



**KARBOXILÁT, FOSZFONÁT ÉS FOSZFINÁT  
FUNKCIÓS CSOPORTOT TARTALMAZÓ DI-, TRI- ÉS  
TETRAAZA-SZÁRMAZÉK LIGANDUMOK  
KOMPLEKKÉPZŐ SAJÁTSÁGAI**

doktori (PhD) értekezés

**Kálmán Ferenc Krisztián**

Témavezetők:

Dr. Brücher Ernő

Dr. Király Róbert

Debreceni Egyetem  
Debrecen, 2007.

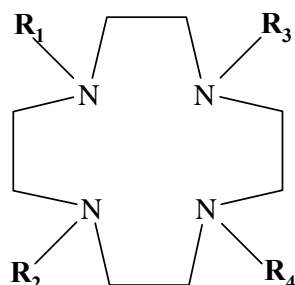


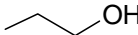
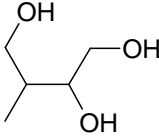
## TARTALOMJEGYZÉK

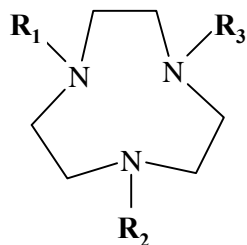
I. BEVEZETÉS	1
II. IRODALMI ÁTTEKINTÉS	3
II.1 A lantanoidák komplexképző sajátságai	3
II.2 MRI kontrasztanyagok	10
II.2.1 $T_1$ kontrasztanyagok	11
II.2.2 $T_2$ kontrasztanyagok	13
II.2.3 A Gd(III)-komplexek relaxivitása	13
II.2.4 A kontrasztanyag fejlesztés új irányai	15
II.3 Radioaktív lantanoida izotópok orvosi alkalmazásai	18
II.3.1 Diagnosztikai alkalmazás	20
II.3.2 Terápiás alkalmazás	20
II.4 Foszfónát és foszfinát funkciós csoportot tartalmazó ligandumok komplexképző sajátságai	24
II.4.1 Nyílt láncú komplexképző ligandumok	27
II.4.2 Makrociklusos komplexképző ligandumok	29
III. ALKALMAZOTT VIZSGÁLATI MÓDSZEREK	32
III.1 pH-potenciometria	32
III.2 Spektrofotometria	35
III.3 Relaxometria	38
III.4 NMR spektroszkópia	39
IV. EREDMÉNYEK	41
IV.1 A Sm(EDTMP)- és Y(EDTMP)-komplexek egyensúlyi és kinetikai sajátságai	41
IV.1.1 Egyensúlyi vizsgálatok	41
IV.1.2 Kinetikai vizsgálatok	47
IV.2 A Gd(DTTAMP) komplexek disszociációja sebességének vizsgálata	54
IV.3 A DO2A2P ligandum komplexképző sajátságai	63
IV.3.1 Egyensúlyi vizsgálatok	63

<i>IV.3.2 Kinetikai vizsgálatok</i>	69
<i>IV.3.3 Relaxitás vizsgálatok</i>	77
<i>IV.3.4 Ln(DO2A2P)-komplexek oldatbeli szerkezetének NMR spektroszkópiás vizsgálata</i>	79
IV.4 A DO3P és DO3PA ligandumok komplexképző sajátosságai	96
<i>IV.4.1 Egyensúlyi vizsgálatok</i>	96
<i>IV.4.2 Kinetikai vizsgálatok</i>	101
IV.5 A Ln(TETA(PO <sub>2</sub> H) <sub>2</sub> )-komplexek egyensúlyi és kinetikai sajátosságai	108
<i>IV.5.1 Egyensúlyi vizsgálatok</i>	108
<i>IV.5.2 Kinetikai vizsgálatok</i>	119
IV.6 A Gd(DOTA-4AMP)-komplex vizsgálata	124
<i>IV.6.1 Egyensúlyi vizsgálatok</i>	124
<i>IV.6.2 Relaxometriás vizsgálatok</i>	130
V. KÍSÉRLETI RÉSZ	135
V.1 Egyensúlyi vizsgálatok	137
V.2 Kinetikai vizsgálatok	141
V.3 Relaxometriás vizsgálatok	142
VI. ÖSSZEFOGLALÁS	143
VII. SUMMARY	149
VIII. IRODALOMJEGYZÉK	154

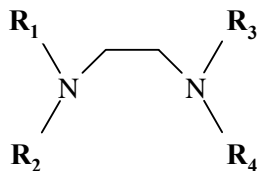
Az értekezésben előforduló ligandumok szerkezeti képletei:



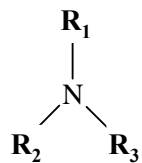
R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	Ligandum
-H	-H	-H	-H	<b>Ciklén</b>
-H	-CH <sub>2</sub> -COOH	-CH <sub>2</sub> -COOH	-H	<b>H<sub>2</sub>DO2A</b>
-H	-CH <sub>2</sub> -COOH	-CH <sub>2</sub> -COOH	-CH <sub>2</sub> -COOH	<b>H<sub>3</sub>DO3A</b>
-CH <sub>2</sub> -COOH	-CH <sub>2</sub> -COOH	-CH <sub>2</sub> -COOH	-CH <sub>2</sub> -COOH	<b>H<sub>4</sub>DOTA</b>
-H	-CH <sub>2</sub> -PO <sub>3</sub> H <sub>2</sub>	-CH <sub>2</sub> -PO <sub>3</sub> H <sub>2</sub>	-H	<b>H<sub>4</sub>DO2P</b>
-H	-CH <sub>2</sub> -PO <sub>3</sub> H <sub>2</sub>	-CH <sub>2</sub> -PO <sub>3</sub> H <sub>2</sub>	-CH <sub>2</sub> -PO <sub>3</sub> H <sub>2</sub>	<b>H<sub>6</sub>DO3P</b>
-CH <sub>2</sub> -PO <sub>3</sub> H <sub>2</sub>	-CH <sub>2</sub> -PO <sub>3</sub> H <sub>2</sub>	-CH <sub>2</sub> -PO <sub>3</sub> H <sub>2</sub>	-CH <sub>2</sub> -PO <sub>3</sub> H <sub>2</sub>	<b>H<sub>8</sub>DOTP</b>
-CH <sub>2</sub> -PO <sub>3</sub> H <sub>2</sub>	-CH <sub>2</sub> -COOH	-CH <sub>2</sub> -COOH	-CH <sub>2</sub> -PO <sub>3</sub> H <sub>2</sub>	<b>H<sub>6</sub>DO2A2P</b>
-CH <sub>2</sub> -PO <sub>3</sub> H <sub>2</sub>	-CH <sub>2</sub> -COOH	-CH <sub>2</sub> -PO <sub>3</sub> H <sub>2</sub>	-CH <sub>2</sub> -PO <sub>3</sub> H <sub>2</sub>	<b>H<sub>7</sub>DO3PA</b>
	-CH <sub>2</sub> -COOH	-CH <sub>2</sub> -COOH	-CH <sub>2</sub> -COOH	<b>H<sub>3</sub>HP-DO3A</b>
	-CH <sub>2</sub> -COOH	-CH <sub>2</sub> -COOH	-CH <sub>2</sub> -COOH	<b>H<sub>3</sub>DO3A-B</b>
-CH <sub>2</sub> -CONH- CH <sub>2</sub> -PO <sub>3</sub> H <sub>2</sub>	-CH <sub>2</sub> -CONH- CH <sub>2</sub> -PO <sub>3</sub> H <sub>2</sub>	-CH <sub>2</sub> -CONH- CH <sub>2</sub> -PO <sub>3</sub> H <sub>2</sub>	-CH <sub>2</sub> -CONH- CH <sub>2</sub> -PO <sub>3</sub> H <sub>2</sub>	<b>H<sub>8</sub>DOTA-4AmP</b>
-CH <sub>2</sub> -CONH- CH <sub>2</sub> -COOH	-CH <sub>2</sub> -CONH- CH <sub>2</sub> -COOH	-CH <sub>2</sub> -CONH- CH <sub>2</sub> -COOH	-CH <sub>2</sub> -CONH- CH <sub>2</sub> -COOH	<b>H<sub>4</sub>DOTA-Gly</b>



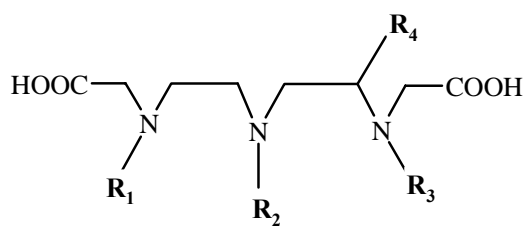
<b>R<sub>1</sub></b>	<b>R<sub>2</sub></b>	<b>R<sub>3</sub></b>	<b>Ligandum</b>
-CH <sub>2</sub> -COOH	-CH <sub>2</sub> -COOH	-CH <sub>2</sub> -COOH	<b>H<sub>3</sub>NOTA</b>
-CH <sub>2</sub> -PO <sub>3</sub> H <sub>2</sub>	-CH <sub>2</sub> -PO <sub>3</sub> H <sub>2</sub>	-CH <sub>2</sub> -PO <sub>3</sub> H <sub>2</sub>	<b>H<sub>6</sub>NOTP</b>

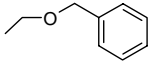
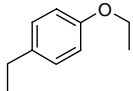


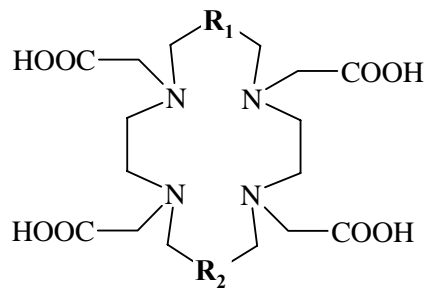
<b>R<sub>1</sub></b>	<b>R<sub>2</sub></b>	<b>R<sub>3</sub></b>	<b>R<sub>4</sub></b>	<b>Ligandum</b>
-H	-CH <sub>2</sub> -COOH	-H	-CH <sub>2</sub> -COOH	<b>H<sub>2</sub>EDDA</b>
-CH <sub>2</sub> -COOH	-CH <sub>2</sub> -COOH	-CH <sub>2</sub> -COOH	-CH <sub>2</sub> -COOH	<b>H<sub>4</sub>EDTA</b>
-CH <sub>2</sub> -COOH	-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -OH	-CH <sub>2</sub> -COOH	-CH <sub>2</sub> -COOH	<b>H<sub>3</sub>(HEDTA)</b>
-CH <sub>2</sub> -PO <sub>3</sub> H <sub>2</sub>	-CH <sub>2</sub> -PO <sub>3</sub> H <sub>2</sub>	-CH <sub>2</sub> -PO <sub>3</sub> H <sub>2</sub>	-CH <sub>2</sub> -PO <sub>3</sub> H <sub>2</sub>	<b>H<sub>8</sub>EDTMP</b>



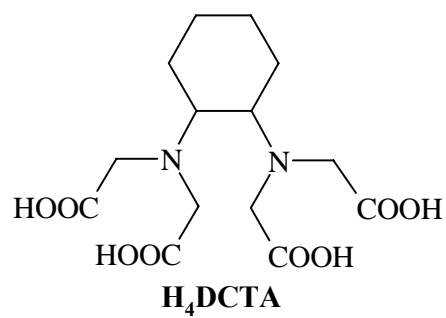
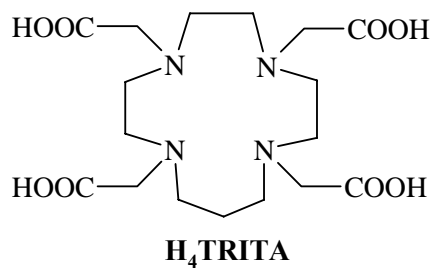
$\mathbf{R}_1$	$\mathbf{R}_2$	$\mathbf{R}_3$	Ligandum
-H	-CH <sub>2</sub> -COOH	-CH <sub>2</sub> -COOH	<b>H<sub>2</sub>IDA</b>
-CH <sub>2</sub> -COOH	-CH <sub>2</sub> -COOH	-CH <sub>2</sub> -COOH	<b>H<sub>3</sub>NTA</b>
-CH <sub>2</sub> -PO <sub>3</sub> H <sub>2</sub>	-CH <sub>2</sub> -PO <sub>3</sub> H <sub>2</sub>	-CH <sub>2</sub> -PO <sub>3</sub> H <sub>2</sub>	<b>H<sub>6</sub>NTMP</b>



$\mathbf{R}_1$	$\mathbf{R}_2$	$\mathbf{R}_3$	$\mathbf{R}_4$	Ligandum
-CH <sub>2</sub> -COOH	-CH <sub>2</sub> -COOH	-CH <sub>2</sub> -COOH	-H	<b>H<sub>5</sub>DTPA</b>
-CH <sub>2</sub> -CO-NH-Me	-CH <sub>2</sub> -COOH	-CH <sub>2</sub> -CO-NH-Me	-H	<b>H<sub>3</sub>DTPA-BMA</b>
-CH <sub>2</sub> -CO-NH-Et-OMe	-CH <sub>2</sub> -COOH	-CH <sub>2</sub> -CO-NH-Et-OMe	-H	<b>H<sub>3</sub>DTPA-BMEA</b>
-CH <sub>2</sub> -COOH	-CH <sub>2</sub> -COOH	-CH <sub>2</sub> -COOH		<b>H<sub>5</sub>BOPTA</b>
-CH <sub>2</sub> -COOH	-CH <sub>2</sub> -COOH	-CH <sub>2</sub> -COOH		<b>H<sub>5</sub>EOB-DTPA</b>
-CH <sub>2</sub> -COOH	-CH <sub>2</sub> -PO <sub>3</sub> H <sub>2</sub>	-CH <sub>2</sub> -COOH	-H	<b>H<sub>6</sub>DTTAMP</b>



$R_1$	$R_2$	Ligandum
$-CH_2-$	$-CH_2-$	$H_4TETA$
$-PO_2H-$	$-PO_2H-$	$H_6TETA(PO_2)_2$





**A fontosabb ligandumok elterjedt, általában használt elnevezése:**

<b>Ciklén:</b>	1,4,7,10-tetraazaciklododekán
<b>H<sub>2</sub>DO2A:</b>	1,4,7,10-tetraazaciklododekán-1,7-diecetsav
<b>H<sub>3</sub>DO3A:</b>	1,4,7,10-tetraazaciklododekán-1,4,7-triecetsav
<b>H<sub>4</sub>DOTA:</b>	1,4,7,10-tetraazaciklododekán-1,4,7,10-tetraecetsav
<b>H<sub>4</sub>DO2P:</b>	1,4,7,10-tetraazaciklododekán-1,7-bisz(metilénfoszfonsav)
<b>H<sub>6</sub>DO3P:</b>	1,4,7,10-tetraazaciklododekán-1,4,7-trisz(metilénfoszfonsav)
<b>H<sub>8</sub>DOTP:</b>	1,4,7,10-tetraazaciklododekán-1,4,7,10-tetrakis(metilénfoszfonsav)
<b>H<sub>6</sub>DO2A2P:</b>	1,4,7,10-tetraazaciklododekán-1,7-diecetsav-4,10-bisz(metilénfoszfonsav)
<b>H<sub>7</sub>DO3PA:</b>	1,4,7,10-tetraazaciklododekán-1-ecetsav-4,7,10-trisz(metilénfoszfonsav)
<b>H<sub>3</sub>HP-DO3A:</b>	10-(2'-hidroxipropil)-1,4,7,10-tetraazaciklododekán-1,4,7-triecetsav
<b>H<sub>3</sub>DO3A-B:</b>	10-(2',3'-dihidroxil-1'-hidroximetil)propil)-1,4,7,10-tetraazaciklododekán-1,4,7-triecetsav
<b>H<sub>8</sub>DOTA-4AMP:</b>	1,4,7,10-tetraazaciklododekán-1,4,7,10-tetrakis(acetamido-metilénfoszfonsav)
<b>H<sub>4</sub>DOTA-Gly:</b>	1,4,7,10-tetraazaciklododekán-1,4,7,10-tetrakis(acetilglicin)
<b>H<sub>3</sub>NOTA:</b>	1,4,7-triazaciklononán-1,4,7-triecetsav
<b>H<sub>6</sub>NOTP:</b>	1,4,7-triazaciklononán-1,4,7-trisz(metilénfoszfonsav)
<b>H<sub>2</sub>EDDA:</b>	etiléndiamin- <i>N-N'</i> -diecetsav
<b>H<sub>4</sub>EDTA:</b>	etiléndiamin- <i>N,N,N',N'</i> -tetraecetsav

<b>H<sub>3</sub>(HEDTA):</b>	<i>N'</i> -(hidroxietil)-etiléndiamin- <i>N,N,N'</i> -triacetsav
<b>H<sub>8</sub>EDTMP:</b>	etiléndiamin- <i>N,N,N',N'</i> -tetrakis(zmetilénfoszfonsav)
<b>H<sub>2</sub>IDA:</b>	iminodiacetsav
<b>H<sub>3</sub>NTA:</b>	nitrilotriacetsav
<b>H<sub>6</sub>NTMP:</b>	nitrilotrisz(zmetilénfoszfonsav)
<b>H<sub>5</sub>DTPA:</b>	dietiléntriamin- <i>N,N,N',N'',N''</i> -pentaecetsav
<b>H<sub>3</sub>DTPA-BMA:</b>	dietiléntriamin- <i>N,N,N',N'',N''</i> -pentaecetsav- <i>N,N''</i> -bisz(metilamid)
<b>H<sub>3</sub>DTPA-BMEA:</b>	dietiléntriamin- <i>N,N,N',N'',N''</i> -pentaecetsav- <i>N,N''</i> -bisz(metoxi-etilamid)
<b>H<sub>5</sub>BOPTA:</b>	2-(benziloximetil)-dietiléntriamin- <i>N,N,N',N'',N''</i> -pentaecetsav
<b>H<sub>5</sub>EOB-DTPA:</b>	4-([4'-etoxi]-benzil)-dietiléntriamin- <i>N,N,N',N'',N''</i> -pentaecetsav
<b>H<sub>6</sub>DTTAMP:</b>	dietiléntriamin- <i>N,N,N',N''</i> -tetraecetsav- <i>N'</i> -metilénfoszfonsav
<b>H<sub>4</sub>TETA:</b>	1,4,8,11-tetraazaciklotetradekán-1,4,8,11-tetraecetsav
<b>H<sub>6</sub>TETA(PO<sub>2</sub>)<sub>2</sub>:</b>	3,10-dihidrox-1,5,8,12-tetraaza-3,10-difoszfaciklotetradekán-1,5,8,12-tetraecetsav
<b>H<sub>4</sub>TRITA:</b>	1,4,7,10-tetraazaciklotridekán-1,4,7,10-tetraecetsav
<b>H<sub>4</sub>DCTA:</b>	diaminociklohexán- <i>N,N,N',N'</i> -tetraecetsav

## I. BEVEZETÉS

A komplexonok vizsgálata máig kedvelt kutatási terület, annak ellenére, hogy első képviselőiket több mint 60 évvel ezelőtt kezdték meg részletesebben tanulmányozni. A komplexonok népszerűsége változatos fémmegkötő képességüknek köszönhető, amelynek következtében alkalmazásuk mára igen széleskörűvé vált. Így a tisztán tudományos érdeklődésen túl immár sokrétű orvosi, orvosbiológiai és ipari felhasználásuk is indokoltá teszi koordinációs kémiai viselkedésük részletesebb tanulmányozását és a kialakuló komplexek tulajdonságainak javítását, tökéletesítését. A hagyományos optimalizálandó paramétereken túl (termodinamikai illetve a kinetikai stabilitás, fémion-szelektivitás) a biológiai felhasználás megköveteli újabb tulajdonságok figyelembevételét, mint a kis toxicitás, szervspecifikusság, az MRI kontrasztanyagok esetében a kedvező relaxációs tulajdonságok, stb. A kutatások nyíltláncú és makrociklusos komplexonok esetén egyaránt folynak, és mindkét esetben az egyik legfontosabb irány a donorcsoportok változtatásának hatása a fentebb említett paraméterekre.

A komplexonok története egészen az 1862-es évig nyúlik vissza, amikor *Heintz* szintetizálta monoklórecetsavból és ammóniából, vizes oldatban első képviselőjüket, a nitrilotriecetsavat (NTA). Ezt követően hosszú ideig nem állítottak elő újabb komplexont, egészen 1935-ig, amikor az IG Farben a *Heintz*-féle előállítási módhoz hasonlóan [1] etiléndiaminból állította elő a híres etiléndiamin-tetraecetsavat (EDTA), majd az NTA-val együtt mint vízlágyítót forgalmazta (Trilon A és B). A komplexon elnevezés ugyanakkor csak 1945-ben született meg. *G. K. Schwarzenbach* olyan vegyületek megnevezésére javasolta, amelyek tartalmazzák az N-iminodiacetátcsoportot. Az azóta eltelt több mint 60 évben ez az elnevezés megmaradt, ugyanakkor kiterjesztették az eredeti vegyületek analógjaira is [2], így sok olyan komplexonként ismert vegyület van, amely már nem is tartalmazza az eredeti szerkezetet. Hogy hol a határvonal a komplexonok és

más vegyületek között nehéz megmondani, de a kelátképzés és a kialakuló komplexek nagy termodinamikai stabilitása fontos tényező.

A karboxilát – foszfonát analógia kézenfekvőnek tűnt, így az aminopolikarbonsavak első foszfonát analógját már 1949-ben szintetizálták *Schwarzenbach* és munkatársai. Az első ilyen vegyület a foszfonometil-iminodiacetsav volt [3], majd 1959-ben előállították az NTA teljes foszfonometil analógját az NTMP [4]. Ugyanakkor az EDTA teljes foszfonometil analógjának az EDTMP-nek koordinációs kémiai viselkedéséről már 1956-ban jelent meg publikáció [6].

A nyíltláncú komplexonokat követően 1976-ban állították elő első ízben poliaza-makrociklusokból az első makrociklusos acetátszármazékokat [6] és néhány évvel később, 1984-ben *Kabachnik* és munkatársai előállították a NOTA valamint a DOTA teljes metilénfoszfonát analógjait a NOTP-t és a DOTP-t [7].

Míg az elmúlt évtizedekben sokrétűen tanulmányozták az aminopolikarbonsavak koordinációs kémiai viselkedését, addig a foszfinát- és foszfonátszármazék ligandumok viselkedéséről kevesebbet tudunk. Munkánk célkitűzése tehát néhány nyíltláncú és makrociklusos foszfinát- és foszfonátszármazék ligandum koordinációs kémiai viselkedésének részletesebb tanulmányozása, így:

1, A nukleáris medicinában már alkalmazott EDTMP komplexképző ligandum részletesebb egyensúlyi és kinetikai vizsgálata, az irodalomban fellelhető ellentmondások tisztázása.

2, A TETA foszfinátszármazéka, részletesebb egyensúlyi és kinetikai vizsgálata, különös tekintettel a kétmagvú komplexek képződésére.

3, Új nyíltláncú és makrociklusos foszfonátszármazék ligandumok egyensúlyi, kinetikai és oldatszerkezeti vizsgálata.

## II. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

### II.1 A lantanoidák komplexképző sajátosságai

Az elemcsoport elnevezése hosszú ideig komoly zavart okozott, hiszen a „ritka föld” elnevezést sokáig a természetben előforduló kevésbé ismert oxidok elnevezésére használták, majd a későbbiekben ezt az elnevezést alkalmazták az egymástól nehezen elválasztható elemekre. Manapság általánosan elfogadott, hogy a „ritkaföldfémek” közé tartozik a  $_{58}\text{Ce}$  és  $_{71}\text{Lu}$  közötti 14 elem, valamint ide sorolják a szkandium csoportba tartozó  $_{21}\text{Sc}$ ,  $_{57}\text{La}$  és  $_{39}\text{Y}$  elemeket. Az elnevezésben megjelenő zavarok elkerülésére, valamint azt is figyelembe véve, hogy ezen elemek némelyike egyáltalán nem ritka, és viselkedésükben nagy hasonlóságot mutatnak a lantánhoz, bevezették a „lantánida” majd „lantanoida” ( $\text{Ln}$ ) (lantánszerű) elnevezést.

A  $\text{Ln}^{3+}$ -ionok ( $[\text{Xe}] 4f^{0-14}$ ) az atomok vegyértékhéján lévő 3 elektron ( $5d^1 6s^2$ ) eltávolításával jönnek létre és csak az f-alhéjon elhelyezkedő elektronok számában térnek el egymástól. Az f-alhéjon található elektronokat az  $5s^2 5p^6$  külső zárt elektronhéj szinte teljesen leárnyékolja, amelynek köszönhetően az f-alhéj töltődésével és a magtöltés növekedésével az ionméret a  $\text{La}^{3+}$ -tól a  $\text{Lu}^{3+}$ -ig monoton csökken [8]. Az  $\text{Y}^{3+}$ -ion elektronszerkeze:  $[\text{Kr}] 4s^2 4p^6$ , ahol nincs f héj, így mérete a  $\text{Dy}^{3+}$ - és  $\text{Ho}^{3+}$ -ionok között helyezkedik el és kémiai sajátosságai nagyon hasonlóak a  $\text{Ln}^{3+}$ -ionokéhoz.

Az alkáliföldfém-ionokhoz hasonlóan a  $\text{Ln}^{3+}$ -ionok hard természetűek, így a kialakuló komplexeik stabilitása a  $\text{S} < \text{N} < \text{O}$  donoratom sorrendben a hard jelleg növekedésével párhuzamosan növekszik, és ezen túl a töltéssel rendelkező donoratomokat részesítik előnyben [9]. Koordinációs vegyületeikben az általuk kialakított kötés döntően ionos jellegű, mivel a zárt  $5s^2 5p^6$  héj alatti 4f-elektronok gyakorlatilag nem képesek kovalens kötés kialakítására.. A kelátképző ligandumokban leggyakrabban előforduló funkciós csoportokkal vizes közegben

kialakított kémiai kötésük erőssége az alkoholos hidroxil  $\leq$  amid  $<$  foszfinát  $<$  karboxilát  $<$  foszfonát sorrendben nő.

A  $\text{Ln}^{3+}$ -aq-ionok koordinációs száma sokáig vitatott kérdés volt, de manapság elfogadott, hogy az a sor elején a  $\text{Nd}^{3+}$ -ig 9, a  $\text{Sm}^{3+}$  és  $\text{Gd}^{3+}$  között csökken (8 és 9 egyaránt lehet) és a  $\text{Gd}^{3+}$ -tól végig 8 [10]. Ezeknek a koordinációs számoknak a megvalósulását  $\text{LnCl}_3$  és  $\text{Ln}(\text{ClO}_4)_3$  sók vizes oldatainak röntgen- és neutron-diffrakciós vizsgálatával igazolták. A vizsgálatok során beazonosított geometria a 9-es koordinációs szám esetén háromszorosan lapcentrált trigonális prizma, a 8-as koordinációs szám esetében négyzetes antiprizma. EXAFS mérésekkel *Yamaguchi* és munkatársai alátámasztották ezeket az eredményeket [11]. Meg kell említeni azonban, hogy szilárd vegyületekben ettől eltérő, kisebb vagy nagyobb, akár 12-es koordinációs szám is megvalósulhat (pl.:  $\text{La}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ ), míg nagy térkitöltésű ligandumok esetén 3-as koordinációs szám is lehetséges ( $\text{Ln}\{\text{N}(\text{SiMe}_3)_2\}_3$ ).

A lantanoida(III)komplexek elektronspektroszkópiai viselkedése jelentősen eltér az átmenetifémek esetében tapasztaltaktól. A eltérés oka, hogy elektronspektroszkópiai tulajdonságaikat döntően az f-elektronok határozzák meg. Az f-pályák nagy mértékű árnyékoltsága miatt, a ligandumok kristálytere csak nagyon kis mértékben befolyásolja az ionok energiaállapotát, így az energiaszintek közötti átmeneteket, ezért a lantanoidák f-f sávjai az átmenetifémek széles d-d abszorpciós sávjaitól eltérően, szilárd, oldat- és gázfázisban is meglehetősen keskenyek. A spin-pálya kölcsönhatás miatt a hétszeresen degenerált f-alhéjak felhasadnak és az így kialakult energiaszintek között f-f átmenet valósulhat meg. Ezen elektronátmenetek tiltottak (Laport-szabály), így a hozzájuk tartozó abszorpciós sávok meglehetősen kis intenzitásúak ( $\epsilon \approx 1 \text{ cm}^{-1}\text{M}^{-1}$ ) [12]. Ebből következően a Ln(III)-komplexek f-f átmeneteihez tartozó abszorpciós sávokból nagyon kevés esetben tudunk értékes információkat nyerni a komplexek képződésére vonatkozóan. A  $\text{Nd}^{3+}$ -ion  ${}^2\text{P}_{1/2}$  termje nem hasad fel semmilyen

kristálytérben, így a  ${}^2P_{1/2} \leftarrow {}^4I_{9/2}$  átmenethez tartozó, kis intenzitású abszorpciós sáv rendkívül érzékeny a Nd(III)-komplexek képződésére.

