

Doktori (PhD) értekezés tézisei

Nyíltláncú és makrociklusos ligandumok Mn(II)-komplexei mint lehetséges MRI kontrasztanyagok

Garda Zoltán

Témavezető: Dr. Tóth Imre, professor emeritus
Dr. Tircsó Gyula, egyetemi docens



DEBRECENI EGYETEM
Kémiai Tudományok Doktori Iskola
Debrecen, 2019.

Bevezetés és célkitűzés

Az elmúlt évtizedekben a technika fejlődése nagy hatással volt az orvostudományra, ami katalizálta újabb módszerek megjelenését az orvosi diagnosztika és terápia területén. Az egyik ilyen eljárás/módszer a Mágneses Rezonanciás Képképzés (MRI), ami az 1980-as évek közepétől szolgálja az orvosi diagnosztikát. A módszer egyik említésre méltó előnye a többi diagnosztikai módszerrel szemben a nagy felbontóképessége, amit a tisztán anatómiai képek készítése mellett újabban az élő szervezetben lejátszódó biológiai folyamatok vizsgálatára is használnak. Kontrasztanyagok alkalmazásával a protonok relaxációs ideje csökkenthető, amely az MRI kép kontrasztosságának növekedését, valamint a vizsgálat idejének csökkenését eredményezi. Kontrasztanyagként paramágneses fémionok vegyületei jöhetnek szóba (Gd(III), Mn(II), Fe(III) stb.), amelyek (szabad ionként esetenként jelentős) toxicitásuk miatt csak kelátképző ligandumokkal alkotott komplexeik formájában alkalmazhatóak. A klinikai gyakorlatban kontrasztanyagként a paramágneses fémionok közül valójában csak a hét párosítatlan elektronnal rendelkező Gd(III)-ion komplexeit alkalmazzák.

A Gd(III)-komplexeik alkalmazásának három évtizedes sikertörténetét az utóbbi időben több nyugtalanító eset is beárnyékolta: 1. vesebetegek esetében a kontrasztanyag szervezetből való lelassult kiürülése a Nefrogén Szisztémás Fibrózis (Nephrogenic Systemic Fibrosis, NSF) megbetegedés megjelenéséhez vezetett. Ezt a betegséget először 1997-ben (Shawn E., *Curr. Opin. Rheumatol.* **2003**, 15 (6), 785–790) diagnosztizálták és csak egy évtizeddel később, 2006-ban (Grobner, T., *Nephrol. Dial. Transplant.* **2006**, 21 (4), 1104–1108) hozták összefüggésbe egyes Gd(III)-ion alapú kontrasztanyagok alkalmazásával. Mára igazolást nyert, hogy az NSF betegség kialakulásáért az emberi szervezetbe juttatott MRI kontrasztanyagokból disszociáció során felszabaduló Gd(III)-ion a felelős. 2. Az utóbbi időben többszöri kontrasztanyagos MRI vizsgálatot követően az

egészséges vesefunkcióval rendelkező páciensek esetében is kimutattak hiperintenzív régiókat (Gd-felhalmozódást) egyes szervekben/szövetekben (pl.: agy, csont), ami tovább rontotta a Gd(III)-alapú ágensek renoméját (Errante Y. et al., *Invest. Radiol.* **2014**, 49 (10), 685–690; Karabulut, N. et al., *Diagn. Interv. Radiol.* **2015**, 21 (4), 269–270.). 3. Végezetül a felszíni vizek Gd(III)-ion koncentrációjának a növekedése a nagy NMR-centrumok közelében (a pozitív Gd-anomália) mellett sem szabad szó nélkül elmenni. Ez az MRI kontrasztanyag vizsgálatok „környezeti lábnyomát” jelenti.

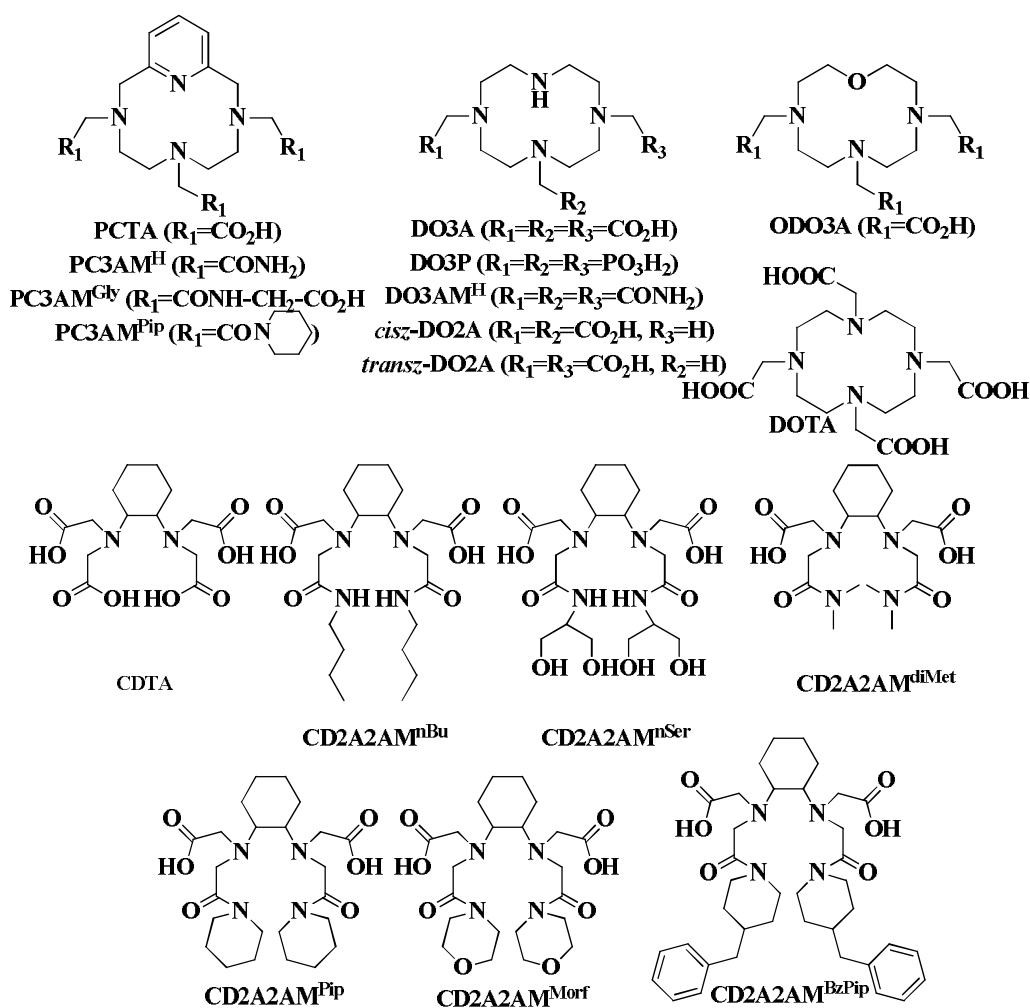
Az NSF megjelenésével párhuzamosan megnőtt az érdeklődés olyan kontrasztanyagok fejlesztése iránt, melyek biokompatibilisek, vagyis a szervezet számára jobban tolerálhatók. A paramágneses fémionok között elsősorban az esszenciális fémionok, pl. a Mn(II)- vagy a nagyspinszámú Fe(II)- ill. Fe(III)-ionok vegyületei/komplexei jöhetnek számításba (*The Chemistry of Contrast Agents in Medical Magnetic Resonance Imaging*, Second edition.; Helm, L., Merbach, A. E., Tóth, É., Eds.; John Wiley & Sons Inc: Hoboken, NJ, **2013**.). A Mn(II)-ion kevésbé jó relaxációs ágens, mint a Gd(III)-ion. Ugyanakkor a mangán az élő szervezetben is megtalálható (esszenciális nyomelem), tehát rendelkezik a kiürítéséhez szükséges útvonalakkal/mechanizmusokkal, így vélhetően nem halmozódik fel és nagyobb dózisban is alkalmazható lehet, ezzel a fentebb említett hátrány ellensúlyozhatónak tűnik.

