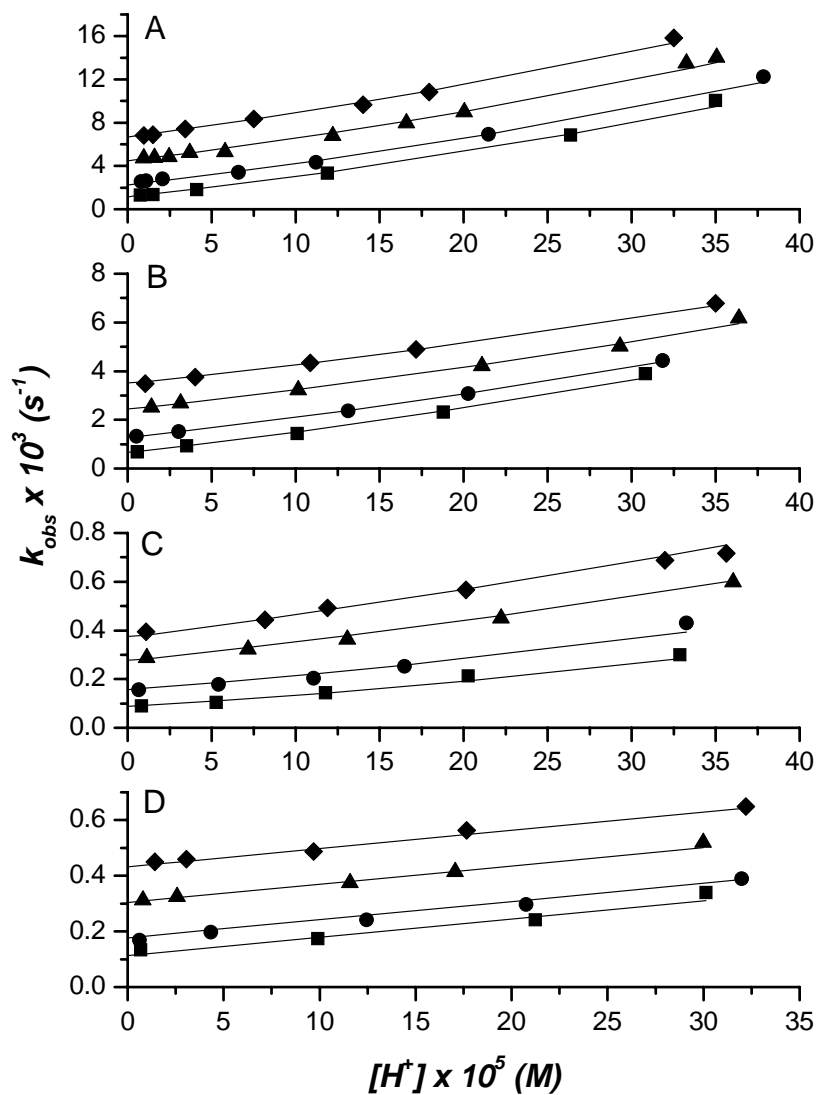
$$K_{GdLM} = \frac{[GdLM]}{[GdL][M]} \quad (IV.5.10.)$$

$$k_{obs} = \frac{k_0 + k_1[H^+] + k_2[H^+]^2 + k_3[M] + k_4[M][H^+]}{1 + K_{GdHL}[H^+] + K_{GdLM}[M]} \quad (IV.5.11.)$$

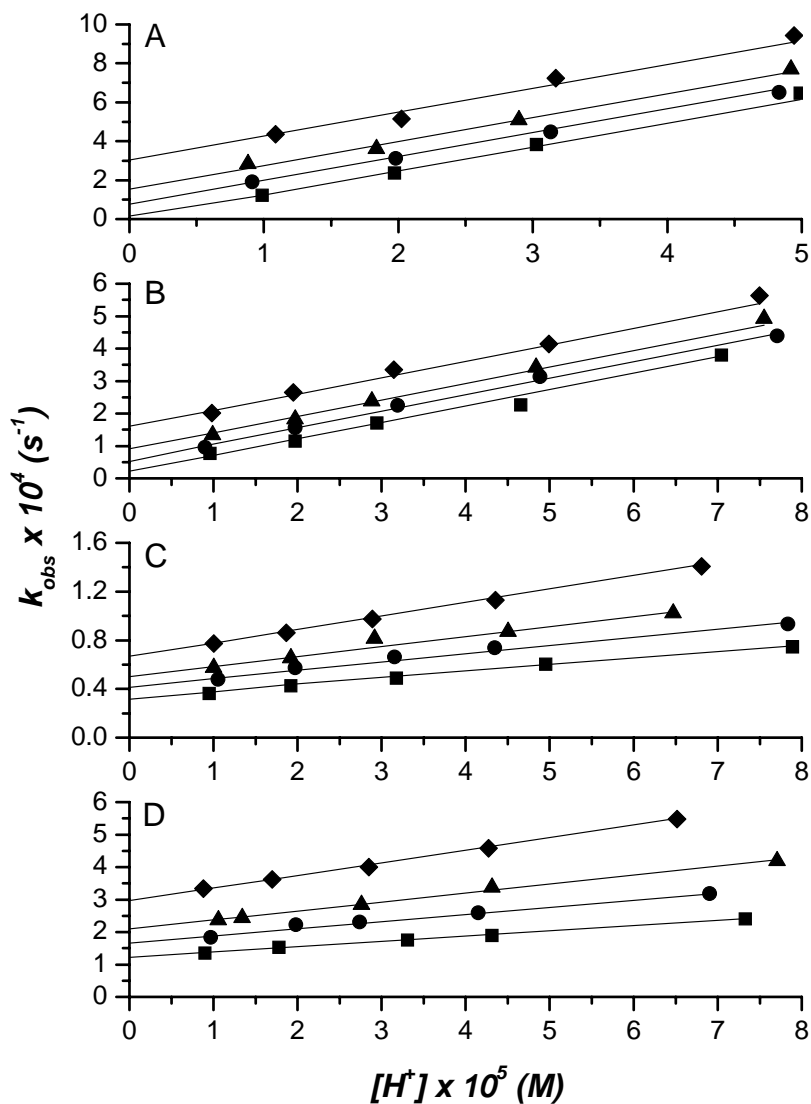
ahol $k_0 = k_{GdL}$; $k_1 = k_{GdHL} \times K_{GdHL}$; $k_2 = k_{GdHL}^H \times K_{GdHL}$; $k_3 = k_{GdLM} \times K_{GdLM}$ és $k_4 = k_{GdLM}^H \times K_{GdLM}$.



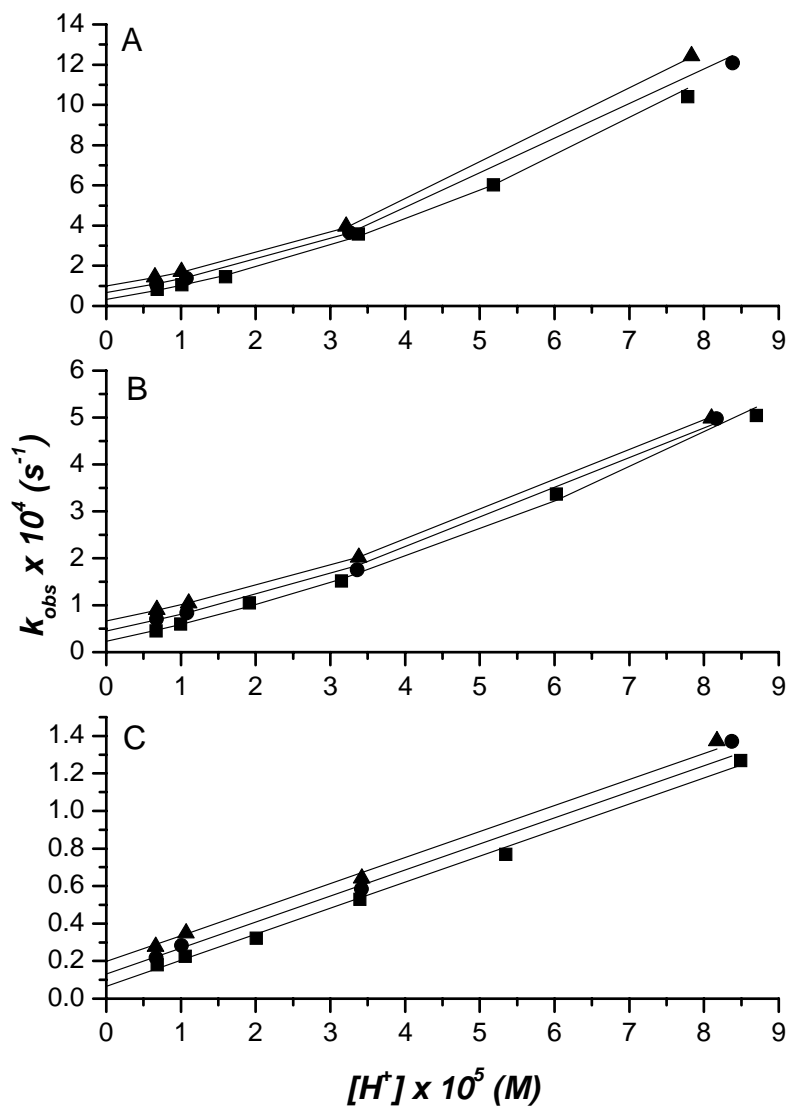
IV.5.3. ábra Gd(DTPA-bA) (A), Gd(DTPA-bBA) (B), Gd(DTPA-bbBA) (C) és Gd(DTPA-tra)⁺ (D) komplexek Eu³⁺-ionnal történő cserereakcióik során kapott pseudo-elsőrendű sebességi állandók függése a H⁺-ion koncentrációtól. ([GdL]=1×10⁻³ M; [Eu³⁺]=0,01 M (■), 0,02 M (●), 0,03 M (▲) és 0,04 M (◆); 25 °C, 1,0 M KCl)



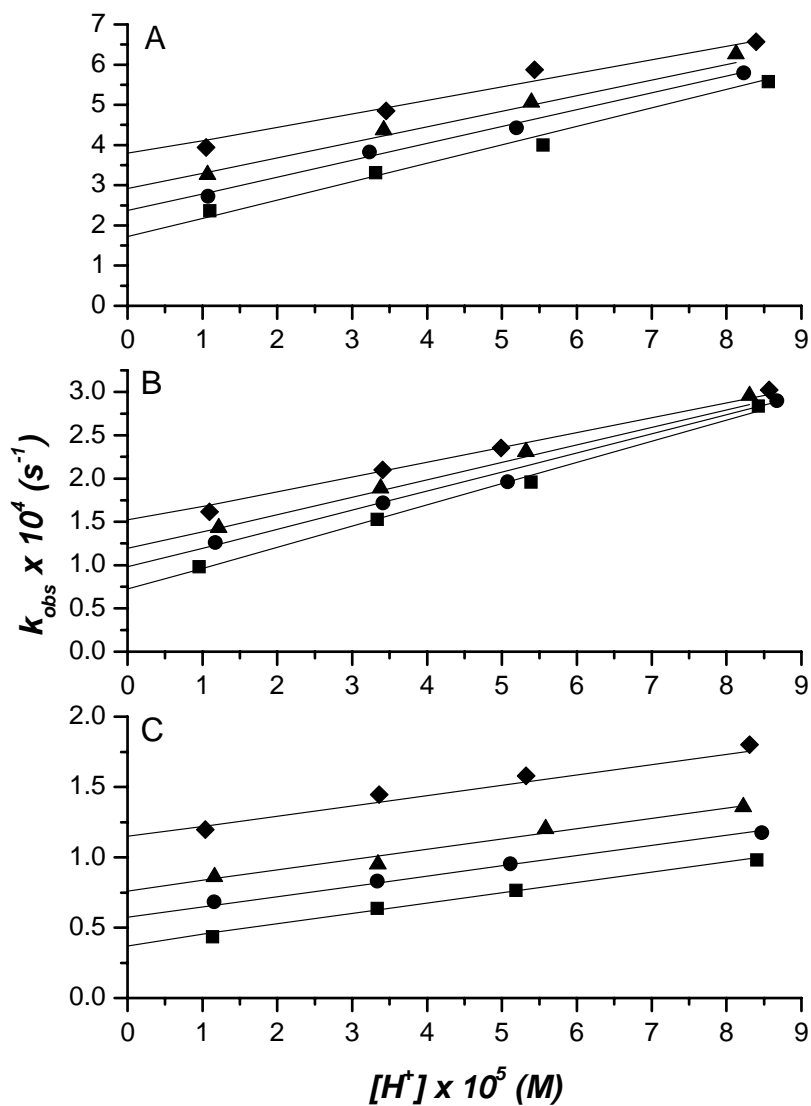
IV.5.4. Gd(DTPA-bA) (A), Gd(DTPA-bBA) (B), Gd(DTPA-bbBA) (C) és Gd(DTPA-tra)⁺ (D) komplexek Cu²⁺-vel történő cserereakcióik során kapott pszeudo-elsőrendű sebességi állandók függése a H⁺-ion koncentrációtól. ([GdL]=2×10⁻⁴ M; [Cu²⁺]= 1×10⁻³ M (■), 2×10⁻³ M (●), 4×10⁻³ M (▲) és 6×10⁻³ M (◆); 25 °C, 1,0 M KCl)



IV.5.5. Gd(DTPA-bA) (A), Gd(DTPA-bBA) (B), Gd(DTPA-bbBA) (C) és Gd(DTPA-tra)⁺ (D) komplexek Zn²⁺-vel történő cserereakcióik során kapott pszeudo-elsőrendű sebességi állandók függése a H⁺-ion koncentrációtól. ([GdL]=5×10⁻⁴ M; [Zn²⁺]= 0,01 M (■), 0,015 M (●), 0,02 M (▲) és 0,03 M (◆); 25 °C, 1,0 M KCl)