A lantanoida(III)komplexek képződésének követésére bizonyos lantaniodák ( $Ce^{3+}$ ,  $Tb^{3+}$ ) esetében sokkal jobban használhatók az  $5d \leftarrow 4f$  elektronátmenetek, mivel a külső pályák árnyékoló hatása kevésbé hat az  $5d$  pályákra, ezért ezek érzékenyebbek a komplexképződésre. A legtöbb  $Ln^{3+}$ -ion esetében ezek az átmenetek a távoli-UV tartományba esnek, de a  $Ce^{3+}$ -,  $Pr^{3+}$ - és  $Tb^{3+}$ -ionok esetében az átmenetekhez tartozó sávok a távoli UV tartományban találhatóak. A  $Pr^{3+}$ - és a  $Tb^{3+}$ -ionok  $5d \leftarrow 4f$  átmeneteinek megfelelő abszorpciós sávok 230 nm alatt észlelhetők, ahol a komplexképző ligandumok többségének elnyelése van, de a  $Ce^{3+}$  esetében ezek a sávok 210-330 nm tartományban jelentkeznek, amelyek intenzitása elég nagy ( $\epsilon \approx 1000 \text{ cm}^{-1}\text{M}^{-1}$ ), ezért viszonylag híg oldatok esetén is jól követhető a komplexek képződése.

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

A  $Ln^{3+}$ -ionok gyakorlati felhasználásának egyik fontos területe lumineszcenciás viselkedésükre épül. Az  $f^0$  és az  $f^{14}$  elektronszerkezetű ionok kivételével mindegyik  $Ln^{3+}$ -ion mutat lumineszcenciát, amelyek közül az  $Eu^{3+}$ - ( ${}^7F_{0-4} \leftarrow {}^5D_{0-1}$ ) és a  $Tb^{3+}$ -ionoknak ( ${}^7F_{0-6} \leftarrow {}^5D_4$ ) van a legnagyobb gyakorlati jelentősége. A lantanoida(III)komplexek emissziós spektruma érzékeny a központi fémion kémiai környezetére, így alkalmas a komplexek képződésének és szerkezetének vizsgálatára [13]. Az  $Eu(III)$ -komplexek  ${}^5D_0$  gerjesztett állapotának átlagos élettartama jelentősen függ az  $Eu^{3+}$ -ion környezetében lévő egyéb részecskéktől, amiből például a fémionhoz közvetlenül koordinálódó vízmolekulák számát lehet meghatározni [14].

A lantanoida(III)komplexek mágneses tulajdonságait jelentősen befolyásolja a központi fémion elektronszerkezete. A  $Ln^{3+}$ -ionok az  $Y^{3+}$ , a  $La^{3+}(f^0)$

és a  $\text{Lu}^{3+}(\text{f}^4)$  kivételével paramágnesesek, mágneses momentumuk a  $\text{Nd}^{3+}$ -nál és a  $\text{Dy}^{3+}$  illetve a  $\text{Ho}^{3+}$ -nál maximumot mutat és nem a maximális spinszámú  $\text{Gd}^{3+}$ -nál ( $\text{f}^7$ ), mivel a spin és pálya hozzájárulásokat együttesen kell figyelembe venni [13].

A paramágneses Ln(III)-komplexekben koordinált ligandumok NMR jelei kiszélesednek és gyakran nagymértékben eltolódnak a diamágneses komplexekéhez képest. A paramágneses  $\text{Ln}^{3+}$ -ionok elektronrelaxációs ideje viszonylag kicsi ( $10^{-13}$  s), aminek következtében komplexekben a proton rezonancia jelek nem nagyon szélesek [15], ugyanakkor a  $\text{Gd}^{3+}$ -ion esetében az elektronrelaxációs idő négy nagyságrenddel nagyobb ( $10^{-9}$  s), ezért lényegesen nagyobb a jelszélesítő hatása [16].

A Ln(III)-komplexek egyensúlyi vizsgálatait során az egyik legfontosabb meghatározandó paraméter a stabilitási állandó és azok változása a  $\text{Ln}^{3+}$ -ionok rendszámának függvényében. A Ln(III)-komplexek stabilitási állandói a rendszám függvényében 3 különböző módon változhatnak a kelátképző ligandumtól függően [17]:

1. Az legáltalánosabb esetben a rendszám növekedésével, azaz az ionsugár csökkenésével monoton növekszik a stabilitási állandó értéke. A növekedés mértéke a sorozat elején a Gd-ig jelentősebb, mint a sorozat második felében. Az ilyen típusú komplexek szerkezetét leginkább az elektrosztatikus modell segítségével értelmezhetjük. Ehhez a típushoz tartoznak az IDA, EDDA, DCTA és az EDTA ligandumok komplexei.
2. Ebben az esetben a kialakuló komplexek stabilitási állandói a Sm-Eu-ig nőnek, majd értékük közel állandó marad. Ilyen típusú ligandumok az acetát illetve merkapto- és metoxiszármazékai, az acetyl-aceton és az aminopolikarbonsavak közül a HEDTA.
3. Bizonyos esetekben a kialakuló komplexek stabilitási állandói maximumgörbe szerint változnak az ionméret csökkenésével. A maximum értéke általában a Dy-Ho körül található. Az ismertebb ligandumok közül a DTPA alakít ki ilyen tulajdonsággal rendelkező Ln(III)-komplexekeket.



A 2. és 3. pontban felvázolt esetekben a komplexek stabilitási állandói változásának megértéséhez az elektrosztatikus modellen kívül a termodinamikai paramétereket ( $\Delta G$ ,  $\Delta H$ ,  $\Delta S$ ) és szterikus tényezőket is figyelembe kell venni [18].

A Ln(III)-komplexek kinetikai sajátosságai jelentősen függnnek a koordinálódó ligandum tulajdonságaitól. A  $\text{Ln}^{3+}$ -ionok egyfunkciós, egyszerű ligandumú komplexeinek képződése igen gyors a kialakuló kötések ionos természetének köszönhetően, ami csak relaxációs módszerekkel követhető [19, 20]. A komplexképződés első lépése a külsőszférás komplex képződése, amely diffúzió kontrollált, a második lépés a belsőszférás komplex kialakulása. Az ilyen típusú komplexek képződési sebességét döntően a központi fémion vízcseresebessége és a kialakuló külsőszférás komplex egyensúlyi állandója befolyásolja [21]. A fémionok ( $\text{Ln}^{3+}\cdot\text{aq}$ ) vízcseresebessége igen nagy, így meghatározásuk nehéz. Megbízhatóan csak a nagyobb rendszámú  $\text{Ln}^{3+}$ -ionok vízcseresebessége mérhető  $^{17}\text{O}$ -NMR-relaxációs módszerrel [21]. A  $\text{LnSO}_4^+$  képződési sebessége a  $\text{La}^{3+}$ -tól a  $\text{Eu}^{3+}$ -ig nő, majd onnét a  $\text{Lu}^{3+}$ -ig csökken. A vízcseresebesség a  $\text{Gd}^{3+}$  és  $\text{Yb}^{3+}$  között hasonlóan csökken. Ezt, valamint a hidratációs szám csökkenését figyelembe véve feltételezik, hogy a komplexek képződése az  $\text{Eu}^{3+}$ -ig disszociatív ( $I_d$ ), azt követően asszociatív ( $I_a$ ) mechanizmussal játszódik le [13].

Nyílt láncú, protonált több funkciós ligandumok Ln(III)-komplexeinek képződési sebessége jóval kisebb, amit befolyásol a ligandum donorcsoportjainak protoncsere-sebessége és merevsége is, bár ebben az esetben is „pillanatszerű” komplexképzésről beszélhetünk. A komplexképződés sebességmeghatározó lépése a kelátgyűrű záródása, vagy valamilyen protontranszfer folyamat [22] lehet.

Makrociklusos ligandumok esetében a képződési sebességet tovább lassítja a ligandumok merevsége. Ezek a komplexek a kisebb pH-k tartományában stabilis protonált köztitermék kialakulásán keresztül képződnek. A sebességmeghatározó lépés a fémionnak a makrociklus donoratomjai által határolt koordinációs „kalitkába” történő bejutása [23, 24], amelyet befolyásol a gyűrű merevsége, a ligandum bázicitása, protonáltsági foka és a lantanoida(III)ion mérete.

A Ln(III)-ionok nyílt láncú, valamint makrociklusos kelátképzőkkel kialakuló komplexeinek disszociációja lassú. A disszociáció döntően savkatalizált folyamat, azonban bizonyos esetekben, ha arra lehetőség van, jelentős szerep juthat egy „idegen” ligandum (ligandumcsere) vagy fémion közvetlen támadásának is (fémcsere). A disszociáció sebessége a  $H^+$ -ion-koncentráció első és második hatványával is nőhet [25, 26] és telítési görbe szerint is változhat [23, 27]. A disszociáció sebessége függ a ligandum protonálható csoportjainak számától és bázicitásától. A Ln(III)-ionok makrociklusos ligandumú komplexei esetében a protonkatalizált disszociáció lefolyását az általánosan elfogadott nézet alapján a következő módon képzelhetjük el: a protonálódás az oldalláncon lévő donor csoport(ok)on következik be, majd ezt követően a proton(ok) áthelyeződnek a gyűrű nitrogén donoratomjaira, miközben a  $Ln^{3+}$ -ion fokozatosan kiszorul a makrociklus donoratomjai által kialakított koordinációs „kalitkából”. Töltés nélküli makrociklusos ligandumok Ln(III)-komplexei esetében lassabb disszociációt tapasztaltak, mint hasonló, de negatív töltésű ligandumok Ln(III)-komplexeinél, még abban az esetben is, ha az utóbbi komplexek nagyobb termodinamikai stabilitással rendelkeztek [28]. Ezt feltehetően a protonálható donorcsoportok hiánya vagy kisebb száma és a  $Ln^{3+}$ - és  $H^+$ -ionok közötti elektrosztatikus taszítás okozhatja.

A Ln(III)-komplexek ligandumcsere reakcióira általában savkatalizált disszociatív út jellemző, azonban abban az esetben, ha a központi fémion belső koordinációs szférája nem teljesen telített (a komplexképző ligandum donoratomjainak száma kisebb, mint a fém lehetséges koordinációs száma, vagy szterikus tényezők nem teszik lehetővé a rendelkezésre álló donoratomok koordinációját), a ligandum szubsztitúciós reakciói, a cserélő ligandum közvetlen támadásával, vegyes ligandumú köztitermék képződésén keresztül is lejátszódhatnak [29].

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

közvetlen támadásán keresztül is, asszociatív úton. Ebben az esetben kétmagvú köztitermék képződésével játszódik le a folyamat, aminek során a ligandum funkciós csoportjai fokozatosan áthelyeződnek a központi fémionról a kicserélő fémionra [25, 30]. Ez inkább a több negatív töltésű donoresoporttal rendelkező ligandumokra jellemző és alapvető feltételként megállapítható, hogy a kétmagvú köztitermék stabilitásának megfelelően nagynak, valamint a kialakuló kétmagvú köztiterméknek kinetikailag aktívnak kell lennie. Bizonyos esetekben előfordul, hogy a kialakuló kétmagvú köztitermék gátolja a cserereakció lefolyását a protonálódási folyamatok visszaszorításán, valamint olyan kétmagvú köztitermék kialakulásán keresztül, melyben nincs lehetőség a donoratomok közvetlen átrendeződésére. A Ln(III)-komplexek spontán vagy savkatalizált disszociációval lejátszódó fémioncsere reakciói gyakran lassúak, melyek egy lassú disszociációs lépésből és egy azt követő, a kicserélő fémion és a keletkezett szabad ligandum közti gyors reakcióból tevődnek össze [31].

## II.2 MRI kontrasztanyagok

A mágneses rezonanciás képalkotást (MRI) több mint 20 éve eredményesen alkalmazzák az orvosi diagnosztikában az egészséges és a kóros szövetek megkülönböztetésére. A módszer alkalmazhatóságát az egészséges és a beteg szövet eltérő víztartalma és a vízprotonok eltérő relaxációs ideje ( $T_1$ ,  $T_2$ ) teszi lehetővé. A módszer elterjedését és sikerét nagy felbontóképességének köszönheti, valamint annak, hogy segítségével lehetőség nyílik eltérő víztartalmú lágy szövetek megkülönböztetésére is [32].

A módszer kifejlesztése *Lauterbur* és munkatársai nevéhez fűződik, akik vizsgálataik során szövetekről kétdimenziós képet készítettek mágneses tér gradiens alkalmazásával [33]. A vizsgálatokból kiderült, hogy paramágneses anyagok jelenlétében a szövetek megkülönböztethetősége javul a bennük lévő vízprotonok eltérő relaxációs tulajdonságainak köszönhetően [34].

Az MRI vizsgálatok során leggyakrabban alkalmazott impulzus szekvencia a spin-echo. A kép élességét, kontrasztosságát döntően a térfogategységben lévő protonspinek sűrűsége ( $N(H)$ ) és a spinek longitudinális és transzverzális relaxációs ideje ( $T_1$  és  $T_2$ ) határozza meg. A kapott jel intenzitása ( $SI$ ) a következő egyenlettel írható le [13]:

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

ahol,  $TE$  az echo késleltetési idő és a  $TR$  az ismétlési idő. Az egyenlet alapján megállapíthatjuk, hogy a  $T_1$  relaxációs idő csökkentése a jel intenzitás növekedését, míg a  $T_2$  relaxációs idő csökkentése a jel intenzitás csökkenését eredményezi. Az egészséges és a beteg szövetek víztartalmában azonban elég kicsi a különbség, így a mérhető relaxációs idő különbségek sem nagyok, ami sok esetben szükségessé teszi a kontrasztanyag relaxációs időt csökkentő alkalmazását [32].

A kontrasztanyagok alkalmazhatóságának követelményei: a jó vízoldhatóság, a nagy termodinamikai stabilitás, a kinetikai inertség, a kis ozmotikus koncentráció, a szervspecifikusság és a minimális dózis melletti

maximális kontraszt növelés. A felsorolt tulajdonságok mellett a relaxivitás ( $r_1$ ) is igen fontos paraméter, ami a paramágneses anyag 1 mM-os oldata által eredményezett relaxációssebesség ( $1/T_1$ ) növekedés a diamágneses közegben mérthez képest [35].

A kialakított kontraszt alapján az MRI kontrasztanyagokat két csoportba sorolhatjuk: lehetnek  $T_1$ -kontrasztanyagok, melyek hatása a vízprotonok longitudinális relaxációs sebességére ( $1/T_1$ ) nagyobb, ami a jelintenzitás növekedését, így a kép világosodását (pozitív kontraszt), illetve  $T_2$ -kontrasztanyagok, melyek a vízprotonok transzverzális relaxációs sebességét növelik jelentősen, ami a jel intenzitás csökkenését és ezzel együtt a kép sötétedését (negatív kontraszt) eredményezi.

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

A vízprotonok longitudinális relaxációs idejét ( $T_1$ ) csökkentő anyagok főként olyan paramágneses fémionok, melyek viszonylag hosszú relaxációs idővel és sok párosítatlan elektronnal rendelkeznek ( $Mn^{2+}$ ,  $Fe^{3+}$ ,  $Eu^{2+}$ ,  $Gd^{3+}$ ). A legnagyobb hatást a  $Gd^{3+}$ -ion okozza, mivel 7 párosítatlan elektronja van, nagy a mágneses momentuma és kellően hosszú az elektron relaxációs ideje ( $10^{-9}$  s). A  $Gd(III)$  alkalmazása tekintetében a problémát azonban az jelenti, hogy a szabad fémion az élő szervezet számára meglehetősen toxikus ( $LD_{50}=0,2-0,5$  mmol/kg) [36], így csak stabilis komplexei alkalmazhatók kontrasztanyagként. Komplexképzők közül a nyílt lánccú és makrociklusos poliamino-polikarbonsavak felhasználása terjedt el. Az így nyert  $Gd(III)$ -komplexeket aránylag nagy koncentrációban alkalmazhatják anélkül, hogy az élő szervezetben bármiféle „maradandó” károsodást idéznének elő.

Az orvosdiagnosztikai vizsgálatokban elsőként alkalmazott kontrasztanyag a  $Gd(DTPA)^{2-}$  (Magnevist<sup>®</sup>) [37, 38] volt, amit a jóval nagyobb kinetikai inertséggel rendelkező  $Gd(DOTA)^-$  (Dotarem<sup>®</sup>) követett [39]. Az MRI

vizsgálatokban a megfelelő kontrasztosság elérése érdekében a komplexeket általában 0,1–0,3 mmol/testsúly kg dózisban alkalmazzák (egy 70 kg-os páciens teljes test vizsgálatához 28 cm<sup>3</sup> 0,5 M oldatra van szükség). A komplexeket intravénás befecskendezéssel juttatják a beteg szervezetébe, ami az injektálás helyén, a jelentős ozmotikus koncentráció különbségből adódóan, fájdalommal járhat. Ennek a hatásnak a kiküszöbölése érdekében fejlesztették ki a Gd(DTPA)<sup>2-</sup> és Gd(DOTA)<sup>-</sup> töltés nélküli változatait, amelyekben a ligandum 1 vagy 2 acetátcsoportját alkoholos hidroxil- vagy amidcsoportokkal helyettesítették [40–42]. Ezek a komplexek kisebb termodinamikai stabilitásúak ugyan, de a kinetikai inertségük nem, vagy csak kis mértékben csökken, ami az orvosi alkalmazhatóság szempontjából fontos tulajdonság. Kereskedelmi forgalomban lévő töltés nélküli kontrasztanyag a Gd(DTPA-BMA) (Omniscan<sup>®</sup>), Gd(DTPA-BMEA) (Optimark<sup>®</sup>), Gd(HP-DO3A) (Prohance<sup>®</sup>) és a Gd(DO3A-B) (Gadovist<sup>®</sup>). Az eddigiekben bemutatott kontrasztanyagok közös sajátossága, hogy a befecskendezést követően egyenletesen oszlanak el a szervezetben az extracelluláris térben, és kb. 1,5 órás felezési idővel ( $t_{1/2}$ ) a vesén keresztül kiürülnek [13, 38].

Az MRI kontrasztanyagok alkalmazásával kapcsolatban azonban érthető igényként merült fel olyan komplexek alkalmazása, amelyek egyetlen szerv vagy szerv csoport vizsgálatát teszik lehetővé azáltal, hogy az alkalmazott kontrasztanyag az adott szervben dúsul, míg a többi szervben nem, vagy csak kis mennyiségben jelenik meg a befecskendezést követően. Az effajta szervspecifikusság lehetővé teszi a befecskendezett kontrasztanyag mennyiségének csökkentését, ami egyértelműen előny a szervezetet ért terhelés minimalizálásának tekintetében. Így módon a 2–10 μmol/testsúly kg dózis alkalmazása is kielégítő kontraszt növekedést eredményez a célszervben. E célból fejlesztették ki a lipofil csoportokat tartalmazó DTPA- és DOTA-származékokat, amelyek májvizsgálatokra alkalmasak. Ilyen kontrasztanyagok a Gd(EOB-DTPA)<sup>2-</sup> (Eovist<sup>®</sup>) [44] és a Gd(BOPTA)<sup>2-</sup> (Multihance<sup>®</sup>) [43]. Mindezek mellett a DOTA foszfonátszármazékainak Gd(III)-komplexeivel is kutatások folynak főleg a csont-

és egyéb  $\text{Ca}^{2+}$ -dús szövetekre specifikus kontrasztanyagok kifejlesztésére [45]. A DOTA egyik acetátcsoportja helyén kialakított amidcsoporthoz kötött metiléndifoszfónát funkciós csoport a kapott ligandum  $\text{Gd}^{3+}$ -komplexét a csontokba szállítja, így a komplex csontspecifikus kontrasztanyagnak tekinthető [46].

### **II.2.2 $T_2$ kontrasztanyagok**

A vízprotonok transzverzális relaxációsebességét megnövelő anyagok közül a legjelentősebbek a különféle szuperparamágneses vas-oxid mikrorészecskék, melyek kutatása az utóbbi években jelentősen fejlődött, és mára jónéhány vegyületét eredményesen alkalmazzák MRI kontrasztanyagként (Lumirem<sup>®</sup>, Abdoscan<sup>®</sup>, Endorem<sup>®</sup>) [47–49]. Ezeket az anyagokat összetételük alapján a következő összegképlettel lehet leírni:  $\text{Fe}_2^{\text{III}}\text{O}_3\text{M}^{\text{II}}\text{O}$ , ahol  $\text{M}^{\text{II}}$ :  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  lehet. Ezeknek az anyagoknak a fizikai-kémiai tulajdonságait nem csak az összetétel befolyásolja, hanem a szemcseméret is. A nagyobb szemcseméretű vas-oxid mikrorészecskék a vízprotonok transzverzális (negatív kontraszt), míg a kisebbek a vízprotonok longitudinális (pozitív kontraszt) relaxációsebességét növelik meg jelentősebben [50].

### **II.2.3 A Gd(III)-komplexek relaxivitása**

A vízprotonok  $\text{Gd}^{3+}$ -komplex jelenlétében mért relaxációsebessége ( $1/T_{\text{obs}}$ ) két részből, a Gd(III)-komplex diamágneses ( $1/T_{\text{ld}}$ ) és paramágneses ( $1/T_{\text{lp}}$ ) hozzájárulásából tevődik össze, amit a következő összefüggéssel adhatunk meg (a diamágneses rész tartalmazza a tiszta vízben mért relaxációsebességet):

$$\frac{1}{T_{\text{obs}}} = \frac{1}{T_{\text{ld}}} + \frac{1}{T_{\text{lp}}} = \frac{1}{T_{\text{ld}}} + r_1[\text{Gd}] \quad \text{II.2.2}$$

ahol, az  $r_1$  a Gd(III)-komplex relaxivitása [35]. A paramágneses fémkomplexek relaxivitását a fémion belső ( $r_{1p}^{is}$ ) és külső ( $r_{1p}^{os}$ ) koordinációs szférájában lévő vízmolekulák protonjai és a második koordinációs szféra ( $r_{1p}^{2nd}$ ) vízprotonjai relaxációsebessége összegeként adják meg [51]:

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

A klinikai vizsgálatokban jelenleg alkalmazott kis molekulatömegű Gd(III)-komplexek relaxációsebességet növelő hatásának közelítőleg 50%-a a fémionhoz közvetlenül koordinálódó vízmolekula hozzájárulásából származik [52]. (A komplexben egy vízmolekula koordinálódik a belső szférában.) A fémion a vízmolekula protonjaival kialakított dipoláris kölcsönhatáson keresztül fejti ki a relaxációsebességre gyakorolt hatását, így a fémion belső koordinációs szférájában lévő vízmolekulák száma ( $q$ ) meghatározó tényező. A vízmolekula és a fémion közötti kölcsönhatást befolyásolja a komplex forgó mozgását jellemző rotációs korrelációs idő ( $\tau_R$ ), a fémion elektron spin relaxációs ideje ( $\tau_S$ ) és a fémionhoz koordinált vízmolekulák átlagos tartózkodási ideje ( $\tau_m$ ) ( $1/\tau_m = k_{ex}$ , vízcseresebesség) és a Gd–H távolsága ( $r_{GdH}$ ).

A Swift-Connick elmélet alapján a belső szféra hozzájárulást a következőképpen lehet kifejezni [53]:

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

ahol,  $T_{1m}^H$  a fémionhoz közvetlenül koordinálódó vízmolekula protonjai relaxációs ideje.  $T_{1m}^H$  értéke a  $\tau_R$ ,  $\tau_S$ ,  $\tau_m$  és  $r_{GdH}$  értékétől függ az alábbiak szerint, ahol a  $k$  különböző állandók együttesét jelöli [54]:



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

A külső szféra teljes relaxivitásra gyakorolt hatását kis méretű Gd(III)-komplexek esetében a Freed-féle elmélettel [54, 55] lehet számszerűsíteni. Ez az elmélet a paramágneses fémion elektron relaxációs idejét felhasználva a vízmolekulák paramágneses fémkomplex közelében lezajló szabad diffúzióját írja le, elhanyagolva a vízmolekulák és a komplex karboxilát- és/vagy foszfonátcsoportjai között kialakuló H-kötést, ami jóval hosszabb tartózkodási időt biztosít a vízmolekulák számára, mint ahogy azt a szabad translációs diffúziójuktól várnánk. A komplex közvetlen környezetében lévő vízmolekulák diffúzió kontrollált cseréje is hatással van a komplex teljes relaxivitására, ami akár 30%-a is lehet a komplex által az oldószer vízprotonok relaxációsebességére gyakorolt hatásának [56].

#### ***II.2.4 A kontrasztanyag fejlesztés új irányai***

A klinikai vizsgálatokban manapság alkalmazott kontrasztanyagok Gd<sup>3+</sup>-ionjai 8 donoratomot tartalmazó ligandumokkal képeznek komplexet és a Gd<sup>3+</sup>-ion 9-ik koordinációs helyét egy vízmolekula foglalja el. Az említett komplexek relaxivitása  $r_1 = 4\text{--}7 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ , mivel a relaxációsebességet befolyásoló tényezők nem ideálisak. Az elméletileg elérhető  $100 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$  körüli relaxivitas érték elérésére intenzív kutatások folynak a relaxitást befolyásoló paraméterek optimalizálásával [35], a vízcseresebesség és a rotációs korrelációs idő együttes növelésével, dimer [57, 58], polimer és dendrimer [59, 60] szerkezetű komplexek előállításával és a Gd(III)-komplexek makromolekulákhoz történő kötésével [61]. Mindemellett lehetőség nyílik a relaxivitas növelésére oly módon, hogy növeljük a központi fémionhoz kötött vízmolekulák számát ( $q$ ), olyan ligandumok alkalmazásával, amelyek kevesebb donoratomot tartalmaznak amellet, hogy a

kialakuló komplex megőrzi kinetikai inertségét. A vízmolekulák számának növelése ugyanakkor megkönnyíti a szervezetben nagy mennyiségben előforduló ligandumok (karbonát, citrát, stb.) koordinációját a központi fémionhoz, vegyesligandumú komplexek képződése közben. Az így kialakuló komplexek belső szférájából minden vízmolekula kiszorul, aminek következtében lecsökken a komplex relaxitása értéke. A vegyesligandumú komplexek képződése megakadályozható olyan ligandumok alkalmazásával, amelyek a kialakuló komplexben biztosítják, hogy a fémionhoz koordinálódó vízmolekulák nem egymás mellett, hanem egymástól távol helyezkedjenek el, így csökkentve az esetlegesen kialakuló vegyesligandumú komplex stabilitási állandóját.

A gyakorlatban használt MRI kontrasztanyagok nem vagy csak kis mértékben szervspecifikusak. Hatékonyságuk növelése érdekében új, specifikus kontrasztanyagokat fejlesztenek. Az egyik újabb fejlesztésű kontrasztanyag csoportot az érrendszer vizsgálatára kívánják alkalmazni [62], ahol a paramágneses fémkomplexet liposzóma belsejében helyezik el [63–65], ezzel biztosítva, hogy a kontrasztanyag huzamosabb ideig a vérben tartózkodjon.

A tumorokról elvben nagy felbontású kép készíthető tumorspecifikus kontrasztanyagok segítségével, melyek a tumoros sejtek felületéhez kötődnek. A Gd(III)-komplexek tumorspecifitását a hozzájuk kapcsolt monoklonális antitestekkel vagy fehérje fragmensekkel lehet elérni [66]. A módszer a kép élességének javításával, a precízebb sebészeti beavatkozást és lézerterápiás kezelést segíti.

Napjainkban megnőtt az érdeklődés az olyan kontrasztanyagok iránt („*smart contrast agents*”) [32], melyek lehetőséget nyújthatnak a szövetek hőmérsékletének [67, 68], pH-jának [69], az oxigén parciális nyomásának [70–72], a bennük lévő enzimek aktivitásának [73] és egyes fémionok koncentrációjának (pl.:  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ ) mérésére [74]. A szervezet hőtésképe információt ad a szervezetben jelen lévő gyulladáshoz szövetekről, az alkalmazott kezelések hatásosságáról. A pH-érzékeny kontrasztanyagok kifejlesztése az egészséges és beteg szövetek eltérő pH-

értékein alapul. Tumoros sejtekben a  $\text{pH}=7,2$ , tumoros szövetek sejtközi állományában a  $\text{pH}=6,8-6,9$ , míg az egészséges szövetek sejtközi állományában a  $\text{pH}=7,4$ . Az oxigén parciális nyomásának követése a szöveteken belül lehetőséget biztosít az artériás és a vénás vér, az egészséges és a tumoros szövetek, illetve az élő és az elhalt szövetek megkülönböztetésére. Az enzimaktivitást a szubsztrát szerepet betöltő kontrasztanyagokkal lehet megvizsgálni, melyeknek megnő a relaxivitása az enzimkatalizált reakcióban.

Az MRI képalkotás jövőjét más módszerekkel történő kombinálása is jelenti. Diagnosztikai céllal az MRI-t együtt alkalmazzák a komputertomográfiával (CT) és a pozitron emissziós tomográfiával (PET), amik segítségével háromdimenziós és mozgó kép is készíthető a vizsgált szövetekről.

### II.3 Radioaktív lantanoida izotópok orvosi alkalmazásai

A 20. század eseményeinek következtében természetes félelem és elutasítás alakult ki a radioaktivitás bármilyen felhasználása iránt. Azt azonban kevesen tudják, hogy a radioaktív izotópok orvosi alkalmazásának elméleti alapjait az atombomba megalkotása előtt 32 évvel kezdték kidolgozni. A radioaktív izotópok orvosi alkalmazását világszerte a „nukleáris medicina” kifejezéssel jelölik, mely mára igen széleskörűvé vált az orvosi diagnosztika és terápia területén.

A radioaktív izotópok felhasználásának ötlete *Hevesy György*, későbbi Nobel-díjas magyar tudós nevéhez fűződik. *Hevesy*, akit a „nukleáris medicina atyjának” tartanak, 1913-ban kezdte meg a radioaktív nyomjelzés módszerének kidolgozását. Elgondolása szerint, egy anyag környezetbeli viselkedésének megismeréséhez nem kell mást tenni, mint annak radioaktív változatát (izotópját) kis mennyiségben hozzáadni a vizsgálandó rendszerhez és a radioaktivitás követésén keresztül információt nyerni. Ha mindezt az élő szervezetben, például az emberben hajtjuk végre, akkor eljutunk az orvosi izotópdiaosztikához, a nukleáris medicinához.