A Gd(III)-komplexek termodinamikai stabilitása és inertsége messze felülmúlja a Mn(II)-komplexeit, mert a Mn(II)-komplexek esetében a kristálytér-stabilizációs energia értéke zérus, valamint a Mn(II)-ion eleve kisebb töltéssel rendelkezik. A stabilitás mellett, a kinetikai inertség is nagyon fontos tulajdonsága a kontrasztanyagként alkalmazni kívánt komplexeknek, mivel a kis kinetikai inertséggel rendelkező komplexek esetében a szervezetbe való injektálást követően fém- és ligandumcsere reakciók játszódhatnak le. Ebből kifolyólag célul tűztük ki:

- A rendelkezésünkre álló nagyszámú ciklododekán-származék Mn(II)-komplexének oldategyensúlyi, kinetikai és relaxációs paramétereinek vizsgálatát.
- Két, az irodalomban már ismert a *cisz*- és *transz*-DO2A ligandum Mn(II)-komplexének egyensúlyi, kinetikai és redoxi kémiai vizsgálatát.
- A Mn(II)-komplexek esetében kapott eredményeinket hasznosítva megterveztünk és előállítottunk számos *transz*-CDTA-*bisz*-amid származék ligandumot és vizsgáltuk a kelátorok Mn(II)-komplexeit, különös tekintettel ezek egyensúlyi, kinetikai és relaxációs paramétereire.

Alkalmazott módszerek

A vizsgált DO3A-származékok, valamint a *cis*- és *transz*-DO2A ligandumok már a rendelkezésemre álltak, míg a *transz*-CDTA-*bisz*-amid származékokat doktori munkám során állítottam elő (1. ábra). A szintézist a *transz*-CDTA ligandum dianhidridjének előállításával kezdtük (irodalmi előzmények alapján, (Naka K. et al., *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **2001**, 74 (3), 571–577)), majd a dianhidridet a megfelelő (primer és szekunder) aminnal reagáltatva kaptuk meg a kívánt *bisz*-amid származékokat. A reakcióelegyből minden esetben preparatív **HPLC technikával** nyertük ki a vizsgálatok során használt, tiszta komplexképzőket.



1. ábra: A DOTA, CDTA és a vizsgált ligandumok szerkezeti képletei

A vizsgálatokat minden esetben a ligandumok protonálódási állandóinak meghatározásával kezdtük. A protonálódási és stabilitási állandókat **pH-potenciometriás** és/vagy **¹H-NMR relaxometriás** technikával határoztuk meg 0,15 M NaCl ionerősség alkalmazása mellett 25 °C-on.

A komplexekre jellemző relaxivitás értékeket ¹H relaxometriás technika (0,49 és/vagy 1,41 T térerőn, 25 és/vagy 37 °C-on) segítségével határoztuk meg tisztán vizes közegben, valamint HSA (humán szérum albumin) jelenlétében és szeronorm (liofilizált vérszérum) oldatokban.

A képződő komplexek inertségét esszenciális fémionokkal (Cu(II), ill. Zn(II)) lejátszódó fémcseré reakciókon keresztül tanulmányoztuk pH = 3,5 – 5,95 tartományban, pszeudo-elsőrendű körülmények között (a MnL-komplexhez képest nagy feleslegben (10 – 40-szeres) alkalmazott Cu(II) (**UV-látható spektrofotometriás** technika) vagy Zn(II) (**¹H-NMR relaxometriás** technika)). A nagy inertséggel rendelkező komplexek (pl. a PCTA-*tris*-amid származékai) esetében a disszociációs reakciókat savas közegben (0,05 – 1,0 M [H⁺]) hajtottuk végre. A [Mn(CD2A2AM^{nSer})]- és [Mn(CD2A2AM^{Pip})]-komplexek esetén szeronorm oldatban is megvizsgáltuk a disszociáció sebességét 25 és/vagy 37 °C-on. A disszociációs reakciók követésére ebben az esetben **¹H-NMR relaxometriás** technikát alkalmaztunk.

A [Mn(CD2A2AM^{Pip})]- és [Zn(CD2A2AM^{Pip})]-komplexek esetén az oldatban jelen lévő izomerek elválasztására és kinyerésére HPLC technikát alkalmaztunk. Ezen elválasztásokhoz fordított fázisú kolonnát, eluensként pedig acetonitril (MeCN):H₂O vagy H₂O/ trifluor-ecetsav (TFA) elegyet alkalmaztunk (a TFA-t csak a víz tartalmazta 0,005 M koncentrációban). A kolonna az analitikai HPLC-s vizsgálatok során Luna 5μ C18(2), a preparatív elválasztások során Luna 10μ-Prep C18(2) 100A (250×21,20 mm; 10 μm) volt.

A DO2A-származék ligandumok Mn(II)-komplexeinek redoxipotenciál értékeit **ciklikus voltammetria (CV)** segítségével határoztuk meg pH = 7,0 értéken és 0,15 M NaNO₃ ionerősség alkalmazása mellett.