IV.5.6. ábra Gd(DTPA-bNOPA) (A); Gd(DTPA-bNOPMA) (B) és Gd(DTPA-bbNOPMA) (C) komplexek Lu^{3+} -mal történő cserereakcióik során kapott pseudo-elsőrendű sebességi állandók függése a H^+ -ion koncentrációtól ($[GdL]=5 \times 10^{-4} M$); $[Lu^{3+}] = 0,01 M$ (■), $0,02 M$ (●) és $0,03 M$ (▲); $25 \text{ }^\circ C$, $1,0 M$ KCl)



IV.5.7. ábra. Gd(DTPA-bNOPA) (A); Gd(DTPA-bNOPMA) (B) és Gd(DTPA-bbNOPMA) (C) komplexek Zn²⁺-vel történő cserereakcióik során kapott pseudo-elsőrendű sebességi állandók függése a H⁺-ion koncentrációtól. ([GdL]=5×10⁻⁴M; [Zn²⁺]=0,01M (■), 0,015M (●), 0,02M (▲) és 0,03M (◆); 25 °C, 1,0 M KCl)

IV.5.2 táblázat A IV.5.11 egyenlet alapján történt illesztésből kapott paraméterek [k_1 ($M^{-1}s^{-1}$), k_2 ($M^{-2}s^{-1}$), k_3 ($M^{-1}s^{-1}$), k_4 ($M^{-2}s^{-1}$)];

Komplex	Eu³⁺	Zn²⁺	Cu²⁺
Gd(DTPA-bA)	$k_1=14,9\pm 0,5$ $k_2=(2,1\pm 0,1)\times 10^4$	$k_1=12,3\pm 0,3$ $k_3=(1,51\pm 0,01)\times 10^{-2}$	$k_1=15,6\pm 0,7$ $k_2=(2,1\pm 0,1)\times 10^4$ $k_3=1,11\pm 0,02$ $k_4=(7,0\pm 2,5)\times 10^2$
Gd(DTPA-bBA)	$k_1=6,7\pm 0,1$ $k_2=(7,2\pm 0,2)\times 10^3$	$k_1=5,06\pm 0,14$ $k_3=(6,87\pm 0,34)\times 10^{-3}$	$k_1=8,01\pm 0,17$ $k_2=(7,2\pm 0,2)\times 10^3$ $k_3=0,68\pm 0,02$ $K_{GdLCu}=26,0\pm 5,5$
Gd(DTPA-bbBA)	$k_1=0,19\pm 0,02$ $k_2=(6,8\pm 0,5)\times 10^2$	$k_1=0,21\pm 0,07$ $k_3=(1,57\pm 0,15)\times 10^{-3}$ $k_4=29,4\pm 3,5$	$k_1=0,25\pm 0,04$ $k_2=(6,8\pm 0,5)\times 10^2$ $k_3=(8,3\pm 0,1)\times 10^{-2}$ $k_4=(1,6\pm 0,3)\times 10^2$ $K_{GdLCu}=62\pm 31$
Gd(DTPA-tra)⁺	$k_1=0,38\pm 0,02$ $k_3=(1,4\pm 0,2)\times 10^{-4}$ $k_4=5,0\pm 0,7$	$k_1=0,5\pm 0,15$ $k_3=(8,7\pm 0,3)\times 10^{-3}$ $k_4=(1,1\pm 0,1)\times 10^2$	$k_1=0,40\pm 0,09$ $k_2=(9,3\pm 0,3)\times 10^2$ $k_3=(6,3\pm 0,1)\times 10^{-2}$
Gd(DTPA)²⁻ [45]	$k_1=0,58$ $k_2=9,7\times 10^4$ $k_3=4,9\times 10^{-4}$ $K_{GdHL}=100$ $K_{GdLEu}=19$	$k_1=0,58$ $k_2=9,7\times 10^4$ $k_3=5,6\times 10^{-2}$ $K_{GdHL}=100$ $K_{GdLZn}=7$	$k_1=0,58$ $k_2=9,7\times 10^4$ $k_3=0,93$ $K_{GdHL}=100$ $K_{GdLCu}=13$
Gd(DTPA-N'-MA)⁻ [17]	$k_1=1,6$ $k_2=2,5\times 10^4$ $k_3=3,4\times 10^{-3}$ $K_{GdHL}=125$ $K_{GdLEu}=12$	$k_1=1,6$ $k_2=2,5\times 10^4$ $k_3=8,1\times 10^{-2}$ $K_{GdHL}=125$	$k_1=1,6$ $k_2=2,5\times 10^4$ $k_3=0,62$ $K_{GdHL}=125$ $K_{GdLCu}=22$
Gd(DTPA-BMA) [17]	$k_1=12,7$	$k_1=12,7$ $k_3=7,8\times 10^{-3}$	$k_1=12,7$ $k_3=0,63$

IV.5.3 táblázat A IV.5.11 egyenlet alapján történt illesztésből kapott paraméterek [k_1 (M⁻¹s⁻¹), k_2 (M⁻²s⁻¹), k_3 (M⁻¹s⁻¹), k_4 (M⁻²s⁻¹)];

Komplex	Lu³⁺	Zn²⁺
Gd(DTPA- bNOPA)	$k_1=6,1\pm 0,36$	$k_1=5,6\pm 0,22$
	$k_2=(9,6\pm 0,65)\times 10^4$	
	$k_3=(3,3\pm 0,2)\times 10^{-3}$	$k_3=(2,1\pm 0,11)\times 10^{-2}$
		$K_{GdLZn}=22\pm 3$
Gd(DTPA- bNOPMA)	$k_1=3,4\pm 0,2$	$k_1=3,1\pm 0,1$
	$k_2=(2,9\pm 0,4)\times 10^4$	
	$k_3=(2,4\pm 0,2)\times 10^{-3}$	$k_3=(9,2\pm 0,44)\times 10^{-3}$
	$K_{GdLLu}=3,0\pm 1,8$	$K_{GdLZn}=27\pm 3$
Gd(DTPA- bbNOPMA)	$k_1=1,4\pm 0,04$	$k_1=1,2\pm 0,05$
	$k_3=(6,6\pm 0,35)\times 10^{-4}$	$k_3=(3,1\pm 0,1)\times 10^{-3}$

A k_0 paraméter a cserereakciókban a Gd³⁺-komplex spontán disszociációját, k_1 és k_2 a protonkatalizált disszociációt, k_3 a kicserélő fém közvetlen támadásával lejátszódó reakcióútát míg a k_4 a kétmagvú intermedier komplex protonkatalizált disszociációját írja le. Mivel a vizsgált Gd³⁺-komplexek protonálódási állandói nagyon kicsik (pH-metriás titrálással nem lehet őket meghatározni) a IV.5.11 egyenlet nevezőjében a $K_{GdHL} [H^+]$ tag elhanyagolható. A különböző fémkoncentrációknál és pH értékeknél meghatározott k_{obs} értékeket a IV.5.11 egyenlet alapján egyidejűleg illesztettük. A k_{obs} pszeudo-elsőrendű sebességi állandók illesztése után az egyes esetekben kapott paramétereket a IV.5.2-3 táblázat tartalmazza. A k_0 paraméterre az illesztések során nagyon kicsi vagy néha negatív értékeket is kaptunk, amiből arra következtethetünk, hogy a vizsgált Gd³⁺-komplexek spontán disszociációja is elhanyagolható a fémcsere reakciók során.

A protonkatalizált disszociációs folyamatra jellemző sebességi állandó nem függ a támadó fém minőségétől, ezért a kapott paraméterek elemzése során megállapíthatjuk, hogy a k_1 paraméter különböző kicserélő fémionok esetén, adott Gd³⁺-komplekre, közel állandó érték. (Pl. a Gd(DTPA-bbBA) Eu³⁺ cserereakcióra $k_1=0,19\pm 0,02$ M⁻¹s⁻¹, a Cu²⁺-zel történő cserére $k_1=0,28\pm 0,04$ M⁻¹s⁻¹, továbbá a Zn²⁺-ionok cserereakciói során $k_1=0,21\pm 0,07$ M⁻¹s⁻¹.)

Amikor összehasonlítjuk az egyes fémcsere reakciók során kapott protonkatalizált disszociációt leíró paramétereket (k_1), láthatjuk, hogy a DTPA-bisz(amid) származék ligandumokban az amidcsoport szubsztituáltsági fokának növelésével a kinetikai stabilitás két nagyságrenddel is nőhet, például a $\text{Gd}(\text{DTPA-bA}) < \text{Gd}(\text{DTPA-bBA}) < \text{Gd}(\text{DTPA-bbBA})$ valamint a $\text{Gd}(\text{DTPA-bNOPMA}) < \text{Gd}(\text{DTPA-bbNOPMA})$ komplexeknél. (A k_2 paraméterek által leírt reakcióút nem jelentős az egyszer protonált komplexek disszociációjához képest, mivel pH=5-ön csak maximum néhány %-ot tesz ki a hozzájárulásuk.) Tehát ha a DTPA-bisz(amid) ligandumokban az amidhidrogéneket butil-csoportra vagy más nagy térkitöltésű csoportra (pl. nitroxid szabadgyökök) cseréljük ki, akkor a Gd^{3+} -komplexek kinetikai inertsége számottevően javulhat. A mono- és diszubsztituált szabadgyökös komplexek kinetikai inertsége közel azonos, mint a mono-butil vagy dibutil csoportokat tartalmazó Gd^{3+} -komplexek esetén, így azt állapíthatjuk meg, hogy a n-butil szubsztituenseket tartalmazó komplexekhez képest a stabilis nitroxid szabadgyököknek nincs jelentősebb hozzájárulásuk a kinetikai stabilitáshoz. A butil ill. a nagy térkitöltésű nitroxid szabadgyökök nagy valószínűséggel sztérikusan gátolják a kinetikailag aktív protonált intermedierek létrejöttét, illetve fokozatos disszociációit.

Hasonló következtetést vonhatunk le a másik jelentős, a fém közvetlen támadásával lejátszódó reakcióút vizsgálatával. Egy adott kicserélő fém esetén a k_3 paraméterekben hasonló tendenciát figyelhetünk meg, mint amit a protonkatalizált disszociáció elemzése során már említettünk, ugyanis nagy valószínűséggel a butil és a nitroxid szabadgyökös csoportok nem csak a protonált-, hanem a kétmagvú intermedierek létrejöttét is gátolják sztérikusan. A vizsgált mono- és diszubsztituált Gd^{3+} -DTPA-bisz(amid) származékok esetén a sztérikus gátlás feltételezett jelentőségét támasztja alá az is, hogy a $\text{Gd}(\text{DTPA-BMA})$ kinetikai stabilitása a kis térkitöltésű metil szubsztituens miatt körül-belül a $\text{Gd}(\text{DTPA-bA})$ és $\text{Gd}(\text{DTPA-bBA})$ között helyezkedik el (IV.5.4 táblázat).¹⁷

Egy adott komplex különböző kicserélő fémekkel végmenő reakciója során megfigyelhető, hogy a Zn^{2+} -ionokkal történő cserereakciók lényegesen gyorsabban játszódnak le, mint a Lu^{3+} -ionokkal végbemenő cserereakciók ($k_3^{\text{Zn}} > k_3^{\text{Lu}}$) a szabadgyökös komplexek esetén, illetve, mint az Eu^{3+} -ionokkal a $\text{Gd}(\text{DTPA-tra})^+$ komplex reakciója során ($k_3^{\text{Zn}} > k_3^{\text{Eu}}$). Ez azzal magyarázható, hogy a Zn^{2+} -ionok lényegesen aktívabbak a közvetlen kicserélődési reakciókban, mint a

ritkaföldfém(III)-ionok, mivel a sebességmeghatározó lépés előtt, a kétmagvú intermedierekben a N-Zn²⁺ kötés erősebb, mint a N-Ln³⁺ kötés, így a Gd³⁺-ionról a többi donoratomnak a Zn²⁺-re való áttevődése sokkal nagyobb valószínűséggel játszódik le, mint a Lu³⁺ vagy Eu³⁺-ionra történő áttevődése. A Cu²⁺-ionokkal történő fémcsere pedig még a Zn²⁺-ionokkal bekövetkező fémcsere reakciónál is gyorsabb (pl. Gd(DTPA-bA), Gd(DTPA-bBA), Gd(DTPA-bbBA) valamint Gd(DTPA-tra)⁺ Cu²⁺- és Zn²⁺-cserereakciói), ugyanis a Gd³⁺-komplexen bekövetkező Cu²⁺-ionok támadása sokkal hatékonyabb, mint a Zn²⁺-ionoké ($k_3^{Cu} > k_3^{Zn}$), mivel a Cu²⁺-ionok a koordinált ligandumok szabad glicinát csoportjaihoz erősebben koordinálódnak, mint a Zn²⁺-ionok. Összességében tehát a Gd³⁺-DTPA-amid származék komplexekre, a fém közvetlen támadásával lejátszódó reakcióik során, Cu²⁺>Zn²⁺>Ln³⁺ a reaktivitási sorrend, a vizsgált kicserélő fémionokra.

A fenti reaktivitási sorrendet támasztják alá a kétmagvú intermedierek stabilitási állandói is ($\log K_{GdLn} > \log K_{GdLu}$), melyeket azonos ligandum esetén csak a Gd(DTPA-bNOPMA) Lu³⁺ és Zn²⁺ cserereakciói során tudunk elfogadható hibával meghatározni. Ha összevetjük a monoszubsztituált amid származék kétmagvú intermedier komplexeinek a stabilitási állandóit, akkor azt láthatjuk, hogy a Gd(DTPA-bNOPMA)Zn kétmagvú komplex stabilitási állandója kb. tízszer nagyobb, mint a Gd(DTPA-bNOPMA)Lu kétmagvú komplexé. Ezek az eredmények tehát jó összhangban vannak a kicserélő fém közvetlen támadásával lejátszódó reakcióútra kapott paraméterek értékeivel.