A nukleáris medicinának kettős célja van: vagy a diagnózis felállítását segíti elő a radioaktív sugárzás követésével, vagy a radioaktív sugárzás ionizáló hatását alkalmazza a kóros elváltozások kezelésében.

A **diagnosztika** során a radioaktív nyomjelzés segítségével információt gyűjtünk valamely, az élő szervezetben lejátszódó folyamat mikéntjéről és időbeli lefolyásáról. Alapvető feltétele bármely anyag alkalmazásának, hogy nem befolyásolhatja a vizsgálandó folyamatot, annak éppen úgy kell lejátszódnia, mintha végre sem hajtottuk volna a nyomjelezést. Az általunk fontosnak tartott információt ebben az esetben a szervezetből kikerülő részecskék (sugárzás) hordozzák, tehát akkor optimális a helyzet, ha a szövetekben a részecskék abszorpciója csekély, így a felszabaduló részecskék jelentős része a detektorba juthat.

Az előzőekben leírtakkal pontosan elentétes folyamatok szükségesek, ha a radioaktivitást, mint **belső sugárterápiás kezelést** alkalmazzuk. Ebben az esetben az a kedvező, ha az emittált részecskék elnyelődése teljes az élő szervezet adott térrészében, így hatásuk lokális. Ez elengethetetlen feltétele a sugárterápia alkalmazásának, hiszen a cél a kóros elváltozás(ok) pusztítása, ami mellett az egészséges szövetekre gyakorolt káros hatást minimalizálni kell.

A dolgozat szempontjából nincs jelentősége az alkalmazott képalkotó módszerek részletes bemutatásának, így csak említés szintjén ejtünk szót, néhány képalkotási módszerről. A képalkotás módját illetően a következő 3 típust lehet megkülönböztetni:

1. *Planáris leképezés* esetén a radioaktivitás valamely síkra vetített kétdimenziós megjelenítéséről van szó. Ebben az esetben a beteg mellett különböző irányokban lehet elhelyezni a gamma-fotonokra érzékeny detektort, így adott szögéből készíthető felvétel a vizsgálandó szövet(ek)ről.

2. A *többirányú leképezés (SPECT, single photon emission computer tomograph)* alkalmazása esetén, több kétdimenziós (planáris) felvétel készül, oly módon, ahogy azt az előzőekben leírtuk, majd a kétdimenziós felvételek számítógépes összeillesztésével nyerhető háromdimenziós kép.

3. A harmadik módszer a *PET leképezés (positron emission tomograph)*. Ez a módszer a pozitron megsemmisülésen alapul, melynek során két, egymástól 180 fokban eltávolodó 511 keV energiájú foton keletkezik. A felszabaduló fotonok detektálásával hozzuk létre a háromdimenziós képet. A PET módszer érzékenyebb a SPECT leképezésnél, mivel itt nagyobb energiájú fotonokkal lehet dolgozni, amely energia növekedés az elnyelődés mértékét csökkenti. A PET leképezésnél a felbontás is jobb, ami akár a 3–6 mm-es is lehet.

A diagnosztikában és terápiában alkalmazott lantanoida, valamint Y izotópok előállítására általában  $M_2O_3$  összetételű vegyületeiket használják. A radioaktív izotópok előállítása atomreaktorban neutron besugárzással ( $n, \gamma$ ), magreakcióval történik. Az így nyert oxidok sósavas oldásával előállított fém-

kloridok és a komplexképzők reakciójában nyerik a megfelelő diagnosztikai és terápás készítményeket. A következőekben néhány szót szólnunk az egyes lantanoida izotópok, valamint az Y diagnosztikai és terápiás felhasználásáról.

### ***II.3.1 Diagnosztikai alkalmazás***

A lantanoidák közül egyedül a 169-es tömegszámú Yb izotópnak ( $t_{1/2} = 31,8$  nap,  $E(\gamma) = 63, 110, 130, 177, 198, 309$  keV) van diagnosztikai alkalmazása. A radioaktív  $^{169}\text{Yb}$ -ot EDTA vagy DTPA komplexképzővel reagáltatva nyerik a vizsgálatokhoz felhasználható komplexeket. Mind a két komplexről elmondható, hogy vízben jól oldódnak, ami az intravénás beadást követően a veséken keresztüli kiürülést segíti elő. Ebből kifolyólag mind a két anyag alkalmazható a vese működésének a részletes tanulmányozására, a diagnózis felállítására. Egy másik kevésbé jelentős alkalmazási terület, az agyi liquor-keringés vizsgálata. Ebben az esetben a radioaktív izotópot tartalmazó komplexet közvetlenül a gerinccsatornába, vagy a koponyatérbe jutattva vizsgálható a vízfejűség vagy a gerincvelői folyadékáramlások dinamikája.

### ***II.3.2 Terápiás alkalmazás***

A terápás felhasználású radiológyszerek olyan készítmények, amelyek a jóindulatú, valamint a rosszindulatú kóros elváltozások kezelésére egyaránt alkalmasak. Legfontosabb jellemzőik közé tartozik a nagy aktivitás, a specifitás az adott szövetekre, valamint hosszú tartózkodási idő a kóros elváltozásokban. Ideális esetben nincs szelektívebb kezelési mód a radiofarmakonok alkalmazásánál, ha az alkalmazott radiológyszer tényleg csak a célszövetben dúsul és itt nyelődik el a teljes sugárzás. A gyakorlatban azonban a szelektivitás nem valósul meg maradéktalanul, de a radionuklid terápás kezelés kockázata még így sem haladja meg az alternatív kezelési módok kockázatát és eredményessége sem marad el azoktól.

A lantanoidák és az Y alkalmazását három csoportba lehet osztani a lokalizáció módját tekintve:

1. *Nem specifikus tumorterápia radiokolloidokkal.* Ezzel a módszerrel kezdődött a radioaktív izotópok terápás célú felhasználása, amikor is a készítményeket lokálisan juttatják be a kóros szövetekbe. Fő alkalmazási területük a rosszindulatú effúziók kezelése, amikor a szervezet üregeiben megjelenő nagy mennyiségű folyadékot termelő burjánzó sejtek pusztítása a cél. Ilyen esetekben a mellüregbe, vagy a hasüregbe juttatják be az izotóp készítményt, ami ezután az extracelluláris térben fejt ki hatását. Ide tartoznak még a készítményeket az intratekális (gerincvelői tér) és a cisztába közvetlenül történő bejutattását alkalmazó tumorterápiák. Ezen a területen alkalmaznak  $^{90}\text{Y}$ -nel ( $t_{1/2} = 2,6 \text{ nap}$ ,  $E(\beta)_{max} = 2281 \text{ keV}$ , átlagos elnyelődési úthossz ( $l_{\text{átlag}} = 3,6 \text{ mm}$ ) és  $^{166}\text{Ho}$ -tal jelzett vegyületeket főleg a máj kóros elváltozásainak kezelésében. A radioaktív  $^{90}\text{Y}$  és  $^{166}\text{Ho}$  izotópok ( $t_{1/2} = 27,3 \text{ óra}$ ,  $E(\beta) = 1760 \text{ keV}$ ,  $l_{\text{átlag}} = 2,5 \text{ mm}$ ) 20–30  $\mu\text{m}$  szemcseméretű üveg, vagy 80  $\mu\text{m}$  átmérőjű gyanta hordozókhoz vannak kötve, amiket lokálisan juttatnak be a kezelendő szövetbe.

2. *Palliatív terápia csontaffin készítményekkel.* A tumoros megbetegedések során az egyik legtöbb problémát okozó folyamat a tumorok áttét képzésre mutató erős hajlama. Az áttét képződés bizonyos esetekben (prosztata-, mellrák) nagy fájdalommal járó, főleg csontfelületi burjánzást okoz. Ilyen esetekben nyílik lehetőség radioaktív izotópot tartalmazó, a csonthoz nagy affinitást mutató készítmények alkalmazására. Ezekben az esetekben a tumoros elváltozások teljes megszüntetésére már nincs sok esély, viszont a beteg életkörülményei javíthatók, illetve fájdalma csökkenthető úgynevezett palliatív (fájdalomcsillapító) terápia alkalmazásával.

A csontaffin készítmények olyan vegyületek, melyekben a radioaktív izotóp foszfonáttartalmú komplexképzőkhöz van kötve. A foszfonáttartalmú vegyületek nagy affinitást mutatnak a csontokhoz, így jól alkalmazhatók a csont különböző rákos elváltozásainak kezelésében.

Az EDTMP fémkomplexei a csont felületén oldhatatlan csapadék formájában kiválnak. Az egyelőre nem tisztázott, hogy a teljes komplex kötődik-e a csonthoz, vagy a ligandumnak csak az a szerepe, hogy a radioaktív fémiont eljuttassa a csontokhoz, és ott a komplex disszociációját követően a fémion és ligandum külön kötődhessen meg. Ugyanakkor, már klinikailag bizonyított, hogy a módszer jól alkalmazható a palliatív terápiában. Döntően a  $^{153}\text{Sm}$  ( $t_{1/2} = 47$  óra,  $E(\beta^-) = 710$  keV,  $l_{\text{átlag}} = 0,6$  mm) és  $^{90}\text{Y}$ -izotópokat alkalmazzák a terápia során. Az utóbbi előnye, hogy nagyobb a leadott  $\beta^-$ -sugárzás energiája, valamint hosszabb a  $^{90}\text{Y}$ -izotóp felezési ideje a  $^{153}\text{Sm}$ -izotóphoz viszonyítva. A komplexek csontban meg nem kötődő hányada viszonylag gyorsan kiürül a szervezetből a veséken keresztül. A kezelést követő napon már nem kell számolni radioaktivitással a vizeletben. A kezelés a betegek körülbelül kétharmadánál hatásos és ezzel több hónapon át tartó fájdalommentesség érhető el.

Ezen a területen kutatások folynak a  $^{177}\text{Lu}$ -izotóppal ( $t_{1/2} = 6,6$  nap,  $E(\beta^-) = 490$  keV), amelynek alkalmazása lehetővé tenné, viszonylag nagy felezési idejének köszönhetően, hogy a kezelésnek ne csak palliatív hatása legyen, hanem elérhetővé váljék a tumor-térfogat csökkenés is.

3. *Radiosynovectomiás kezelés fémkolloidokkal.* A radiosynovectomia elnevezés a gyulladásos ízületi megbetegedések radionuklid terápiával történő kezelését jelenti. A „klasszikus” orvoslásban ezek a betegségek sebészeti úton, vagy gyógyszeres/kemoterápiás módszerekkel gyógyíthatóak. Ezzel szemben, sokkal gyorsabb felépülésre adhat lehetőséget, a fém radionuklid kolloidok alkalmazása. A módszer lényege, hogy a kolloidot közvetlenül az ízületekbe fecskendezik be, így a radioaktív izotóp az ízületek felszínén oszlik el. A radiógyógyszerekkel szemben támasztott követelmények között a legfontosabb, hogy a gyógyszer nem hagyhatja el az ízületet, hiszen ekkor fölösleges sugárterhelés érné a szervezetet. Ez oly módon biztosítható, hogy a kolloid szemcseméretét gondosan kell megválasztani. A kutatások bebizonyították, hogy ha a szemcseméret  $< 0,5$   $\mu\text{m}$ , akkor a szétszivárgás jelentős, így a szemcseméret



minden esetben 1–10  $\mu\text{m}$  tartományba esik. Ez a mérettartomány amellelt, hogy a szétszivárgást gátolja, elősegíti a kolloid részecskék megkötődését az ízületek felszínén, így a szétszivárgásból adódó veszteség 1–2%-ra csökkenthető.

Nagyobb kiterjedésű váll-, térd- és könyökizületek kezelésére az  $^{90}\text{Y}$ -szilikát kolloid a legjobb az  $^{90}\text{Y}$ -izotóp nagyenergiájú sugárzásának köszönhetően, valamint annak, hogy a szétszivárgás gyakorlatilag elhanyagolható. Régebben Y-citrát kolloidokkal kísérleteztek, de itt a veszteség meghaladta a 10%-ot.

A kéz- és a lábujjak kezelésében alkalmazzák a  $^{169}\text{Er}$ -citrát ( $t_{1/2} = 9,4 \text{ nap}$ ,  $E(\beta^-) = 351 \text{ keV}$ ,  $l_{\text{átlag}} = 0,3 \text{ mm}$ ) kolloidot. A  $^{169}\text{Er}$ -izotóp kisenergiájú  $\beta^-$ -részecskéinek elnyelődési úthossza 0,3 mm, ami lehetővé teszi a kis ízületek kezelését.

Utoljára, de nem utolsó sorban egy olyan készítményről kell szót ejteni, amely az ízületi gyulladások minden típusában alkalmazható. A  $^{165}\text{Dy}$ -vas-hidroxid makroaggregátnak ( $t_{1/2} = 2,3 \text{ óra}$ ,  $E(\beta^-) = 1310 \text{ keV}$ ,  $l_{\text{átlag}} = 1,6 \text{ mm}$ ) számos előnye van az alkalmazott radiógyógyszerekhez képest. A közepes energiájú  $\beta^-$ -sugárzása, valamint kis felezési ideje lehetővé teszi, hogy viszonylag kis dózisban alkalmazzák és a beteg a kezelést követően már 8 óra múlva, de legkésőbb másnap elhagyhassa a kórházat.

Természetesen a nukleáris medicinában a fentebb említett lantanoida- és Y-izotópok mellett számos más nemfémes és fémes elemnek használják a radioaktív izotópjait. Mára a radioaktivitás alkalmazása az orvoslásban igen széleskörűvé vált, ugyanakkor napjainkban is komoly kutatások folynak a még fel nem tárt lehetőségek megismerésére, alkalmazására. Az egyik ilyen és talán legígéretesebb terület, melynek részletes tárgyalására itt nem nyílik lehetőség, a sejtmaghoz közvetlenül kötődő radiógyógyszerek fejlesztése, amelyek megteremténék egy igen specifikus „molekuláris sebészet” alapjait, lehetővé téve a legcélzottabb és legkevesebb mellékhatással járó gyógyítást [75].

#### **II.4 Foszfonát és foszfinát funkciós csoportot tartalmazó ligandumok komplexképző sajátosságai**

Az aminoszfonátok élő szervezetben történő felfedezését követően, az 1950-es évek végén intenzív kutatások indultak meg azzal a céllal, hogy miként lehet a szervezetben fellelhető proteinek, aminosavak foszfonátszármazékait előállítani és ezzel a gyógyszerek egy teljesen új családját létrehozni. A humánbiológiai kutatásokon túl azonban sok más területen is jól használhatónak bizonyultak az újonnan szintetizált vegyületek. Így például a mezőgazdaságban mikroelemek bevitelére, növényvédő szerekben, az energiaiparban a kazánkö kialakulásának megakadályozására, a kőolajiparban a kalcium megkötésére, az élelmiszeriparban a fémek komplexbevitelére, melynek eredményeképpen a zsírok stabilizálhatók stb.. A biológiai kutatásoknak köszönhetően, főleg az utóbbi 20 évben, nagyon sok biológiailag aktív vegyületet sikerül előállítani, köztük rákellenes készítményeket, antibakteriális szereket, fémmegkötőket, radiógyógyszereket, MRI kontrasztanyagokat, herbicideket, vírusellenes szereket stb. [76–84].

Az aminopolikarbonsavak analógiájára könnyen levezethetők az aminopolifoszinsavak és az aminopolifoszonsavak, oly módon, hogy a karboxilátcsoportot helyettesítjük foszfinát- vagy foszfonátcsoportokkal. A karboxilátcsoporttal összehasonlítva a foszfinát- illetve a foszfonátcsoportokat, koordinációs kémiájukban jelentős eltéréseket tapasztalunk, amely eltérések döntő hatással vannak a vegyületek viselkedésére és komplexképzésére. Az első szembevetendő különbség a méret, ugyanis a foszfinát- és foszfonátcsoportok mérete nagyobb, mint a karboxilátcsoportoké, ami például befolyásolja a kialakuló komplexek szerkezetét, a sztérikus effektusok miatt. Ilyen különbségek még, az alak, mivel a karboxilátcsoport síkszerkezetű, míg a foszfinát- és foszfonátcsoportok tetraéderes szerkezetűek. A töltés és a bázicitás közötti különbség egyértelmű, hiszen amíg a karboxilátcsoport egy negatív töltésű, ami az egyetlen savas proton disszociációjának köszönhető, addig a foszfonátcsoportok

esetében két savas proton disszociációja lehetséges, amelyek közül az első nagyon savas, míg a második sokkal kevésbé, ami a már meglévő egy negatív töltéssel magyarázható.

Ha összehasonlítjuk az egyes csoportok savi erősségét, akkor a következő sorrendet állíthatjuk fel:  $-\text{PO}_3\text{H}_2 > -\text{RPO}_2\text{H} > -\text{COOH} > -\text{PO}_3\text{H}^-$ , amelyből egyértelműen kiderül, hogy az aminoszfín- és aminoszfínsavak (az első proton tekintetében) erősebb savak, mint az aminoszfínsavak. Ugyanezt az összehasonlítást megtéve az adott ligandumokban található aminocsoportok bázicitására, a sorrend a következő: foszfonát  $>$  karboxilát  $\geq$  foszfínát. Az aminoszfínsavak és aminoszfínsavak aminocsoportjainak bázicitásbeli különbsége nagymértékben függ a  $-\text{PO}_2\text{H}-$  egységhez kapcsolódó R-csoportok minőségétől. A foszfonátcsoportot tartalmazó ligandumok esetében, ahogy azt az előzőekben már láttuk, jelen van egy meglehetősen bázikus aminocsoport és egy bázikus foszfonátcsoport, ami lehetővé teszi egy intramolekuláris hidrogénkötés kialakulását. Ilyen esetekben a ligandum első protonálódási állandója meglehetősen nagy és az így kialakuló sajátos ikerionos szerkezet NMR mérésekkel alátámasztható [85].

A komplexképzési hajlam tekintetében elmondható, hogy a foszfonátszármazék ligandumok komplexeinek stabilitási állandói általában nagyobbak a megfelelő acetátszármazékokénál. Ez a növekedés egyenes arányban áll a foszfonátcsoportok számának növekedésével egy adott ligandumon belül illetve a donorcsoportok bázicitásának növekedése is a stabilitási állandó növekedését eredményezi. A  $-\text{PO}_3^{2-}$ -származékok esetében mindemellett lehetőség van arra, hogy a foszfonátcsoport egyik oxigénje koordinálódjon csak a központi fémionhoz, melynek következtében a donorcsoportok számától függően számos protonált komplex is kialakulhat.

A foszfínát- és foszfonátcsoportot tartalmazó ligandumoknál a komplexképző fémion minőségétől függően, különböző koordinációs módok valósulhatnak meg. Alkáli- valamint alkáliföldfémionok esetében, amelyek

köztudottan hard sajátságúak, a koordináció létrejöhet csak a foszfonátsoportok (kevésbé a foszfinátsoport esetében, ahol a bázicitás kicsi) koordinációján keresztül [86]. Ezzel szemben a kevésbé hard jellegű, inkább soft karakterű átmenetifémek komplexeiben előfordul, hogy csak a ligandum N-donoratomjai koordinálódnak [87, 88]. Lantanoida ionok komplexeiben, amelyek egyértelműen az oxigén donoratomok koordinációját részesítik előnyben, csak akkor valósul meg a lantanoida–nitrogén koordináció, ha a nitrogén donoratomok mellett oxigén donoratomok is jelen vannak. Olyan esetekben ellenben, ahol a ligandum csak N-donoratomokkal rendelkezik, vizes oldatban kicsi a komplexképzésre mutató hajlam.

A nyíltláncú aminopolifoszfonát származékok esetében a komplexek képződése pillanatszerű, ahogy az a karboxilátok esetében is, ugyanakkor a disszociáció sebessége jelentős eltéréseket mutat. A komplex disszociációja megvalósulhat a komplex spontán disszociációjával, amikor a teljesen deprotonált komplex fémionra és ligandumra esik szét, valamint bekövetkezhet protonálódást követően a protonált komplex disszociációjával (protonkatalizált disszociáció) és egy „idegen” fémion (kicszerelő fémion) támadásával is, amit egy kétmagvú köztitermék kialakulása előz meg.

A makrociklusos aminopolifoszfonát származékok képződésének és disszociációjának sebessége jelentősen eltér a megfelelő karboxilátszármazékokétól. A képződés sebessége kisebb, ami azzal magyarázható, hogy a komplexképződést megelőzően egy köztitermék kialakulása következik be, amelyben a fémion és a ligandum metilénfoszfonát karjai között alakul ki koordinatív kötés, melyet a fémion belépése követ a karok és a makrociklus gyűrű által meghatározott üregbe. A foszfonátszármazék ligandumokkal kialakuló köztitermékek stabilitási állandója nagyobb a karboxilátszármazékokkal képződőkéénél, ami adott körülmények között ugyan a köztitermék koncentrációjának növekedését eredményezi, de a komplexképződést lassítja. A komplexek disszociációja, ahogy azt az előzőekben már említettük, lejátszódhat

spontán, protonkatalizált, valamint egy kicserélő fémion támadásával. A komplex disszociációjának kedvez, ha a ligandum N-donoratomjain protonálódás következhet be. Itt tulajdonképpen a fém és a proton versengéséről van szó a donoratomért. Foszfónatszámazékok esetében a N-donoratom protonálódása lejátszódhat úgy, hogy a foszfónátcsoport protonálódását követően a proton a N-donoratomra kerül át, ezzel meggyengítve a koordinációt, ami lehetővé teszi a gyorsabb disszociációt. A poliaza-polifoszfónát-komplexek protonálódási állandói sokkal nagyobbak az analóg acetátszámazékokénál (pl. DOTP és DOTA), ezért a protonátvitel a gyűrű N-atomra nagyobb valószínűséggel következik be, így a foszfónátkomplexek protonkatalizált disszociációja gyorsabb.

### *II.4.1 Nyílt láncú komplexképző ligandumok*

A nyílt láncú aminopolifoszfónátokat széles körben alkalmazzák a különböző fémionokhoz mutatott nagy specifitásuk miatt az analitikai kémiában, korrózió gátlásra, a textiliparban a nyomnyi mennyiségű fémszennyezők eltávolítására és egyebek mellett az orvoslásban, ahol a szervezetben mérgezés, vagy egyéb kóros folyamatok által felszaporodott fémionokat távolíthatják el velük.

A ligandumok protonálódási állandóinak tekintetében általánosan elmondható, hogy az első protonálódási állandó (esetenként a második is) igen nagy érték ( $pK > 11,5$ ). Általában az egymást követő protonálódási állandó értékek nem adnak megfelelő felvilágosítást arról, hogy a protonálódás melyik donoratomon következik be, ugyanakkor általánosan elmondható, hogy az első protonálódás a N-donoratomon következik be és ezt követően a második proton belépése történhet egy újabb N-donoratomra vagy egy foszfónát oxigénre egyaránt. A foszfónát funkciós csoportot tartalmazó ligandumok esetében gyakori a H-kötés kialakulása a N- és a foszfónát O-donoratomok között, aminek hatására csökken a negatív töltésű donorcsoportok közötti taszítás. Ez a folyamat eredményezi, hogy sok esetben egymást átfedő protonálódási folyamatok történnek. A teljesen

deprotonált EDTMP ligandumon az első protonálódási folyamat az egyik aminocsoporthoz rendelhető, ugyanakkor a második protonálódási lépésben a proton az egyik foszfonát oxigénre lép az NMR-es vizsgálatok alapján [89]. Ennek az a magyarázata, hogy az első protonálódást követően a két N-donoratom között kialakuló H-kötés csökkenti a nem protonált N-donoratom bázicitását.

A nyílt láncú poliaminopolifoszonsavak döntően ML összetételű komplexeket képeznek, bár abban az esetben, ha a fém koordinációs száma meghaladja a ligandum donorumjainak a számát (iminodiacetát-származékok esetében, pl.: IDAP [90]), akkor  $ML_2$  biszkomplexek is képződhetnek. Ugyanakkor 3d átmenetifémek esetében, ahol a maximális koordinációs szám 6, ott lehetőség nyílik kétmagvú komplexek képzésére is ( $M_2L$ ).

Az ML összetételű komplexek stabilitási állandó értékei, alkáliföldfémek esetében csökkennek a fémion méretének növekedésével, ami egyértelműen alátámasztja az erősen ionos jellegű kölcsönhatást a fémion és ligandum között. A 3d átmenetifémek esetén a stabilitási állandó értékek változása egyezést mutat az *Irving-Williams* sorral a legtöbb ligandum esetében. Lantanoida fémionok komplexképzése során is jelentős szerepe van egy adott ligandum esetén, a fémion méretének, hiszen a lantanoidakontrakció eredményeképpen a legnagyobb stabilitású komplexeket a lantanoida sor végén található Yb és Lu képzik. Ahogy azt az előzőekben már említettük egy adott ligandum (IDA, NTA) foszfonátszármazékai esetében a foszfonátcsoportok számának növekedésével általában nő a stabilitási állandó értéke. Ugyanakkor azt is el kell mondani, hogy bizonyos esetekben a várt növekedéssel szemben kisebb mértékben, vagy alig nő a stabilitási állandó. Ennek magyarázata az, hogy a nagyobb méretű foszfonátcsoportok számának növekedésével nő a csoportok között fellépő elektrostatikus taszítás és térbeli gátlás, ami kompenzálja, vagy meghaladja a bázicitás növekedésének a stabilitásra mutatott hatását. A fémion minőségétől függően az aminopolifoszfonát ligandumok, előszeretettel képeznek protonált komplexeket úgy, hogy a protonálódás vagy a foszfonátcsoport egyik oxigénjén (a

bázikusabb oxigéneken), vagy az aminocsoporton következnek be. A N-donoratomon történő protonálódásnak kedvez a metilénfoszfonát karok számának csökkenése a ligandumban. [91–93]. Hasonlóan hat a foszfonátcsoportok számának növekedése a bisz komplexek képzésére. Minél több foszfonátcsoport van a ligandumban annál kevésbé stabil egy adott fém biszkomplexe. Ennek egyrészt az az oka, hogy a donatoratomok száma növekszik, másrészt ezzel párhuzamosan nő az elektrosztatikus tasztítás a ligandumok között, ami csökkenti a második ligandum belépésével kialakuló komplex stabilitását még akkor is, ha a fém koordinációs szférája telítetlen. A telítetlen koordinációs szféra viszont kedvez a hidroxokomplexek valamint a polimer komplexek képződésének, ami sok foszfonátszármazék ligandumnál meg is valósul. Ezekben a polimer komplexekben az egyes egységek oxo-, hidroxo- és foszfonáthidakon keresztül is kapcsolódhatnak egymáshoz.

#### ***II.4.2 Makrociklusos komplexképző ligandumok***

A makrociklusos poliaza-polifoszfinátok és -foszfonátok döntően az 1,4,7-triazaciklononán és az 1,4,7,10-tetraazaciklododekán (ciklén) származékai közül kerülnek ki, bár az utóbbi időben sok nagyobb gyűrűtagszámú foszfinát- és foszfonátszármazékot is előállítottak. Azonban a gyűrű tagszámának növekedése együtt jár a kinetikai inertség csökkenésével, ami főleg az orvosbiológiai felhasználás szempontjából kedvezőtlen, hiszen az élő szervezetben való alkalmazhatóságuk csökken, ha könnyebben vihetők fém- illetve ligandumcsere reakciókba.

A makrociklusos aminopolifoszfinát és aminopolifoszfonát származékok sav-bázis viselkedése jelentősen eltér a nyílt láncú ligandumokétól, mivel a gyűrű nitrogének és a foszfonát oxigének protonálódási folyamatai széles pH-tartományban átfednek egymással. Az egymást követő protonálódási állandók értéke (és száma) jelentősen függ a makrociklusban jelen levő N-donoratomok számától és a donatoratomok között kialakuló H-kötésektől ( $-N-H^+-O-P$ ). Néhány kivételtől eltekintve, az első két protonálódási lépés a teljesen deprotonált

ligandumon, a gyűrű N-donoratomjain következik be, ezt követi a foszfonátcsoportok bázikusabb oxigénjének protonálódása és végezetül protonálódhatnak, erősen savas közegben, a kevésbé bázikus gyűrű nitrogének, különböző mértékben a gyűrű szerkezetétől függően [94].

Az egyik legtöbbet vizsgált makrociklusos metilénfoszfonát a DOTP, de a mai napig vitatott a ligandum protonálódási állandóinak valódi értéke. A DOTP protonálódási sorrendje a fentebb említett sorrendnek felel meg, tehát a legbázikusabb két gyűrű nitrogén protonálódása következik be elsőként, majd ezt követi a négy foszfonátcsoport egy-egy oxigénjének protonálódása [7]. A protonálódási állandók értékei körüli vita abból adódik, hogy az ionerősség állandó értéken tartására alkalmazott sók kationjaival ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ) jól definiálható, tisztán ionos karakterű köcsönhatás alakul ki, amely megváltoztatja a protonálódási állandó értékeket attól függően, hogy milyen a fémion komplexképző hajlama. Ugyanakkor az ionerősség ilyen irányú hatása régóta ismert, hiszen az ionerősséget állító só minőségét vátoztatva a protonálódási állandó értékei, ha kis mértékben is, de a karboxilátszármazékok esetében is változnak. A foszfonátszármazékokkal szemben, az aminopolikarboxilát-komplexek esetében az állandó ionerősséget biztosító leggyakrabban alkalmazott alkálifémionokkal mutatott komplexképzési hajlam jóval kisebb, így a protonálódási állandókban mutatkozó eltérés sem olyan jelentős, mint a foszfonátoknál.