Új tudományos eredmények

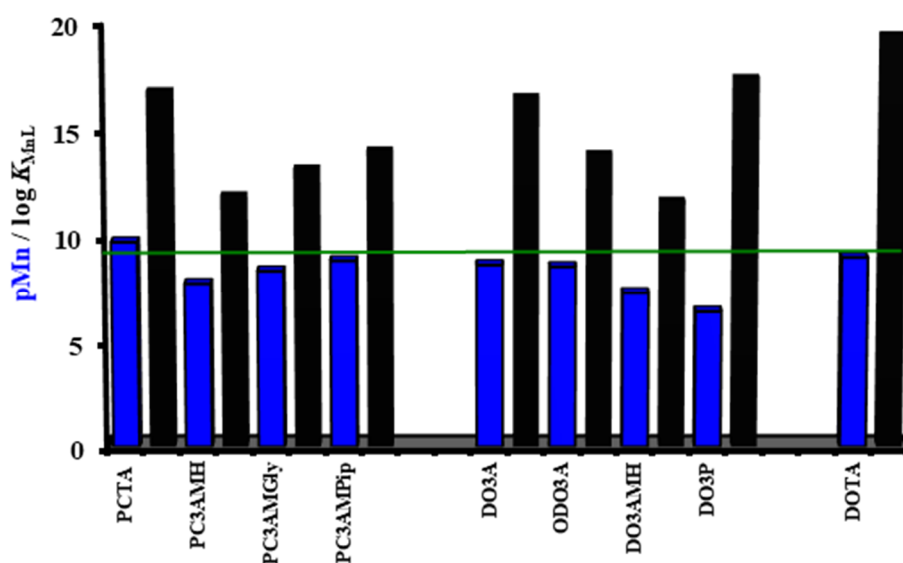
Doktori munkám során nyíltláncú (*transz*-CDTA-*bisz*-amid), valamint makrociklusos (háromszorosan helyettesített tetrazaciklododekán származékok, ill. *cisz*- és *transz*-DO2A) aminopolikarboxilát ligandumok Mn(II)-ionnal képződő komplexeinek oldategyensúlyi, elektrokémiai, disszociációs kinetikai, ill. relaxometriás vizsgálatát végeztem el. **A munka elsődleges célja a ligandumok szerkezete és a képződő Mn(II)-komplexek alapvető fizikai-kémiai sajátságai között fennálló összefüggések felderítése volt.** Az ilyen jellegű információk közvetlenül új ligandumok céltudatos tervezésére használhatók fel, majd távolilag a jelenleg tömegesen alkalmazott Gd(III)-alapú MRI kontrasztanyagok Mn(II)-alapú ágensekkel való helyettesítésére.

1. Háromszorosan helyettesített 12-tagú makrociklusos ligandumok Mn(II)-komplexeinek oldategyensúlyi, disszociációkinetikai és relaxometriás jellemzése.

Nyolc darab 7-fogú, háromszorosan helyettesített 12-tagú makrociklusos ligandum (PCTA, PC3AM^H, PC3AM^{Gly}, PC3AM^{Pip}, DO3A, DO3P, DO3AM^H és ODO3A) Mn(II)-komplexének részletes vizsgálatát végeztük el. Az eredményeink alapján az alábbi következtetések vonhatók le:

1.1 Megmutattuk, hogy a makrociklusban és az oldalláncban található donoratomok minőségének meghatározó szerepe van a képződő komplexek stabilitásában ($\log K_{MnL}$ és pMn). A vizsgált ligandumok közül (a számított pMn értékek alapján) a PCTA kelátor rendelkezik a legnagyobb affinitással Mn(II)-ionhoz. Ez a $[Mn(DOTA)]^{2-}$ -komplex esetén számolt affinitásnál is nagyobb.

A ligandumokra jellemző protonálódási állandók, valamint a Mn(II)-komplexekre kapott protonálódási és stabilitási állandók ($I = 0,15$ M NaCl) felhasználásával kiszámoltuk a komplexekre jellemző pMn értékeket ($\text{pH} = 7,4$, $c_M = c_L = 10^{-5}$ M körülmények figyelembevételével). Ezen adatok (1.1.1 ábra) alapján megállapítható, hogy későbbi ligandumok tervezése során a foszfonátcsoportok (DO3P ligandum), ill. a primer-amid-csoportok nem tekinthetők jó „építőköveknek”. A makrociklus „gerincének” merevítése (PCTA) ugyanakkor pozitívan hat a ligandum Mn(II)-kötő képességére. Az amidcsoportokat tartalmazó komplexképzők esetében megfigyelhető, hogy acetátcsoportok (PCTA) amidcsoportokra (PC3AM^H) történő cseréjekor „elveszett” stabilitás részben kompenzálható szekunder (PC3AM^{Gly}), ill. terciér amid-csoportok alkalmazásával (PC3AM^{Pip}).



1.1.1 ábra: A háromszorosan helyettesített 12-tagú makrociklusos ligandumok Mn(II)-komplexeinek stabilitási állandói ($\log K_{MnL}$) és pMn értékei.

1.2 Kinetikai vizsgálataink igazolták, hogy a Mn(II)-komplexek inertsége nagymértékben függ a makrociklus merevségétől, a makrociklusban lévő donoratomok minőségétől, de az oldalláncban található donoratomok minőségének is meghatározó szerepe van.

A Mn(II)-komplexek disszociáció kinetikai vizsgálata (fémioncsere-, ligandumcsere-, ill. proton-asszisztált disszociációs reakciók) alapján megállapítható, hogy a foszfonátsoport(ok) nem tekinthető(k) hasznos „építőkönek” a ligandumok tervezése során. Az alapváz merevítése (pl. piridingyűrű segítségével), ill. az amidoldallancok alkalmazása egyértelműen javítja a képződő Mn(II)-komplex inertségét. Ezen két szerkezeti „egységet” szimultán tartalmazó PC3AM^{Pip} ligandum Mn(II)-komplexe a leginertebb a vizsgált komplexeink közül.