Az alkil csoportok bázicitásnövelő hatásáról a kétmagvú GdLCu komplexek stabilitási állandóinak vizsgálata során újból meggyőződhetünk (összhangban a pH-potenciometriás titrálásokkal kapott eredményekkel), ugyanis azok a ligandumokban található alkil szubsztituensek számának és térkitöltésének növelésével, nőnek ($\log K_{Gd(DTPA-bbBA)Cu} > \log K_{Gd(DTPA-bBA)Cu} > \log K_{Gd(DTPA-N^{\cdot-}MA)Cu} > \log K_{Gd(DTPA)Cu}$). Ugyanakkor a sztérikus gátlás miatt a koncentrációjuk valószínűleg csökken, ezáltal a Cu²⁺ közvetlen támadásával lejátszódó reakcióút (k_3) valószínűsége is csökken.

A IV.5.2 táblázatban található paraméterek vizsgálatával információt kaphatunk arról, hogyan változik a kinetikai stabilitás a harmadik ionos karboxilát csoportnak, semleges amidcsoportra való lecserélésével. A Gd(DTPA-tra)⁺ fémcsere reakciói során kapott paramétereket a hozzá nagyon hasonló Gd(DTPA-bbBA) paramétereivel vethetjük össze, ami alapján látható, hogy a három

amidcsoportot tartalmazó Gd^{3+} -komplex kinetikai stabilitása közel azonos a két amidcsoportot tartalmazó $Gd(DTPA-bbBA)$ kinetikai stabilitásával, azaz az első és második karboxilát csoport amidcsoportra történő cseréjéhez képest itt már számottevő kinetikai stabilitásnövekedés nem figyelhető meg. Azonban ha a klinikai gyakorlatban már használt $Gd(DTPA-BMA)$ kinetikai stabilitásához viszonyítjuk, akkor ahhoz képest lényeges stabilitásnövekedés tapasztalható, ami nem a DTPA-tra ligandumon levő harmadik amidcsoport hatása, hanem az amidcsoportok szubsztituáltságában levő különbség hatására alakul ki.

Mivel a fémcsere reakciók fiziológiás pH-n kísérletileg nem vizsgálhatók a kicserélő fémion hidrolízise miatt, ezért a Gd^{3+} -komplexek pH=7,4 esetében várható kinetikai stabilitását számítással tudjuk megbecsülni. A számítás során a vérplazmában található kicserélhető Cu^{2+} -ion és Zn^{2+} -ion koncentrációját használtuk fel, mely a Cu^{2+} -ionra: 1×10^{-6} M ill. a Zn^{2+} -ionra 1×10^{-5} M.¹²¹

Fiziológiás körülmények között a Gd^{3+} -komplexek protonkatalizált disszociációját valamint a kicserélő fémek (Cu^{2+} , Zn^{2+}) közvetlen támadásával lejátszódó reakcióutakat kell figyelembe vennünk, ugyanis a fémcsere reakcióhoz a többi reakcióút hozzájárulása elhanyagolhatóan kicsi. Ezért a számításaink során az alábbi egyenletet használtuk:

$$k_{obs}^S = k_1 [H^+] + k_3^{Cu} [Cu^{2+}] + k_3^{Zn} [Zn^{2+}] \quad (IV.5.12.)$$

ahol a k_{obs}^S a fiziológias körülményekre kiszámított pszeudo-elsőrendű sebességi állandó. A számított k_{obs}^S és a fémcsere reakciók felezési idejei a IV.5.4. táblázatban láthatók.

A szabadgyökös komplexek esetén a számításokat a $k_3^{Cu} [Cu^{2+}]$ tag nélkül végeztük, így az azokra kapott eredményeket közvetlenül nem lehet összehasonlítani a többi komplexre kapott eredményekkel.

A $GdDTPA$ -bisz- és -tris(amid) származékok kinetikai stabilitása igen előnyösnek mondható a $Gd(DTPA)^{2-}$ -hoz viszonyítva, továbbá megfigyelhető, hogy a diszubsztituált $Gd(DTPA-bbBA)$, $Gd(DTPA-tra)^+$ és $Gd(DTPA-bbNOPMA)$ lényegesen inertebb, mint a többi vizsgált komplex.

IV.5.4 táblázat A fiziológias körülményekre kiszámított pszeudo-elsőrendű sebességi állandók (pH=7,4; [Zn²⁺]=1×10⁻⁵ M, [Cu²⁺]=1×10⁻⁶ M)

Komplex	k_{obs}^s (s ⁻¹)	$t_{1/2}$ (óra)
Gd(DTPA) ²⁻	1,513×10 ⁻⁶	127,3
Gd(DTPA-N ['] MA) ⁻	1,494×10 ⁻⁶	128,9
Gd(DTPA-BMA)	1,21×10 ⁻⁶	158,7
Gd(DTPA-bA)	1,854×10 ⁻⁶	103,9
Gd(DTPA-bBA)	1,015×10 ⁻⁶	189,7
Gd(DTPA-bbBA)	1,070×10 ⁻⁷	1798,4
Gd(DTPA-tra) ⁺	1,508×10 ⁻⁷	1283,6
Gd(DTPA-bNOPA)	4,3×10 ⁻⁷	447,8
Gd(DTPA-bNOPMA)	2,12×10 ⁻⁷	908,2
Gd(DTPA-bbNOPMA)	7,9×10 ⁻⁸	2437,2

Meg kell azonban említeni, hogy a Gd(DTPA-bA) és Gd(DTPA-bBA) komplexek kinetikai stabilitásáról a miénktől lényegesen eltérő eredményeket közöltek nemrég Laurent és munkatársai.¹⁴² Ők egy egyszerű módszert dolgoztak ki a Gd³⁺-poliaza-polikarboxilát komplexek kinetikai stabilitásának vizsgálatára, melynek során 0,067 M koncentrációjú foszfát pufferben 2,5 mM koncentrációjú Gd³⁺-komplex és 2,5 mM koncentrációjú Zn²⁺-ion (mint kicserélő fémion) reakcióját vizsgálták. A reakció előrehaladtával a felszabaduló Gd³⁺-ion GdPO₄ csapadék formájában leválik és így a Gd³⁺-komplex relaxivitása az idő elteltével csökken. Az ezzel a módszerrel kapott Zn²⁺-cseresebességek az általunk is vizsgált Gd(DTPA-bA) és Gd(DTPA-bBA) komplexekre 100-200-szor nagyobbak adódtak. A nagy eltérésnek az oka a foszfát pufferben keresendő. A Zn²⁺-csere reakciók során GdLZn²⁺ kétmagvú köztitermék képződik, melyben a Zn²⁺-ion a ligandum néhány donoratomjához kapcsolódik. A reakció akkor megy végbe, ha olyan köztitermék képződik, melyben a donoratomok kb. fele a Zn²⁺-ionhoz koordinálódik.¹⁷ E köztitermék képződése előtt azonban sok olyan köztitermék is képződik, melyekben a Zn²⁺-ion a ligandumnak csak 2-3 donoratomjához kapcsolódik, s ezek még disszociációjuk során könnyen vissza tudnak alakulni GdL komplexszé és Zn²⁺-ionná. Viszont, ha a foszfát-ionok jelen vannak, akkor azok az összes képződő kétmagvú intermedierben a Gd³⁺-ion szabad koordinációs helyeihez koordinálnak, ami gyorsítja a ligandumok Zn²⁺-ionokhoz való

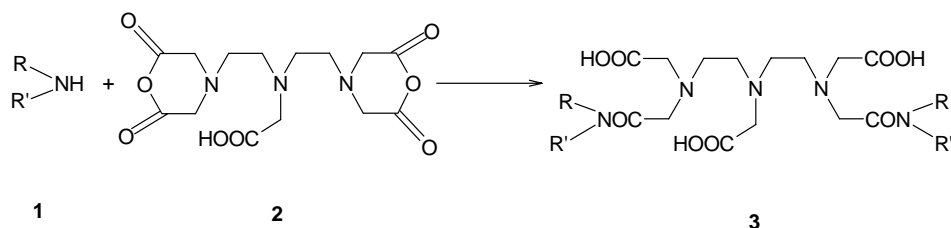
kapcsolódását és a GdPO_4 leválását. Ily módon tehát a nagy koncentrációban jelenlevő foszfát-ionok „mesterségesen” gyorsítják a fémcsere reakciók végbemenetelét.

Az általunk kapott kinetikai eredmények alapján azt állapíthatjuk meg, hogy mivel az amidcsoportok nem protonálódnak, valamint csak gyenge kölcsönhatásba lépnek a támadó fémionokkal, így a komplex reaktivitását lényegesen csökkentik. Azaz az amidcsoportok számának növelése a kinetikai stabilitást növeli, melyhez azonban a 3. amidcsoport már lényegesen nem járul hozzá, aminek oka feltehetően a ligandum negatív töltésének a csökkenése. Az amidcsoportok kinetikai stabilitásnövelő hatását tovább lehet jelentősen fokozni az amidhidrogének nagy térkitöltésű csoportra történő cseréjével, melyek sztérikusan gátolják a fémcsere reakciók gyors lejátszódását.

V. KÍSÉRLETI RÉSZ

V.1. A vizsgált ligandumok előállítása ill. származási helye, koncentrációjuk meghatározása

A három vizsgált DTPA-bisz(amid) származék (DTPA-bA, DTPA-bBA, DTPA-bbBA) előállítása DTPA bisz-anhidrid és NH_3 gáz, n-butil-amin ill. n-dibutil-amin reakciójával történt (1. séma), míg a DTPA-tra előállítása során a DTPA-N⁷-MA¹⁰⁷-ból képzett biszanhidridet (DTPA-N⁷-MAA) és n-dibutil-amint reagáltattunk egymással¹²² (2. séma). A ligandumok azonosítását ill. tisztaság vizsgálatát ^1H és ^{13}C -NMR segítségével végeztük.



3	a	b	c
R	H	H	n-C ₄ H ₉
R'	H	n-C ₄ H ₉	n-C ₄ H ₉
Ligandum	DTPA-bA	DTPA-bBA	DTPA-bbBA

1. séma

DTPA-bA:

^1H -NMR (D_2O , pH=12) 2,72 ppm (s, 4H), 2,74 (s, 4H), 3,18 (s, 2H), 3,23 (s, 8H),
 ^{13}C -NMR (D_2O , pH=12) 51,7 ppm [CH_2], 52,4 [CH_2], 58,0 [CH_2], 58,2 [CH_2],
 59,0 [CH_2], 178,1 [C], 178,9 [C], 179,4 [C]

DTPA-bBA:

¹H-NMR (D₂O, pH=12) 0,91 ppm (t, 6H), 1,33 (m, 4H), 1,52 (m, 4H), 2,71 (s, 8H), 3,14 (s, 62H), 3,19 (s, 4H), 3,21 (t, 4H), 3,23 (s, 4H),

¹³C-NMR (D₂O, pH=12) 13,0 ppm [CH₃], 19,5 [CH₂], 30,6 [CH₂], 38,8 [CH₂], 51,8 [CH₂], 52,7 [CH₂], 57,7 [CH₂], 58,6 [CH₂], 59,2 [CH₂], 174,5 [C], 178,5 [C], 179,3 [C]

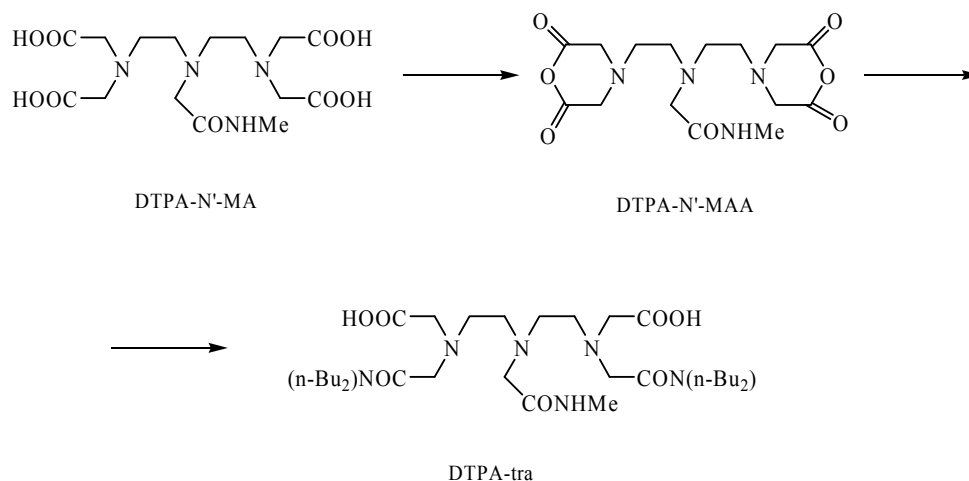
A DTPA-bisz[bisz(n-butilamid)] (DTPA-bbBA) és a DTPA-trisz(amid) (DTPA-tra) ligandumokat korábban még nem állították elő, a szintézisük leírása a következő:

DTPA-bbBA:

DTPA-biszanhidridet (785 mg, 2,2 mol) 60 ml száraz DMF-ben feloldottunk és kevertetés közben cseppenként adtunk hozzá 40 °C-on a 2 ml száraz DMF-ben feloldott n-dibutil-amint (516 mg, 4,0 mol). A reakcióelegyet 2 órán át kevertettük ezen a hőmérsékleten, aztán egy éjszakát állni hagytuk, majd szűrtük, utána bepároltuk. A kapott olajos anyagot 100 ml acetonban szuszpendáltuk amikor egy zavaros elegyet kaptunk. Az oldatot dekantálva a maradékot újra 100 ml acetonban szuszpendáltuk és 2 óráig 4 °C-on állni hagytuk. A kivált anyagot szűrtük és vákuum exsikkátorban P₂O₅-on szárítottuk egy éjszakán át. A reakció végtermékeként fehér szilárd anyagot kaptunk, 730 mg (59%). Op: 140-142 °C. Elemanalízis elméleti eredménye a C₃₀H₅₇N₅O ligandumra: C: 58,51, H: 9,33, N: 11,37. A kísérletileg kapott eredmények: C: 58,31, H: 9,27, N: 11,22