A makrociklusos aminopolifoszfinátok és aminopolifoszfonátok komplexképzésében, mindamelllett amit a nyílt láncú származékok esetében tárgyaltunk, fontos tényező a makrociklusos gyűrű mérete. Ennek a tényezőnek a hatására kiváló példa a DOTP alkáliföldfém-ionokkal képződő komplexei stabilitási állandóinak a változása, ahol a nagyobb méretű  $\text{Ca}^{2+}$ -ionnal kialakuló komplex stabilitási állandója a legnagyobb, ellentétben a kisebb méretű  $\text{Mg}^{2+}$ -ionnal ( $\log K_{\text{MgL}} = 7,3$ ;  $\log K_{\text{CaL}} = 10,3$ ;  $\log K_{\text{SrL}} = 9,8$ ). Kétértékű átmentifémionokkal, melyeknek az M–N koordinációra való hajlamuk erősebb, sokkal nagyobb stabilitású komplexek képződnek mint a döntően ionos karakterű



alkáliföldfémionokkal. Ha összehasonlítjuk a DOTP ligandummal, valamint a ciklénnel képződő komplexek stabilitási állandóit, a  $\text{Ca}^{2+}$  és néhány átmenetifém esetében ( $\log K_{\text{Ca ciklén}} = 3,1$ ;  $\log K_{\text{Cd ciklén}} = 14,3$ ;  $\log K_{\text{Cu ciklén}} = 24,8$ ;  $\log K_{\text{Ca DOTP}} = 10,3$ ;  $\log K_{\text{Cd DOTP}} = 22,9$ ;  $\log K_{\text{Cu DOTP}} = 25,4$  [94]) megállapítható, hogy a foszfonátcsoportok koordinációjának hatása alkáliföldfémek esetében jóval nagyobb, mint a N-koordinációt jobban kedvelő átmenetifémek esetén. Összehasonlításképpen érdemes megemlíteni, hogy abban az esetben, ha a DOTP metilénfoszfonát karjait etilénfoszfonát karokra cseréljük, akkor a kialakuló komplexek stabilitási állandóinak értéke 3–4 nagyságrenddel csökken, aminek a magyarázata, hogy a fémionnal így kialakuló kelátgyűrű tagszáma ötről hatra nő.

Lantanoidaionok makrociklusos foszfonátszármazékkal kialakuló komplexeiben a gyűrű méretén túl döntő szerepe van a metilénfoszfonát-csoportok számának is. A foszfonátcsoportok számának növekedésével jelentősen nő a stabilitási állandó értéke, ahogy ez megfigyelhető a DO2P, DO3P és DOTP ligandumokkal kialakuló komplexeknél, ahol a metilénfoszfonátkarok száma 2, 3 és 4 (ez egyben az összes funkciós csoport száma is), valamint a DO2A2P, DO3PA és DOTP ligandumok esetén, ahol a DOTA acetátcsoportjait fokozatosan metilénfoszfonát-csoportokra cseréljük (II.4.1 táblázat).

**II.4.1 táblázat.** Makrociklusos foszfonátszármazék ligandumok  $\text{Gd}^{3+}$ -komplexeinek stabilitási állandói (25 °C, I = 1,0 M)

	DO2P <sup>a</sup>	DO3P <sup>b</sup>	DOTP <sup>c</sup>	DO2A2P <sup>b</sup>	DO3PA <sup>b</sup>
$\log \beta_{\text{GdL}}$	18,2	20,3	28,8	25,7	27,3

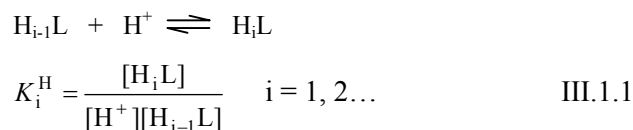
<sup>a</sup>, [95], <sup>b</sup>, saját eredmény, <sup>c</sup>, [96]

### III. ALKALMAZOTT VIZSGÁLATI MÓDSZEREK

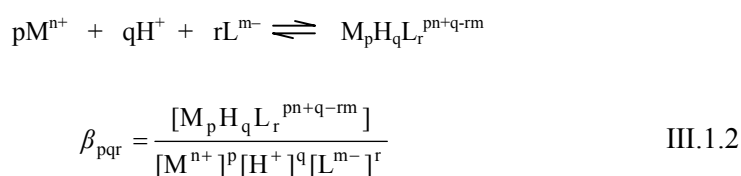
Ebben a fejezetben a kísérleti munka során alkalmazott azon vizsgálati módszerek alapjai kerülnek bemutatásra, amelyek a dolgozatban szereplő eredmények tárgyalásához feltétlenül szükségesek.

#### III.1 pH-potenciometria

Az lantanoida(III)-komplexek és a komplexeket alkotó ligandumok oldategyensúlyi vizsgálatának egyik legfontosabb és legpontosabb módszere a pH-potenciometria. A fémkomplexek stabilitási állandóinak meghatározásához szükséges a komplexeket alkotó ligandumok protonálódási állandóinak ismerete. A protonálódási állandókat általánosan a következő módon definiálhatjuk:



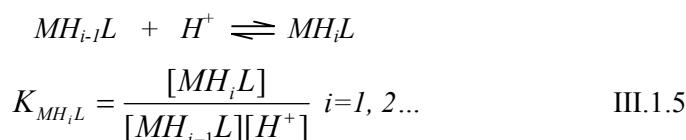
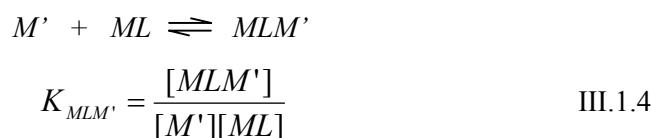
A szabad ligandum különböző bázicitású donorcsoportjai, illetve a fémionok és a különböző mértékben protonált ligandumok közötti kompetíciós reakció határozza meg az oldat  $H^+$ -koncentrációját. A különböző összetételű komplexek általános képződési folyamatait, valamint a stabilitási szorzatokat általánosan a következőképpen definiáljuk:



### III. ALKALMAZOTT VIZSGÁLATI MÓDSZEREK

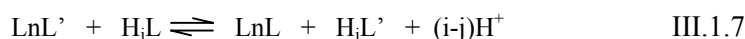
---

Az általunk vizsgált rendszerek esetében az 1:1 összetételű ML (M = Ln<sup>3+</sup>, Cu<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup>, Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>) komplexeken túl, szinte minden esetben számolni kellett 2:1 összetételű kétmagvú komplexek képződésével, valamint az 1:1 és 2:1 összetételű komplexek különböző protonáltsági fokú alakjaival. Az egymagvú és többmagvú, valamint a protonált komplexek képződésére vonatkozó egyensúlyi folyamatokat és egyensúlyi állandókat a következő összefüggésekkel jellemezhetjük (A fémion és a ligandum töltésének jelölésétől az egyszerűség kedvéért eltekintünk):



A számítógépes programmal végzett számításokkal a III.1.2 egyenlettel definiált  $\beta_{pqr}$  egyensúlyi állandókat kapjuk, melyekből a III.1.1 és III.1.3 – III.1.6 egyenletek segítségével számolhatjuk a  $K_{ML}$ ,  $K_{MLM'}$ ,  $K_{MH_iL}$  és  $K_{MLOH}$  értékeket.

Nagy stabilitású komplexek képződése során számos esetben a komplexképződési folyamat már  $\text{pH} < 2$  tartományban közel teljes. Ilyen esetekben alapvetően kétféleképpen járhatunk el. Az egyik megoldás, ha a stabilitási állandók meghatározásához más módszert választunk, ahol a pH-mérése helyett, más intenzív paramétert követve és a teljes savkoncentrációt figyelembe véve tudunk stabilitási állandót meghatározni (spektrofotometria, NMR). Lehetőség nyílik azonban arra is, hogy kompetíciós módszer alkalmazásával a komplexképződési folyamatot olyan vizsgálhatóbb pH-tartományba toljuk, ahol már biztonsággal mérhető a pH. Ilyen esetekben a leggyakrabban „segéd” ligandumot alkalmazunk, bár nincs elméleti akadálya a segéd fémion alkalmazásának sem. Ezen vizsgálatok feltétele, hogy a vizsgált fémion és a segéd fémion komplexképzését kísérő pH-effektusban eltérés legyen. A kompetíciós titrálás során a segéd ligandum ( $L'$ ) versengésre kényszeríti a vizsgált ligandumot a fémion koordinációjáért, amely  $\text{H}^+$  felszabadulással, vagy protonálódással jár:



A lantanoida(III)-poliáza-polikarboxilát vagy –polifoszfónát-komplexek képződési sebessége azonban sok esetben nem elég nagy ahhoz, hogy közvetlen pH-potenciometriás titrálást lehessen alkalmazni. A sokszor hetekig tartó folyamatok vizsgálatára olyan módszert alkalmazhatunk, amely során 10–20 darab úgynevezett „különmintát” készítünk, 1–5  $\text{cm}^3$  térfogatban. Az így elkészített minták azonos fém-ligandum koncentrációk mellett, eltérő protonkoncentrációjúak attól függően, hogy mely pH-tartományban vizsgáljuk a komplexképződési folyamatokat. A komplexképződési folyamatok befejeződése után mérjük az egyes minták egyensúlyi pH-értékeit, amelyekből a koncentrációk, valamint a ligandum előzőekben meghatározott protonálódási állandó értékeinek segítségével számolhatjuk a komplexek stabilitási állandóit.

A pH-potenciometria alkalmazása  $2 < \text{pH} < 12$  tartományban ad megfelelő pontosságú eredményeket. Amennyiben a ligandum protonálódási folyamatai  $\text{pH} > 12$ , vagy a komplexképződési folyamat (ahogy azt az előzőekben már említettük)  $\text{pH} < 2$  tartományban következik be és nincs mód kompetíció alkalmazására, úgy más módszert kell választani. Ilyenkor jöhet szóba az UV-VIS spektrofotometria vagy az NMR spektroszkópia. Le kell szögezni azonban, hogy az említett módszerekkel meghatározott egyensúlyi állandók hibája sokkal nagyobb, mint a pH-potenciometrás adatokból számítottaké. Az UV-VIS spektrofotometria és az NMR spektroszkópia előnye azonban, hogy nemcsak egyensúlyi állandók számíthatók az adatokból, hanem a képződő komplexek koordinációs viszonyára és szerkezetére is következtethetünk.

#### III.2 Spektrofotometria

Vizsgálataink során sok esetben alkalmaztuk a spektrofotometriás módszert mind egyensúlyi, mind kinetikai vizsgálatokban. Azon egyensúlyi vizsgálatok esetében, ahol a pH-potenciometria nem alkalmazható, esetenként lehetőség van a Ln(III)-komplexek stabilitási állandóinak meghatározására közvetlen vagy közvetett spektrofotometriás módszerrel. Az UV-VIS spektrofotometria alkalmazásának alapja, hogy a ritkaföldfémionok fényabszorpciója komplexképződés hatására kisebb-nagyobb mértékben megváltozik a fémion és a ligandum tulajdonságaitól függően. A vizsgálatok során olyan hullámhossz tartományt igyekszünk választani, ahol lehetőleg csak egy részecskének, szerencsés esetben csak a képződő komplex(ek)nek van elnyelése, míg a szabad fémionnak és ligandumnak nincs, vagy csak alig. A lantanoida(III)komplexek esetében csak nagyon ritkán alkalmazható a közvetlen fotometriás módszer a kis moláris abszorbancia értékek miatt. Ilyenkor a vizsgálatokat csak relatíve nagy komponens koncentrációknál végezhetjük. Azokban az esetekben, ahol a közvetlen spektrofotometria nem használható, a közvetett fotometria alkalmazható, kompetíciós reakciókon keresztül, mely

döntően fém-fém kompetíciót jelent. Ilyen esetekben, ha van egy ML ismert stabilitású, fényelnyeléssel rendelkező komplex, valamint M'L komplex, melynek nincs, vagy csak nagyon minimális a fényelnyelése, az ML komplex oldatához M'-t adva abszorbancia csökkenést tapasztalunk, a kialakuló kompetíciós egyensúlynak köszönhetően. Az M'L komplex stabilitási állandója meghatározható a különböző összetételekhez tartozó koncentráció-abszorbancia adatpárok, az ML komplex stabilitási és az L ligandum protonálódási állandó értékei, valamint a moláris abszorbanciák felhasználásával.

A makrociklusos lantanoida(III)komplexek képződésének és disszociációjának sebessége, az esetek nagy részében, jól vizsgálható spektrofotometrián. A fényelnyeléssel rendelkező lantanoidák esetében ( $Ce^{3+}$ ,  $Eu^{3+}$ ) közvetlenül, míg a fényelnyeléssel nem rendelkező lantanoidák esetében közvetve „indikátor módszerrel” követhető a komplexképződés. A komplexek disszociáció sebességének vizsgálatakor is hasonló módon tudunk eljárni, azzal a különbséggel, hogy az elnyeléssel nem rendelkező lantanoida(III)komplexek disszociációjának vizsgálatakor olyan úgynevezett kicserélő fémiont kell alkalmazni, amellyel a disszociáció során felszabaduló ligandum „színes”, nagy fényelnyelésű komplexet képez. Ez a módszer lehetőséget biztosít arra, hogy igen kis koncentrációkat alkalmazzunk.

A Ln(III)-komplexek képződési sebességének meghatározása során pszeudo-elsőrendű feltételeket biztosítunk a ligandum- vagy a fémkoncentráció nagy fölöslegének (legalább tízszeres fölösleg) alkalmazásával. A vizsgálatokat rendszerint állandó pH-ra pufferelt közegben (a komplexképződés során felszabaduló protonok miatt), állandó ionerősség és állandó hőmérséklet mellett végezzük. Így attól függően, hogy a ligandum (III.2.1 egyenlet) vagy a fémion fölöslegét alkalmazzuk (III.2.2 egyenlet) a lejátszódó folyamatokat a következő sebességi egyenletekkel jellemezhetjük:

### III. ALKALMAZOTT VIZSGÁLATI MÓDSZEREK

---

$$\frac{d[\text{LnL}]_{\text{tot}}}{dt} = k_p [\text{Ln}^{3+}]_{\text{tot}} \quad \text{III.2.1}$$

$$\frac{d[\text{LnL}]_{\text{tot}}}{dt} = k_p [\text{L}]_{\text{tot}} \quad \text{III.2.2}$$

ahol a  $k_p$  a pszeudo-elsőrendű sebességi állandó. A tot alsóindex a komplex, a ligandum és a fémion teljes koncentrációját jelöli. Spektrofotometriás módszer esetében az abszorbancia  $t$  időpillanatban történő mérésével határozzuk meg  $k_p$  értékét a következő összefüggés alapján:

$$A_t = (A_r - A_v)e^{(-k_p t)} + A_v \quad \text{III.2.3}$$

A III.2.3 egyenletben az  $A_t$  a  $t$  időpillanatban mért abszorbancia, míg  $A_r$  a reaktánsok,  $A_v$  a végtermékek abszorbanciája.

Azokban az esetekben, amikor a komplexképződés nem, vagy csak nagyon csekély abszorbancia változással jár, ott alkalmazható az „indikátor módszer”. Ennek lényege, hogy a komplexképződési reakciót egy olyan gyengén pufferelt oldatban hajtjuk végre, amelybe előzőleg gondosan kiválasztott sav-bázis indikátort tettünk. A puffer koncentrációjának megfelelő megválasztásával elérhető, hogy a rendszerben (a komplexképződés során felszabaduló protonok miatt) bekövetkező pH-változás nem haladja meg a 0,05–0,1 pH egységet. Ilyen pH-változás esetén gyakorlatilag nem sérül a pszeudo-elsőrendű feltétel, ugyanakkor ez a pH-változás elegendő ahhoz, hogy a sav-bázis indikátor színváltozásán keresztül, a komplexképződési reakció kényelmesen követhető legyen [97].

A komplexek disszociáció sebességének vizsgálata során (függetlenül attól, hogy közvetlen, vagy közvetett spektrofotometriát alkalmazunk) a fentebb leírt

módszerek alkalmazhatóak és a folyamatokat leíró sebességi egyenlet a következő módon adható meg:

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

ahol  $k_p$  sebességi állandó meghatározása a III.2.3 egyenlet alapján történik. A disszociációs reakció során általában a fémiont kicserélő  $\text{H}^+$ -t alkalmazunk nagy feleslegben (0,1–1,0 M), ha azonban ez a moláris abszorbancia értékek kicsinyisége vagy hiánya miatt nem célravezető, akkor alkalmazhatunk kicserélő fémiont, a pszeudo-elsőrendű feltételt megtartva. A folyamat során a kiindulási komplexnek, a szabaddá váló fémionnak, esetleg mindkettőnek vagy a kicserélő fémionnak illetve a kicserélő fémionnal kialakuló komplexnek a fényelnyelését követhetjük.

Ha a komplexek képződése vagy disszociációja gyorsabb, mint amit konvencionális fotométerrel követni lehet, akkor alkalmazható a stopped-flow technika, amely gyors reakciók vizsgálatára kiválóan alkalmas. Ennek lényege, hogy a reaktánsok oldatait gyorsan, azonos időpillanatban a fényútban elhelyezett, átfolyó küvettába fecskendezzük. A reakció vizsgálatának idejére az áramlást leállítjuk és az abszorbancia változást detektáljuk.

### III.3 Relaxometria

A Gd(III)-komplexek képződésének és disszociációjának kinetikája jól vizsgálható relaxometriás módszerrel abból a tényből kiindulva, hogy a szabad  $\text{Gd}^{3+}$ -ion valamint komplexeinek a vízprotonok relaxáció sebességére gyakorolt hatása eltérő, amit a II.2.3 fejezetben részletesen tárgyaltunk. A komplexképződés során a fémion belső szférájában található vízmolekulák száma csökken, ami a víz protonok relaxációs idejének növekedését, azaz a relaxáció sebesség csökkenését eredményezi. A disszociációs reakciók esetében, a helyzet pontosan fordított, amikor a  $\text{Gd}^{3+}$ -ion szabaddá válik. A folyamatokat kísérő relaxivitás változásból a



III.2.3 egyenletnek megfelelően számolhatók a pszeudo-elsőrendű sebességi állandók, a megfelelő  $1/T_1$ -t adatpárok behelyettesítésével.

#### III.4 NMR spektroszkópia

Az  $^{17}\text{O}$ -NMR módszer jól alkalmazható a paramágneses lantanoida(III)komplexek belső koordinációs szférájában kötött vízmolekulák, valamint az oldószer vízmolekulái között lejátszódó vízcseres folyamat vizsgálatára. A semleges pH körüli tartományban a protoncsere- és vízcseresebesség megegyezik, így elvileg a  $^1\text{H}$ -NMR is alkalmas lenne a vízcseresebesség meghatározására, azonban az oxigén közvetlen koordinációjának köszönhetően érzékenyebb a paramágneses hatásra. Korábban már sok Gd(III)-komplex esetében kimutatták, hogy a vizsgált rendszerek alacsonyabb hőmérsékleten a lassú, míg magasabb hőmérsékleten a gyors csere tartományába esnek az NMR időskálán. A lassú csere tartományban az  $^{17}\text{O}$ -relaxációsebességet a vízcseres (cserekontrollált), míg a gyors csere tartományban a paramágneses ion belső szférájában kötött vízmolekula  $^{17}\text{O}$  atomja tartszverzális relaxációsebessége határozza meg (relaxációkontrollált). A különböző hőmérsékleteken mért paramágneses fémion okozta  $^{17}\text{O}$ -relaxációsebességek változásaiból következtethetünk a paramágneses komplexben kötött vízmolekulák számára és cseresebességére [98].

Néhány Ln(III)-komplex ( $\text{La}^{3+}$ ,  $\text{Eu}^{3+}$ ,  $\text{Lu}^{3+}$ ) oldatszerkezetének felderítése érdekében végeztünk  $^1\text{H}$ -,  $^{13}\text{C}$ -,  $^{31}\text{P}$ -NMR és DEPT méréseket, ahol az adott jelek megjelenéséből, kémiai eltolódás értékéből, valamint a jelek felhasadásából következtethetünk a ligandum különböző csoportjainak protonálódására, valamint a fémionhoz való koordinálódására. Az  $^1\text{H}$ -,  $^{13}\text{C}$ -,  $^{31}\text{P}$ -NMR mérések mellett kétdimenziós NMR vizsgálatokat (COSY, EXSY és HMQC) is végeztünk a komplexek oldatbeli szerkezetének felderítéséhez.

**DEPT** (*D*istortionless *E*nchancement by *P*olarization *T*ransfer): Olyan polarizáció átvitel nélküli alapuló módszer, amelyenél a  $^1\text{H}$ -magok gerjesztésén keresztül tudunk könnyen és gyorsan  $^{13}\text{C}$ -spektrumokat nyerni.

**COSY** (*Correlation Spectroscopy*): Ez a módszer  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  korrelációs spektroszkópia, amelyben azonosítani lehet az egymással skaláris csatolásban ( $^1J_{\text{HH}}$ ) levő protonokat, a kapott keresztcsúcsok alapján.

**HETCOR** (*Heteronuclear Correlation Spectroscopy*): Ezzel a módszerrel olyan  $^1\text{H}$  –  $^{13}\text{C}$  keresztcsúcsok detektálhatók, melyek akkor jönnek létre, amikor a két mag közvetlenül kapcsolódik a molekulában, és így közöttük egy kötéssel keresztül jön létre skaláris csatolás.

**EXSY** (*Exchange Spectroscopy*): Azok a magok adnak egymással keresztcsúcsokat, amelyek között elegendően gyors kémiai csere játszódik le. A méréshez használt impulzus szekvencia megegyezik a NOESY technikáéval.

**HMQC** (*Heteronuclear Multiple Quantum Correlation*): Ezzel a technikával olyan magok NMR jelei között kapunk keresztcsúcsokat, amelyek a molekulában egymáshoz kötődnek, így közöttük egy kötéssel keresztül skaláris csatolás van. A HMQC inverz (proton) detektálást alkalmaz.

---

## IV. EREDMÉNYEK

### IV.1 A Sm(EDTMP)- és Y(EDTMP)-komplexek egyensúlyi és kinetikai sajátságai

#### IV.1.1 Egyensúlyi vizsgálatok

Az EDTMP ligandum radioaktív  $^{153}\text{Sm}$ - és  $^{90}\text{Y}$ -izotóppal alkotott komplexeit elterjedten használják az áttétes csonttrákos betegek fájdalomcsillapítására. A nagy fajlagos aktivitással rendelkező ( $> 5 \text{ GBq/mg Sm}$ )  $^{153}\text{Sm}$ -izotópot atomreaktorban nyerik  $^{152}\text{Sm}(n, \gamma)^{153}\text{Sm}$  magreakcióval. A  $^{90}\text{Y}$ -izotópot ( $\geq 0,4 \text{ GBq/mg Y}$ ) hasonlóan, az egyel kisebb tömegszámú  $^{89}\text{Y}$ -izotópból állítják elő, szintén neutronbesugárzással, vagy az urán hasadási termék  $^{90}\text{Sr}$  leányelemeként, attól elválasztva hordozómentes állapotban állítják elő. A  $^{153}\text{Sm}$ -izotóp felezési ideje 46,3 óra, míg a  $^{90}\text{Y}$ -izotópé 62,4 óra. Az alkalmazott készítmények a radioaktív izotópokhoz képest mindig 20–200-szoros feleslegben tartalmazzák a komplexképző ligandumot, az EDTMP-t. A radioaktív izotópok csontokban történő megkötődésének mechanizmusa mai napig nem tisztázott. A megkötődés kétféleképpen képzelhető el; az egyik lehetőség, hogy a komplex kötődik a csont felszínéhez, míg a másik, hogy a komplex disszociációját követően a szabad radioaktív izotóp megkötődése következik be. Az irodalomban fellelhető tanulmányok egy része az első, míg a többi a második mechanizmust valószínűsíti. Az előzőekben említett ellentmondáson túl, nincs egyetértés az irodalomban az egyes Ln(EDTMP)-komplexek stabilitási állandóiban sem, sőt a közölt  $\log K_{ML}$  értékek sok nagyságrendel eltérnek [99, 100].

A metilénfoszfonát-származék ligandumok első illetve második protonálódási állandó értékei gyakran igen nagyok, ami azonban nagymértékben függ a vizsgálatok során alkalmazott, az állandó ionerősség biztosítására a rendszerhez adott só koncentrációjától és anyagi minőségétől is. Az anyagi minőségtől való függés az ionerősséget állító só kationjának komplexképzésre

mutatott hajlamán alapul. Az EDTMP<sup>8-</sup> ligandum protonálódási állandóit pH-potenciometriásan határoztuk meg, 25°C-on 0,15 M-os NaCl ionerősség mellett. A kapott protonálódási állandó értékek kisebbek, mint az irodalom szerint [101] 0,1 M-os KCl esetén tapasztalták, IV.1.1.1 táblázat. Az eltérés magyarázata az előzőekben már vázolt komplexképződés, ami Na<sup>+</sup>-ion esetében nagyobb. Ennek ellenére indokolt volt a 0,15 M-os NaCl ionerősség használata a vér NaCl koncentrációjának modellezése érdekében.

**IV.1.1.1 táblázat** Az EDTMP ligandum protonálódási állandói (25°C, 0,15 M NaCl)

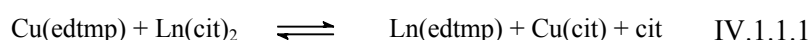
L = EDTMP	log K	log K <sup>a</sup>	log K <sup>b</sup>
L + H <sup>+</sup>	11,61(0,02)	10,67	12,99
HL + H <sup>+</sup>	9,33(0,02)	9,47	9,78
H <sub>2</sub> L + H <sup>+</sup>	7,51(0,03)	7,63	7,94
H <sub>3</sub> L + H <sup>+</sup>	6,23(0,03)	6,24	6,42
H <sub>4</sub> L + H <sup>+</sup>	5,09(0,03)	5,15	5,17
H <sub>5</sub> L + H <sup>+</sup>	2,80(0,04)	2,83	3,02

<sup>a</sup>, [100] (37 °C, 0,15 M NaCl)

<sup>b</sup>, [101] (25 °C, 0,1 M KNO<sub>3</sub>)

A Sm- és Y-komplexek stabilitási állandóinak meghatározása pH-potenciometriás módszerrel nem lehetséges a savas tartományban fellépő csapadékképződési folyamatok miatt. A pH-potenciometriás vizsgálatoknál, ahol a komplexeket lúgos tartományban állítottuk elő, majd savval titráltunk, kiderült, hogy a Sm(EDTMP)- és Y(EDTMP)-komplexek protonálódási folyamatokban vesznek részt. Mind a két komplex esetében sikerült meghatároznunk 3-3 protonálódási állandót (IV.1.1.2 táblázat), azonban a harmadik protonálódást követően csapadék kiválás történt. A kivált csapadék összetételére vonatkozóan nincsenek közvetlen kísérleti bizonyítékaink, de azt feltételezhetően vagy a protonált komplexek, vagy az ionerősségként alkalmazott Na<sup>+</sup>-ionnal kialakuló

sóik alkotják. A csapadékképződés elkerülése céljából olyan módszert kellett választanunk, amellyel nagyobb pH-értékeknél lehetséges a stabilitási állandók meghatározására. A komplexek stabilitási állandóit ezért fotometriásan, pH  $\approx$  10 körül határoztuk meg, kompetíciós módszerrel (IV.1.1.1 egyenlet). A kompetíciós reakciót Cu<sup>2+</sup>- és Sm<sup>3+</sup>- valamint Cu<sup>2+</sup>- és Y<sup>3+</sup>-ion között valósítottuk meg úgy, hogy állandó értéken tartottuk az EDTMP ligandum és a Cu<sup>2+</sup>-ion koncentrációját, míg 1–40-szeres feleslegben változtattuk a lantanoidaionok koncentrációit. A fém-hidroxid csapadék kiválás elkerülésére mind a két esetben nagy feleslegben alkalmaztunk citrát ligandumot. A citrát ligandummal kialakuló Ln<sup>3+</sup>- és Cu<sup>2+</sup>-komplexek (IV.1.1.3 táblázat), a Cu(EDTMP)-komplexek stabilitási állandóit (IV.1.1.2 táblázat), valamint a Cu(EDTMP)- és a Cu(citrát)-komplexek moláris abszorbancia értékeit, melyek a számításokhoz szükségesek, külön kísérletekben határoztuk meg.



A stabilitási állandókat az egyes mintákra kapott abszorbancia értékek, a moláris abszorbanciák, az EDTMP és a citromsav ( $\log K_1 = 5,49(0,05)$ ,  $\log K_2 = 4,23(0,05)$ ,  $\log K_3 = 2,75(0,06)$ ) protonálódási állandói, a citrátkomplexek stabilitási állandói valamint a Cu(EDTMP)-komplexek stabilitási állandóinak felhasználásával, a PSEQUAD program [102] segítségével számítottuk ki.

A kapott stabilitási állandók (IV.1.1.2 táblázat), valamint az irodalmi adatok összevetéséből egyértelműen látszik, hogy az általunk meghatározott stabilitási állandók értéke nagyságrendekkel nagyobb, az irodalomban fellelhető stabilitási állandó értékekhez képest, melyeket az oldhatósági problémákat elhanyagolva pH-potenciometriás titrálási adatokból nyertek. Ugyanakkor a Sm(EDTMP) stabilitási állandójára kapott ( $\log K = 20,71$ ) érték jó egyezést mutat az *Ernestová* és munkatársai által a Ho(EDTMP)-komplexre meghatározott ( $\log K = 20,20$ ) értékkel [103]. A stabilitási állandó értékek ilyen nagyarányú

különbözősége mindenesetre fölveti az oldhatósági problémából eredő eltéréseket, bár ez az irodalomból nem derül ki egyértelműen.