1.2.1 táblázat: Háromszorosan helyettesített DO3A-származékok Mn(II)-komplexeinek proton-asszisztált disszociációjára jellemző sebességi állandói (k_1), valamint a disszociációra jellemző felezési idejük ($t_{1/2}$) ($T = 25\text{ °C}$)

Mn(II)-komplexek	k_1 (M ⁻¹ s ⁻¹)	$t_{1/2}$ (óra) pH=7,4; c _M = 10 ⁻⁵ M
DO3A	0,45±0,03	1,1×10 ⁴
DO3AM ^H	0,94±0,02	5,2×10 ³
DO3P	(2,4±0,2)×10 ⁵	3×10 ⁻³
ODO3A	27±2	1,8×10 ²
PCTA	(8,2±0,7)×10 ⁻² ^a (1,09±0,01)×10 ⁻¹ ^b	5,9×10 ⁴
PC3AM ^H	(1,07±0,01)×10 ⁻²	4,5×10 ⁵
PC3AM ^{Gly}	(1,64±0,02)×10 ⁻² ^c	3,5×10 ² s; 0,1 M HCl
PC3AM ^{Pip}	(4,64±0,04)×10 ⁻³	1,0×10 ⁶

^a ¹H-relaxometria; ^b stopped-flow technika nagyon savas közegben (0,1 – 1,2 M [H⁺]), ahol a k_1 a proton-asszisztált disszociációra jellemző sebességi állandója az [Mn(HL)]-komplexnek; ^c az [Mn(H₃L)]-komplex proton-asszisztált disszociációra jellemző sebességi állandó.

2. A *cisz*- és a *transz*-DO2A ligandumok Mn(II)-ionnal képződő komplexeinek a vizsgálata.

A háromszorosan helyettesített 12-tagú makrociklusos ligandumok Mn(II)-komplexeinek vizsgálatai alapján egyértelművé vált, hogy megfelelő relaxációs paraméterekkel rendelkező Mn(II)-komplexek előállítása további oldalláncok „eltávolítását” kell elvégezni a DO3A alapvázon. Az ilyen szerkezeti módosítás két komplexképzőt, a *cisz*- és a *transz*-DO2A ligandumokat eredményezi, amely vegyületek összehasonlító jellemzése során az alábbi megállapításokat tehetjük.

2.1 Megállapítottuk, hogy a *cisz*-DO2A ligandum stabilabb komplexet képez a Mn(II)-ionnal, mint azt a *transz*-származék, de a két izomer közül a *transz*-származék Mn(II)-komplexe rendelkezik jobb disszociációkinetikai paraméterekkel.

A *cisz*- és a *transz*-DO2A komplexképzők különböző ionerőségek mellett meghatározott protonálódási, ill. a Mn(II)-komplexek stabilitási állandói jó egyezést mutatnak az irodalomban más ionerősség alkalmazásával (Me₄NCl) meghatározott adatokkal. A stabilitási állandók ($\log K_{\text{MnL}}$ és pMn) összehasonlítása alapján látható, hogy a *cisz*-származék képez stabilabb komplexet a Mn(II)-ionnal. A Cu(II)- ill. a Zn(II)-ionokkal lejátszódó cserereakciók vizsgálata alapján megállapítottuk, hogy a DO2A-származékok Mn(II)-komplexei döntően H⁺-ion asszisztált úton játszódnak le és a [Mn(DOTA)]²⁻ esetében tapasztalt spontán, ill. fémion közvetlen támadásával lejátszódó reakciónak nincs szerepe a komplex disszociációjában. Várakozásunknak, a [Mn(*transz*-DO2A)]-kelát rendelkezik jobb disszociációs kinetikai paraméterekkel (a H⁺-ion asszisztált disszociációra jellemző sebességi állandó (k_1), ill. a pH=7,4-re extrapolált felezési idők ($t_{1/2}$) alapján).

2.1.1 táblázat: A $\text{Mn}(\text{cisz-DO2A})$ - $\text{Mn}(\text{transz-DO2A})$ -komplexek stabilitási állandói ($\log K_{\text{MnL}}$ és pMn), illetve a spontán (k_0) és proton-asszisztált disszociációjára jellemző sebességi állandói (k_1), valamint a disszociációra jellemző felezési idejük ($t_{1/2}$) ($T=25^\circ\text{C}$)

	$[\text{Mn}(\text{cisz-DO2A})]$	$[\text{Mn}(\text{transz-DO2A})]$	$[\text{Mn}(\text{DOTA})]^{2-}$
$\log K_{\text{MnL}}$	15,68(1)	14,64(1)	19,44 ^a
pMn	7,27	6,52	9,02
$k_0 (\text{s}^{-1})$	-	-	$1,8 \times 10^{-7}$ ^b
$k_1 (\text{M}^{-1}\text{s}^{-1})$	100 ± 4	85 ± 3	0,04 ^b
$t_{1/2}^{\text{pH}=7,4} (\text{h})$	48,3	56,8	1037

^a Bianchi, A. et al., *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* **2001**, 6, 917–922; ^b Drahoš, B. et al., *Dalton Trans.* **2011**, 40 (9), 1945.

2.2 A $[\text{Mn}(\text{cisz-DO2A})]$ - és a $[\text{Mn}(\text{transz-DO2A})]$ -komplexek ciklikus voltammetriás vizsgálata alapján mindkét komplex stabil az oxidációval szemben (levegőn) $\text{pH} = 7$ értéken.

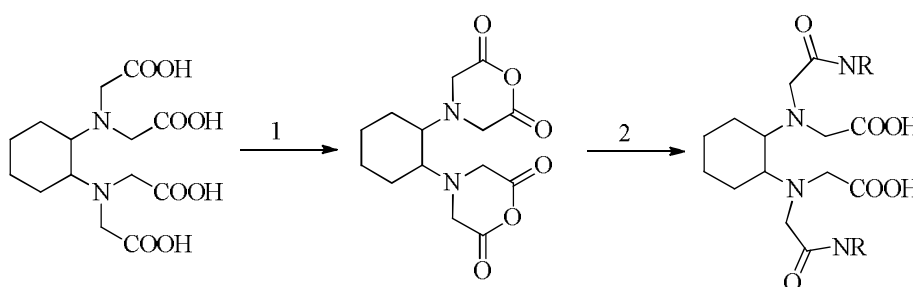
A $[\text{Mn}(\text{cisz-DO2A})]$ - és a $[\text{Mn}(\text{transz-DO2A})]$ -komplexek ciklikus voltammetriás vizsgálata egy kvázi-reverzibilis folyamatot mutatott, az Ag/AgCl referencia elektródra vonatkoztatott féllépcsőpotenciál értéke +636 ($[\text{Mn}(\text{cisz-DO2A})]$) és +705 mV ($[\text{Mn}(\text{transz-DO2A})]$). A $[\text{Mn}(\text{transz-DO2A})]$ -ra mért nagyobb oxidációs potenciál értékből arra következtettünk, hogy a +2-es oxidációs állapot a $[\text{Mn}(\text{transz-DO2A})]$ -komplex esetén némileg stabilabb, mint a *cisz*-származék esetében. A különbség a komplexek szerkezetében DFT módszerrel korábban tapasztalt különbségekkel értelmezhető.