¹H-NMR (D₂O, pH=12) 0,93 ppm (t, 12H), 1,32 (m, 8H), 1,56 (m, 8H), 2,76 (s, 8H), 3,16 (s, 4H), 3,24 (s, 6H), 3,33 (t, 4H), 3,39 (t, 4H)

¹³C-NMR (D₂O, pH=12) 13,2 ppm [CH₃], 19,5 [CH₂], 29,0 [CH₂], 30,2 [CH₂], 46,0 [CH₂], 47,5 [CH₂], 51,6 [CH₂], 51,7 [CH₂], 54,9 [CH₂], 57,8 [CH₂], 58,2 [CH₂], 172,0 [CH₂], 178,5 [C], 178,8 [C]

DTPA-tra**2. séma**

DTPA-N'-MA (1,68 g, 4,0 mmol) ligandumot 2,5 ml absz. piridinben oldottunk és 4,0 ml ecetsavanhidridet adtunk hozzá egy lépésben. Két órán át 50,0 °C-on, majd 6 órán át szobahőmérsékleten kevertettük az oldatot, majd 30 ml absz. étert hozzáadva olajos anyag vált ki. Ezt az olajos kiválást 20 ml absz. éterrel dolgoztuk fel, majd az éter eltávolítása után vákuum exszikátorban szárítottuk P₂O₅-on egy éjszakán át. Az üvegszerű amorf anyagot (DTPA-N'-MAA, 1,30 g, 87%) 50 ml absz. DMF-ben oldottuk fel és cseppenként 40 °C-on, 1 óra alatt, 1 ml absz DMF-ben feloldott n-dibutil-amint adtunk (1,06 g, 8,2 mmol) hozzá. Az elegy hűtése után az oldatot szűrtük, 50 ml étert adtunk hozzá és egy éjszakán át 4 °C-on tartottuk. Mivel nem tapasztaltunk kiválást, az oldószereket rotán eltávolítottuk, a visszamaradt olajos anyagot éterrel dolgoztuk fel, majd az elegyet acetonszárázjeges hűtőkeverékkel –78 °C-on kifagyasztottuk. A kivált szilárd anyagot (DTPA-tra) szűrtük, 50 ml aceton-éter 1:9 eleggyel mostuk, majd 30 ml éterrel, végül egy éjszakán át vákuum exszikátorban szárítottuk P₂O₅ felett. Végtermékül 1,41 g (65%) DTPA-tra amorf, higroszkópos szilárd anyagot kaptunk.

¹H-NMR (D₂O, pH=12) 0,88 ppm (t, 12H), 1,28 (m, 8H), 1,50 (m, 8H), 2,63 (s, 4H), 2,70 (s, 4H), 2,74 (s, 4H), 3,15 (s, 2H), 3,20 (s, 4H), 3,28 (t, 4H), 3,35 (t, 4H), 3,51 (s, 3H)

$^{13}\text{C-NMR}$ (D_2O , $\text{pH}=12$) 13,2 ppm [CH_3], 19,4 [CH_2], 19,6 [CH_2], 19,8 [CH_2], 25,8 [CH_2], 29,1 [CH_2], 30,2 [CH_2], 46,0 [CH_2], 47,5 [CH_2], 48,2 [CH_2], 51,7 [CH_2], 52,6 [CH_2], 55,2 [CH_2], 57,6 [CH_2], 58,2 [CH_2], 172,0 [C], 175,0 [C], 178,8 [C]

A DTPA-bisz(amid) ligandumok szintéziséhez használt DTPA-bisz(anhidridet) valamint a megfelelő amidokat a Sigma Chemical Co-tól, a DTPA-tra előállítás során felhasznált DTPA-N'-MA-t a Schering AG-től valamint az oldószereket a Merck-től szereztük be.

A DTPA-bbBA ligandum olvadáspontját Boetius mikroolvadáspontmérővel határoztuk meg és a C, H, N, S-re történő elemanalízist FISIONS EA 111C CHNS elemanalizátorral végeztük.

A három vizsgált, stabilis nitroxid szabadgyököket tartalmazó ligandumot (DTPA-bNOPA, DTPA-bNOPMA, DTPA-bbNOPMA) Dr. Hideg Kálmán professzor, a Pécsi Egyetem Szerves és Gyógyszerkémiai Intézetéből bocsátotta rendelkezésünkre.

A ligandum törzsoldatok koncentrációját pH-potenciometriás módszerrel határoztuk meg, figyelembe véve a protonálódási lépcsőnek megfelelő ekvivalens lúgmennyiséget. Ezek a görbék szolgáltatták a ligandumhoz tartozó teljes protonkoncentrációt is, amely a modellszámításhoz szintén fontos adat. Ezen kívül a méréseknél Ca^{2+} -ot használtunk igen nagy (10-50-szeres) feleslegben, amely az összes disszociálható protont „leszorítja” a ligandumról a komplexképzéssel párhuzamosan. Ilyen esetben a fémion felesleg a mérést nem zavarja, mivel számottevő hidrolízisével csak egész nagy pH-n kell számolni.

V.2. A komplexek vizsgálata során felhasznált törzsoldatok elkészítése

A ritkaföldfém(III)-kloridok 99,9%-os tisztaságú (Fluka) ritkaföldfém-oxidokból készültek, 1:1 hígítású sósavban való oldással. A sósavfelesleg eltávolítása vízfürdön végzett óvatos bepárlással történt. A ritkaföldfém(III)-klorid törzsoldatok koncentrációját komplexometriásan határoztuk meg $\text{Na}_2\text{H}_2\text{-EDTA}$ mérőoldattal hexametilén-tetraamin pufferben, xilenolnarancs indikátor mellett.¹⁴³

A Zn^{2+} - és Cu^{2+} -klorid (Sigma) törzsoldat analitikai tisztaságú szilárd cink-ill. rézkloridból készült kétszer desztillált vízben való oldással. A törzsoldatok

koncentrációjának meghatározása komplexometriásan történt a Zn^{2+} esetében xilenolnarancs, a Cu^{2+} esetében murexid indikátor mellett Na_2H_2 -EDTA mérőoldattal hexametilén-tetraamin puffer alkalmazásával.

A pufferként ill. az ionerősség állításához használt oldatok alt. minőségű vagy átkristályosított vegyszerekből közvetlen beméréssel készültek.

A relaxivitas mérések során használt humán szérum albumint (HSA) a Sigma Chemical Co.-tól vásároltuk, amelynek albumin tartalma 96-99% (Fraction V). A vegyszer liofilizált volt és 2-8 °C-on tároltuk.

V.3. Az $Y(DTPA-bA)$ komplex NMR spektroszkópiás vizsgálata

Az NMR spektrumok felvételéhez Bruker Avance 360 spektrométert használtunk. A hőmérsékletet Bruker VT-1000 hőmérsékletszabályozó egységgel tartottuk állandó hőmérsékleten (274, 298, 323 K).

A vizsgált minta 0,05045 M koncentrációjú volt a komplexre nézve, D_2O -ban feloldva. A szabad ligandum zavaró proton jeleinek elkerülése végett 5 % Y^{3+} -felesleget alkalmaztunk.

A pH-t Radelkis OP-208/1 műszerrel és Radiometer PHC 2406 kombinált elektróddal mértük. A pH-mérő két pontos kalibrációja során NaH_2PO_4 puffert (pH=6,865), valamint KH-ftalát puffert (pH=4,008) használtunk. A pD-t cc. DCl-val és 2 M koncentrációjú NaOD oldattal állítottuk be 6,24-re (pD= $pH_{(mért)} + 0,4$)¹⁴⁴, ahol a komplex 100 %-ban képződik.

A spektrumok kiértékelését a Bruker Winnmr[®] szoftvercsomaggal végeztük.

V.4. A Gd^{3+} -DTPA-bisz-és-trisz(amid) származék komplexek egyensúlyi vizsgálata

A pH-potenciometriás meghatározások Radiometer PHM 93 Reference pH-mérővel, PHG 211 üveg-és K401 telített kalomel elektróddal, Radiometer ABU 80 autamata bürettát használva történtek. A titrálásokat 15,00 cm³-es oldattérfogatban, állandó kevertetés és termosztálás (25±0,2 °C), valamint 0,1 M KCl ionerősség mellett végeztük 0,2 M KOH oldattal, amelynek a pontos koncentrációját KH-ftalát puffer titrálásával határoztuk meg. A mérések előtt és

alatt a karbonátosodás elkerülése végett N₂ vagy Ar gázt buborékolattunk át a rendszeren.

A pH-mérő két pontos kalibrációja során bórax puffert (pH=9,180), melyet szén-dioxidtól elzárva N₂ atmoszféra alatt tároltunk, valamint KH-ftalát puffert (pH=4,008) használtunk.

A H⁺-ionok koncentrációját a leolvasott pH adatokból az Irving és munkatársai által javasolt módon számítottuk 0,01 M koncentrációjú HCl oldatot (ionerősség 0,1 M KCl) titrálunk KOH oldattal.¹⁴⁵ A mért és a számított pH értékek különbségét használtuk a H⁺-ion koncentrációinak a titrálás során leolvasott pH értékekből történő kiszámítására.

A protonálódási és a stabilitási állandókat a titrálásoknál kapott KOH térfogat-pH adatokból, valamint a koncentráció adatokból a PSEQUAD program segítségével számítottuk.¹⁴⁶

A ligandumok protonálódási állandóinak meghatározása során 0,001 M koncentrációjú ligandum oldatot titrálunk, 0,1 M KCl ionerősség mellett, az oldat pH-t ismert mennyiségű és pontos koncentrációjú HCl oldattal 1,7-1,8 körülire állítva, 0,2 M KOH oldattal pH=11,5-ig. A $\log K_i^H$ értékeket mindegyik ligandum esetében 180-220 ml-pH adatpár felhasználásával számítottuk ki.

A Cu²⁺- és Zn²⁺-komplexek stabilitási állandóinak ($\log K_{ML}$, $\log K_{MHL}$, $\log K_{MH_2L}$) valamint a szabadgyököket tartalmazó Gd³⁺-komplexek (DTPA-bNOPA, DTPA-bNOPMA, DTPA-bbNOPMA) stabilitási állandóinak ($\log K_{GdL}$) meghatározása során gyakorlatilag 1:1 fém-ligandum arányt állítottunk be úgy, hogy kb. 0,5 % ligandum felesleget alkalmaztunk. A pH-potenciometriás titrálás során 0,002 M volt a fém és a ligandum koncentrációja. A titrálások 1,8-11,5 pH tartományban történtek. A komplexek stabilitási állandóinak valamint protonálódási állandóinak számítása a 1,8-5,5 pH tartományból történt 40-70 ml-pH adatpár felhasználásával. Cu(DTPA-bA)⁻, Cu(DTPA-bBA)⁻ és Cu(DTPA-tra) esetén pH=7 felett deprotonálódási folyamatok figyelhetők meg, melyek egyensúlyi állandóit ($\log K_{CuLH-1}$) 60 ill.100 adatpárból számítottuk ki. A CuLH₁ részecskék létezését pH=6,2-11,5 tartományban, Cary 1E spektrofotométerrel 400-800 nm között felvett spektrumok segítségével bizonyítottuk.

A kétmagvú Cu₂L és Zn₂L komplexek stabilitási állandóit szintén pH-potenciometriás titrálásokkal határoztuk meg a kb. 2-5 pH tartományban. A titrálások során a fémion koncentrációja 0,004 M a ligandumok koncentrációja

0,002M volt. A kétmagvú komplexek stabilitási állandóinak meghatározása során 40-60 ml-pH adatpárral végeztük a számítást és felhasználtuk az 1:1 fém-ligandum aránynál kiszámított stabilitási és protonálódási állandók ($\log K_{ML}$, $\log K_{MHL}$, $\log K_{MH_2L}$) értékeit is.

A DTPA-bA, DTPA-bBA, DTPA-bbBA valamint a DTPA-tra ligandumok Gd^{3+} -komplexeinek stabilitási állandóit kompetíciós titrálással határoztuk meg, mivel a komplexek relatíve nagy stabilitása miatt a komplexképződés már 2,5-es pH körül gyakorlatilag befejeződik. A DTPA-bA, DTPA-bBA és a DTPA-tra esetében DTPA volt a kompetíciós ligandum és a titrálások Gd^{3+} -DTPA-bA-DTPA rendszerekben 1:1:1, valamint Gd^{3+} -DTPA-bBA-DTPA és Gd^{3+} -DTPA-tra-DTPA rendszer esetében 1:1:2 fém-ligandum arányoknál történtek. A DTPA-bbBA ligandum esetében a kompetíciós titrálás EDTA kompetíciós ligandummal történt, amikor a Gd^{3+} -DTPA-bbBA-EDTA rendszerben a fém és a ligandumok koncentráció aránya 1:1:1 volt. Minden titrálás során a Gd^{3+} koncentrációja 0,002M volt. A kompetíciós titrálások során pH tartományok (és a ml-pH adatpárok száma) a DTPA-bA ligandumra pH=2,3-4,6 (53), a DTPA-bBA-ra pH=2,0-5,0 (88), a DTPA-bbBA ligandumra pH=2,3-6,0 (57) és a DTPA-tra ligandumra pH=2,2-6,0 (73) volt.