**IV.1.1.2 táblázat** Az EDTMP ligandummal kialakuló komplexek stabilitási és protonálódási állandói (25°C, 0,15 M NaCl)

<b>L = EDTMP</b>	<b>log K</b>	<b>log K<sup>a</sup></b>	<b>log K<sup>b</sup></b>
Sm <sup>3+</sup> + L	20,71(0,08)	14,44	–
SmL + H <sup>+</sup>	6,98(0,03)	7,13	–
SmLH + H <sup>+</sup>	5,91(0,03)	6,00	–
SmLH <sub>2</sub> + H <sup>+</sup>	4,80(0,03)	–	–
Y <sup>3+</sup> + L	19,19(0,08)	–	11,11
YL + H <sup>+</sup>	7,23(0,03)	–	5,89
YLH + H <sup>+</sup>	6,18(0,03)	–	5,81
YLH <sub>2</sub> + H <sup>+</sup>	5,16(0,03)	–	–
Cu <sup>2+</sup> + L	19,36(0,05)	16,2	–
CuL + H <sup>+</sup>	7,48(0,04)	7,91	–
CuLH + H <sup>+</sup>	6,06(0,03)	6,34	–
CuLH <sub>2</sub> + H <sup>+</sup>	4,66(0,03)	4,89	–
CuLH <sub>3</sub> + H <sup>+</sup>	3,88(0,02)	4,15	–
CuL + Cu <sup>2+</sup>	6,66(0,06)	–	–
Cu <sub>2</sub> L + H <sup>+</sup>	6,18(0,04)	–	–
Cu <sub>2</sub> LH + H <sup>+</sup>	4,57(0,04)	–	–

<sup>a</sup>, [99] (37 °C, 0,15 M NaCl)

<sup>b</sup>, [100] (25 °C, 0,15 M NaCl)

**IV.1.1.3 táblázat** A citrát ligandummal kialakuló komplexek stabilitási és protonálódási állandói (25°C, 0,15 M NaCl)

<b>L = citrát</b>	<b>log K</b>		
	<b>Sm<sup>3+</sup></b>	<b>Y<sup>3+</sup></b>	<b>Cu<sup>2+</sup></b>
M + L	7,38(0,03)	6,95(0,02)	5,58(0,03)
ML + H <sup>+</sup>	3,38(0,02)	3,43(0,02)	3,39(0,06)
ML + L	5,08(0,04)	4,45(0,03)	–
ML <sub>2</sub> + H <sup>+</sup>	4,21(0,05)	4,29(0,05)	–
ML - H <sup>+</sup>	5,82(0,07)	5,88(0,03)	3,97(0,02)
MLH <sub>1</sub> + OH <sup>-</sup>	7,02(0,07)	8,42(0,04)	10,78(0,05)
ML <sub>2</sub> - H <sup>+</sup>	6,85(0,07)	7,66(0,08)	–
MLH <sub>1</sub> + M	–	–	3,11(0,05)

A Ln(EDTMP)-komplexek protonálódási állandóinak értéke Ca<sup>2+</sup>-ion jelenlétében kisebb, és ez a csökkenés a proton és a Ca<sup>2+</sup> közötti kompetícióra utal, ami valószínűsíti a kétmagvú komplexek kialakulását. A vérben jelen levő nagy Ca<sup>2+</sup>-ion-koncentráció ( $c_{Ca} \approx 2,5 \times 10^{-3}$  M) felveti annak lehetőségét, hogy a terápiában alkalmazott komplexek az injekálás után azonnal kétmagvú komplexeket képeznek. Ezért célszerűnek tűnt részletesebben tanulmányozni az Y(EDTMP) és Sm(EDTMP), valamint a Ca<sup>2+</sup> között lejátszódó komplexképződési folyamatokat, valamint meghatároztuk a Ca(EDTMP) komplex stabilitási, és protonálódási állandóinak értékeit is. A pH-potenciometriás vizsgálatok adataiból sikerült a kétmagvú komplexek stabilitási állandóit kiszámítani, amit a IV.1.1.4 táblázatban mutatunk be.

A kapott egyensúlyi állandók felhasználásával modellszámításokat végeztünk egy leegyszerűsített plazmamodellen annak kiderítésére, hogy a Sm(EDTMP)-komplex milyen formában van jelen injekálás után a vérben, illetve, hogy milyen kicserélődési reakciókban vesz/vehet részt. A számításokban

lehetséges kicserélő fémionként  $\text{Ca}^{2+}$ - és  $\text{Zn}^{2+}$ -iont vettünk figyelembe, míg ligandumként citrát, hisztidin és cisztein jelenlétét feltételeztük. Az előzőekből már kiderült, hogy a  $\text{Ca}^{2+}$ - és irodalmi adatok alapján a  $\text{Zn}^{2+}$ -ion [99] komplexképzése jelentős az EDTMP ligandummal, ugyanakkor a  $\text{Sm}^{3+}$ -ion megkötésére döntően csak a citrát ligandum alkalmas [104].

**IV.1.1.4 táblázat** A  $\text{Ca}(\text{EDTMP})$  és a  $\text{Ln}(\text{EDTMP})\text{Ca}$  kétmagvú komplexek stabilitási és protonálódási állandói ( $25^\circ\text{C}$ ,  $0,15\text{ M NaCl}$ )

<b>L = EDTMP</b>	<b>log K</b>	<b>log K<sup>a</sup></b>
$\text{Ca}^{2+} + \text{L}$	8,71(0,05)	6,41
$\text{CaL} + \text{H}^+$	8,41(0,18)	8,94
$\text{CaLH} + \text{H}^+$	7,36(0,19)	8,06
$\text{CaLH}_2 + \text{H}^+$	7,31(0,03)	–
$\text{CaL} + \text{Ca}^{2+}$	5,15(0,03)	–
$\text{Ca}_2\text{L} + \text{H}^+$	7,56(0,03)	–
$\text{SmL} + \text{Ca}^{2+}$	3,47(0,05)	–
$\text{SmLCa} + \text{H}^+$	6,22(0,08)	–
$\text{YL} + \text{Ca}^{2+}$	3,91(0,04)	–
$\text{YLCa} + \text{H}^+$	6,62(0,06)	–

<sup>a</sup>, [99] ( $37^\circ\text{C}$ ,  $0,15\text{ M NaCl}$ )

A  $\text{Sm}^{3+}$ -ion komplexképzése elhanyagolható a hisztidin és cisztein esetében, így ezek a ligandumok csak a  $\text{Zn}^{2+}$  komplexbe vitelében játszanak szerepet [105]. A Sm és az EDTMP teljes vérbeli koncentrációját a forgalomban lévő  $^{153}\text{Sm}$ -EDTMP kit összetételéből számítottuk, azt feltételezve, hogy az injekálás után a vérben való egyenletes eloszlás gyors, és teljes [106]. A számításokhoz használt teljes koncentrációkat, valamint a számításokban kapott legfontosabb részecskéket és koncentrációikat a IV.1.1.5 táblázatban mutatjuk be.



**IV.1.1.5 táblázat** Részecskeeloszlás egy  $\text{Sm}^{3+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ , EDTMP, citrát, hisztidin és cisztein tartalmú oldatban (25°C)

Teljes koncentrációk (M):

$\text{Sm}^{3+}$	$\text{Ca}^{2+}$	$\text{Zn}^{2+}$	edtmp	cit	cis	his
$4,0 \times 10^{-7}$	$1,1 \times 10^{-3}$	$1,0 \times 10^{-5}$	$1,0 \times 10^{-5}$	$1,1 \times 10^{-4}$	$2,3 \times 10^{-5}$	$8,5 \times 10^{-5}$

A fontosabb részecskék egyensúlyi koncentrációi (M):

$\text{Sm}^{3+}(\text{aq})$	$4,8 \times 10^{-16}$	<b><math>\text{Ca}^{2+}(\text{aq})</math></b>	<b><math>1,0 \times 10^{-3}</math></b>	$\text{Zn}^{2+}(\text{aq})$	$1,6 \times 10^{-9}$
$\text{Sm}(\text{edtmp})^{5-}$	$6,7 \times 10^{-10}$	$\text{Ca}(\text{Hedtmp})^{5-}$	$1,5 \times 10^{-8}$	$\text{Zn}(\text{edtmp})^{6-}$	$5,0 \times 10^{-7}$
$\text{Sm}(\text{edtmp})\text{Ca}^{3-}$	$2,0 \times 10^{-9}$	$\text{Ca}_2(\text{edtmp})^{4-}$	$2,1 \times 10^{-7}$	<b><math>\text{Zn}(\text{Hedtmp})^{5-}</math></b>	<b><math>7,4 \times 10^{-6}</math></b>
<b><math>\text{Sm}(\text{Hedtmp})\text{Ca}^{2-}</math></b>	<b><math>3,97 \times 10^{-7}</math></b>	$\text{Ca}_2(\text{Hedtmp})^{3-}$	$3,1 \times 10^{-7}$	<b><math>\text{Zn}(\text{H}_2\text{edtmp})^{4-}</math></b>	<b><math>1,1 \times 10^{-6}</math></b>
$\text{Sm}(\text{cit})_2^{3-}$	$2,9 \times 10^{-12}$	$\text{Ca}(\text{cit})^-$	$7,6 \times 10^{-5}$	$\text{Zn}(\text{citH}_1)^{2-}$	$8,6 \times 10^{-7}$
				$\text{Zn}(\text{cis})_2^{2-}$	$7,8 \times 10^{-8}$
				$\text{Zn}(\text{his})_2^{2-}$	$1,3 \times 10^{-8}$

A táblázatban szereplő adatokból látható, hogy a  $\text{Sm}^{3+}$ -ion teljes mennyisége EDTMP-hez kötött formában van jelen és elhanyagolhatóan csekély mennyiségű  $\text{Sm}^{3+}$  kerül citrátkomplexbe. A  $\text{Sm}(\text{EDTMP})$  ugyanakkor 99%-ban kétmagvú komplexet képez a jelenlevő nagy  $\text{Ca}^{2+}$ -koncentráció miatt. Érdeemes megemlíteni, hogy az EDTMP ligandum feleslege megköti a  $\text{Zn}^{2+}$ -ion mintegy 85%-át.

#### IV.1.2 Kinetikai vizsgálatok

A nagy termodinamikai stabilitáson kívül a komplexek disszociáció sebességének is fontos szerepe van abban, hogy milyen kicserélődési folyamatok történhetnek az élő szervezetben az injekció után. A alkalmazott és alkalmazásra kerülő kontrasztanyagok és más fémkomplexek felhasználásához hasonlóan jogos elvárás a  $\text{Ln}(\text{EDTMP})$  kinetikai inertsége, amely biztosítja, hogy a komplexek

disszociációja ne következzen be, ha a  $^{153}\text{Sm}$  a csontokban komplex formájában kötődik meg. A komplexek szervezetben történő elbomlásának a disszociáció sebességén túl fontos tényezője még a szervezetben töltött idő, a kiürülés sebssége. A palliatív terápiában alkalmazott komplexek (Sm- és Y(EDTMP)) esetében a kezelést követő napon már nem kell a vizeletben megjelenő radioaktivitással számolni, ami azt jelenti, hogy a radioaktív izotópot tartalmazó komplex, vagy maga az izotóp megkötődött a csontfelszínen, vagy kiürült a szervezetből. A bevezetőben már említett probléma, miszerint nem tisztázott, hogy a komplex, vagy a fémion megkötődése történik-e meg a csontfelszínen, magyarázható a disszociáció sebességének ismeretében.

Ezen okok miatt vizsgáltuk a Sm(EDTMP)- és Y(EDTMP)-komplexek disszociációjának kinetikáját a következő (IV.1.2.1 egyenlet) fémioncsere reakció segítségével:



A vizsgálatok 7-9 pH-tartományban történtek, ahol citrát alkalmazásával kerültük el a fém-hidroxid csapadék megjelenését. A Cu(citrát) fölöslegének (10-szeres) alkalmazásával biztosítottuk a pseudo-elsőrendű feltételt, így a kicserélődési reakció a következő sebességi egyenlettel jellemezhető (IV.1.2.2 egyenlet):

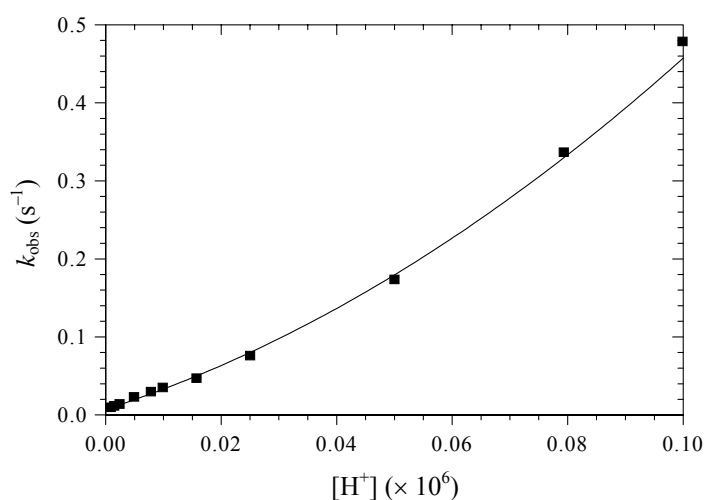
$$-\frac{d[\text{Ln(EDTMP)}]}{dt} = k_{\text{obs}}[\text{Ln(EDTMP)}] \quad \text{IV.1.2.2}$$

ahol  $k_{\text{obs}}$  pseudo-elsőrendű sebességi állandó,  $[\text{Ln(EDTMP)}]$  pedig a komplex teljes koncentrációját jelöli. A kicserélődési reakciók sebessége aránylag nagy, így a reakciók lejátszódását csak stopped-flow technikával tudtuk követni.

A reakciókat jellemző sebességi egyenletek meghatározása érdekében a kicserélődési reakciókat megvizsgáltuk a pH és a kicserélő fémion koncentrációjának függvényében is. A kapott  $k_{\text{obs}}$  értékek alapján általánosan

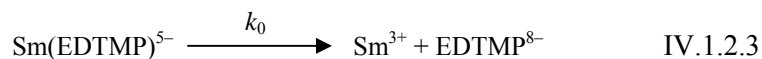
elmondható, hogy a kicserélődés sebessége mind Sm(EDTMP), mind Y(EDTMP) esetén független a kicserélő fémion koncentrációjától.

A Sm(EDTMP)-komplex fémioncsere reakcióira kapott  $k_{\text{obs}}$  értékeket a protonkoncentráció függvényében ábrázolva (IV.1.2.1 ábra) látható, hogy a kicserélődési reakció sebessége nem lineárisan növekszik a protonkoncentráció növekedésével. Ezek alapján a következő reakcióutakat feltételezhetjük.



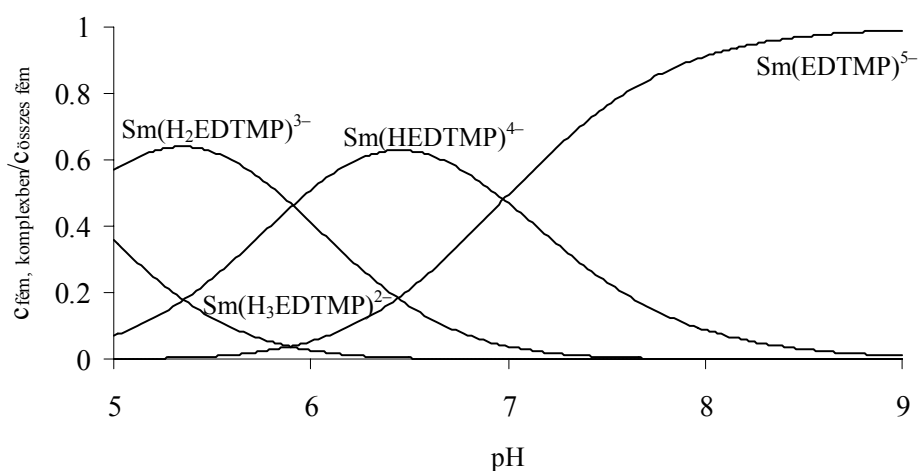
**IV.1.2.1 ábra** A Sm(EDTMP) komplex disszociációs reakciójának  $k_{\text{obs}}$  értékei a  $[\text{H}^+]$  függvényében.

Első lépésként a komplex disszociációja végbemehet spontán módon. Ezt az esetet mutatja a IV.1.2.3 egyenlet.



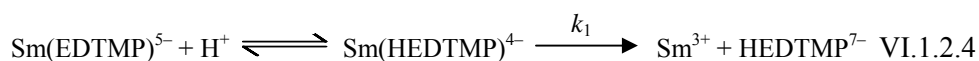
Az egyensúlyi adatok alapján szerkesztett koncentrációeloszlási diagramon (IV.1.2.2 ábra) mutatja, hogy a vizsgált pH-tartományban (7–9) a teljesen deprotonált komplex végig jelen van, ugyanakkor az egyszer protonált komplex

(Sm(HEDTMP)) koncentrációja is jelentős, míg a kétszer protonált komplex (Sm(H<sub>2</sub>EDTMP)) koncentrációja már csak néhány százalék pH = 7 körül.



IV.1.2.2 ábra A Sm(EDTMP) komplex koncentráció eloszlási diagramja (0,1 mM)

A disszociáció lejátszódhat a Sm(EDTMP)-komplex protonálódásán keresztül is. Ebben az esetben egy gyors protonálódási előegyensúlyt követően a protonált komplex disszociációja következik be (VI.1.2.4 egyenlet).



A komplex disszociációja a fentebb leírtakon túl lejátszódhat még a kétszer protonált komplex disszociációján keresztül is, amely a protonkoncentrációtól való négyzetes függést eredményezi. Ebben az esetben egy előegyensúlyban kialakuló kétszer protonált komplex disszociációja következik be (IV.1.2.5 egyenlet).

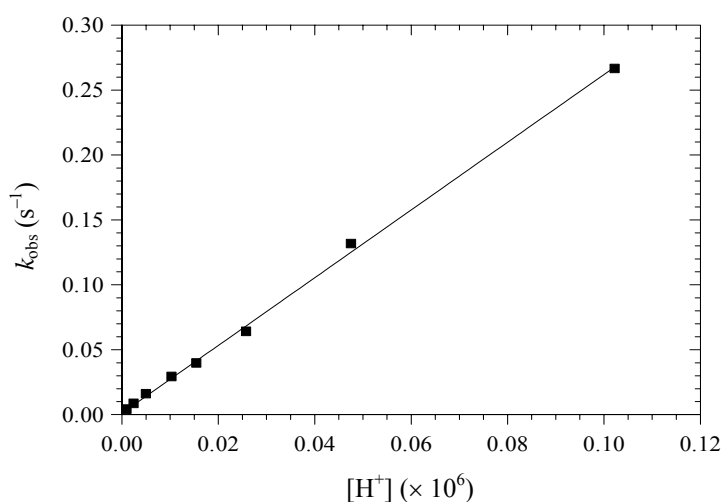


Az előzőekben vázolt három reakcióutat figyelembevéve a disszociációs reakció sebessége a következőképpen adható meg (IV.1.2.6 egyenlet):

$$k_{\text{obs}} = k_0 + k_1[\text{H}^+] + k_2[\text{H}^+]^2 \quad \text{IV.1.2.6}$$

ahol  $k_0$  a spontán disszociációt, míg  $k_1$  és  $k_2$  a protonkatalizált disszociációs utakat jellemző sebességi állandók.

Az Y(EDTMP)-komplex esetében, ha a  $k_{\text{obs}}$  értékeket ábrázoljuk a protonkoncentráció függvényében (IV.1.2.3 ábra) azt tapasztaljuk, hogy a protonkoncentráció növekedésével lineárisan nő a reakciók sebessége.



**IV.1.2.3 ábra** Az Y(EDTMP) komplex disszociációs reakciójának  $k_{\text{obs}}$  értékei a  $[\text{H}^+]$  függvényében.

Az adatok alapján tehát, nem számolhatunk a protonkoncentrációtól való négyzetes függéssel, ugyanakkor a Sm(EDTMP)-komplexhez hasonlóan ebben az esetben is bekövetkezhet a komplex spontán (IV.1.2.3 egyenlet) és protonkatalizált disszociációja (IV.1.2.4 egyenlet) egyaránt. Így a kapott  $k_{\text{obs}}$  értékeket a következő (IV.1.2.7 egyenlet) egyenlettel illesztettük:

$$k_{\text{obs}} = k_0 + k_1[\text{H}^+] \quad \text{IV.1.2.7}$$

A számítások eredményeként kapott sebességi állandókat a IV.1.2.1 táblázatban tüntettük fel, a reakciókat 7,4-es pH-n jellemző felezési időkkel együtt. Néhány kísérletet  $\text{Ca}^{2+}$ -ionok jelenlétében is végeztünk, de a  $\text{Ca}^{2+}$ -ionok jelenléte gyakorlatilag nem befolyásolta a fémioncsere reakciók sebességét.

**IV.1.2.1 táblázat** Az Y- és Sm(EDTMP), valamint a Sm(EDTA) komplexek disszociációs reakcióit jellemző sebességi állandók

	$k_0$ ( $\text{s}^{-1}$ )	$k_1$ ( $\text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$ )	$k_2$ ( $\text{M}^{-2}\text{s}^{-1}$ )	$t_{1/2}$
Sm(EDTMP)	$7,3 \times 10^{-3}$	$2,3 \times 10^6$	$2,1 \times 10^{13}$	4,9 s
Y(EDTMP)	$2,2 \times 10^{-3}$	$2,5 \times 10^6$	–	7,5 s
Sm(EDTA) + $\text{Cu}^{2+}$	–	$1,2 \times 10^2$	$1,8 \times 10^6$	1,7 nap

A kapott eredményekből kiderül, hogy a Ln(EDTMP)-komplexek kinetikai stabilitása nagyságrendekkel kisebb a megfelelő Ln(EDTA)-származékokénál. Ha összehasonlítjuk a Sm(EDTA) és  $\text{Cu}^{2+}$ -ion között lejátszódó cserereakciókra kapott sebességi állandókat [107] a Sm(EDTMP)-komplexre kapott adatokkal, az azonos folyamatokat jellemző sebességi állandókban 4–7 nagyságrendbeli különbséget találunk. Az EDTMP-komplexek meglehetősen kis felezési idő értékei alapján egyrészt azt mondhatjuk, hogy ha arra lehetőség van, akkor a szervezetbe jutott komplexek kicserélődési reakciókban vesznek/vehetnek részt, a szervezetben tartózkodás ideje alatt. Ez lehet a magyarázata annak, hogy a ma forgalomban levő készítmények az EDTMP ligandumot nagy feleslegben tartalmazzák, hiszen így a szabad ligandummal lépnek reakcióba a vérben található (nem enzimekben kötött) fémionok, magát a lantanoidkomplexet érintetlenül hagyva. Másrészt ezekből az eredményekből nem lehet egyértelmű magyarázatot adni arra, a fejezet elején

felvetett kérdésre, miszerint a fémion vagy a komplex kötődik-e a csont felszínén. Az eredmények alapján az egyértelműen elmondható, hogy a szervezetbe juttatott komplexek disszociációja és a szabad  $^{153}\text{Sm}$  csontfelületen történő szorpciója bekövetkezhet, ezt a disszociáció viszonylag nagy sebessége lehetővé teszi. Ugyanakkor a komplexek disszociációja nem nagyon gyors, ezért a komplex formában történő szorpciójuk sem zárható ki.

Meglepő a Ln(EDTMP)-komplexek protonkatalizált disszociációjának a megfelelő Ln(EDTA)-komplexekéhez viszonyított nagy sebessége, mivel az EDTA analóg EDTMP Ln $^{3+}$ -ionokkal képzett komplexeinek stabilitási állandói valamivel nagyobbak mint az Ln(EDTA)-komplexeké. A kinetikai stabilitásban mutatkozó nagy különbség feltehetően a komplexek protonálódási állandóinak nagymértékű eltéréseinek a következménye. A komplex disszociációja a karboxilát- illetve a foszfonátcsoportok protonálódásával, majd a protonnak egy nitrogénatomra történő átvitelével játszódik le. A Ln(EDTA)-komplexek protonálódási állandói nagyon kicsik. A  $\log K_{\text{LnL}}^{\text{H}}$  értékek 1,0 körüliek [108], így protonálódásuk mértéke pH = 7 körül rendkívül kismértékű, ugyanakkor a Ln(EDTMP)-komplexek 7–9 pH tartományban is protonálódnak a foszfonátcsoport egyik oxigénje nagy bázicitása miatt, ezért a protonkatalizált disszociációjuk sebessége pH = 7,4 körül is nagy.

## IV.2 A Gd(DTTAMP) komplexek disszociációja sebességének vizsgálata

A kontrasztanyag kutatás egyik fő iránya, hogy a már forgalomban levő komplexekben található ligandumokat módosítva, nagyobb termodinamikai stabilitással rendelkező komplexeket lehessen előállítani, megtartva, esetenként javítva a már meglévő egyéb kedvező sajátságokat. Ebből a célból állították elő *Kotek* és munkatársai azt a DTPA-származék ligandumot, amelyben a középső nitrogénen található karboxilátcsoportot foszfonátcsoportra cserélték (DTTAMP) [109]. A stabilitási állandó értékek a növekvő bázicitásnak köszönhetően általában nagyobbak a foszfonát analóg ligandumoknál, azonban ez a kinetikai stabilitásra nem feltétlenül érvényes. Nyílt láncú  $\text{Ln}^{3+}$ -aminopolifoszfonátok kinetikai viselkedésére vonatkozóan a  $\text{Sm}^{3+}$ - és  $\text{Y}^{3+}$ -EDTMP-komplexekkel általunk végzett vizsgálatok mellett nem ismert ilyen vizsgálati eredmény az irodalomban. Így a DTTAMP ligandum  $\text{Gd}^{3+}$ -komplexe disszociációjának vizsgálata érdekes pusztán alapkutatás szempontjából, de mint egy lehetséges MRI kontrasztanyag vonatkozásában is.

Korábban már meghatározták a ligandum protonálódási (IV.2.1 táblázat), valamint néhány lantanoida- és átmenetifémionnal kialakuló komplexének stabilitási állandóját, amelyekből néhányat a IV.2.2 táblázatban mutatunk be.

**IV.2.1 táblázat** A DTTAMP és DTPA ligandum protonálódási állandói (25 °C, 0,1 M  $\text{Me}_4\text{NCl}$ )

	DTTAMP <sup>a</sup>	DTPA <sup>b</sup>
$\log K_1$	11,82	10,41
$\log K_2$	8,30	8,37
$\log K_3$	7,57	4,09
$\log K_4$	3,09	2,51
$\log K_5$	2,55	2,04
$\log K_6$	1,90	–

<sup>a</sup>, [110], <sup>b</sup>, [111]



**IV.2.2 táblázat** A DTTAMP és DTPA ligandumok  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$  és  $\text{Gd}^{3+}$ -ionnal kialakuló komplexeinek stabilitási állandói

	DTTAMP <sup>a</sup>	DTPA <sup>b</sup>
$\log K_{\text{CuL}}$	21,43	21,20
$\log K_{\text{CuHL}}$	6,86	4,80
$\log K_{\text{CuH}_2\text{L}}$	3,66	2,96
$\log K_{\text{GdL}}$	22,34	22,2
$\log K_{\text{GdHL}}$	6,48	2,4
$\log K_{\text{GdH}_2\text{L}}$	2,34	–
$\log K_{\text{Gd}_2\text{L}}$	5,58	–
$\log K_{\text{Gd}_2\text{HL}}$	3,13	–

<sup>a</sup>, [110], <sup>b</sup>, [112]

A protonálódási állandók összevetéséből látható, hogy a DTTAMP első protonálódási állandója a DTPA liganduméhoz képest mintegy két nagyságrenddel nagyobb. Ennek magyarázata, a DTTAMP ligandum foszfonátcsoportjának oxigénje és a N donoratom között kialakuló erős hidrogénkötés. Ha összehasonlítjuk a Gd(DTPA)- és Gd(DTTAMP)- komplexek stabilitási állandóit (IV.2.2 táblázat), szembeűnő, hogy a bázicitás növekedés ellenére a stabilitási állandók gyakorlatilag megegyeznek.