3. A *transz*-CDTA-*bisz*-amid származékainak előállítása és vizsgálata.

A *transz*-CDTA ligandum *bisz*-amid származékainak előállítását irodalmi, ill. a háromszorosan helyettesített ciklododekán-származékok vizsgálata során kapott saját eredményeink inspirálták.

3.1 A *transz*-CDTA-dianhidrid és különböző primer, ill. szekunder aminok reakcióival összesen hat darab, többnyire új szekunder és tercier bisz-amid származék ligandum előállítását végeztük el.

A ligandumok szintézise a 3.1.1 ábrán látható séma alapján történt.



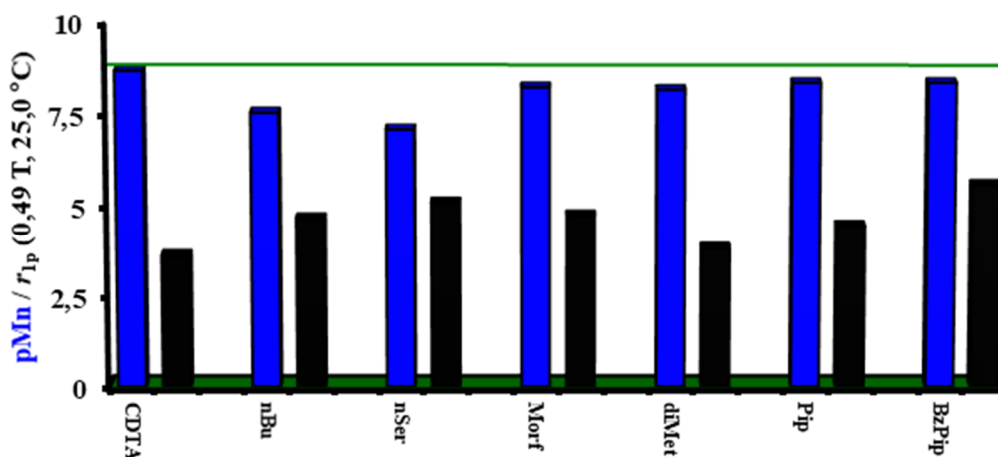
3.1.1 ábra: A *trans*-CDTA-bisz-amid származékok előállításának általános sémája; 1. piridin, ecetsav-anhidrid, szobahőmérséklet, N₂-atmoszféra és 18 óra; 2. 4 ekv. NHR vagy NR₂, DMF, 60 °C, N₂-atmoszféra és 18 óra

3.2 A *transz*-CDTA komplexképző két acetátcsoportjának szekunder amidokra történő cseréje (nBu és Ser származékok) negatívan hat a komplexek stabilitására, bár a pMn értékben mért csökkenés még (pMn = 7,54, 7,08 vs. 8,68) nem túl nagy. A tercier amidok esetében azonban nem tapasztaltunk számottevő különbséget a pMn értékekben a *transz*-CDTA megfelelő értékéhez képest, ami a ligandumok megnövekedett bázicitásával értelmezhető. A koordinált vízmolekulának köszönhetően a Mn(II)-komplexek relaxivitása 0,49 T térerőnél meghaladja a kereskedelmi forgalomban lévő Gd(III)-alapú ágensek megfelelő értékeit.

A bisz-amid származék ligandumok Mn(II)-ionnal képződő komplexeinek stabilitási állandói, ill. a számított pMn értékek alapján az újonnan előállított ligandumok Mn(II)-ion kötő képessége (3.2.1. ábra) nem romlott számottevően (a

bisz-amidok pMn értékei a 7,08 – 8,35 tartományban találhatók) a $[Mn(transz\text{-}CDTA)]^{2-}$ -komplexhez mérten ($pMn_{transz\text{-}CDTA} = 8,68$).

A $Mn(II)$ -komplexekre jellemző relaxivitas értékek egyrészt meghaladják a $[Mn(CDTA)]^{2-}$ -komplex relaxivitasát (3.2.1. ábra), másrészt a legtöbb kereskedelmi kontrasztanyagra jellemző relaxivitas adatokat is. Ez arra utal, hogy ezekben a komplexekben található a fémionhoz koordinálódó vízmolekula. Benzilcsoportok segítségével sikerült erős kölcsönhatást ($\log K_{MnL \times HSA} = 3,4(1)$) kialakítani a vérérszumban található fehérjékkel (pl. humán szérumban albumin (HSA)), ami a relaxivitas számottevő növekedését eredményezte (0,8 mM HSA jelenléte mellett mért relaxivitas értéke $r_{1p} = 19,44 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$). Ez a kölcsönhatás lehetőséget ad ezen fehérjék *in vivo* „megjelenítésére” (pl. angiográfiás vizsgálatok).



3.2.1 ábra: A CDTA és *transz*-CDTA-bisz-amid származék ligandumok $Mn(II)$ -komplexeinek relaxivitas (0,49 T, 25,0 °C) és pMn értékei

3.3 A két acetátcsoporthoz amidoldalláncra történő cseréjével, a vártnak megfelelően, javult a $Mn(II)$ -komplexe inertsége a $[Mn(CDTA)]^{2-}$ „anyavegyületéhez” képest ($t_{1/2} = 57 - 1674$ óra vs. 12 óra).

Az amidoldallancok alkalmazása pozitív hatással van a képződő Mn(II)-komplexek inertségére (3.3.1 táblázat). A kinetikai görbék (Abs. – idő) illesztését ugyanakkor csak két exponenciális függvényvel tudtuk elvégezni, amit az oldatban megjelenő szerkezeti izomerek eltérő inertségével értelmeztünk.