A számítások során felhasználtuk a DTPA és az EDTA protonálódási állandóit is, melyeket szintén pH-potenciometriával határoztunk meg. DTPA ligandumra a következő $\log K_i^H$ ($i=1,2,3,4$ és 5) értékeket kaptuk: 10,47 (0,01), 8,62 (0,01), 4,29 (0,01), 2,66 (0,01), 2,03 (0,02), valamint az EDTA-ra: 10,27 (0,01), 6,12 (0,01), 2,71 (0,01), 2,03 (0,02), 1,2 (0,05). Ezek a pK értékek jó egyezésben vannak az irodalmi értékekkel.¹²⁴

A Gd^{3+} -komplexek stabilitási állandóinak meghatározásához szükség volt a $Gd(DTPA)^{2-}$ és a $Gd(EDTA)^-$ stabilitási állandójára, amely rendre 22,50 és 17,35. A $Gd(DTPA)^{2-}$ és a $Gd(EDTA)^-$ protonálódási állandóját ($K_{GdH(DTPA)}=2,17$ (0,05), $K_{GdH(EDTA)}=1,7$ (0,05)) pH potenciometriás titrálással határoztuk meg, melyeket szintén felhasználtunk a számításokhoz. A $K_{GdH(DTPA)}$ meghatározására 1:1 fém-ligandum aránynál ($[Gd^{3+}]_t = 5$ mM) felvett titrálási görbe adatpontjait (73) használtuk (pH-tartomány 1,7-5,1), míg a $K_{GdH(EDTA)}$ meghatározására 1:1 fém-ligandum aránynál ($[Gd^{3+}]_t = 4$ mM) felvett titrálási görbe KOH ml-pH adatpontokat (34) használtuk pH=2,3-4,7 tartományban.

V.5. Gd^{3+} -DTPA-bisz- és -trisz(amid) származék komplexek relaxivitása

A vízprotonok relaxációs idejét MS-4 típusú NMR spektrométerrel (Josef Stephan Institut, Ljubljana) 9 MHz protonrezonancia frekvencián, $0,2\text{ cm}^3$ oldattérfogatban határoztuk meg. A longitudinális relaxációs idő mérését mágnesszettség inverzió módszerrel (inversion recovery $180^\circ\text{-}\tau\text{-}90^\circ$) végeztük. Egy-egy mérés 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_1 értékeket. A hőmérséklet állandóságát ultratermosztáttal temperált levegő befúvatásával biztosítottuk. A vizsgált oldatokban a pH mérése és a pH mérő kalibrálása az V.3. részben leírtak alapján történt.

A stabilis nitroxid szabadgyököket tartalmazó ligandumok (DTPA-bNOPA, DTPA-bNOPMA, DTPA-bbNOPMA) relaxitásának meghatározása során $10,0\text{ mM}$ -os koncentrációban, míg a $GdDTPA$ -bisz-és-trisz(amid) származékok komplexei esetén $1,0\text{ mM}$ -os oldatkonzentrációban dolgoztunk. A komplexek elkészítése során minden esetben 1-2% ligandumfelesleget alkalmaztunk. A pH-t cc. HCl-val és szilárd KOH-al állítottuk be $5,5$ körüli értékre.

A relaxitások **hőmérsékletfüggésének** vizsgálatok a fent leírtak alapján elkészített ligandum (DTPA-bNOPA, DTPA-bNOPMA, DTPA-bbNOPMA) és komplex oldatokat használtuk. A hőmérsékletet $7,0\text{ }^\circ\text{C}$ és $40,0\text{ }^\circ\text{C}$ között változtattuk ultratermosztát segítségével.

A relaxitások **pH-függésének** vizsgálatok 1 mM -os Gd^{3+} -komplexoldatok pH-ját $2,0$ és $12,0$ között változtattuk cc. HCl és szilárd KOH felhasználásával. Puffert a vizsgálatok során nem alkalmaztunk. Az oldatok pH-jának beállítása mindig közvetlenül a mérés előtt történt. A méréseket $25\text{ }^\circ\text{C}$ -on végeztük.

A vizsgált ligandumok Gd^{3+} -komplexei **HSA-ban** történő vizsgálata során a minták Na_2HPO_4 -re nézve $0,05\text{ mM}$ -osak, míg NaN_3 -ra 2 mM -osak voltak. Ezekben az oldatokban a stabilis nitroxid szabadgyököket tartalmazó Gd^{3+} -komplexek koncentrációja és a HSA koncentráció is 1 mM volt, míg a DTPA-bA, DTPA-bBA, DTPA-bbBA és DTPA-tra Gd^{3+} -komplexei vizsgálata során a Gd^{3+} -

komplexek koncentrációja 0,5 mM volt és a HSA koncentrációt 0-1 mM-ig változtattuk. A vizsgálatokat pH=7,6 mellett 25 °C-on végeztük.

V.6. [Gd(DTPA-bbBA)(H₂O)] és [Gd(DTPA-tra)(H₂O)]⁺ komplexek vízcseresebességének vizsgálata

A méréseket a svájci Lausanne-i Szövetségi Műszaki Egyetem (EPFL) Szerzetlen és Analitikai Kémia Intézetében végeztem.

A vizsgálatok során Gd(ClO₄)₃ és Eu(ClO₄)₃ törzsoldatokat használtunk, melyeket szilárd Gd₂O₃ és Eu₂O₃ (Fluka) számított mennyiségű cc. HClO₄-ban történő oldásával készítettünk. A törzsoldatok koncentrációját Na₂H₂EDTA oldattal történő komplexometriás titrálással határoztuk meg xilenolnarancs indikátor mellett. A Gd³⁺-komplex oldatok (¹⁷O-NMR és ESR mérésekhez) és az Eu³⁺-komplex oldatok (az UV-látható spektrofotometriás mérésekhez) 2-3 % ligandumfelesleget tartalmaztak, pH-jukat pedig 0,1 M HClO₄-val vagy 0,1 M NaOH-dal állítottuk be. Az oldatokban levő ligandum feleslegekről xilenolnarancs-próbával győződünk meg. A ¹⁷O-NMR vizsgálatok során az érzékenység növelésére a vizsgálandó mintákat 1-2 % H₂¹⁷O-re dúsítottuk (11,4 % H₂¹⁷O Izotec).

A V.6.1. táblázat mutatja a változó hőmérsékletű ¹⁷O-NMR (1-3), ESR (2-3), a változó nyomású ¹⁷O-NMR (4-5) és az UV-látható spektrofotometriás (6) vizsgálatokban használt minták koncentrációját és pH-ját.

Az Eu(DTPA-bbBA) UV-látható spektrofotometriás méréseit Perkin-Elmer Lambda 19 spektrofotométeren, 10,00 cm-es fényúthossz alkalmazásával 278,0; 297,5; 321,7 és 346,7 K hőmérsékleten végeztük.

A különböző hőmérsékleten végzett ¹⁷O-NMR méréseket Bruker AM-400 (9,4 T, 54,2 MHz) spektrométeren végeztük. A hőmérsékletet Bruker VT-1000 hőmérsékletszabályozó egységgel tartottuk állandó értéken 2-95 °C tartományban és Pt-ellenállással mértük közvetlenül a mérőfejben, a minta helyén. A minták gömb alakú üveg mintatartóban voltak leforrasztva, melyeket 10 mm-es NMR csőbe helyeztünk. Így a kémiai eltolódás szuszceptibilitási korrekcióját nem kellett figyelembe vennünk.¹⁴⁷ A longitudinális relaxációs időket (*T*₁) mágneszettség inverzió (inversion recovery) módszerrel, míg a transzverzális relaxációs időket

(T_2) Carr-Purcell-Meiboom-Gill-féle spin-echo technikával mértük. Diamágneses külső standardként 3,0-as pH-ra állított HClO_4 oldatot használtunk.

V.6.1. táblázat A $[\text{Gd}(\text{DTPA-bbBA})(\text{H}_2\text{O})]$ és $[\text{Gd}(\text{DTPA-tra})(\text{H}_2\text{O})]^+$ komplexek vízcseresebességének meghatározása során használt minták koncentrációi és pH értékei

	Minta	Molalitás (mol/kg)	pH
1.	HClO_4		3.0
2.	$\text{Gd}(\text{DTPA-bbBA})$	0.0484	5.2
3.	$\text{Gd}(\text{DTPA-tra})^+$	0.0660	5.1
4.	$\text{Gd}(\text{DTPA-bbBA})$	0.0137	5.0
5.	$\text{Gd}(\text{DTPA-tra})^+$	0.0149	5.1
6.	$\text{Eu}(\text{DTPA-bbBA})$	0.0100	5.2

A változó nyomású méréseket (1-200 MPa) Bruker ARX-400 spektrométerrel végeztük, ahol a nagynyomású mérésre alkalmas mérőfejet folyadék termosztálással tartottuk állandó hőmérsékletet. A $\text{Gd}(\text{DTPA-bbBA})$ esetén 276,0 K-en, míg a $\text{Gd}(\text{DTPA-tra})^+$ vizsgálata során 274,5 K-en történtek a mérések.

Az ESR spektrumokat Bruker ESP 300E spektrométeren (9,425 GHz, 0,34 T) vettük fel az X-sávon. A spektrumok felvételei 1 mm átmérőjű kvarccsőben történtek 283-259 K hőmérséklettartományban. Az ESR jelek félértékszéleségét a MATLAB programmal határoztuk meg.

A ^{17}O -NMR és ESR adatok illesztését a Scientist® program 2,0-s verziójával végeztük.

V.7. Gd^{3+} -DTPA-bisz- és -trisz(amid) származék komplexek fémcsere kinetikájának vizsgálata

A vizsgált komplexek kinetikai stabilitását a Gd^{3+} -komplex és az Eu^{3+} , Lu^{3+} , Cu^{2+} vagy Zn^{2+} -ionok között végbemenő fémcsere reakció sebességével jellemezhetjük. Az Eu^{3+} vagy Cu^{2+} -ionokkal lejátszódó cserereakciókat spektrofotometriásan követtük 250 vagy 300 nm-en Cary 1E spektrofotométerrel,

ahol a fémcsere reakció termékeként létrejövő Eu^{3+} - vagy Cu^{2+} -komplexnek van, míg a Gd^{3+} -komplexeknek nincs jelentősebb fényelnyelése. A Lu^{3+} és Zn^{2+} -ionokkal végbemenő reakciókat longitudinális relaxációsebesség ($1/T_1$) mérésével követtük, mivel sem a kiindulási anyagoknak, sem pedig a termékeknek nincs jól mérhető fényelnyelése a látható és UV-tartományban, viszont a kiindulási anyag (GdL) és a termék ($\text{Gd}^{3+}\text{.aq}$) relaxivitásában jól mérhető különbség van. (Például a $\text{Gd}(\text{DTPA-tra})^+$ relaxivitása $25\text{ }^\circ\text{C}$ -on, 9 MHz -en $7,1\text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$, míg a $\text{Gd}^{3+}\text{.aq}$ -é $16,9\text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$.)

V.7.1 táblázat. A fémcsere reakciók vizsgálata során alkalmazott pH és koncentráció viszonyok.

Komplex	[GdL] (M)	Kicserélő fém	[kicserélő fém] (M)	pH
Gd(DTPA-ba) Gd(DTPA-bBA) Gd(DTPA-bbBA)	1×10^{-3}	Eu	0,01; 0,02	3,5-5,2
	2×10^{-4}	Cu	1×10^{-3} ; 2×10^{-3} ; 4×10^{-3} ; 6×10^{-3}	
	5×10^{-4}	Zn	0,01; 0,015; 0,02; 0,03	
Gd(DTPA-tra)⁺	1×10^{-3}	Eu	0,01; 0,02; 0,03; 0,04	3,5-5,2
	2×10^{-4}	Cu	1×10^{-3} ; 2×10^{-3} ; 4×10^{-3} ; 6×10^{-3}	
	5×10^{-4}	Zn	0,01; 0,015; 0,02; 0,03	
Gd(DTPA-bNOPA) Gd(DTPA-bNOPMA) Gd(DTPA-bbNOPMA)	5×10^{-4}	Lu	0,01; 0,02; 0,03	4,0-5,2
		Zn	0,01; 0,015; 0,02; 0,03	

A relaxometriás méréseket a V.5 részben leírtak alapján végeztük. A fémcsere reakciókat $25,0\text{ }^\circ\text{C}$ -on, adott pH és koncentráció viszonyok beállításával (V.7.1 táblázat) $1,0\text{ M}$ KCl ionerősség mellett vizsgáltuk. A vizsgált oldatokban a pH mérés és a pH mérő kalibrálása az V.3. részben leírtak alapján történt. A pszeudo-elsőrendű körülmények biztosításához általában 10-60 szoros fémfesleget alkalmaztunk a kicserélő fémionból. A reakció lefolyása alatt a pH állandó érétken tartásához az Eu^{3+} és Lu^{3+} -cserék esetén $0,01\text{ M}$ -os N-metil-piperazin (NMP) puffert, míg a Cu^{2+} és Zn^{2+} -cserék vizsgálatakor bórsav ($0,01\text{ M}$)-

mannit (0,04 M) puffert alkalmaztunk. Az adott H^+ és kicserélő fémion koncentrációnál kapott pszeudo-elsőrendű sebességi állandókat a III.4.2. egyenlet segítségével a SCIENTIST[®] program alkalmazásával a legkisebb négyzetes módszere alapján számítottuk.

VI. ÖSSZEFOGLALÁS

A munkám során DTPA-amid származék ligandumok lantanida(III), réz(II) és cink(II)-ionokkal képzett komplexeinek egyensúlyi, szerkezeti és kinetikai tulajdonságait vizsgáltam. Ezen vizsgálatok eredményei elsősorban a fémkomplexek koordinációs kémiai viselkedésére vonatkoznak és alap kutatás jellegűek, de számot tarthatnak esetleges orvosi vagy biológiai alkalmazásra is, elsődlegesen az MRI kontrasztanyagok kutatása, fejlesztése során. Az elért új tudományos eredmények a következők:

Az Y(DTPA-bA) komplex NMR spektroszkópiás szerkezetvizsgálata során, a komplex oldatában 323 K-en 4 diasztereomer párt lehet megkülönböztetni (anti, cisz, transz és szin), melyek közelítőleg azonos mennyiségben vannak jelen.

A DTPA-bisz(amid) ligandumoknál az amidcsoport szubsztituensei számának növelésével (DTPA-bA, DTPA-bBA, DTPA-bbBA) jelentősen nő a Gd^{3+} -komplexek stabilitási állandója, hasonló a helyzet a szabadgyököket tartalmazó ligandumok esetében is (DTPA-bNOPA, DTPA-bNOPMA és DTPA-bbNOPMA), mivel a diszubsztituált ligandumok összázicitása ($\sum \log K_i^H$) nagyobb, mint a nem- vagy monoszubsztituált ligandumoké.