Ugyanakkor a termodinamikai stabilitási állandó értéke csak kis részben határozza meg egy komplex orvos-biológiai alkalmazhatóságát. Ha a kialakuló komplex kinetikai stabilitása nagy, akkor egy kisebb stabilitású komplex alkalmazása is lehetséges anélkül, hogy annak a szervezetben bekövetkező disszociációjával számolni kellene. Ezért megvizsgáltuk a Gd(DTTAMP)-komplex és a  $\text{Cu}^{2+}$ -, valamint az  $\text{Eu}^{3+}$ -ion között lejátszódó cserereakciók (IV.2.1 egyenlet) sebességét, annak kiderítésére, hogy a foszfonátcsoport jelenléte befolyásolja-e a kialakuló komplex kinetikai stabilitását.



ahol  $\text{M} = \text{Cu}^{2+}, \text{Eu}^{3+}$

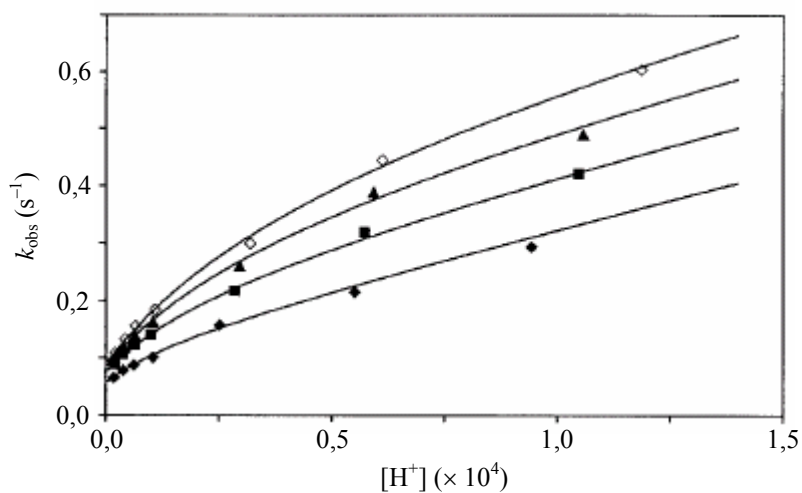
A fenti cserereakciók sebessége a következő:

$$-\frac{d[\text{Gd}(\text{DTTAMP})]}{dt} = k_{\text{obs}}[\text{Gd}(\text{DTTAMP})] \quad \text{IV.2.2}$$

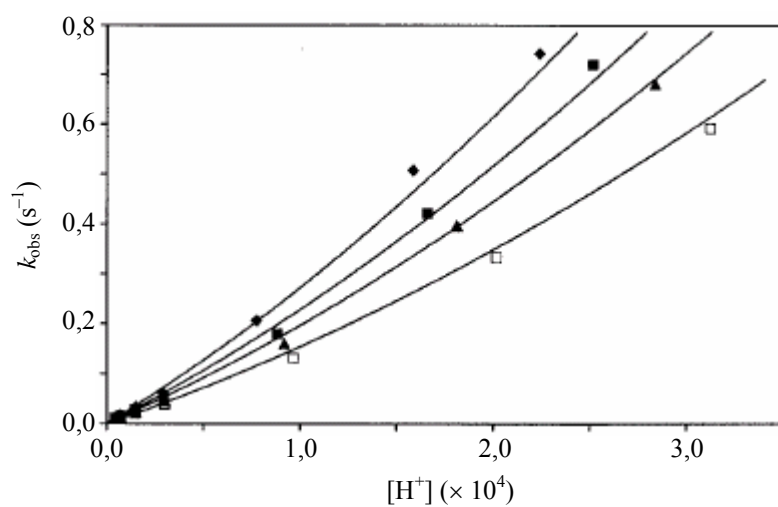
ahol  $k_{\text{obs}}$  pszeudo-elsőrendű sebességi állandó,  $[\text{Gd}(\text{DTTAMP})]$  pedig a komplex teljes koncentrációját jelöli.

Vizsgáltuk a reakciók sebességének változását a pH és a kicserélő fémion koncentrációjának függvényében. A méréseket a 3,5–5,7 pH-tartományban végeztük, a kicserélő fémiont 10-től 70-szeres feleslegben alkalmaztuk a komplex koncentrációjához képest. A kicserélő fémion feleslegének alkalmazása biztosította a pszeudo-elsőrendű feltételt, így a kicserélődés sebessége a IV.2.2 egyenlettel jellemezhető.

A  $\text{Cu}^{2+}$ -ionnal végrehajtott kicserélődési reakciókra kapott pszeudo-elsőrendű sebességi állandókat a IV.2.1 ábrán tüntettük fel a  $\text{H}^+$ -ion koncentráció függvényében, míg az  $\text{Eu}^{3+}$ -ionnal lejátszódó reakciókét a IV.2.2 ábra mutatja. Ellentétben a  $\text{Gd}(\text{DTPA})$ -komplexek disszociációs reakciói korábban megállapított sebességével, a  $\text{Gd}(\text{DTTAMP})$ -komplex disszociációjának sebessége annyira nagy az alkalmazott kísérleti körülmények között, hogy vizsgálataink során a kicserélődési reakciókat mind  $\text{Cu}^{2+}$ , mind  $\text{Eu}^{3+}$  kicserélő fémion esetében stopped-flow technikával kellett követni.

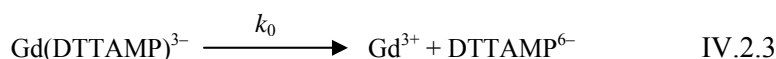


**IV.2.1 ábra** A Gd(DDTAMP)-komplex és  $\text{Cu}^{2+}$ -ion között lejátszódó kicserélődési reakció  $k_{\text{obs}}$  értékei a  $[\text{H}^+]$  függvényében.  $[\text{Gd}(\text{DDTAMP})] = 0,1 \text{ mM}$  ( $\text{Cu}^{2+}$ -ion fölöslege 10-  $\blacklozenge$ , 20-  $\blacksquare$ , 30-  $\blacktriangle$ , 40-szeres  $\diamond$ )



**IV.2.2 ábra** A Gd(DDTAMP)-komplex és  $\text{Eu}^{3+}$ -ion között lejátszódó kicserélődési reakció  $k_{\text{obs}}$  értékei a  $[\text{H}^+]$  függvényében.  $[\text{Gd}(\text{DDTAMP})] = 1,0 \text{ mM}$  ( $\text{Eu}^{3+}$ -ion fölöslege 10-  $\blacklozenge$ , 20-  $\blacksquare$ , 30-  $\blacktriangle$ , 50-szeres  $\square$ )

A IV.2.1 ábrán látható, hogy a Gd(DTTAMP) és Cu<sup>2+</sup>-ion között lejátszódó kicserélődési reakciókra kapott  $k_{\text{obs}}$  értékek növekednek a H<sup>+</sup>- és a Cu<sup>2+</sup>-ionok koncentrációjának növekedésével. Mivel a görbék telítési jellegűek, számolnunk kell vagy a kialakuló protonált komplex, vagy a kialakuló kétmagvú közttermék képződésével is (IV.2.6 – IV.2.7 egyenlet). Meg kell említeni, hogy a kinetikai vizsgálatok során átmenetileg képződő protonált illetve kétmagvú komplexek stabilitási állandó értékeit nem lehet összehasonlítani az egyensúlyban megjelenő komplexekével, mivel előbbiek a sebesség meghatározó lépés szempontjából fontos részecskék, melyek az egyensúlyi folyamatokban nem jelennek meg. Az előző ábrákon bemutatott eredmények alapján feltételeztük, hogy a komplexek disszociációja a következő reakcióutakon következik be:



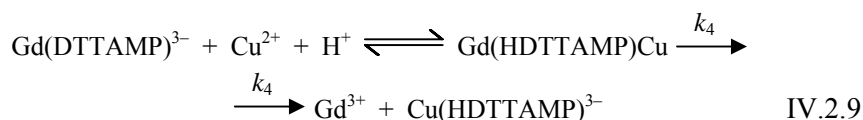
$$K_{\text{H}} = \frac{[\text{GdHL}]}{[\text{GdL}][\text{H}^+]} \quad \text{IV.2.6} \quad K_{\text{M}} = \frac{[\text{GdLM}]}{[\text{GdL}][\text{M}]} \quad \text{IV.2.7}$$

Ezeket a feltételezett reakcióutakat és a IV.2.6 és IV.2.7 egyenleteket figyelembe véve a cserereakciók sebessége a következőképpen adható meg (IV.2.8 egyenlet):

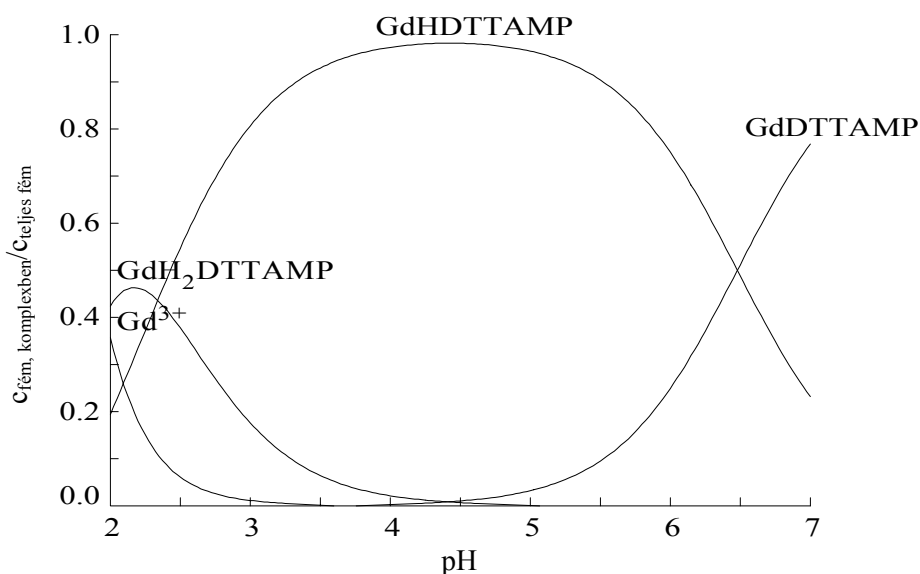
$$k_{\text{obs}} = \frac{k_0 + k_1[\text{H}^+] + k_3[\text{Cu}^{2+}]}{1 + K_{\text{H}}[\text{H}^+] + K_{\text{Cu}}[\text{Cu}^{2+}]} \quad \text{IV.2.8}$$

A kapott  $k_{\text{obs}}$  értékeket a IV.2.8 egyenletre illesztve, a sebességi állandókra nem kaptunk reális eredményt, sem a spontán disszociációt jellemző reakcióútra, sem a

kétmagvú köztitermék stabilitási állandójára, valamint nagy hibával tudtuk számolni a protonkatalizált úton lefolyó reakció sebességét is. A spontán disszociációval lefolyó reakciótat jellemző sebességi állandót feltételezhetően azért nem sikerült meghatározni, mert az adott kísérleti körülmények között ennek a reakcióútnak elhanyagolhatóan kis szerepe van. Figyelembe véve, hogy a 3,5–5,7 pH-tartományban a Gd(DTTAMP)-komplex jelentős mennyiségben monoprotonált formában van jelen (IV.2.3 ábra), elképzelhető további protonálódási folyamat is, melynek során a kétszer protonált komplex disszociációja is bekövetkezhet (IV.2.10 egyenlet), valamint a kicserélő fémion támadhatja az egyszer protonált komplexet is, amikor egy, a protonkoncentrációtól és kicserélő fémion koncentrációtól egyaránt függő reakcióúthoz jutunk. Ezt a reakciótat (IV.2.9 egyenlet), és a kétszer protonált komplex képződésén keresztül lejátszódó reakció lehetőségét is figyelembe véve, valamint elhanyagolva a kétmagvú köztitermék szerepét, és így stabilitási állandóját a nevezőben ( $K_{Cu}$  kicsi), valamint a spontán disszociációra vonatkozó sebességi állandót, a IV.2.11 egyenlethez jutunk.



$$k_{\text{obs}} = \frac{k_1[\text{H}^+] + k_2[\text{H}^+]^2 + k_3[\text{Cu}^{2+}] + k_4[\text{H}^+][\text{Cu}^{2+}]}{1 + K_{\text{H}}[\text{H}^+]} \quad \text{IV.2.11}$$



IV.2.3 ábra A Gd(DDTAMP) koncentrációeloszlási diagramja (1 mM)

A  $k_{\text{obs}}$  értékeket a IV.2.11 egyenletre illesztve kiszámoltuk az egyes reakcióutakat jellemző sebességi állandókat, melyeket a IV.2.3 táblázatban mutatunk be.

Az  $\text{Eu}^{3+}$ -ionnal lejáró fémioncsere reakciók esetében a reakció sebesség szintén nő a protonkoncentráció növekedésével, ugyanakkor azt tapasztaltuk, hogy az  $\text{Eu}^{3+}$ -ion koncentrációjának növekedése a reakciósebesség csökkenését eredményezi (IV.2.2 ábra). Ez a folyamat akkor következik be, amikor a kétmagvú köztitermék ugyan kialakul (erre az egyensúlyi adatok alapján lehetőség van), de a képződött kétmagvú komplexben a donortomok átrendeződése a támadó fémion koordinációs szférájába nem lehetséges. Az  $\text{Eu}^{3+}$ -ionnal kialakuló kétmagvú köztiterméknek nincs töltése, ellentétben a  $\text{Cu}^{2+}$ -ionnal kialakuló köztitermék egy negatív töltésével, ami a Gd(DDTAMP)Eu esetén megnehezíti a proton támadását a komplexen. Így az  $\text{Eu}^{3+}$ -ionnal lejáró fémioncsere reakciók esetében nem találtunk sem a fém közvetlen támadásával, sem a proton és a fém együttes támadásával végbemenő reakcióutakat, valamint nem tudtuk számolni a protonált komplex stabilitási állandóját sem, aminek oka

szintén a kétmagvú köztitermék kialakulásában keresendő. A IV.2.2 ábrán látszik az is, hogy a görbék a nulla pontból indulnak, ami kizárja a komplex spontán disszociációja és az  $\text{Eu}^{3+}$  közvetlen támadásával lefolyó reakció lehetőségét. Ezek alapján a reakciókra kapott pszeudo-elsőrendű sebességi állandókat a IV.2.12 egyenletre illesztve, figyelembe véve a protonkatalizált disszociációra vonatkozó reakcióutakat, valamint a kialakuló köztitermék stabilitási állandóját kiszámítottuk a reakciót jellemző sebességi állandókat.

$$k_{\text{obs}} = \frac{k_1[\text{H}^+] + k_2[\text{H}^+]^2}{1 + K_{\text{Eu}}[\text{Eu}^{3+}]} \quad \text{IV.2.12}$$

A Gd(DTTAMP)-komplex kicserélődési reakcióira kapott sebességi állandókat a IV.2.3 táblázatban tüntettük fel. A táblázatban szereplő adatokat összehasonlítva látható, hogy a Gd(DTTAMP) komplex protonkatalizált disszociációjával lejátszódó reakciókat jellemző sebességi állandók értéke 3–4 nagyságrenddel nagyobb a Gd(DTPA)-komplexéhez képest. Ez az eredmény nagyon meglepő, mivel a DTPA ligandumban csupán a középső karboxilátcsoportot helyettesítettük foszfonátcsoporttal.

**IV.2.3 táblázat** A Gd(DTTAMP) és Gd(DTPA) komplexek disszociációját jellemző sebességi állandók (25 °C)

	Gd(DTTAMP)	Gd(DTPA) <sup>a</sup>
$k_1$ ( $\text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$ )	$(3,38 \pm 0,22) \times 10^3$	0,58
$k_2$ ( $\text{M}^{-2}\text{s}^{-1}$ )	$(1,02 \pm 0,20) \times 10^7$	$9,7 \times 10^4$
$k_3^{\text{Cu}}$ ( $\text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$ )	$33 \pm 3$	0,93
$k_4^{\text{Cu}}$ ( $\text{M}^{-2}\text{s}^{-1}$ )	$(9,4 \pm 1,3) \times 10^5$	–
$K_{\text{H}}$ ( $\text{M}^{-1}$ )	$(5,7 \pm 0,8) \times 10^3$	100
$K_{\text{Eu}}$ ( $\text{M}^{-1}$ )	$50 \pm 7$	20

<sup>a</sup>, [31]

Ahogy azt az előző fejezetben már tárgyaltuk, a komplex disszociációja lejátszódásának szempontjából fontos, hogy a ligandum N donortomja(i) protonálódjanak. A Gd(DTPA)-komplexben a ligandum karboxilátcsoportjainak a protonálódási állandói kicsik, ellentétben a Gd(DTTAMP)-komplex foszfonátcsoportjainak a protonálódási állandóival. A vizsgált pH-tartományban a Gd(DTTAMP)-komplex gyakorlatilag monoprotonált formában van jelen, ami azt eredményezi, hogy a foszfonát oxigéneken elhelyezkedő proton könnyen a középső N donortomra kerülhet. A középső N donortom protonálódása pedig a Gd–N koordináció megszűnését eredményezi, ennek következtében a komplexben csak két távoli iminodiacetát-koordinációjával számolhatunk, ami a kinetikai stabilitás drámai csökkenéséhez vezet. A laboratóriumban korábban végzett <sup>1</sup>H-NMR-es vizsgálatokkal megállapították hogy a DTPA származékokkal képződő komplexek disszociációja szempontjából a középső N-atom protonálódásának döntő szerepe van, amikor könnyen képződhet egy olyan, gyorsan disszociáló köztitermék, amelyben csupán az egyik iminodiacetát koordinálódik [113]. Egy ilyen köztitermék képződésére lényegesen nagyobb lehetőség van a középső N-en egy erősen bázikus foszfonátcsoportot tartalmazó DTTAMP, mint a DTPA esetében.

A DTPA ligandum kétmagvú komplexek képzésére mutatott hajlama sokkal kisebb, mint azt a DTTAMP esetében tapasztaltuk. Ez lehet a magyarázata annak, hogy a Gd(DTTAMP)-komplex esetében a fémion közvetlen támadásával lefolyó reakció sebessége jóval nagyobb, mint a Gd(DTPA)-komplexek esetében.



### IV.3 A DO2A2P ligandum komplexképző sajátosságai

#### IV.3.1 Egyensúlyi vizsgálatok

A DOTA és DOTP ligandumok előállítására óta eltelt évtizedekben számos fémionnal kialakuló komplexeik koordinációs kémiai és biológiai viselkedését tanulmányozták. A DOTA ligandum  $Gd^{3+}$ -ionnal kialakuló komplexét Dotarem<sup>®</sup> néven, mint MRI kontrasztanyagot már körülbelül 20 éve alkalmazzák az orvosi diagnosztikában. Ezzel szemben a DOTP ligandummal kialakuló komplexeknek kisebb a jelentősége. Ennek egyik oka a kialakuló komplexek nagy töltése, ami az ozmotikus koncentrációt növeli, ezzel az injekálás során tapasztalt fájdalom mértéke növekszik, de MRI kontrasztanyagként való alkalmazása azért sem lehetséges, mivel a  $Gd(DOTP)$ -komplexben kötött fémion belső koordinációs szférájában nincs vízmolekula. Ugyanakkor a  $Ln(DOTP)^{5-}$ -komplexeket nagy negatív töltésük miatt biológiai vizsgálatokban alkalmazzák paramágneses shift reagensként az izolált sejtek  $^{23}Na$ -koncentrációjának meghatározására és állatkísérletekben a perfundált szív vagy agy funkcióinak tanulmányozására [114–116].

A DOTA és DOTP lantanoida(III)ionokkal kialakuló komplexeinek termodinamikai és kinetikai stabilitása nagyságrendekkel nagyobb a nyílt láncú poliamino-polikarboxilát és –polifoszfónát ligandumokkal kialakuló komplexekénél, amit a DOTA-származék ligandumok merev szerkezete okoz. Ennek fényében jelentős eredmény lenne, olyan új makrociklusos DOTA-származék ligandumok fejlesztése, amelyek lantanoida- és más fémionokkal kialakuló komplexei legalább olyan jó, vagy jobb diagnosztikai és terápás tulajdonságokkal rendelkeznek, mint a gyakorlatban már széleskörűen használt komplexek. A ligandumba bevitt foszfónátcsoportok számának növekedése az alkalmazott komplex csontokhoz való affinitása növekedését eredményezi, ami a csontok kóros elváltozásának kezelésében jelenthet nagy előnyt, valamint kedvez a

kétmagvú komplexek kialakulásának, így lehetőség nyílt a szervezetben jelen levő endogén fémionok koncentrációeloszlásának tanulmányozására, akár az eredmények diagnosztikai célú felhasználása szempontjából is. Ezért részletesen tanulmányoztuk a transz-DO2A2P ligandum lantanoida(III)- és más fémionokkal kialakuló komplexeinek egyensúlyi és kinetikai viselkedését, valamint meghatároztuk  $\text{Eu}^{3+}$ - és  $\text{Lu}^{3+}$ -ionokkal kialakuló komplexei oldatbeli szerkezetét.

Egyensúlyi vizsgálataink során meghatároztuk a DO2A2P ligandum protonálódási állandó értékeit (IV.3.1.1 táblázat), valamint számos lantanoida(III)- és más fémionokkal kialakuló komplexének stabilitási állandóját.

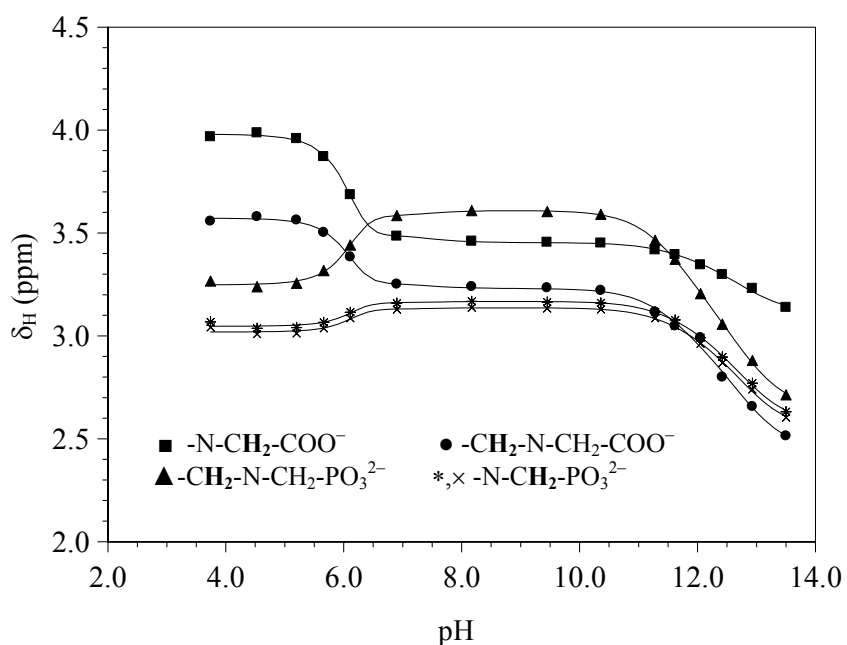
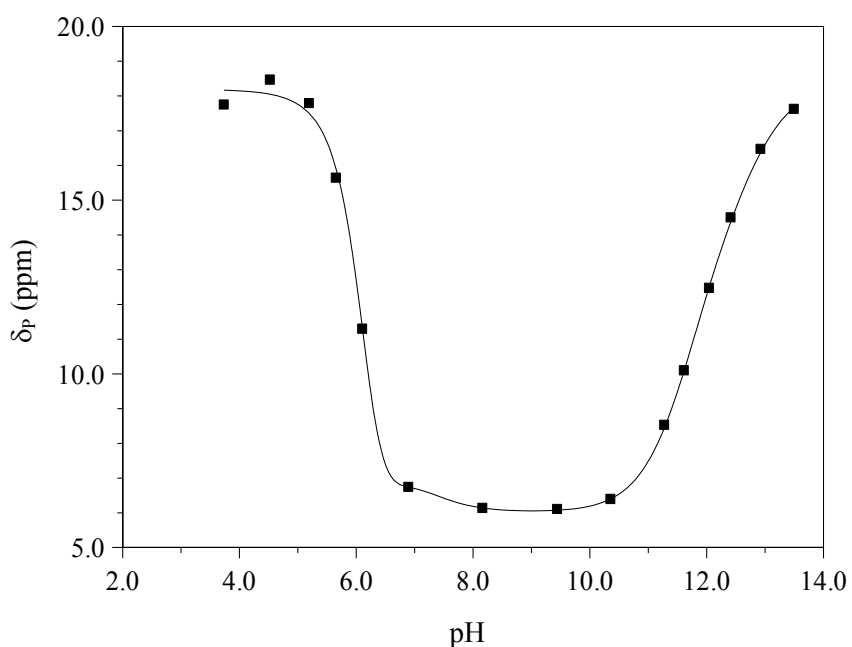
A DO2A2P ligandum első két protonálódási állandójának értéke a DOTA és a DOTP ligandumok protonálódási állandó értékeihez hasonlóan nagy (IV.3.1.1 táblázat). Az első protonálódási állandó megbízhatóságának ellenőrzésére a titrálásokat  $\text{pH} = 12,5$ -ig végeztük, valamint a donortomok protonálódási sorrendjének megállapítására fölvevük a ligandum  $^1\text{H}$ - (IV.3.1.1 ábra) és  $^{31}\text{P}$ -NMR titrálási görbéit (IV.3.1.2 ábra).

**IV.3.1.1 táblázat** A DO2A2P ligandum protonálódási állandó értékei (1,0 M KCl, 25 °C)

	DO2A2P pH-potenciometria	DO2A2P $^1\text{H}$ -NMR	DOTP <sup>a</sup>	DOTA <sup>b</sup>
$\log K_1$	12,6(0,01)	12,8(0,05)	13,7	12,6
$\log K_2$	11,43(0,01)	11,70(0,02)	12,2	9,70
$\log K_3$	5,95(0,01)	5,93(0,08)	9,28	4,50
$\log K_4$	6,15(0,01)	6,15(0,04)	8,09	4,14
$\log K_5$	2,88(0,01)	–	6,12	2,32
$\log K_6$	2,77(0,01)	–	5,22	–

<sup>a</sup>, [117], <sup>b</sup>, [118]

A pH-potenciometriás és  $^1\text{H}$ -NMR-spektroszkópiás mérések eredményei jó egyezést mutatnak, ami alátámasztja a pH-potenciometriás mérések helyességét.

IV.3.1.1 ábra A DO2A2P ligandum  $^1H$ -jeleinek kémiai eltolódása ( $\delta_H$ ) a pH-függvényébenIV.3.1.2 ábra A DO2A2P ligandum  $^{31}P$ -jelenek kémiai eltolódása ( $\delta_P$ ) a pH-függvényében

A pH csökkenésével (13,5  $\rightarrow$  10) a ligandum NMR-jelei eltolódnak a nagyobb frekvenciák irányába mind a  $^{31}\text{P}$ - mind a proton spektrumok esetében, amit a makrociklus két átellenes N donoratomja protonálódása eredményez. A DO2A2P ligandum első két protonálódási állandójának nagy értékei a foszfonátcsoportok és a protonált N donoratomok között kialakuló erős H-kötéseknek tulajdoníthatók. A  $^1\text{H}$ -NMR spektrumban a többi proton jelének eltolódását feltételezhetően (ahogy az megfigyelhető a DOTP ligandum esetében is [7]) a nagyobb pH értékeknél kialakuló  $\text{K}^+$ -komplex disszociációja eredményezi. A pH = 7–10 tartományban nincs változás sem a  $^{31}\text{P}$ - sem a  $^1\text{H}$ -spektrumokban, ami a pH-metriás mérésekkel összhangban nem jelez protonálódási folyamatot. pH < 7 tartományban újabb protonálódási folyamat(ok) figyelhető(k) meg, ami a metilénfoszfonát és a gyűrűben mellettük levő metilén-csoportok ( $\text{CH}_2\text{-N-CH}_2\text{-PO}_3^{2-}$ ) hidrogénjei jelének ellentétes irányú, a kisebb frekvenciák felé történő eltolódásával jár. Ennek magyarázata az, hogy a foszfonátcsoportokon bekövetkező protonálódási folyamattal párhuzamosan a proton-proton taszítás miatt az  $\text{-NH}^+\text{-CH}_2\text{-PO}_3^{2-}$ -csoportok protonjai átkerülnek a  $\text{-N-CH}_2\text{-COO}^-$ -csoportok nitrogén donoratomjaira. Közben a  $\text{CH}_2\text{-N-CH}_2\text{-COO}^-$  metilén jelek a nagyobb frekvenciák felé tolódnak el. A pH = 4–13,5 tartományban elvégzett NMR-titrálások adatait felhasználva kiszámítottuk az egyes protonálódási folyamatokat jellemző állandókat, amelyeket a pH-metriás eredményekkel együtt a IV.3.1.1 táblázat tüntettünk fel. A táblázatban szerepelnek még a DOTA valamint a DOTP ligandumok protonálódási állandói is. Az NMR-es mérésekből meghatározott első két protonálódási állandó értéke kicsivel nagyobb, mint a pH-metriás módszerrel meghatározott állandók értéke, aminek lehetséges magyarázata, hogy az NMR-es mérések során nem használtunk az ionerősség állítására sót, így a  $\text{K}^+$ -ion (KOH-dal állítottuk a pH-t) koncentrációjának maximális értéke (a ligandum koncentrációját és az elért 13,5 pH értéket figyelembe véve) körülbelül 0,35 M-os volt.

A  $\text{Ca}^{2+}$ -,  $\text{Cu}^{2+}$ - és  $\text{Zn}^{2+}$ -ionnal kialakuló komplex képződése elegendően gyors volt a direkt pH-potenciometria alkalmazásához, ugyanakkor a  $\text{Ln}^{3+}$ -ionokkal

kialakuló komplexek stabilitási állandóját a lassú komplexképződés miatt csak különmintás módszerrel tudtuk meghatározni. A  $\text{Lu}^{3+}$ -komplex esetében azonban csapadék jelent meg savas tartományban, ami nem tette lehetővé a különmintás módszer alkalmazását sem. A  $\text{Lu}^{3+}$ -komplex stabilitási állandóját ezért nagyobb pH-értékeken kompetíciós módszerrel,  $\text{Cu}^{2+}$ -ion segítségével határoztuk meg (lásd Kísérleti rész). A komplexek protonálódási állandóit, valamint a képződő kétmagvú komplexek stabilitási állandóit közvetlen pH-potenciometriás titrálásokkal határoztuk meg, a komplexek lúgos oldatban történt előállítás után. Az egyes komplexek stabilitási állandóit a protonálódási állandó értékek felhasználásával számítottuk ki. A kapott stabilitási állandókat a IV.3.1.2 és IV.3.1.3 táblázatban mutatjuk be.