3.3.1 táblázat: A *transz*-CDTA és a *transz*-CDTA-bisz-amid származékok Mn(II)-komplexeinek proton-asszisztált disszociációjára jellemző sebességi állandók (k_1) és a disszociációra jellemző felezési idők ($t_{1/2}$) ($T=25\text{ }^\circ\text{C}$)

	$k_1\text{ (M}^{-1}\text{s}^{-1}\text{)}$	$t_{1/2}\text{ (óra)}^c$
$[\text{Mn}(\textit{transz}\text{-CDTA})]^{2-}\text{ }^a$	$4,0\times 10^2$; $3,2\times 10^2\text{ }^b$	12 ; 15 ^b
$[\text{Mn}(\text{CD2A2AM}^{\text{nBu}})]$	85	57
$[\text{Mn}(\text{CD2A2AM}^{\text{nSer}})]$	36 ± 1	136
$[\text{Mn}(\text{CD2A2AM}^{\text{diMet}})]$	$7\pm 0,2$	690
$[\text{Mn}(\text{CD2A2AM}^{\text{Pip}})]$ 1. izomer	17 ± 1	285
$[\text{Mn}(\text{CD2A2AM}^{\text{Pip}})]$ 3. izomer	$9,0\pm 0,4$	541
$[\text{Mn}(\text{CD2A2AM}^{\text{Morf}})]$	$2,9\pm 0,1$	1674
$[\text{Mn}(\text{CD2A2AM}^{\text{BzPip}})]$	$8,3\pm 0,7$	582

^a Kálmán, F. K. et al., *Inorg. Chem.*, **2012**, 51 (19), 10065–10067; ^b Margerum, D. W. et al., *Anal. Chem.* **1969**, 41 (2), 233–238, a $[\text{Mn}(\text{CDTA})]^{2-}$ -komplex esetén $k_1 = 3,2\times 10^2\text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ és a $t_{1/2} = 15\text{ óra}$; ^c pH = 7,4 és $1\times 10^{-5}\text{ M}$ Cu(II) koncentrációja mellett számolva.

3.4 A $[\text{Mn}(\text{CD2A2AM}^{\text{Pip}})]$ -komplex esetében szerkezeti izomerek megjelenését tapasztaltuk oldatban, melyek legfőbb fizikai-kémiai sajátosságai (inertség, relaxivitás) és szerkezete is különbözik, amit ^1H -NMR, MS, ill. ^1H -relaxometriás módszerekkel igazoltunk.

A $[\text{Mn}(\text{CD2A2AM}^{\text{Pip}})]$ - és a $[\text{Zn}(\text{CD2A2AM}^{\text{Pip}})]$ -komplexek esetében igazoltuk, hogy az irodalomban EDTA és *transz*-CDTA komplexekre már leírt, az acetát- és az amidcsoportok fémionhoz való koordinációjának a helyzete függvényében megjelenő koordinációs izomerek egymásba alakulása a *transz*-CDTA-bisz-amid komplexek esetében kivételesen lassú. Preparatív HPLC technika segítségével az izomereket elválasztottuk és jellemeztük az izomerkomplexek közül kettőnek a kinetikai inertségét. Vizsgáltuk továbbá a komplexek disszociációját szeronorm oldatban, amely adatokat a Cu(II) ionnal lejátszódó cserereakciók alapján kapott felezési időkkel hasonlítottuk össze (3.4.1 és 3.3.1 táblázatok). Ez azt mutatta, hogy a vészérum egyes komponensei katalizálják a reakciót, mivel szeronorm oldatokban mért felezési idők kisebbek, mint ami a tisztán kémiai rendszerekben, a fémioncsere reakciók alapján számítható volt. A disszociáció sebességét növelő komponens azonosítása jelenleg folyik.

3.4.1 táblázat: A szeronorm oldatban történő disszociációra jellemző felezési idők, valamint a disszociáció várható mértéke (%Mn).

	k_d/c	pH	%Mn	$t_{1/2}$ (óra) szeronorm
$[\text{Mn}(\text{CD2A2AM}^{\text{Pip}})]$ keverék, 37 °C	0,0112	7,18	3,6	62
$[\text{Mn}(\text{CD2A2AM}^{\text{Pip}})]$ 1. izomer, 37 °C	0,0151	7,14	5,7	46
$[\text{Mn}(\text{CD2A2AM}^{\text{Pip}})]$ 3. izomer, 37 °C	0,0097	7,14	5,4	71
$[\text{Mn}(\text{CD2A2AM}^{\text{nSer}})]$ keverék, 25 °C	0,0488	7,47	10,1	14
$[\text{Mn}(\text{CD2A2AM}^{\text{nSer}})]$ keverék, 37 °C	0,1106	7,53	20,3	6

Az eredmények hasznosíthatóságának lehetőségei

A dolgozatban bemutatott kutatás az alkalmazott koordinációs kémia különböző területeihez kapcsolható alapkutatás. Eredményeink alkalmazását elsősorban az orvosi diagnosztikai és terápiás eljárásokban várhatjuk, az új vegyületeink a jelenleg alkalmazott fémkomplexek kiváltására alkalmasak.

A háromszorosan helyettesített 12-tagú makrociklusos ligandumok vizsgálatai során kapott eredményeink hozzájárultak a *transz*-CDTA-bisz-amid ligandumok előállításához és szabadalmaztatáshoz (WO/2016/135523, 2015). A 2015-ben benyújtott szabadalmunkat időközben megvásárolta a Bracco Imaging Spa, ami azt jelenti, hogy ezen vegyületek valós alkalmazására reális esély van. Ezen túl, az itt említett eredmények alapján nagyszámú piklén, biszpiklén és O-piklén származékot állítottunk elő és szabadalmaztattunk. Ezek minden eddig vizsgált fizikai-kémiai paraméter szempontjából felveszik a versenyt (esetenként pedig jobbak is) a kereskedelmi forgalomban lévő, de toxikusabb Gd(III) fémionra alapozó, jelenleg tömegesen alkalmazott kontrasztanyagokkal. Pillanatnyilag ezen szabadalmakban védett vegyületek közül néhány származék *in vivo* (egérkísérletek) vizsgálatát készítjük elő, ami a vegyületeink iránt érdeklődést mutató gyógyszergyárak (pl. General Electric) igényeit hivatott kielégíteni és remélhetőleg közelebb viszi az előállított jelöltjeinket a valós felhasználásokhoz.

A PhD dolgozat alapjául szolgáló közlemények

Idegen nyelvű tudományos közlemények külföldi folyóiratban:

1. Zoltán Garda, Enikő Molnár, Ferenc K. Kálmán, Botár Richárd, Viktória Nagy, Zsolt Baranyai, Ernő Brücher, Zoltán Kovács, Imre Tóth, **Gyula Tircsó:**
Effect of the nature of donor atoms on the thermodynamic, kinetic and relaxation properties of Mn(II) complexes formed with some trisubstituted 12 membered macrocyclic ligands

Frontiers in Chemistry, **2018**, 232, 1-14.