Hasonló tendencia figyelhető meg a DTPA-bisz(amid) ligandumok Cu^{2+} és Zn^{2+} -komplexei esetében is, amikor az amid szubsztituensek számának növekedésével szintén nő a komplexek stabilitási állandója. A Cu^{2+} - és Zn^{2+} -komplexek egyensúlyi vizsgálata során meghatároztuk a korábban nem ismert kétmagvú komplexek stabilitási állandóit is.

A DTPA harmadik karboxilát csoportjának amidcsoportra történő cseréje tovább csökkenti az amin nitrogének bázicitását, így a DTPA-bbBA ligandum komplexeihez képest, a DTPA-tra Gd^{3+} -mal, Cu^{2+} -vel és Zu^{2+} -vel képzett komplexei kisebb stabilitási állandókkal rendelkeznek.

A DTPA-bBA és DTPA-bbBA ligandumok szelektivitása fiziológiai körülmények között Gd^{3+} -ra nézve, Cu^{2+} és Zn^{2+} -ionokkal szemben nagyobb, ill. a DTPA-tra ligandumra lényegesen nagyobb, mint a DTPA esetén, azaz a Gd^{3+} -komplexeik az egyensúlyi adatok alapján biztonságosan alkalmazhatók lennének *in vivo* körülmények között, hasonlóan a $Gd(DTPA-BMA)$ komplexhez, mely már a gyakorlatban is használt MRI kontrasztanyag.

A Gd(DTPA-bNOPA) Gd(DTPA-bNOPMA) és Gd(DTPA-bbNOPMA) komplexek relaxivitása valamivel nagyobb mint a Gd(DTPA-BMA)-é, amit a nitroxid szabadgyökök GdDTPA-bisz(amid) komplexekhez történő hozzákapcsolódása eredményez. Ez a növekedés csekély mértékű, mivel a szabadgyökök és a Gd³⁺-ion párosítatlan elektronjai között a kölcsönhatás elhanyagolható, mert a szabadgyökök nem koordinálnak a Gd³⁺-ion belső koordinációs szférájához.

A vizsgált komplexek relaxitásának hőmérséklet függése alapján a Gd(DTPA-bA), Gd(DTPA-bBA), Gd(DTPA-bbBA) és Gd(DTPA-tra)⁺ komplexek vízcseresebessége némileg nagyobb, mint a nitroxid szabadgyököket tartalmazó komplexek vízcseréje.

A DTPA-bisz- és -trisz(amid) származékok Gd³⁺-komplexei esetén a relaxitás értékek pH-függéséből megállapítható, hogy a komplexek és az oldószer víz között megvalósuló protoncserében elsődleges szerepet a komplexek belső koordinációs szférájában található vízmolekula protonjai játszanak.

A GdDTPA-bisz(amid) származékok esetén az amidcsoporton a hidrofób szubsztituensek (n-butil) számának növelésével valamelyest nő a relaxitás HSA-ban, ami a fehérjékkel kialakuló gyenge kölcsönhatásra utal.

A [Gd(DTPA-bbBA)(H₂O)] és a [Gd(DTPA-tra)(H₂O)]⁺ vízcseresebességét jellemző állandók kisebbek, mint a [Gd(DTPA)(H₂O)]²⁻ komplex esetében. Ennek okát a kötött víz helyén bekövetkező negatív töltés és a szterikus zsúfoltság csökkenésével magyarázhatjuk. A [Gd(DTPA-tra)(H₂O)]⁺ komplex esetén a harmadik amidcsoport bevitele tovább csökkenti a vízcseresebességet. A vízcserét jellemző aktiválási térfogat értékek tisztán disszociatív vízcseremechanizmusra utalnak a [Gd(DTPA-bbBA)(H₂O)], és disszociatív interchange mechanizmusra a [Gd(DTPA-tra)(H₂O)]⁺ esetén.

A fémcserereakciók kinetikai vizsgálatának eredményei alapján megállapíthatjuk, hogy mivel az amidcsoportok nem protonálódnak, továbbá csak gyenge kölcsönhatásba lépnek a támadó fémionokkal (Ln³⁺, Cu²⁺ vagy Zn²⁺), ezért a komplex reaktivitását lényegesen csökkentik, azaz az amidcsoportok számának növelése a kinetikai stabilitást növeli, melyhez azonban a harmadik amidcsoport bevitele már lényegesen nem járul hozzá. Az amidcsoportok kinetikai stabilitásnövelő hatását tovább lehet jelentősen fokozni az amidhidrogének nagy térkitöltésű csoportra történő cseréjével, melyek szterikusan gátolják a fémcserereakciók gyors lejátszódását (fiziológiai körülmények között is).

VII. SUMMARY

In this work, equilibrium, structural and kinetic properties were studied for lanthanide(III), copper(II) and zinc(II) complexes formed with DTPA-amide derivative ligands. This work has a basic research character and the results correspond to the coordination chemical properties of the examined metal complexes, but they might be used in the development of contrast agents for Magnetic Resonance Imaging (MRI) or for any other medical or biological applications.

The solution structure of the Y(DTPA-bA) was studied at 323 K by NMR spectroscopic method. Four diastereomer pairs (anti, cis, trans and syn) were detected almost in the same concentration, using one and two dimensional experiments.

We determined the stability constants of Gd^{3+} -complexes formed with DTPA-bis- and -tris(amide) derivative ligands (DTPA-bA, DTPA-bBA, DTPA-bbBA, DTPA-tra and the stable nitroxide free radical containing ligands (DTPA-bNOPA, DTPA-bNOPMA, DTPA-bbNOPMA) by pH potentiometric titrations. The $\log K_{GdL}$ values increase significantly with increasing number of butyl or nitroxide substituents on the amide groups, because the overall basicity ($\sum \log K_i^H$) is higher for these disubstituted amide group containing ligands than for the mono- or the non- substituted amide group containing ones.

We also determined the stability constants for the Zn^{2+} - and Cu^{2+} -complexes formed with DTPA-bis and -tris(amide) derivative ligands by pH potentiometric titrations. (With the exception of the determination of $\log K_{CuL}$ for the stable nitroxide free radical containing ligands, where red-ox reaction was observed.) The trend in the stability constants of CuL and ZnL is similar to that found for the Gd^{3+} -complexes, namely the $\log K_{ML}$ values are also increasing, with increasing number of substituents on the amide groups. In the case of Cu^{2+} and Zn^{2+} we determined the stability constants of dinuclear complexes also from the equilibrium studies.

The replacement of the third carboxylate with an amide group (DTPA-tra) decreases the stability of the Gd^{3+} -, Cu^{2+} - and Zn^{2+} -complexes, in contrast to that of the metal complexes of DTPA-bbBA. This diminution in the stability constants

originates from the lower negative charge and the decreased amine basicity of the DTPA-tra ligand.

Selectivity constants were calculated under physiological conditions to characterize the Gd^{3+} binding properties of the ligands over the endogenous metal ions. In the calculation, we used the exchangeable metal concentration for Zn^{2+} and Cu^{2+} (pH = 7.4; $[Zn^{2+}] = 10^{-5}$ M; $[Cu^{2+}] = 10^{-6}$ M). The examined DTPA-bBA and DTPA-bbBA complexes present higher selectivity (or much higher for DTPA-tra) for Gd^{3+} over Cu^{2+} and Zn^{2+} as the DTPA. Therefore, according to the equilibrium data, the Gd^{3+} -complexes of these ligands could be used *in vivo* successfully, like other DTPA-bis(amide) derivative complexes [Gd(DTPA-BMA), Gd(DTPA-BMEA)] which are safe MRI contrast agents.

The relaxivity values for Gd(DTPA-bA), Gd(DTPA-bBA), Gd(DTPA-bbBA) and Gd(DTPA-tra)⁺ increase with the increase of the molecular mass of the complexes (4.72, 5.94, 6.81, 7.13 mM⁻¹s⁻¹, respectively at 25 °C, 9 MHz). The relaxivities of the complexes Gd(DTPA-bNOPA), Gd(DTPA-bNOPMA) and Gd(DTPA-bbNOPMA) are 7.46, 6.11 and 6.60 mM⁻¹s⁻¹, respectively. Since the relaxivity of Gd(DTPA-BMA) is about 5.5 mM⁻¹s⁻¹ (25 °C, 9 MHz), the attachment of the nitroxide free radicals to the complexes Gd-DTPA-bis(amide) resulted in a weak relaxivity increase. The interaction between the unpaired electron of the free radicals and Gd^{3+} -ion must be negligible because the free radicals are not coordinated in the inner sphere of Gd^{3+} -ion and some magnetic interaction is possible only if the free radical is in the inner sphere.

The temperature dependence of the relaxivities can be used to compare the water-exchange rate of the water molecule in the inner coordination sphere. The k_{ex} is slightly higher for Gd(DTPA-bA), Gd(DTPA-bBA), Gd(DTPA-bbBA) and Gd(DTPA-tra)⁺ than for the Gd^{3+} -complexes formed with spin-labelled ligands.

In the case of the examined Gd^{3+} -complexes of DTPA-bis- and (tris)amides the protons of the coordinated water molecule and the amide protons can both take place in the proton-exchange. From the pH dependence of the relaxivity values we could decide that in the proton-exchange the protons of the coordinated water molecule play a predominant role.

In the study of the effect of the human serum albumin (HSA) we could estimate the extent of interactions between the examined Gd^{3+} -complexes and the plasma proteins. In the case of Gd(DTPA-bA), Gd(DTPA-bBA), Gd(DTPA-bbBA), with the increasing number of hydrophobic substituents (n-butyl group) in

the ligand the relaxivity values are slightly increasing in HSA which show some interaction between the Gd^{3+} -complexes and the plasma proteins, but we did not observe interactions between the HSA and $Gd(DTPA-tra)^+$ or the spin labelled complexes.

A variable temperature ^{17}O NMR study has been performed on the Gd^{3+} -complexes of ligands DTPA-bbBA and DTPA-tra to determine the water exchange rate. Additionally, EPR spectra were recorded with the objective of determining parameters that describe electronic relaxation. The water-exchange rates on the $[Gd(DTPA-bbBA)(H_2O)]$ and $[Gd(DTPA-tra)(H_2O)]^+$ complexes ($k_{ex}^{298} = 9.8 \times 10^5 s^{-1}$ and $6.0 \times 10^5 s^{-1}$) are smaller than that observed for $Gd(DTPA)(H_2O)^{2-}$ ($k_{ex}^{298} = 4.1 \times 10^6 s^{-1}$). It can be explained in terms of a decreased negative charge and steric crowding around the water binding site in the amides in comparison to the carboxylate complexes. The amide donor group is less strongly bound to the metal than the carboxylate (shown by lower stability constants and longer oxygen-metal distances for the amides than for the carboxylates), therefore the steric crowding is decreasing which is lowering the water exchange rate. This tendency persists in the case of the three amide group containing Gd^{3+} -complex, compared to the $GdDTPA$ -bis(amides). The charge of the complex is particularly important, a higher negative charge will push stronger the coordinated water molecule to leave (as it is coordinated to the metal by its partially negatively charged oxygen), thus facilitates the exchange.

The pressure dependence of the transverse ^{17}O relaxation rates gives access to the water exchange mechanism. The activation volumes indicate a dissociative interchange mechanism for the trisamide $[Gd(DTPA-tra)(H_2O)]^+$ ($\Delta V^\ddagger = (+4.7 \pm 1.0) cm^3 mol^{-1}$) and a limiting dissociative mechanism for the bisamide $[Gd(DTPA-bbBA)(H_2O)]$ ($\Delta V^\ddagger = (+11.3 \pm 0.5) cm^3 mol^{-1}$).

The kinetic stability of the examined Gd^{3+} -complexes was characterized by the rates of the metal exchange reactions taking place between the complex and Lu^{3+} , Eu^{3+} , Cu^{2+} or Zn^{2+} -ions. The pseudo-first order trans-metallation reactions were followed by 1H -relaxometry or spectrophotometry. The kinetic data were interpreted by using similar reaction pathways as it was found earlier for the exchange reactions of $Ln(DTPA)^{2-}$ complexes. From the proton assisted (k_1 and k_2) and metal assisted (k_3^M) dissociation of the complexes can be assumed that the replacement of two carboxylates of DTPA with the non-ionic amide groups leads

to the decrease of the reactivity of the coordinated ligands, but there is a weak additional effect of the replacement of the third carboxilate by an amide group.

The gradual substitution of the amide hydrogens with butyl or nitroxide groups results in an additional increase in the kinetic inertness of the Gd^{3+} complexes. The presence of the butyl or nitroxide substituents presumably results in a steric hindrance for the formation of the kinetically active protonated or dinuclear intermediates.

Under physiological conditions, the kinetic stability of the studied Gd^{3+} -DTPA-bis- and -tris(amide) derivative complexes is comparable to or larger ($Gd(DTPA-bbBA)$, $Gd(DTPA-tra)^+$) than that of $Gd(DTPA)^{2-}$. The following physiologically relevant pseudo-first order rate constants (and half-times of dissociation) were calculated for $Gd(DTPA-bbBA)$, $Gd(DTPA-tra)^+$ and $Gd(DTPA)^{2-}$: $k_{obs}^{phys} = 1.07 \times 10^{-7} \text{ s}^{-1}$ ($t_{1/2} = 1798.4 \text{ h}$), $1.51 \times 10^{-7} \text{ s}^{-1}$ (1283.6 h) and $1.51 \times 10^{-6} \text{ s}^{-1}$ (127.3 h), respectively.