**IV.3.1.2 táblázat** A DO2A2P ligandum  $\text{Ca}^{2+}$ -,  $\text{Cu}^{2+}$ - és  $\text{Zn}^{2+}$ -komplexeinek stabilitási állandói (log  $K$ , 1,0 M KCl, 25 °C)

	$\text{Cu}^{2+}$	$\text{Zn}^{2+}$	$\text{Ca}^{2+}$
M + L	24,9(0,04)	22,5(0,03)	15,1(0,07)
ML + $\text{H}^+$	6,79(0,05)	6,92(0,03)	7,33(0,01)
MHL + $\text{H}^+$	6,30(0,03)	6,34(0,01)	6,40(0,04)
MH <sub>2</sub> L + $\text{H}^+$	2,46(0,03)	1,96(0,03)	–
ML + M	4,72(0,04)	3,47(0,08)	3,05(0,07)

**IV.3.1.3 táblázat** A DO2A2P ligandum  $\text{Ln}^{3+}$ - és  $\text{Y}^{3+}$ -komplexeinek stabilitási állandói (log  $K$ , 1,0 M KCl, 25 °C)

	$\text{La}^{3+}$	$\text{Eu}^{3+}$	$\text{Gd}^{3+}$	$\text{Y}^{3+}$	$\text{Lu}^{3+}$
M + L	23,3(0,08)	25,6(0,04)	25,7(0,09)	26,6(0,09)	26,4(0,09)
ML + $\text{H}^+$	5,40(0,08)	5,34(0,05)	5,32(0,08)	5,19(0,09)	5,26(0,02)
MHL + $\text{H}^+$	4,49(0,08)	4,64(0,05)	4,55(0,08)	4,27(0,09)	4,42(0,02)
ML + M	2,77(0,05)	3,78(0,07)	3,75(0,07)	3,10(0,05)	4,33(0,04)

A IV.3.1.4 táblázatban feltüntettük a DO2A2P, DOTA és DOTP ligandumok néhány fémionnal kialakuló komplexének stabilitási állandóját. A stabilitási állandókat összehasonlítva látható, hogy a DOTA két acetátcsoportjának metilénfoszfónát-csoportra történő cseréje a stabilitási állandók növekedését eredményezi. Egyedüli kivétel a  $\text{Ca}^{2+}$ -komplex, ahol a funkciós csoportok cseréje a stabilitási állandó csökkenéséhez vezet. Ugyanakkor elmondható, hogy a DO2A2P ligandum komplexeinek stabilitási állandói a DOTA és DOTP ligandumokkal kialakuló komplexeké között helyezkednek el.

**IV.3.1.4 táblázat** A DO2A2P, DOTA és DOTP ligandumok néhány fémionnal kialakuló komplexeinek stabilitási állandói ( $\log K$ )

	DO2A2P	DOTA	DOTP
$\text{Ca}^{2+}$	15,1(0,07)	17,2 <sup>a</sup>	10,3 <sup>d</sup>
$\text{Cu}^{2+}$	24,9(0,04)	22,2 <sup>b</sup>	25,4 <sup>d</sup>
$\text{Zn}^{2+}$	22,5(0,03)	21,1 <sup>b</sup>	24,8 <sup>d</sup>
$\text{La}^{3+}$	23,3(0,08)	22,9 <sup>c</sup>	27,6 <sup>e</sup>
$\text{Gd}^{3+}$	25,7(0,09)	24,7 <sup>c</sup>	28,8 <sup>e</sup>
$\text{Lu}^{3+}$	26,4(0,09) <sup>a</sup>	25,4 <sup>c</sup>	29,6 <sup>e</sup>

<sup>a</sup>, [119], <sup>b</sup>, [120], <sup>c</sup>, [121], <sup>d</sup>, [7], <sup>e</sup>, [96]

A  $\text{Ca}^{2+}$ -,  $\text{Cu}^{2+}$ - és  $\text{Zn}^{2+}$ -komplexek protonálódási állandói – amelyek a foszfónátcsoportok protonálódásához rendelkeznek – nagyobbak a szabad ligandum foszfónátcsoportjainak protonálódási állandóitól. Ennek egyik lehetséges magyarázata az, hogy a  $\text{Cu}^{2+}$  és  $\text{Zn}^{2+}$  koordinációs száma kisebb a ligandum donoratombjai számánál, továbbá a komplexben nincs olyan erős H-kötés, az  $\text{NH}^+$  és  $\text{PO}_3^{2-}$  között mint a szabad ligandumban, ahol ez lecsökkenti a  $\log K_3$  és  $\log K_4$  értékét. A  $\text{Cu}^{2+}$ - és  $\text{Zn}^{2+}$ -komplexek esetében egy harmadik protonálódási folyamat is lejátszódik, amit az egyik acetátcsoport protonálódása eredményezhet. A  $\text{Ln}^{3+}$ -ionokkal kialakuló komplexek esetén csak két protonálódási állandót találtunk,

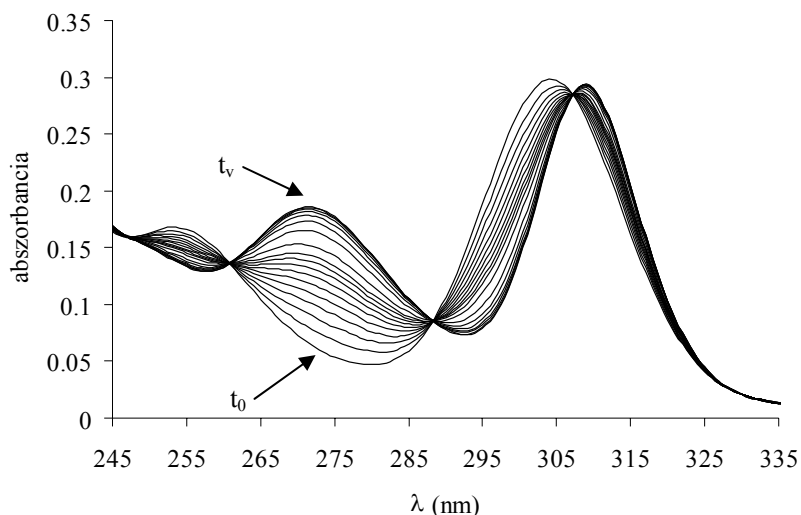
amelyek értéküket tekintve a foszfonátcsoportok protonálódásához rendelkezhetőek. A komplexek protonálódási állandó értékeihez hasonlóan a kétmagvú komplexek stabilitási állandói a  $\text{Cu}^{2+}$  és  $\text{Zn}^{2+}$  esetében nagyobbak, mint a  $\text{Ln}^{3+}$ -ionoknál, amiben szintén a  $\text{Cu}^{2+}$  és  $\text{Zn}^{2+}$  kisebb koordinációs számának lehet szerepe.

### ***IV.3.2 Kinetikai vizsgálatok***

A  $\text{Ce}(\text{DO2A2P})$ - és  $\text{Gd}(\text{DO2A2P})$ -komplexek képződése lassú, így a  $\text{Ce}(\text{DO2A2P})$  esetében fotometriás, míg  $\text{Gd}(\text{DO2A2P})$ -komplexek esetében relaxometriás mérésekkel tudtuk követni a képződési reakciókat.

A  $\text{Ce}(\text{DO2A2P})$ -komplex képződésének spektrofotometriás vizsgálata során a kapott spektrumok alapján egy köztitermék képződése, majd annak további lassú végtermékké alakulása figyelhető meg (IV.3.2.1 ábra). Hasonló köztitermék képződését figyelték meg a  $\text{Ce}(\text{DOTA})$  képződésekor, ami egy kétszer protonált részecskének bizonyult [23].

Mivel a  $\text{DO2A2P}$  első két protonálódási állandója a  $\text{DOTA}$  liganduméhoz hasonlóan nagy, feltételeztük, hogy a  $\text{Ce}^{3+}$  és  $\text{DO2A2P}$  reakciójában is első lépésben egy kétszer protonált köztitermék keletkezik. A feltételezett köztitermék stabilitási állandóját 1:1  $\text{Ce}^{3+}$ - $\text{DO2A2P}$  koncentráció aránynál az 1,8–4 pH-tartományban végzett pH-potenciometriás titrálással sikerült meghatározni:  $\log K_{\text{Ce}(\text{H}_2\text{DO}_2\text{A}_2\text{P})^*} = 10,45(0,07)$ , míg a köztitermék protonálódási állandója  $\log K^{\text{H}}_{\text{Ce}(\text{H}_2\text{DO}_2\text{A}_2\text{P})^*} = 3,95(0,03)$ . A köztitermékben a  $\text{Ce}^{3+}$ -ion valószínűleg a foszfonát- és acetátcsoporthoz koordinálódik, míg a makrociklusos gyűrű két nitrogén donoratomja protonálva van. A köztitermék protonálódása esetén, a harmadik proton feltételezhetően az egyik foszfonátcsoport bázikusabb oxigénjét protonálja, ugyanakkor nem zárható ki az sem a protonálódási állandó értékét tekintve, hogy a protonálódás az egyik karboxilátcsoporton következik be.



**IV.3.2.1 ábra** A Ce<sup>3+</sup>-ion és a DO2A2P ligandum között lejátszódó komplexképződési reakció abszorbancia görbéinek változása az idő függvényében ( $[Ce^{3+}] = 4 \times 10^{-4}$  M,  $[DO2A2P] = 4 \times 10^{-3}$  M) (A  $t_0$  és  $t_v$  között eltelt idő 100 perc.)

A fémion felesleg jelenlétében végzett komplexképződési reakciók vizsgálata esetében azt tapasztaltuk, hogy a fémion koncentrációjának növekedésével a reakció sebesség csökken, ami csak abban az esetben képzelhető el, ha olyan köztitermék képződik, amelynek átalakulása a végtermékké nem mehet végbe közvetlenül. Ennek egyik oka a DO2A2P ligandummal képződő kétmagvú köztitermék kialakulása lehet. Ce<sup>3+</sup> felesleg mellett végzett pH-potenciometriás mérésekkel sikerült ennek a kétmagvú köztiterméknek az egyensúlyi állandóját is meghatároznunk:  $\log K_{Ce(H_2DO_2A_2P)^*}^{Ce} = 3,16(0,07)$ . Az alkalmazott Ce<sup>3+</sup>-ion felesleg (5–40-szeres) a kétmagvú köztitermék kialakulásának kedvez, így már 10-szeres fémion felesleg esetén a kétmagvú köztitermék mintegy 70–80 %-ban kialakul. A fémion felesleg alkalmazása esetén kapott  $k_{obs}$  értékek felhasználásával végzett számításokból ezért nem kaptunk reális eredményt.

A háromszor protonált köztitermék koncentrációja a vizsgált pH-tartományban elhanyagolható, amit az abszorbancia görbék esetén megjelenő



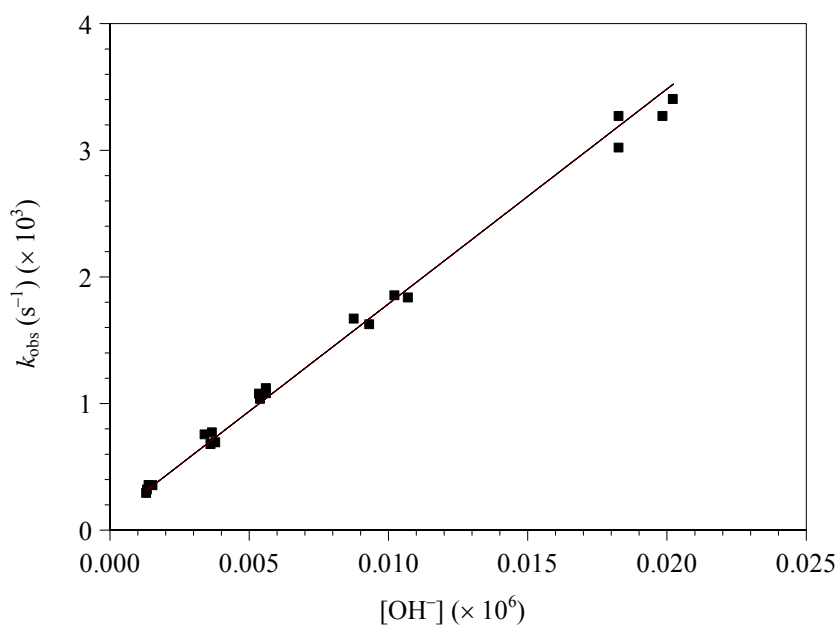
izobesztikus pontok (IV.3.2.1 ábra) igazolnak, így csak két részecske megjelenésével kellett számolnunk a ligandumfelesleg alkalmazásával végzett kinetikai méréseknél. A  $Gd^{3+}$ -ion és a DO2A2P ligandum között lejátszódó képződési reakciók esetében a  $Ce^{3+}$ -nál tapasztaltakat alapul véve, ugyancsak ligandumfelesleget alkalmaztunk.

A ligandumfelesleg alkalmazásával biztosítottuk a pszeudo-elsőrendű feltételt, így a képződési reakciók sebessége  $Ce^{3+}$ - és  $Gd^{3+}$ -ion esetében is a következő egyenlettel fejezhető ki:

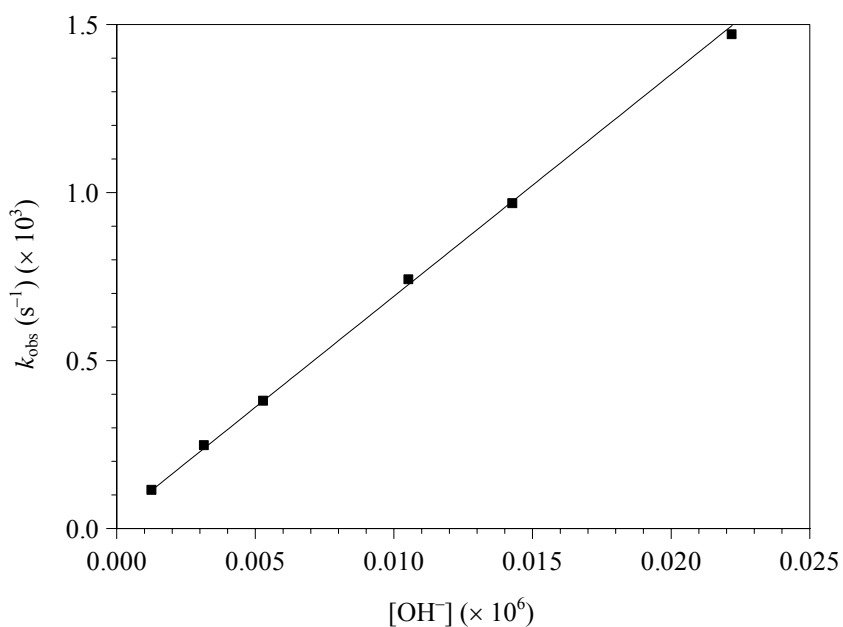
$$\frac{d[Ln(DO2A2P)]_t}{dt} = k_{obs}[Ln^{3+}] \quad IV.3.2.1$$

ahol  $[Ln(DO2A2P)]$  a komplex teljes koncentrációját jelöli.

Mind a két fémionnal lejátszódó képződési reakció esetében azt tapasztaltuk (IV.3.2.2 és IV.3.2.3 ábra), hogy a reakció sebesség növekszik a  $OH^-$  koncentrációjának növekedésével, valamint a reakciósebesség értéke nulla  $OH^-$ -ion koncentráció esetében sem nulla, ami igen szokatlan viselkedés összehasonlítva a  $Ln(DOTA)$  [118] komplexek képződési sebességével, ahol ilyen jelenség nem figyelhető meg.

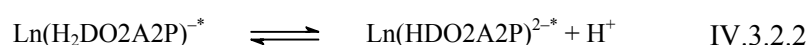


**IV.3.2.2 ábra** A Ce(DO2A2P) komplex képződési reakciójának  $k_{\text{obs}}$  értékei a  $[\text{OH}^-]$  függvényében. ( $[\text{Ce}^{3+}] = 4 \times 10^{-4} \text{ M}$ ,  $[\text{DO2A2P}] = 4 \times 10^{-3} \text{ M}$ )



**IV.3.2.3 ábra** A Gd(DO2A2P) komplex képződési reakciójának  $k_{\text{obs}}$  értékei a  $[\text{OH}^-]$  függvényében. ( $[\text{Gd}^{3+}] = 1 \times 10^{-3} \text{ M}$ ,  $[\text{DO2A2P}] = 1 \times 10^{-2} \text{ M}$ )

A Ln(DOTA)-komplexek képződése során a köztitermék átalakulásának egyetlen módja, a köztitermék báziskatalizált protonvesztése, átalakulása. Ez a folyamat szintén megfigyelhető a DO2A2P-komplexek kialakulása esetén is. A kétszer protonált köztitermék báziskatalizált átalakulása egy monoprotónált köztitermék kialakulásán keresztül képzelhető el, a következő egyensúlyi folyamatban [118]:



Az egyensúly erősen el van tolódva a kétszer protonált köztitermék képződésének irányába mert az egyszer protonált köztitermék protonálódási állandója nagy, bár feltételezhetően kisebb, mint a szabad ligandum protonálódási állandója,  $\log K_2 = 11,43$  (IV.3.1.1 táblázat). A Ln(DO2A2P)-komplexek kialakulásának sebességmeghatározó lépése az egyszer protonált köztitermék deprotonálódása. A IV.3.2.2 egyenlet szerint a monoprotónált köztitermék koncentrációja egyenesen arányos az  $1/[\text{H}^+]$  ill.  $[\text{OH}^-]$  értékével, amint az a IV.3.2.2 és IV.3.2.3 ábrákon látható. A deprotonálódás általános báziskatalizált folyamat és bázisként szerepelhet egy vízmolekula is [118]. A Ln(DOTA)-komplexek képződésével ellentétben az Ln(DO2A2P)-komplexek képződésénél a kétszer protonált köztitermék átalakulására egy a  $\text{OH}^-$ -iontól és egyéb bázistól független út is lehetséges. Ennek egyetlen magyarázata, hogy a ligandumban jelen levő foszfonátcsoportokra kerülhet át a proton a gyűrű N donoratomjáról. A  $\text{Ln}(\text{H}_2\text{DOTA})^{+*}$  köztitermékek acetátcsoportjainál a  $\text{Ln}(\text{H}_2\text{DO}_2\text{A}_2\text{P})^{-*}$  köztitermékek foszfonátcsoportjainak nagyobb bázicitása erre lehetőséget ad, így egy olyan kétszer protonált köztitermék kialakulására van lehetőség, ahol már csak a gyűrű egyetlen N-donoratomja van protonálva. A Ce(DO2A2P)-komplexek esetében vizsgálatainkat több ligandum koncentrációnál elvégeztük, ugyanakkor mivel a ligandum koncentráció változásának bizonyos (aránylag kis) koncentráció felett nem volt hatása a reakció sebességre, ezért a Gd(DO2A2P)-komplex

képződésének vizsgálatokor már csak a  $\text{OH}^-$ -ionok hatását vizsgáltuk tízszeres ligandumfelesleg mellett.

Az előzőekben vázolt reakcióutakat figyelembevéve a képződési reakciók pszeudo-elsőrendű sebességi állandója a következőképpen adható meg:

$$k_{\text{obs}} = k_L + k_{\text{OH}}[\text{OH}^-] \quad \text{IV.3.2.3}$$

ahol  $k_L$  a kétszerprotonált köztitermék spontán átalakulását, a  $k_{\text{OH}}$  pedig a kétszer protonált köztitermék általános báziskatalizált átalakulását jellemző sebességi állandó.

A számítások során kapott sebességi állandókat a IV.3.2.1 táblázatban tüntettük fel, összehasonlításképpen a táblázatban szerepelnek még a DOTA  $\text{Ce}^{3+}$  és  $\text{Gd}^{3+}$ , valamint a DOTP  $\text{Gd}^{3+}$ -ionnal kialakuló komplexeinek képződési sebességét jellemző sebességi állandók.

**IV.3.2.1 táblázat** A DOTA, DO2A2P és DOTP ligandumok  $\text{Ce}^{3+}$  és  $\text{Gd}^{3+}$ -ionnal kialakuló komplexeinek képződését jellemző sebességi állandók (25 °C)

	DOTA <sup>a</sup>	DO2A2P	DOTP <sup>b</sup>
$k_L^{\text{Ce}} (\text{M}^{-1})$	–	$(9,1 \pm 1,2) \times 10^{-5}$	–
$k_L^{\text{Gd}} (\text{M}^{-1})$	–	$(3,0 \pm 0,3) \times 10^{-5}$	–
$k_{\text{OH}}^{\text{Ce}} (\text{M}^{-1}\text{s}^{-1})$	$2,9 \times 10^6$	$(1,7 \pm 0,3) \times 10^5$	–
$k_{\text{OH}}^{\text{Gd}} (\text{M}^{-1}\text{s}^{-1})$	$5,9 \times 10^6$	$(6,6 \pm 0,3) \times 10^4$	$7,2 \times 10^3$

<sup>a</sup>[118], <sup>b</sup>[124]

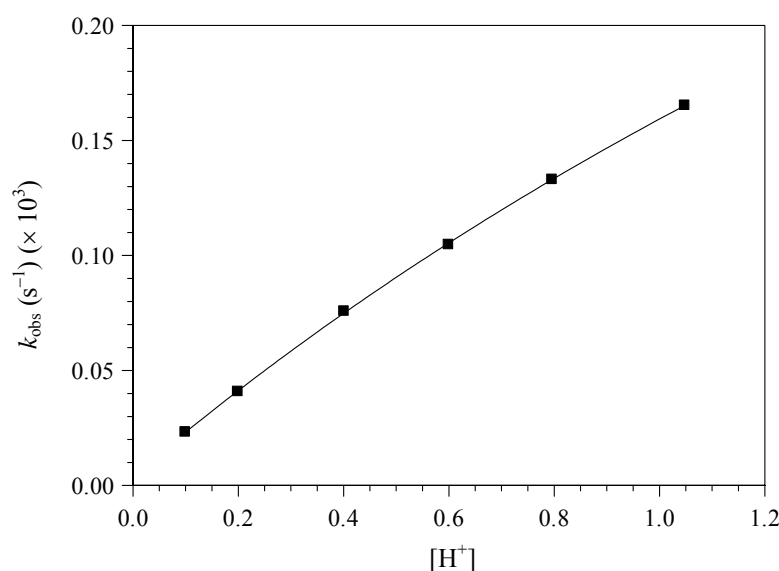
A táblázatban szereplő adatokból látható, hogy a DOTA ligandum acetátcsoportjainak foszfonátcsoportokra történő cseréje, a komplexek képződési sebességének csökkenéséhez vezet. Ez feltehetően annak a következménye, hogy a negatív töltés növekedésével a kialakuló köztitermék deprotonálódása nehezebben megy végbe.

A biológiai felhasználás szempontjából a  $\text{Gd}^{3+}$ -ion makrociklusos ligandumokkal kialakuló komplexeivel szemben támasztott egyik fontos követelmény a megfelelően nagy kinetikai stabilitás. Ezért megvizsgáltuk a  $\text{Gd}(\text{DO2A2P})$ -komplex disszociációjának sebességét.

Vizsgálatainkat a 0,1–1,0 M HCl-koncentráció tartományban végeztük, ahol a komplex disszociációjának sebessége elegendően nagy ( $[\text{HCl}] + [\text{KCl}] = 1,0$  M). A Gd-komplex relaxitása értéke ebben a pH tartományban, ahol az egyensúlyi adatok alapján a domináns részecske a kétszer protonált komplex,  $r_{1,\text{komplex}} = 7 \text{ mM}^{-1} \text{ s}^{-1}$ , míg a felszabaduló  $\text{Gd}^{3+}$ -ion relaxitása  $r_{1,\text{Gd}} = 17 \text{ mM}^{-1} \text{ s}^{-1}$ . Ez elegendően nagy relaxitás különbség a disszociáció kinetikai vizsgálatának végrehajtásához. A komplex disszociációja a következő sebességi egyenlettel jellemezhető:

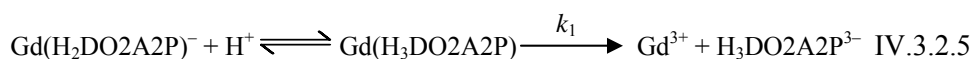
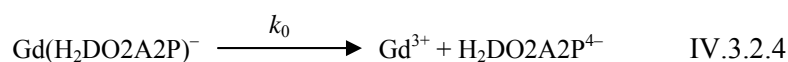
$$-\frac{d[\text{Gd}(\text{DO2A2P})]}{dt} = k_{\text{obs}}[\text{Gd}(\text{DO2A2P})] \quad \text{IV.3.2.3}$$

A mérések során kapott  $k_{\text{obs}}$  értékeket a  $\text{H}^+$ -ion koncentrációjának függvényében a IV.3.2.4 ábrán mutatjuk be.



**IV.3.2.4 ábra** A  $\text{Gd}(\text{DO2A2P})$ -komplex disszociációs reakciójának  $k_{\text{obs}}$  értékei a  $[\text{H}^+]$  függvényében. ( $[\text{Gd}(\text{DO2A2P})] = 1 \times 10^{-3} \text{ M}$ )

Az IV.3.2.4 ábrán jól látható, hogy a  $H^+$ -ion-koncentráció növekedésével telítési jellegű görbét kapunk. A reakciósebesség nő a protonkoncentráció növekedésével, aminek alapján feltételeztük, hogy a komplex disszociációja bekövetkezhet spontán módon, a jelen levő kétszer protonált komplex disszociációjával, valamint egy további protonálódást követően egy háromszor protonált komplex disszociációjával egyaránt.



Ezt a két reakciót figyelembe véve a komplex disszociációja a következő sebességi egyenlettel jellemezhető:

$$-\frac{d[Gd(DO_2A_2P)]}{dt} = k_0[GdH_2DO_2A_2P] + k_1[GdH_2DO_2A_2P][H^+] \quad IV.3.2.6$$

A spontán és a protonkatalizált disszociációt, valamint a kialakuló háromszor protonált komplex stabilitási állandóját figyelembe véve a  $k_{obs}$  értéke a következő egyenlettel fejezhető ki:

$$k_{obs} = \frac{k_0 + k_1[H^+]}{1 + K_{GdH_3L}^H[H^+]} \quad IV.3.2.7$$

A  $k_{obs}$  értékeknek a IV.3.2.7 egyenletre történő illesztésével kapott sebességi állandókat, valamint a háromszor protonált komplex képződését jellemző egyensúlyi állandót a IV.3.2.1 táblázatban tüntettük fel.

**IV.3.2.1 táblázat** A DOTA, DO3PA, DO2A2P és DOTP ligandumok Gd<sup>3+</sup>-ionnal kialakuló komplexeinek disszociációját jellemző sebességi állandók (25 °C)

	Gd(DOTA) <sup>a</sup>	Gd(DO3AP) <sup>b</sup>	Gd(DO2A2P)	Gd(DOTP) <sup>c</sup>
$k_0$ (s <sup>-1</sup> )	$<5 \times 10^{-8}$	–	$(4,3 \pm 0,5) \times 10^{-6}$	–
$k_1$ (M <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> )	$8,4 \times 10^{-6}$	$2,78 \times 10^{-3}$	$(1,95 \pm 0,04) \times 10^{-4}$	$5,4 \times 10^{-4}$

<sup>a</sup>, [122], <sup>b</sup>, [123], <sup>c</sup>, [124]

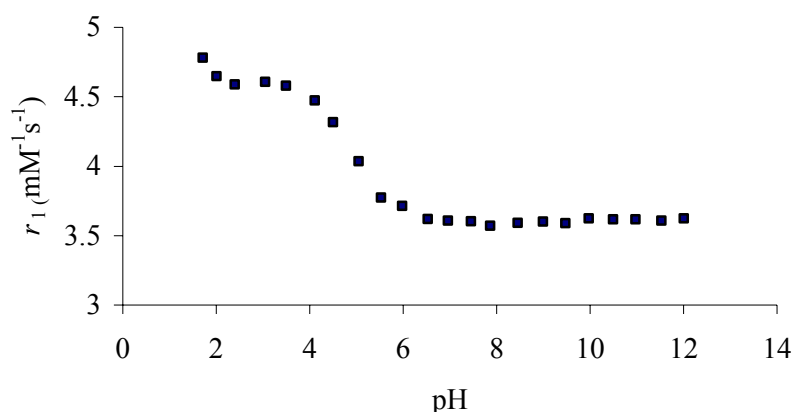
A IV.3.2.1 táblázatban szereplő sebességi állandókat összehasonlítva elmondható, hogy a DOTA ligandum acetátcsoportjainak foszfonátcsoportra történő cseréje a kialakuló Gd-komplexek kinetikai stabilitásának csökkenéséhez vezet. A komplex disszociációjának első lépése a gyűrű N donoratomjának protonálódása, ami a nagyobb bázicitással rendelkező foszfonátcsoportok jelenléte miatt nagyobb valószínűséggel bekövetkezhet, hiszen a proton könnyen a N donoratomra kerülhet a protonált foszfonátcsoportokról.

### IV.3.3 Relaxivítás vizsgálatok

A Gd-komplexek MRI kontrasztanyagként való alkalmazhatóságának egyik feltétele a fémion belső koordinációs szférájában kötött vízmolekula jelenléte. Ezért megvizsgáltuk a Gd(DO2A2P)-komplex relaxivitásának változását a pH-függvényében, valamint <sup>17</sup>O-NMR-es mérést végeztünk annak kiderítésére, hogy van-e vízmolekula a komplexben kötött fémion belső koordinációs szférájában. A komplex relaxivitásának változása a pH-függvényében a IV.3.3.1 ábrán látható.