IF: 4,155, Presztízs: D1

2. Zoltán Garda, Attila Forgács, Quyen N. Do, Ferenc K. Kálmán, Sarolta Timári, Imre Tóth, Zsolt Baranyai, Lorenzo Tei, Zoltán Kovács and **Gyula Tircsó*:**

Physico-chemical properties of Mn²⁺ complexes formed with cis- and trans-DO2A: thermodynamic, electrochemical and kinetic studies

J. Inorg. Biochem., **2016**, 163, 206–213

IF: 3,348, Presztízs: Q2

Szabadalmak:

3. Zsolt Baranyai, Zoltán Garda, Ferenc K. Kálmán, László Krusper, Gyula Tircsó, Imre Tóth, Simona Ghiani, Alessandro Maiocchi:

Ethylenediaminetetraacetic acid bis(amide) derivatives and their respective complexes with Mn(II) ion for use as MRI contrast agent. 2016

Hatáskör: Nemzetközi

Ügyiratszám: PCT/EP2016/053960 (2016.02.25)

Szabadalmi szám: WO/2016/135234

4. Zsolt Baranyai, Zoltán Garda, Ferenc K. Kálmán, László Krusper, Gyula Tircsó, Imre Tóth, **New substituted ethylenediamine-tetraacetic-acid-bis(amide) derivatives and use thereof as ligand containing Mn(II) of MRI contrast agent.** 2016

Hatáskör: Nemzetközi

Ügyiratszám: PCT/HU2015/000074 (2015.11.23)

Szabadalmi szám: WO/2016/135523

További közlemények

5. Sophie Laine, Célia S. Bonnet, Ferenc K. Kálmán, Zoltán Garda, Agnès Pallier, Fabien Caillé, Franck Suzenet, **Gyula Tircsó*** and ÉvaTóth*:

Mn²⁺ complexes of open-chain ligands with a pyridine backbone: less donor atoms lead to higher kinetic inertness

New J. Chem., **2018**, 42 (10), 8012-8020.

IF: 3,201, Presztízs: Q1

6. Kristof Pota, Zoltán Garda, Ferenc Krisztián Kálmán, José Luis Barriada, David Esteban-Gómez, Carlos Platas-Iglesias, Imre Tóth, Ernő Brücher and **Gyula Tircsó***:
Taking the next step toward inert Mn²⁺ complexes of open-chain ligands: the case of the rigid PhDTA ligand

New J. Chem., **2018**, 42 (10), 8001-8011.

IF: 3,201, Presztízs: Q1

7. Enikő Molnár, Balázs Váradi, Zoltán Garda, Richárd Botár, Ferenc K. Kálmán, Éva Tóth, Carlos Platas-Iglesias, Imre Tóth, Ernő Brücher, **Gyula Tircsó**:
Remarkable differences and similarities between the isomeric Mn(II)-cis- and trans-1,2-diaminocyclohexane-N,N,N',N'-tetraacetate complexes

Inorg. Chim Acta, **2018**, 472, 254-263.

IF: 2,264, Presztízs: Q2

8. Gyula Tircsó, Martín Regueiro-Figueroa, Viktória Nagy, Zoltán Garda, Tamás Garai, Ferenc Krisztián Kálmán, David Esteban-Gómez, Éva Tóth, and Carlos Platas-Iglesias:
Approaching the Kinetic Inertness of Macrocyclic Gd³⁺-based MRI Contrast Agents with Highly Rigid Open-Chain Derivatives

Chem. Eur. J., **2016**, 22(3), 896-901.

IF: 5,317 , Presztízs: D1

9. Aurora Rodríguez-Rodríguez, Zoltan Garda, Erika Ruscsák, David Esteban-Gómez, Andrés de Blas, Teresa Rodríguez-Blas, Luís M. P. Lima, Maryline Beyler, Raphaël Tripier, Gyula Tircsó, and Carlos Platas-Iglesias:

Stable Mn²⁺, Cu²⁺ and Ln³⁺ complexes with cyclen-based ligands functionalized with picolinate pendant arms

Dalton Trans., **2015**, 44(11), 5017-5031.

IF: 4,177, Presztízs: Q1

10. Aurora Rodriguez-Rodriguez, David Esteban-Gomez, Raphaël Tripier, Gyula Tircso, Zoltán Garda, Imre Toth, Andrés de Blas, Teresa Rodriguez-Blas, Carlos Platas-Iglesias:

Lanthanide(III) Complexes with a Reinforced Cyclam Ligand Show Unprecedented Kinetic Inertness

J. Am. Chem. Soc., **2014**, 136 (52), 17954-17957.

IF: 13,29, Presztízs: D1

11. Gyula Tircsó, Zoltán Garda, Ferenc K. Kálmán, Zsolt Baranyai, István Pócsi, József Balla and Imre Tóth:

Lanthanide(III) complexes of some natural siderophores: a thermodynamic, kinetic and relaxometric study

J. Inorg. Biochem, **2013**, 127, 53–61

IF: 3,274 , Presztízs: Q1

12. Silvio Aime, Mauro Botta, Zoltán Garda, Benjamin E. Kucera, **Gyula Tircsó**, Victor G. Young, Mark Woods:

Properties, Solution State Behavior, and Crystal Structures of Chelates of DOTMA

Inorg. Chem., **2011**, *50* (17), 7955–7965.

IF: 4,601, Presztízs: D1

Köszönetnyilvánítás:

A kutatás a GINOP-2.3.2-15-2016-00008 és a GINOP-2.3.3-15-2016-00004 számú projekt keretében, az Európai Unió támogatásával, az Európai Regionális Fejlesztési Alap társfinanszírozásával valósult meg.



**DEBRECENI
EGYETEM**

**DEBRECENI EGYETEM
EGYETEMI ÉS NEMZETI KÖNYVTÁR**

H-4002 Debrecen, Egyetem tér 1, Pf.: 400
Tel.: 52/410-443, e-mail: publikaciok@lib.unideb.hu

Nyilvántartási szám: DEENK/130/2019.PL
Tárgy: PhD Publikációs Lista

Jelölt: Garda Zoltán
Neptun kód: RN29XO
Doktori Iskola: Kémiai Tudományok Doktori Iskola
MTMT azonosító: 10040678

A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

Idegen nyelvű tudományos közlemények külföldi folyóiratban (2)