IRODALMAK

- ¹ 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**.
- ² D. Parker, J. A. G. Williams, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, **1996**, 3613.
- ³ N. N. Greenwood, A. Earnshaw, *Az elemek kémiája*, Nemzeti tankönyvkiadó, Budapest, **1999**.
- ⁴ J.-C. G. Bünzli, G. R. Choppin, eds. *Lanthanide Probes in Life*, Chemical and Earth Sciences: Theory and Practice. Amsterdam: Elsevier, **1989**.
- ⁵ 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**.
- ⁶ R. B. Lauffer: *Chem. Rev.*, **1987**, 87, 901.
- ⁷ V. Jacques, J. F. Desreux, *New Classes of MRI Contrast Agents*. In: W. Krause, ed. *Topics in Current Chemistry*, Vol. 221: *Contrast Agents I. Magnetic Resonance Imaging*. Berlin: Springer-Verlag, **2002**.
- ⁸ I. Hemmilä: *Applications of Fluorescence in Immunoassays*, N.Y. Wiley, **1991**.
- ⁹ D. J. Parker, *Chem. Soc. Rev.* **1990**, 19, 271.
- ¹⁰ N. V. Jarvis, J. M. Wagener, G. E. Jackson, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, **1995**, 1411.
- ¹¹ 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.
- ¹² Wynn A. Volkert and Timothy J. Hoffmann, *Chem. Rev.*, **1999**, 99, 2269.
- ¹³ F. Shikata, H. Tokumitsu, H. Ichikawa, Y. Fukumori, *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, **2002**, 53, 57.
- ¹⁴ A. Matsumara, T. Zhang, T. Yamamoto et al., *Anticancer Research*, **2003**, 23(3B), 2451.
- ¹⁵ H. Kobayashi, S. Kawamoto, T. Saga, N. Sato, T. Ishimori, J. Konishi, K. Ono, K. Togashi and M. W. Brechbiel, *Bioconjugate Chem.*, **2001**, 12, 587.
- ¹⁶ W. P. Cacheris, S. C. Quay and S. M. Rocklage, *Magn. Reson. Imaging*, **1990**, 8, 467.
- ¹⁷ L. Sarka, L. Burai, R. Király, L. Zékány and E. Brücher, *J. Inorg. Biochem.*, **2002**, 91, 320.
- ¹⁸ E. Nieboer, *Structure and Bonding*, **1975**, 22, 1.
- ¹⁹ T. Moeller, In *Inorganic Chemistry Series one*, Vol. 7. K. W. Bagnall, ed. Baltimore: Univ. Park Press, **1972**.
- ²⁰ A. Habenschuss and F. H. Spedding, *J. Chem. Phys.*, **1979**, 70, 3758.
- ²¹ K. Annis, R. L. Hahn, A. H. Narten, *J. Chem. Phys.*, **1985**, 82, 2086.
- ²² H. Kanno and Y. Akama, *J. Chem. Phys.*, **1987**, 9, 1263.
- ²³ W. deW. Horrocks, Jr. and R. Sudnick, *J. Am. Chem. Soc.*, **1979**, 101, 334
- ²⁴ J. G. Johansson and H. Wakita, *Inorg. Chem.*, **1985**, 24, 3047.

-
- ²⁵ E. Brücher, J. Glaser, I. Grenthe and I. Puigdomenech, *Inorg. Chim. Acta*, **1985**, *109*, 111.
- ²⁶ a, L. Helm and A. E. Merbach, *Eur. J. Solid State Inorg. Chem.*, **1991**, *28*, 245.
b, H. Habenschuss and F. H. Spedding, *J. Chem. Phys.*, **1980**, *73*, 442.
c, A. I. Ryss, M. K. Lesocitskaya and I. M. Shapovalov, *Chem. Abst.*, **1978**, *89*, 95116.
d, T. Yamaguchi, S. Tanaka, H. Wakita, M. Misawa, I. Okada, A. K. Soper and S. W. Howells, *Z. Naturforsch*, **1991**, *A46*, 84.
e, G. Johansson, L. Ninitso and H. Wakita, *Acta Chem. Scand.*, **1985**, *A39*, 359.
- ²⁷ Y. Yamaguchi, M. Nomura, H. Wakita and H. Ohtaki, *J. Chem. Phys.*, **1988**, *89*, 5153.
- ²⁸ R. D. Peacock, *Structure and Bonding*, **1975**, *22*, 83.
- ²⁹ N. Graepi, D. H. Powell, G. Laurenczy, L. Zékány and A. E. Merbach, *Inorg. Chim. Acta*, **1995**, *235*, 311.
- ³⁰ C.-L. A. Wang In: *New Frontiers in Rare earth Science and Applications*, Vol. 1, G. Xu and J. Xiao, eds, Beijing: Science Press, **1985**.
- ³¹ J. C. G. Bünzli and J.-R. Yersi, *Helv. Chim. Acta*, **1982**, *65*, 2498.
- ³² 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.
- ³³ J. H. Forsberg, R. M. Delaney, Q. Zhao, G. Harakas, R. Chaudran, *Inorg. Chem.*, **1995**, *34*, 3705.
- ³⁴ T. Moeller, D. F. Martin, L. C. Thompson, R. Ferrus, G. Feistel and V. J. Randall, *Chem. Rev.*, **1965**, *65*, 1.
- ³⁵ O. Carugo and C. B. Castellani, *Inorg. Chim. Acta*, **1992**, *191*, 115.
- ³⁶ a, C. A. Chang and M. E. Rowland, *Inorg. Chem.*, **1983**, *22*, 3866.
b, C. A. Chang and V. E. Ochaya, *Inorg. Chem.*, **1986**, *25*, 355.
c, Zuborné Solymosi Pirooska: *Nyíltlancú és makrociklusos poliaza-polikarboxilátok komplexképző sajátágai*. Doktori értekezés, Debrecen, **1994**.
- ³⁷ a, D. Fay, D. Litchinski and N. Purdie, *J. Phys. Chem.*, **1969**, *73*, 544.
b, V. L. Garza and N. Purdie, *J. Phys. Chem.*, **1970**, *74*, 275.
- ³⁸ M. Eigen and K. Tamm, *Z. Electrochem.*, **1962**, *66*, 107.
- ³⁹ S. F. Lincoln, *Adv. Inorg. Bioinorg. Mech.*, **1986**, *4*, 217.
- ⁴⁰ C. Cossy, L. Helm and A. E. Merbach, *Inorg. Chem.*, **1988**, *27*, 1973.
- ⁴¹ G. A. Nyssen and D. W. Margerum, *Inorg. Chem.*, **1970**, *9*, 1814.
- ⁴² É. Tóth, E. Brücher, I. Lázár and I. Tóth, *Inorg. Chem.*, **1994**, *33*, 4070.
- ⁴³ S. L. Wu and W. DeW. Horrocks, Jr., *Inorg. Chem.*, **1995**, *34*, 3724.
- ⁴⁴ a, G. F. Smith and D. W. Margerum, *Inorg. Chem.*, **1969**, *8*, 135.
b, E. Brücher and G. Laurenczy, *J. Inorg. Nucl. Chem.*, **1981**, *43*, 2089.
- ⁴⁵ L. Sarka, L. Burai and E. Brücher, *Chem. Eur. J.*, **2000**, *6*, 719.

-
- ⁴⁶ E. Brücher and I. Bányai, *J. Inorg. Nucl. Chem.*, **1980**, *42*, 749.
- ⁴⁷ P. C. Lauterbur, *Nature (London), New Biol.*, **1973**, *242*, 190.
- ⁴⁸ P. Mansfield and A. A. Maudsley, *Br. J. Radiol.*, **1977**, *50*, 188.
- ⁴⁹ P. C. Lauterbur, M. H. Mendoca Dias and A. M. Rudin. In *Frontier of Biological Energetics*, P.L. Dutton, L. S. Leigh and A. Scarpa, eds. New York: Academic P., **1978**.
- ⁵⁰ I. R. Young, G. J. Clarke, D. R. Gales et. al., *Comput. Tomogr.*, **1981**, *5*, 534.
- ⁵¹ D. H. Carr, J. Brown, G. M Bydder et. al., *Lancet*, **1984**, *1*, 484.
- ⁵² S. Aime, A. Barge, M. Botta and E. Terreno. In *Metal Ions in Biological Systems* Vol. 40, A. Sigel and H. Sigel, eds, New York: Marcel Dekker Inc., **2003**.
- ⁵³ T. Bach-Gansamo, *Acta Radiol.*, **1993**, *387*, 1.
- ⁵⁴ P. Reimer, Tombach, *Eur. Radiol.*, **1998**, *8*, 1198.
- ⁵⁵ S. Grubnic, A. R. Padhani, P. B. revell and J. E. Husband, *Am. J. Roentgenol.*, **1999**, *173*, 173.
- ⁵⁶ Yi-Xang, J. Wang, S. M. Hussain and G. P. Krestin, *Eur. Radiol.*, **2001**, *11*, 2319.
- ⁵⁷ E. G. Janzen and R. A. Towner, *Aminoxyl Radicals as MRI Contrast Agents*, In *Bioact. Spin Labels*, R. I. Zhadov, ed, Springer, Berlin, **1992**.
- ⁵⁸ M. C. Krishna, W. DeGraff, O. H. Hankowszky, C. P. Sár, T. Kállai, J. Jekő, A. Russo, J. B. Mitchell and K. Hideg, *J. Med. Chem.* **1998**, *41*, 3477.
- ⁵⁹ H. F. Bennett, R. D. Brown III, S. H. Koenig and H. M. Swartz, *Magn. Res. in Med.*, **1987**, *4*, 93.
- ⁶⁰ H. J. Weinmann, R. C. Brasch, W. R. Press and G. E. Webey, *Am. J. Roentgenol*, **1984**, *142*, 619.
- ⁶¹ G. Sosnovsky, N. U. M. Rao and J. Lukszo, *Z. Naturforsch*, **1986**, *41b*, 1170.
- ⁶² G. Sosnovsky, Shu Wen Li, and N. U. M. Rao, *Z. Naturforsch*, **1985**, *40b*, 1558.
- ⁶³ P. Caravan, J. J. Ellison, T. J. McMurry, R. B. Lauffer, *Chem Rev.*, **1999**, *99*, 2293.
- ⁶⁴ K. Kümmerer and E. Helmers, *Environ. Sci. Technol.*, **2000**, *34*, 573.
- ⁶⁵ H. Gries and H. Miklautz, *Physiol. Chem. Phys. Med. NMR*, **1984**, *16*, 105.
- ⁶⁶ J. Desreux and P. P. Barthélemy, *Nucl. Med. Biol.*, **1988**, *15*, 9.
- ⁶⁷ E. N. Rizkalla, G. R. Choppin and W. P. Cacheris, *Inorg. Chem.*, **1993**, *32*, 582.
- ⁶⁸ K. Kumar, C. A. Chang and M. F. Tweedle, *Inorg. Chem.*, **1993**, *32*, 587.
- ⁶⁹ F. Uggerli, S. Aime, P.L. Anelli, M. Botta, M. Brochetta, C. de Haen, G. Ermondi, M. Grandi and P. Paoli, *Inorg. Chem.*, **1995**, *34*, 633.
- ⁷⁰ H. Schmitt-Willich, M. Brehm, C. L. J. Evers, G. Michl, A. Müller-Fahrnow, O. Petrov, J. Platzek, B. Radüchel and D. Sülzle, *Inorg. Chem.*, **1999**, *38*, 1134.
- ⁷¹ S. Aime, M. Botta, S. G. Crich, G. B. Giovenzana, R. Pagliarin, M. Piccinini, M. Sisti and E. Terreno, *J. Biol. Inorg. Chem.*, **1997**, *2*, 470.
- ⁷² Z. Luz and S. Meiboom, *J. Chem Phys*, **1964**, *40*, 1058.

-
- ⁷³ R. A. Dwek, R. J. P. Williams and A. V. Xavier: Application of Paramagnetic Probes in Biochemical Chemistry. In: Metal Ions in Biological Systems, Vol. 4. A. Sigel and H. Sigel, eds, New York: Marcel Dekker Inc, **1974**.
- ⁷⁴ L. Hwang and J. H. Freed, *J. Chem. Phys.*, **1975**, *63*, 4017.
- ⁷⁵ J. H. Freed, *J. Chem. Phys.*, **1978**, *69*, 4034.
- ⁷⁶ M. Botta, *Eur. J. Inorg. Chem.*, **2000**, *3*, 399.
- ⁷⁷ A. Borel, L. Helmand and A. E. Merbach, *Chem. Eur. J.*, **2001**, *7*, 600.
- ⁷⁸ J. W. Chen, R. L. Belford and R. B. Clarkson, *J. Phys. Chem. A*, **1998**, *102*, 2117.
- ⁷⁹ 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 and G. Berger, *Anti-Cancer Drug Des.*, **1997**, *12*, 125.
c, S. L. Fossheim, J. M. Collet, S. Mansson, A. K. Fahlvik, R. N. Muller and J. Klaveness, *Invest. Radiol.*, **1998**, *33*, 810.
- ⁸⁰ a, R. Rebizak, M. Schaefer and E. Dellacherie, *Bioconjugate Chem.*, **1998**, *9*, 94.
b, É. Tóth, L. Helm, K. E. Kellar and 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. Desser and D. L. Rubi, *Bioconjugate Chem.*, **1999**, *10*, 361.
- ⁸¹ D. J. Parmelee, R. C. Walovitch, S. Ouellet-Hillori and R. B. Lauffer, *Invest. Radiol.*, **1977**, *32*, 741.
- ⁸² C. Curbet, F. Maton, T. Havet, M. Slinkin, A. Mishra, J. F. Chatel and R. N. Muller, *Invest. Radiol.*, **1998**, *33*, 752.
- ⁸³ a, S. Aime, M. Botta, M. Fasano, E. Terreno, P. Kinchesh, L. Calabi and L. Paleari, *Magn. Reson. Med.*, **1996**, *35*, 648.
b, S. L. Fossheim, K. A. Il'yasov, J. Hennig and A. Bjornerud, *Acta Radiol.*, **2000**, *7*, 1107.
- ⁸⁴ a, S. Zhang, K. Wu and A. D. Sherry, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **1999**, *38*, 3192.
b, J. Hall, R. Häner, S. Aime, M. Botta, S. Faulkner, D. Parker and A. S. de Sausa, *New. J. Chem.*, **1998**, *6*, 627.
- ⁸⁵ a, S. Aime, M. Botta, E. Gianolio and E. Terreno, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2000**, *39*, 747.
b, S. Aime, P. Ascenzi, E. Comoglio, M. Fasano and S. Paoletti, *J. Am. Chem. Soc.*, **1995**, *117*, 9365.
c, L. Burai, É. Tóth, S. Seibig, R. Scopelliti and A. E. Merbach, *Chem. Eur. J.*, **2000**, *6*, 3761.
- ⁸⁶ M. Rudin, *Nat. Biotechnol.*, **2000**, *18*, 383.
- ⁸⁷ W. Li, S. E. Fraser and T. J. Meade, *J. Am. Chem. Soc.*, **1999**, *121*, 1413.
- ⁸⁸ V. Comblin, D. Gilsoul, M. Hermann, V. Humblet, V. Jacques, M. Mesbahi, C.