1. **Garda, Z.**, Molnár, E., Kálmán, F. K., Botár, R., Nagy, V., Baranyai, Z., Brücher, E., Kovács, Z., Tóth, I., Tircsó, G.: Effect of the Nature of Donor Atoms on the Thermodynamic, Kinetic and Relaxation Properties of Mn(II) Complexes Formed With Some Trisubstituted 12-Membered Macrocyclic Ligands.
Front. Chem. 6, 1-14, 2018. EISSN: 2296-2646.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3389/fchem.2018.00232>
IF: 4.155 (2017)
2. **Garda, Z.**, Forgács, A., Do, Q. N., Kálmán, F. K., Timári, S., Baranyai, Z., Tei, L., Tóth, I., Kovács, Z., Tircsó, G.: Physico-chemical properties of MnII complexes formed with cis- and trans-DO2A: thermodynamic, electrochemical and kinetic studies.
J. Inorg. Biochem. 163, 206-213, 2016. ISSN: 0162-0134.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2016.07.018>
IF: 3.348

Szabadalmak (2)

3. Baranyai, Z., **Garda, Z.**, Kálmán, F. K., Krusper, L., Tircsó, G., Tóth, I., Ghiani, S., Maiocchi, A.: Ethylenediaminetetraacetic acid bis(amide) derivatives and their respective complexes with Mn(II) ion for use as MRI contrast agent. 2016
Hatáskör: Nemzetközi
Ügyiratszám: PCT/EP2016/053960 (2016.02.25)
Szabadalmi szám: WO/2016/135234





**DEBRECENI
EGYETEM**

**DEBRECENI EGYETEM
EGYETEMI ÉS NEMZETI KÖNYVTÁR**

H-4002 Debrecen, Egyetem tér 1, Pf.: 400
Tel.: 52/410-443, e-mail: publikaciok@lib.unideb.hu

4. Baranyai, Z., **Garda, Z.**, Kálmán, F. K., Krusper, L., Tircsó, G., Tóth, I.: New substituted ethylene-diamine-tetraacetic-acid-bis(amide) derivatives and use thereof as ligand containing Mn(II) of MRI contrast agent. 2016
Hatáskör: Nemzetközi
Ügyiratszám: PCT/HU2015/000074 (2015.11.23)
Szabadalmi szám: WO/2016/135523

További közlemények

Idegen nyelvű tudományos közlemények külföldi folyóiratban (8)

5. Laine, S., Bonnet, C. S., Kálmán, F. K., **Garda, Z.**, Pallier, A., Caillé, F., Suzenet, F., Tircsó, G., Tóth, É.: Mn complexes of open-chain ligands with a pyridine backbone: less donor atoms lead to higher kinetic inertness.
New J. Chem. 42 (10), 8012-8020, 2018. ISSN: 1144-0546.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1039/C8NJ00648B>
IF: 3.201 (2017)
6. Molnár, E., Váradi, B., **Garda, Z.**, Botár, R., Kálmán, F. K., Tóth, É., Tóth, I., Brücher, E., Tircsó, G.: Remarkable differences and similarities between the isomeric Mn(II)-cis- and trans-1,2-diaminocyclohexane-N,N',N'-tetraacetate complexes.
Inorg. Chim. Acta. 472 (1), 254-263, 2018. ISSN: 0020-1693.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ica.2017.07.071>
IF: 2.264 (2017)
7. Pota, K., **Garda, Z.**, Kálmán, F. K., Barriada, J. L., Esteban-Gómez, D., Platas-Iglesias, C., Tóth, I., Brücher, E., Tircsó, G.: Taking the next step toward inert Mn²⁺ complexes of open-chain ligands: the case of the rigid PhDTA ligand.
New J. Chem. 42 (10), 8001-8011, 2018. ISSN: 1144-0546.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1039/C8NJ00121A>
IF: 3.201 (2017)
8. Tircsó, G., Regueiro-Figueroa, M., Nagy, V., **Garda, Z.**, Garai, T., Kálmán, F. K., Esteban-Gómez, D., Tóth, É., Platas-Iglesias, C.: Approaching the Kinetic Inertness of Macrocyclic Gadolinium(III)-Based MRI Contrast Agents with Highly Rigid Open-Chain Derivatives.
Chem.-Eur. J. 22 (3), 896-901, 2016. ISSN: 0947-6539.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1002/chem.201503836>
IF: 5.317





**DEBRECENI
EGYETEM**

**DEBRECENI EGYETEM
EGYETEMI ÉS NEMZETI KÖNYVTÁR**

H-4002 Debrecen, Egyetem tér 1, Pf.: 400
Tel.: 52/410-443, e-mail: publikaciok@lib.unideb.hu

9. Rodríguez-Rodríguez, A., **Garda, Z.**, Ruscsák, E., Esteban-Gómez, D., Blas, A. d., Rodríguez-Blas, T., Lima, L. M. P., Beyler, M., Tripier, R., Tircsó, G., Platas-Iglesias, C.: Stable Mn²⁺, Cu²⁺ and Ln³⁺ complexes with cyclen-based ligands functionalized with picolinate pendant arms.
Dalton Trans. **44**, 5017-5031, 2015. ISSN: 1477-9226.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1039/C4DT02985B>
IF: 4.177
10. Rodríguez-Rodríguez, A., Esteban-Gómez, D., Tripier, R., Tircsó, G., **Garda, Z.**, Tóth, I., de Blas, A., Rodríguez-Blas, T., Platas-Iglesias, C.: Lanthanide(III) Complexes with a Reinforced Cyclam Ligand Show Unprecedented Kinetic Inertness.
J. Am. Chem. Soc. **136** (52), 17954-17957, 2014. ISSN: 0002-7863.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1021/ja511331n>
IF: 12.113
11. Tircsó, G., **Garda, Z.**, Kálmán, F. K., Baranyai, Z., Pócsi, I., Balla, G., Tóth, I.: Lanthanide(III) complexes of some natural siderophores: a thermodynamic, kinetic and relaxometric study.
J. Inorg. Biochem. **127**, 53-61, 2013. ISSN: 0162-0134.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2013.06.006>
IF: 3.274
12. Aime, S., Botta, M., **Garda, Z.**, Kucera, B. E., Tircsó, G., Young, V. G., Woods, M.: Properties, Solution State Behavior, and Crystal Structures of Chelates of DOTMA.
Inorg. Chem. **50** (17), 7955-7965, 2011. ISSN: 0020-1669.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1021/ic2012827>
IF: 4.601

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora: 45,651

**A közlő folyóiratok összesített impakt faktora (az értekezés alapján szolgáló közleményekre):
7,503**

A DEENK a Jelölt által az IDEa Tudóstérbe feltöltött adatok bibliográfiai és tudománymetriai ellenőrzését a tudományos adatbázisok és a Journal Citation Reports Impact Factor lista alapján elvégezte.

Debrecen, 2019.03.29.