-
- Sauvage and J. F. Desreux, *Coord. Chem. Rev.*, 1999, 451, 185.
- ⁸⁹ S. Jurisson, D. Berning, W. Jia and D. Ma, *Chem. Rev.*, **1993**, 93, 1137.
- ⁹⁰ C. F. G. C. Geraldès, R. Delgado, A. M. Urbano, J. Costa, F. Jasanada and F. Nepveu, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, **1995**, 327.
- ⁹¹ A. D. Sherry, W. P. Cacheris, K.-T. Kuan, *Magn. Reson. Med.*, **1988**, 8, 180.
- ⁹² F. Jasanada, F. Nepven, *Tetrahedron Lett.*, **1992**, 33, 5745.
- ⁹³ L. Ehnebom, B. F. Pedersen, *Acta Chim. Scand.*, **1992**, 46, 126.
- ⁹⁴ S. W. A. Bligh, A. H. M. S. Chowdhury, M. McPartlin, T. J. Scowen, R. A. Bulman, *Polyhedron*, **1995**, 14, 567.
- ⁹⁵ C. F. G. C. Geraldès, A. M. Urbano, M. A. Hoefnagel, J. A. Peters, *Inorg. Chem.*, **1993**, 32, 2426.
- ⁹⁶ C. Paul-Roth, K. N. Raymond, *Inorg. Chem.*, **1995**, 34, 1408.
- ⁹⁷ Y.-M. Wang, T.-H. Cheng, G.-C. Liu, R.-S. Sheu, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, **1997**, 833.
- ⁹⁸ S. Aime, F. Benetollo, G. Bombieri, S. Colla, M. Fasano, S. Paoletti, *Inorg. Chim. Acta*, **1997**, 254, 63.
- ⁹⁹ X. Zhao, R. Zhuo, Z. Lu, W. Lin, *Polyhedron*, **1997**, 16, 2755.
- ¹⁰⁰ Y.-M. Wang, Y.-J. Wang, R.-S. Sheu, G.-C. Lin, W.-C. Lin, J.-H. Liao, *Polyhedron*, **1999**, 18, 1147.
- ¹⁰¹ J. F. Carvalho, S.-H. Kim, C. A. Chang, *Inorg. Chem.*, **1992**, 31, 4065.
- ¹⁰² S. J. Franklin, K. N. Raymond, *Inorg. Chem.*, **1994**, 33, 5794.
- ¹⁰³ E. Bovens, M. A. Hoefnagel, E. Boers, H. Lammers, H. van Bekkum, J. A. Peters, *Inorg. Chem.*, **1996**, 35, 7679.
- ¹⁰⁴ S. Laurent, F. Botteman, L. V. Elst and R. N. Muller, *Eur. J. Inorg. Chem.*, **2004**, 3, 463.
- ¹⁰⁵ G. B. Jenkins and R. B. Lauffer, *Inorg. Chem.*, **1988**, 27, 4730.
- ¹⁰⁶ C. F. G. C. Geraldès, A. D. Sherry, W. P. Cacheris, R. D. Brown III, S. H. Koenig, M. Spiller and K. T. Kuan, *Magn. Reson. Med.*, **1988**, 8, 191.
- ¹⁰⁷ L. Sarka, I. Bányai, E. Brücher, R. Király, J. Platzek, B. Radüchel and H. Schmitt-Willich, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, **2000**, 20, 3699.
- ¹⁰⁸ K. Micskei, L. Helm, E. Brücher and A. E. Merbach, *Inorg. Chem.*, **1993**, 32, 3844.
- ¹⁰⁹ K. Micskei, D. H. Powell, L. Helm, E. Brücher and A. E. Merbach, *Magn. Res. Chem.*, **1993**, 31, 1011.
- ¹¹⁰ C. Cossy, L. Helm, D. H. Powell and A. E. Merbach, *New. J. Chem.*, **1995**, 19, 27.
- ¹¹¹ É. Tóth, L. Burai, E. Brücher and A. E. Merbach, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, **1997**, 1587.
- ¹¹² J. P. André, H. R. Maecke, É. Tóth, A. E. Merbach, *J. Biol. Inorg. Chem.*, **1999**, 4, 341.

-
- ¹¹³ É. Tóth, F. Connack, L. Helm, K. Adzamlı and A. E. Merbach, *Eur. J. Inorg. Chem.*, **1998**, 2017
- ¹¹⁴ É. Tóth, I. van Uffelen, L. Helm, A. E. Merbach, D. Ladd, K. Briley-Saebo and K. Kellar, *Magn. Reson. Chem.*, **1998**, *36*, S125.
- ¹¹⁵ D. W. Margerum, G. R. Cayley, D. C. Weatherburn and G. K. Pagenkopt, In *Coordination Chemistry*, Vol. 2, ACS Monograph 174, A. E. Martell, ed, Am. Chem. Soc., Washington, DC, **1978**.
- ¹¹⁶ a, E. Brücher and P. Szarvas, *Inorg. Chim. Acta*, **1970**, *4*, 632.
b, T. Rhyll, *Acta Chem. Scand.*, **1972**, *26*, 3955.
c, P. Glentworth, B. Wiseall, C. L. Wright and A. J. Mahmood, *J. Inorg. Nucl. Chem.*, **1968**, *30*, 967.
- ¹¹⁷ K. Y. Choi, K. S. Kim and J. C. Kim, *Polyhedron*, **1994**, *13*, 567.
- ¹¹⁸ S. Braun, H.-O. Kalinowski and S. Berger, *100 and More Basic NMR Experiments*, VCH Publishers, New York, **1996**.
- ¹¹⁹ D. H. White, L. A. deLearie, T. J. Dunn, E. N. Rizkalla, H. Imura and G. R. Choppin, *Invest. Radiol.*, **1991**, *26*, S229.
- ¹²⁰ G.E. Jackson, S. Wynchank, M. Woudenberg, *Magn. Reson. Med.*, **1990**, *16*, 57.
- ¹²¹ P. M. May, D. R. Williams, P. W. Linder, *J. Chem. Soc. Dalton Trans*, **1977**, 588.
- ¹²² C.F.G.C. Geraldles, 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.
- ¹²³ H. Imura, G.R. Choppin, W.P. Cacheris, L.A. de Learie, T.J. Dunn, D.H. White, *Inorg. Chim. Acta*, **1997**, *258*, 227.
- ¹²⁴ A. E. Martell, R. M. Smith, *Critical Stability Constants*, Vol 4. Plenum Press, New York, **1974**.
- ¹²⁵ H. Sigel, R.B. Martin, *Chem. Rev.*, **1982**, *82*, 385.
- ¹²⁶ N. R. Puttagunta, W. A. Gibby, W. L. Puttagunta, *Invest. Radiol.*, **1996**, *31*, 619.
- ¹²⁷ F. Botteman, G. M. Nicole, L. V. Elst, S. Laurent, A. E. Merbach and R. N. Muller, *Eur. J. Inorg. Chem.*, **2002**, 2686.
- ¹²⁸ S. Aime, M. Botta, M. Fasano, S. Paoletti, P.L. Anelli, F. Uggeri, M. Virtuani, *Inorg. Chim. Acta*, **1994**, *33*, 4707.
- ¹²⁹ P. Caravan, J.J. Ellison, T.J. McMurry, R.B. Lauffer, *Chem. Rev.*, **1999**, *99*, 2293.
- ¹³⁰ G. Gonzalez, D.H. Powell, U. Tizzierez, A.E. Merbach, *J. Phys. Chem*, **1994**, *98*, 53.
- ¹³¹ H. Lammers, A.M. van der Heijden, H. van Bekkum, C.F.G.C. Geraldles, J.A. Peters, *Inorg. Chim. Acta*, **1998**, *277*, 193.
- ¹³² 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.
- ¹³³ P. Wallet, Y. Van Haverbeke, P. A. Bonnet, G. Subra, J.-P. Chapat, R. N. Muller, *Magn. Reson. Med.*, **1994**, *32*, 11.
- ¹³⁴ a, C. C. Brydden and C. N. Reilley, *Anal. Chem.*, **1982**, *54*, 610.
b, C. A. Chang, H. G. Brittain, J. Telser and M. F. Tweedle, *Inorg. Chem.*, **1990**, *29*, 4468.
c, X. Zhang, C. A. Chang, H. G. Brittain, J. M. Garrison, J. Telser and M. F. Tweedle, *Inorg. Chem.*, **1992**, *31*, 5597.
- ¹³⁵ T. J. Swift and R. E. Connick, *J. Chem. Phys.*, 1962, *37*, 307.
- ¹³⁶ a, A. D. McLachlan, *Proc. R. Soc. London, A*. **1964**, *280*, 271;
b, D. H. Powell, A. E. Merbach, G. González, E. Brücher, K. Micskei, M. F. Ottaviani, K. Köhler, A. von Zelewsky, O. Y. Grinberg, Y. S. Lebedev *Helv. Chim. Acta* **1993**, *76*, 2129.
- ¹³⁷ D. H. Powell, O. M. Ni Dhubhghaill, D. Pubanz, L. Helm, Y. S. Lebedev, W. Schlaepfer, A. E. Merbach *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 9333.
- ¹³⁸ a, S. Rast, A. Borel, L. Helm, E. Belorizky, P. H. Fries, A. E. Merbach, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 2637
b, S. Rast, P. H. Fries, E. Belorizky, A. Borel, L. Helm, A. E. Merbach, *J. Chem. Phys.* **2001**, *115*, 7554.
- ¹³⁹ F. Dunand, A. Borel, L. Helm *Inorg. Chem. Commun.* **2002**, *5*, 811.
- ¹⁴⁰ S. F. Lincoln, A. E. Merbach, *Adv. Inorg. Chem. A. G.*, **1995**, *42*, 1.
- ¹⁴¹ G. L. Rothermel, E. N. Rizkalla and G. R. Choppin, *Inorg. Chim. Acta*, **1997**, *262*, 133.
- ¹⁴² S. Laurent, L. Vander Elst, F. Copoix, R. Muller, *Invest. Radiol.*, **2001**, *36*, 115.
- ¹⁴³ Sajó István: *Komplexometria*, Műszaki Könyvkiadó, Budapest, **1973**.
- ¹⁴⁴ P. K. Glasoe and F. A. Long, *J. Phys. Chem.*, **1960**, *64*, 188.
- ¹⁴⁵ H. M. Irving, M.G. Miles and L.D. Pettit, *Anal. Chim. Acta*, **1967**, *38*, 475.
- ¹⁴⁶ L. Zékány and I. Nagypál, *Computational Methods for Determination of Formation Constants* Ed. D. J. Leggett, Plenum Press, New York, **1985**, p.291.
- ¹⁴⁷ A. D. Hugi, L. Helm, A. E. Merbach, *Helv. Chim. Acta* **1985**, *68*, 508.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Ezúton is köszönetet mondok témavezetőmnek, Dr. Brücher Ernő egyetemi tanárnak, az eddigi munkám során nyújtott sokoldalú szakmai segítségéért.

Köszönettel tartozom:

Dr. Király Róbert egyetemi docensnek az egyensúlyi vizsgálatok során nyújtott rendkívül hasznos tanácsaiért.

Dr. Bányai István egyetemi tanárnak az NMR-es mérésekben és azok kiértékelésében végzett munkájáért.

Dr. Hideg Kálmánnak, a Pécsi Tudományegyetem egyetemi tanárának és Dr. Kálai Tamás egyetemi docensnek a vizsgált ligandumok szintéziséért és a szintetikus munkában nyújtott segítségükért.

A. E. Merbach professzornak, Dr. Tóth Évának és Dr. Burai Lászlónak a lehetőségért és a segítségért amit a svájci Lausanne-i Szövetségi Műszaki Egyetemen (EPFL) elvégzett mérésekhez biztosítottak.

Rózsa Béla és Vanka Judit vegyésztechnikusoknak a kísérleti munkám során nyújtott technikai segítségükért, valamint mindazoknak, akik valamilyen formában hozzájárultak ezen értekezés létrejöttéhez.

**DTPA-AMID SZÁRMAZÉK LIGANDUMOK LANTANIDA(III)-, RÉZ(II)-
ÉS CINK(II)-IONOKKAL KÉPZETT KOMPLEXEINEK EGYENSÚLYI,
SZERKEZETI ÉS KINETIKAI SAJÁTSÁGAI**

Értekezés a doktori (Ph.D.) fokozat megszerzése érdekében
a KÉMIA tudományágban

Írta: Jászberényi Zoltán okleveles vegyész-angol szakfordító.

Készült a Debreceni Egyetem *Kémiai tudományok* doktori iskolája
(*Koordinációs kémia* programja) keretében

Témavezető: Dr. Brücher Ernő

A doktori szigorlati bizottság:

elnök: Dr. Farkas Etelka
Tagok: Dr. Nagy László
Dr. Dózsa László

A doktori szigorlat időpontja: 2003. szeptember 17.

Az értekezés bírálói:

Dr.
Dr.
Dr.

A bírálóbizottság:

elnök: Dr.
tagok: Dr.
Dr.
Dr.
Dr.

Az értekezés védésének időpontja: 200.....