A pH = 2–7 tartományban a komplex protonált formái, míg pH > 7 tartományban a komplex teljesen deprotonált formája van jelen, amikor a relaxivitás érték  $r_1 = 3,6 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ . A protonált komplexek nagyobb relaxivitás értékeit azzal magyarázhatjuk, hogy a foszfonátcsoportok nemkötő

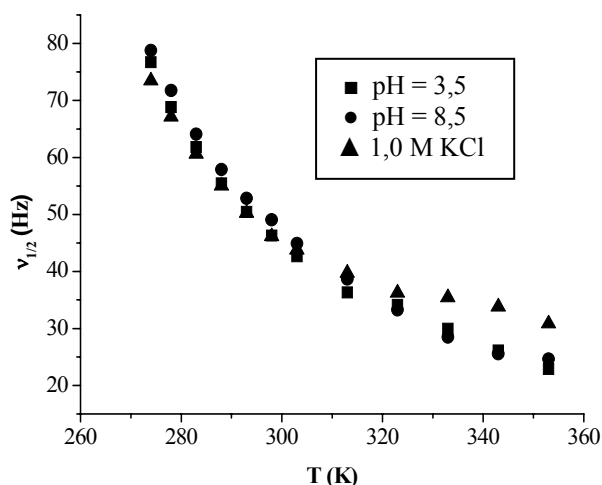
oxigénatomjának protonálódása gyorsítja a protoncsere folyamatokat, illetve a protonálódás elősegíti a koordináció megszűnését a foszfonát oxigének és a  $Gd^{3+}$ -ion között, ami lehetővé teszi, hogy a fémion belső koordinációs szférájába egy vagy több vízmolekula kerüljön.



**IV.3.3.1 ábra** A Gd(DO2A2P)-komplex relaxivitás értékei a pH-függvényében (1 mM, 25 °C)

A Gd(DOTA) komplex esetében egy vízmolekula kötődik a  $Gd^{3+}$ -ionhoz, míg a Gd(DOTP)-komplex esetében nincs vízmolekula a fémion belső koordinációs szférájában [125]. Ha a komplexben kötött  $Gd^{3+}$ -ion belső szférájában vízmolekula található, akkor az oldószer molekulákkal történő cserén keresztül a víz  $^{17}O$ -NMR jelét szélesíti [126], ezért ez a módszer jól alkalmazható annak eldöntésére, hogy egy adott paramágneses ionnal kialakuló komplex tartalmaz-e a fémionhoz közvetlenül koordinálódó vízmolekulát. Ezért vizsgáltuk a Gd(DO2A2P)-komplex  $^{17}O$ -NMR spektrumát különböző hőmérsékleten. A jelek félérték szélesség értékei ( $\Delta\nu_{1/2}$ ) a IV.3.3.2 ábrán láthatók.





**IV.3.3.2 ábra** A Gd(DO2A2P)-komplex  $^{17}\text{O}$ -NMR jeleinek (pH = 3,5 és 8,5), valamint az 1,0 M KCl oldat  $^{17}\text{O}$ -NMR jeleinek félértékszélessége ( $\Delta\nu_{1/2}$ ) a hőmérséklet függvényében

Az ábrán bemutatott eredmények azt mutatják, hogy a víz  $^{17}\text{O}$ -NMR jeleinek szélessége gyakorlatilag megegyezik a Gd(DO2A2P)-komplex jelenlétében és távollétében, ami csak akkor lehetséges, ha a  $\text{Gd}^{3+}$  belső szférájában nincs kicserélhető vízmolekula. Tekintve hogy a vizsgálatokat protonált komplexek képződése (pH = 3,5) és a teljesen deprotonált komplex esetében (pH = 8,5) is elvégeztük, a kísérlet eredményei egyértelműen azt mutatják, hogy a Gd(DO2A2P)-komplex belső koordinációs szférájában a Gd(DOTP)-hez hasonlóan nincs vízmolekula.

#### ***IV.3.4 Ln(DO2A2P)<sup>3-</sup>-komplexek oldatbeli szerkezetének NMR spektroszkópiás vizsgálata***

A  $\text{Ln}(\text{DO2A2P})^{3-}$ -komplexek szerkezete vizes oldatban – egyéb sajátyságaikhoz hasonlóan – várhatóan hasonló a  $\text{Ln}(\text{DOTA})^-$ - és  $\text{Ln}(\text{DOTP})^{5-}$ -komplexekéhez. A különböző  $\text{Ln}(\text{DOTA})^-$ -komplexek szerkezetét szilárd állapotban röntgendiffrakciós módszerrel, oldatban  $^1\text{H}$ - és  $^{13}\text{C}$ -NMR

spektroszkópiás módszerrel rendkívül részletesen tanulmányozták [144–153]. A  $\text{Ln}(\text{DOTP})^{5-}$  szerkezetvizsgálatával is többen foglalkoztak [154–160]. A vizsgálatok eredményei azt mutatják, hogy a komplexek szerkezete szilárd állapotban és oldatban lényegében megegyezik, ami a négy acetát illetve metilénfoszfonát funkciós csoportnak a 12-tagú tetraaza makrociklushoz történő kapcsolódásával létrejövő koordinációs „kalitka” rendkívül merev szerkezetével értelmezhető. A négy nitrogén és négy oxigén donoratom egy-egy – gyakorlatilag párhuzamos – síkban helyezkedik el, és közöttük van a  $\text{Ln}^{3+}$ -ion. A  $\text{Ln}(\text{DOTA})^-$ -komplexek esetében a négy oxigén síkja közepén egy  $\text{H}_2\text{O}$ -molekula koordinálódik a  $\text{Ln}^{3+}$ -ionhoz, míg az  $\text{Ln}(\text{DOTP})^{5-}$ -komplexekben nincs ilyen vízmolekula [125, 157, 160]. A 4 N és 4 O donoratom közelítőleg négyzetes antiprizmás elrendeződésben koordinálódik a  $\text{Ln}^{3+}$ -ionhoz.

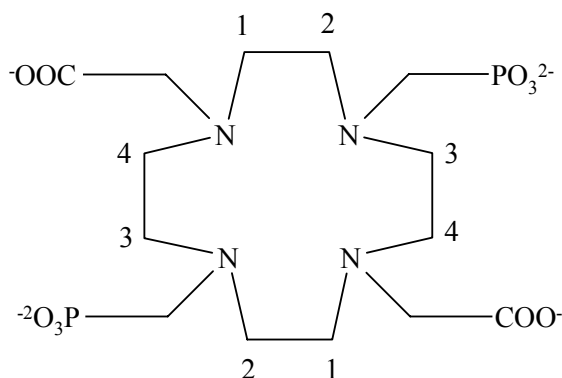
A tetraaza makrociklus merev szerkezete következtében a négy etilénecsoport azonos, nyitott állást vesz fel, ami az óramutató járásával egyező ( $\lambda\lambda\lambda\lambda$ ), vagy azzal ellentétes irányú ( $\delta\delta\delta\delta$ ) helicitást eredményez. Az acetátcsoportok hasonló irányú ( $\Lambda$  ill.  $\Delta$ ) helicitású elrendeződésével egy enantiomer pár jön létre ( $\Lambda(\lambda\lambda\lambda\lambda)$  és  $\Delta(\delta\delta\delta\delta)$ ), melyek NMR spektruma azonos. Ugyanakkor tapasztalták, hogy a  $\text{Ln}(\text{DOTA})^-$ -komplexek  $^1\text{H}$  és  $^{13}\text{C}$ -NMR spektrumában általában két jel-sorozat jelenik meg. Ezt azzal magyarázzák, hogy a komplexek geometriája nem csak négyzetes antiprizmás lehet, amikor a 4 N és 4 O síkok állásának szöge  $40^\circ$  körüli ( $45^\circ$  a szabályos négyzetes antiprizma esetén), hanem az acetátcsoportok állása a 4 N síkhoz képest ellenkező irányba módosulhat, amikor a 4 N és 4 O síkok állásszöge röntgendiffrakciós vizsgálatok szerint  $-22^\circ$  -  $-30^\circ$  körülire módosul és „csavart” négyzetes antiprizmás elrendeződéssel két enantiomer,  $\Lambda(\delta\delta\delta\delta)$  és  $\Delta(\lambda\lambda\lambda\lambda)$  jön létre. Ebben az enantiomer párban, melyet „M” izomernek neveztek el, a gyűrű és az acetátcsoportok helicitása ellentétes irányú és NMR spektrumuk eltér a „m” izomernek elnevezett  $\Lambda(\lambda\lambda\lambda\lambda)$ - $\Delta(\delta\delta\delta\delta)$  enantiomer párétól. NMR vizsgálatok szerint a  $0$ – $100^\circ\text{C}$  hőmérséklet tartományban mind az enantiomerizáció, mind a  $\text{M} \leftrightarrow \text{m}$  izomerizáció lejátszódik.

Előbbi a jelek alakját, utóbbi a jelek alakját, majd számát is befolyásolja (nagyobb hőmérsékleten a M és m izomerek jelei kiátlagolódnak) [150–153].

A  $\text{Ln}(\text{DOTP})^{5-}$ -komplexek esetében csak egyféle, a m izomer képződését figyelték meg mind szilárd állapotban, mind oldatban [160].

A  $\text{Ln}(\text{DO2A2P})^{3-}$  oldatszerkezetének vizsgálata céljából tanulmányoztuk a diamágneses  $\text{Lu}(\text{DO2A2P})^{3-}$ - és a paramágneses  $\text{Eu}(\text{DO2A2P})^{3-}$ -komplexek  $^1\text{H}$  és  $^{13}\text{C}$ -NMR spektrumát. A  $\text{C}_4$  szimmetriatengellyel rendelkező  $\text{Ln}(\text{DOTA})^-$ - és  $\text{Ln}(\text{DOTP})^{5-}$ -komplexek  $^1\text{H}$ -NMR spektruma 6 jelből áll. A makrociklus merev szerkezete miatt az etilénsoportok négy H-atomja az  $\text{Ln}^{3+}$ -ionhoz viszonyítva nem ekvivalens helyzetű, így négy jelet adnak. Az acetát funkciós csoportok metilén hidrogénjei hasonló okokból (és az  $\text{Ln}^{3+}$ -N kötések viszonylag hosszú élettartama miatt) ugyancsak nem ekvivalensek és két jelet adnak. A  $\text{Ln}(\text{DO2A2P})^{3-}$ -komplexek kétféle funkciós csoportját, illetve  $\text{C}_2$  szimmetriatengelyét figyelembe véve 12 proton és 7  $^{13}\text{C}$ -NMR jel megjelenése várható. (A  $\text{Ln}(\text{DOTA})^-$ - és  $\text{Ln}(\text{DOTP})^{5-}$ -komplexeknek 4  $^{13}\text{C}$ -NMR jele van.)

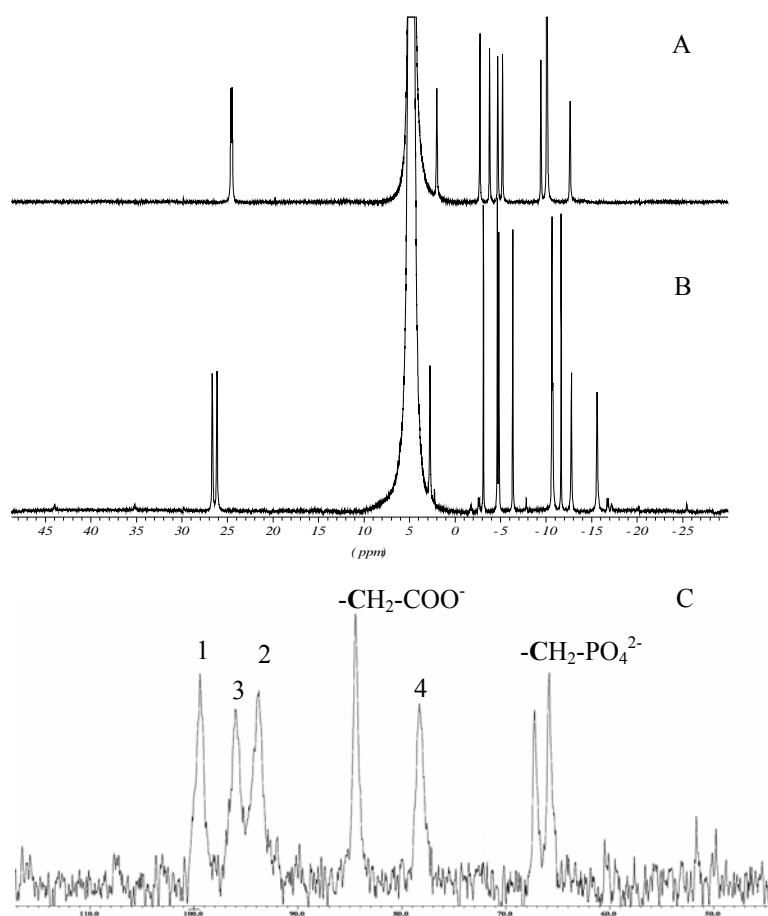
Az  $\text{Eu}(\text{DO2A2P})$  298 K-en felvett  $^1\text{H}$  és  $^{13}\text{C}$ -NMR spektrumán (IV.3.4.2 ábra A, C) látható, hogy a proton jelek száma 12 (10,4 ppm körül a  $\text{CH}_2\text{-PO}_3^{2-}$  jelei átfedik egymást), a  $^{13}\text{C}$ -NMR jelek száma pedig 7 (a  $\text{CH}_2\text{-PO}_3^{2-}$  szénatom jele a C–P csatolás miatt dublett, a  $\text{COO}^-$  szénatom jele 211 ppm-nél található). Ezek az adatok azt mutatják, hogy a  $\text{Ln}(\text{DO2A2P})^{3-}$ -komplexek esetében a makrociklus és a komplex szerkezete 25 °C-on merev, az etilénsoport egyik szénatomja a négy N-atom által meghatározott sík felett, a másik a sík alatt helyezkedik el és a geminális H-atomok helyzete axiális vagy ekvatoriális. A ligandum szén- és hidrogénatomjai jelölését a IV.3.4.1 ábrán mutatjuk be.



IV.3.4.1 ábra A DO2A2P ligandum szénatomjainak jelölése

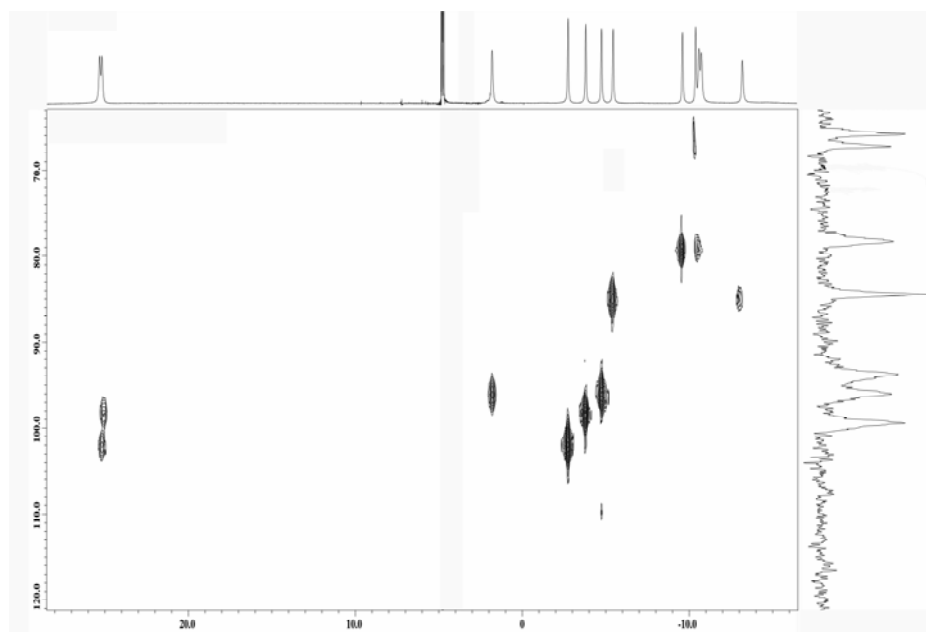
Az 1 és 3 szénatom a 4 N síkja felett, a 2 és 4 szénatom a 4 N síkja alatt helyezkedik el. Az axiális (a) és ekvatoriális (e) H-atomok jelölése a szénatomok megjelölésével a következő:  ${}_1\text{H}_a$ ,  ${}_1\text{H}_e$ ,  ${}_2\text{H}_a$ ,  ${}_2\text{H}_e$ ,  ${}_3\text{H}_a$ ,  ${}_3\text{H}_e$ ,  ${}_4\text{H}_a$  és  ${}_4\text{H}_e$ . (A 4N síkja alatti és feletti szénatomok helyzete felcserélődik, amikor az axiális H-atom ekvatoriális helyzetűvé válik.)

Az  $\text{Eu}(\text{DO2A2P})^{3-}$   $^1\text{H}$  és  $^{13}\text{C}$ -NMR spektrumát a IV.3.4.2 ábrán tüntettük fel. A 298 K-en kapott proton spektrum (A) jeleinek kémiai eltolódás értékei egyértelműen az  $\text{Eu}(\text{DOTP})^{5-}$  és  $\text{Eu}(\text{DOTA})^-$  m izomerjének kémiai eltolódásaihoz állnak közel [150], vagyis az  $\text{Eu}(\text{DO2A2P})^{3-}$ -komplex szerkezete  $^1\text{H}$ -NMR spektruma alapján a m izomerével megegyezőnek tekinthető. A hőmérséklet csökkenésével így a 274 K-en kapott spektrumban nagyon kis intenzitású új jelsorozat jelenik meg, melyek a  $\text{Eu}(\text{DOTA})^-$  M izomerje kémiai eltolódás értékei alapján M izomerként azonosíthatók. Az  $\text{Eu}(\text{DO2A2P})^{3-}$  m és M izomerjei a jelek integráljai alapján 93 % és 7 %-ban vannak jelen, de a hőmérséklet emelésével már gyakorlatilag 25 °C-on bekövetkezik a két izomer jeleinek a koaleszcenciája. A jelek a paramágneses  $\text{Eu}^{3+}$  közelsége miatt aránylag szélesek, így csatolások nem figyelhetők meg.



**IV.3.4.2. ábra** Az  $\text{Eu}(\text{DO2A2P})^{3-}$ -komplex  $^1\text{H-NMR}$  spektruma 298 K (A), 274 K (B) és a  $^{13}\text{C-NMR}$  spektrum (C) 298 K hőmérsékleteken. ( $[\text{EuL}]=0,04 \text{ M}$ )

Az  $\text{Eu}(\text{DO2A2P})^{3-}$   $^1\text{H}$  és  $^{13}\text{C-NMR}$  spektrumának azonosítása 2D NMR spektroszkópiás módszerekkel (COSY, EXSY és HMQC) történt. Az  $\text{Eu}(\text{DO2A2P})^{3-}$  HMQC spektrumát a IV.3.4.3 ábrán tüntettük fel.



**IV.3.4.3 ábra** Az  $\text{Eu}(\text{DO2A2P})^{3-}$ -komplex H-C csatolt HMQC spektruma (25 °C,  $[\text{EuL}]=0,04 \text{ M}$ )

A  $^1\text{H}$  és  $^{13}\text{C}$ -NMR spektrumok azonosításának fontosabb lépései a következők:

a, Az  $\text{Eu}^{3+}$ -ion a legnagyobb kémiai eltolódás változást a makrociklus 4 N síkja feletti szénatomokhoz kapcsolódó axiális helyzetű (az  $\text{Eu}^{3+}$ -ionhoz közelebbi) protonok jelében idézi elő. Így a 24,9 ppm-nél található jel az  $^1\text{H}_a$ , míg a 24,7 ppm-nél található jel a  $^3\text{H}_a$  protonokhoz rendelhető. A HMQC spektrum alapján a  $^{13}\text{C}$ -NMR spektrumban a 100,2 és 96,5 ppm-nél található jelek az 1 és a 3 C-atomokhoz rendelhetők.

b, A HMQC spektrum alapján az  $^1\text{H}_a$  axiális proton  $^1\text{H}_e$  ekvatoriális párjának a jele  $-2,87 \text{ ppm}$ -nél, míg az  $^3\text{H}_a$  axiális proton  $^3\text{H}_e$  ekvatoriális párjának a jele  $-4,02 \text{ ppm}$ -nél található.

c, A szelektíven  $^1\text{H}$ -lecsatolt  $^{31}\text{P}$ -NMR spektrumok alapján a foszfonát-metilén protonok jele  $-10,43$  és  $-10,3 \text{ ppm}$ -nél található, míg a HMQC spektrum

alapján a foszfonát- metilén csoport C-atomjához a 65,92 és 67,4 ppm-nél található jelek (P-C csatolás  $J_{PC}=148,77$  Hz) rendelhetőek.

c, Mivel a COSY spektrumban mind a vicinális, mind a geminális csatolások keresztcsúcsot adnak, így mind a négy típusú axiális és ekvatoriális proton keresztcsúcsot ad. A foszfonátcsoporthoz közeli  ${}^3H_e$  és  ${}^2H_a$  protonok, és a karboxilátcsoporthoz közeli  ${}^1H_e$  és  ${}^4H_a$  protonok között kémiai csere van, ami keresztcsúcs megjelenését eredményezi az EXSY spektrumban, illetve a  ${}^4H_a - {}^3H_a$  és  ${}^2H_a - {}^1H_a$  skaláris csatolásoknak köszönhetően az említett protonok ( ${}^2H_a$  és  ${}^4H_a$ ) keresztcsúcsot adnak az  ${}^1H_a$  és a  ${}^3H_a$  protonokkal a COSY spektrumban. Ezeknek megfelelően a  ${}^1H$ -NMR spektrumban 2,01 ppm-nél található jel a  ${}^2H_a$  protonnak, míg a HMQC spektrum alapján a -4,82 ppm-nél található jel a  ${}^2H_e$  protonnak felel meg. Az említett protonok metilén szenének (2) jele 94,84 ppm-nél található. Az  ${}^1H_e$ - ${}^4H_a$  protonok kémiai cseréje (keresztcsúcsot adnak az EXSY spektrumban) illetve a  ${}^4H_a$  és  ${}^3H_a$  protonok skaláris csatolása (keresztcsúcsot adnak a COSY spektrumban) alapján az  ${}^1H$ -NMR spektrumban -10,70 ppm-nél található jel a  ${}^4H_a$  protonoknak, míg a HMQC spektrum alapján a -9,74 ppm-nél található jel a  ${}^4H_e$  protonoknak felel meg. A  ${}^4H_a$  és  ${}^4H_e$  metilén protonok szénatomjának (4) jele 77,62 ppm-nél található szintén a HMQC spektrum alapján.

d, Az acetát metilén protonok az  ${}^1H$ -NMR spektrumban -5,53 és -13,28 ppm-nél, míg az acetát metilén szenek jele a  ${}^{13}C$ -NMR spektrumban 83,87 ppm-nél található, mivel a COSY spektrumban az említett protonok nem adnak keresztcsúcsot az  ${}^1H_a$  és  ${}^3H_a$  protonokkal.

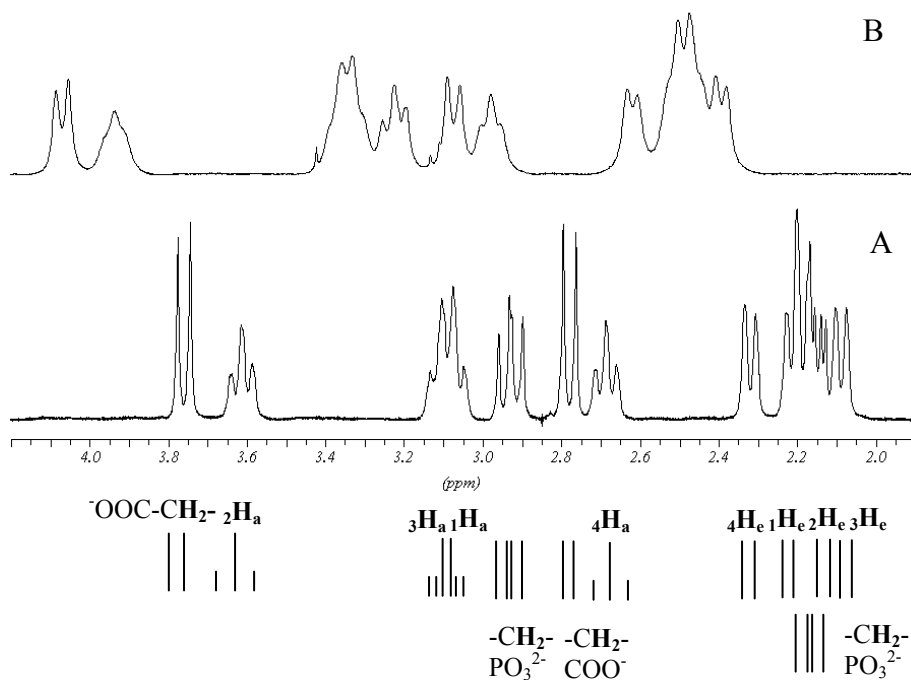
A  $Lu(DO2A2P)^{3-}$  oldatszerkezetének vizsgálatára, illetve  ${}^1H$ - és  ${}^{13}C$ -NMR spektrumának azonosítására COSY, EXSY és HETCOR 2D NMR spektroszkópiás módszereket alkalmaztunk. A különböző hőmérsékleten felvett  ${}^1H$ -NMR spektrumokon csak a jelek szélesedése figyelhető meg, új jelek megjelenése nem látható. Ez azt jelenti, hogy a  $Lu(DO2A2P)^{3-}$  esetében nincs jelen két izomer, valószínűleg csak a m izomer képződik. A hőmérséklet növelésével bekövetkező

jelszélesség növekedés a két enantiomer belső mozgása, egymásba történő átalakulásuk, az enantiomerizáció sebességének a növekedésével kapcsolatos.

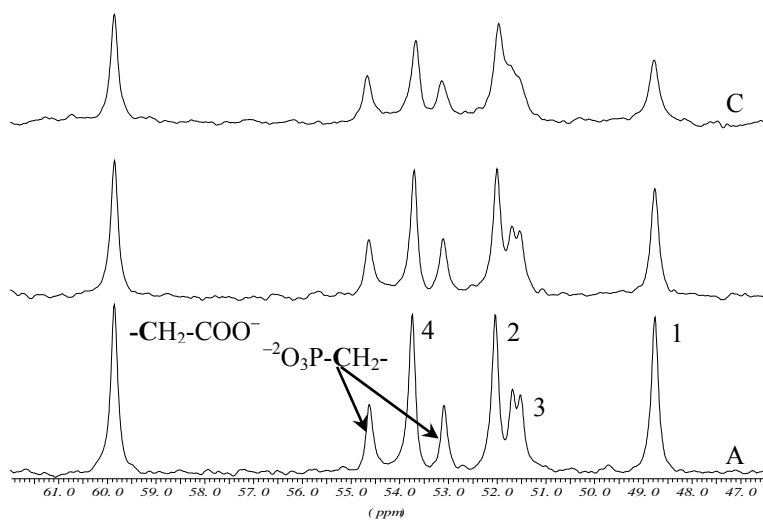
A diamágneses  $\text{Lu(DOTA)}^-$ - és  $\text{Lu(DOTP)}^{5-}$ -komplexek  $^1\text{H-NMR}$  spektroszkópiás vizsgálatából ismert, hogy a makrociklus axiális protonjai mind a geminális, mind a vicinális axiális helyzetű protonokkal csatolnak (a vicinális ekvatoriális protonok csatolására  $^3J_{\text{HH}} < 2\text{Hz}$ ), ezért az axiális protonok tripllett, az ekvatoriális helyzetűek dublett jelet adnak [148, 157]. A  $\text{Lu(DOTP)}^{5-}$   $^1\text{H-NMR}$  vizsgálatából az is ismert, hogy a 4 N síkja feletti etilén szénatomok aránylag erősen, a 4 N síkja alatti szénatomok gyengén csatolnak a metilénfoszfonát  $^{31}\text{P}$ -atomjaival [157].

A  $\text{Lu(DO2A2P)}$   $^1\text{H-NMR}$  spektrumát a IV.3.4.4 ábrán mutatjuk be, ahol a 274 K-en kapott spektrum alatt feltüntettük a jelek azonosítását és multiplicitását is. A  $\text{Lu(DO2A2P)}$  különböző hőmérsékleteken kapott  $^{13}\text{C-NMR}$  spektruma a IV.3.4.5 ábrán látható, ahol a 47–61 ppm tartomány kiszélesítése miatt a karboxilát szénatom 180,28 ppm-nél levő jele nem látható. A komplex COSY, EXSY és HETCOR spektrumait a IV.3.4.6–IV.3.4.8 ábrákon mutatjuk be.

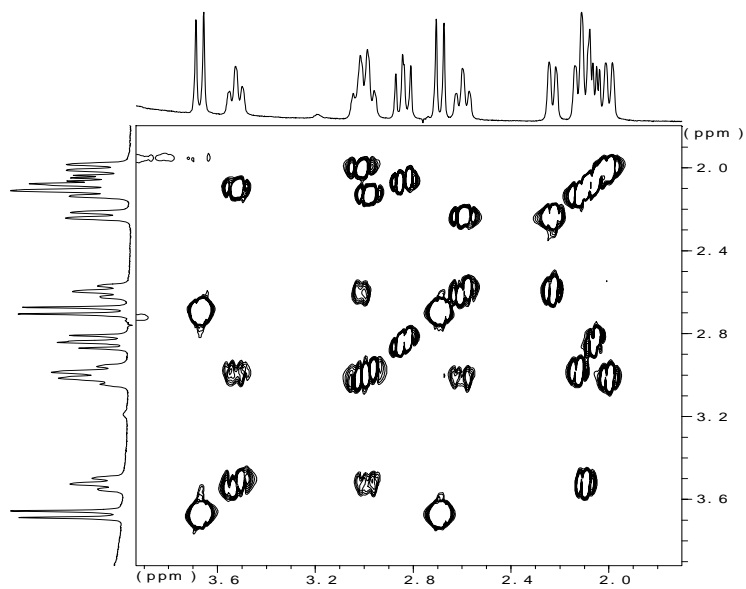




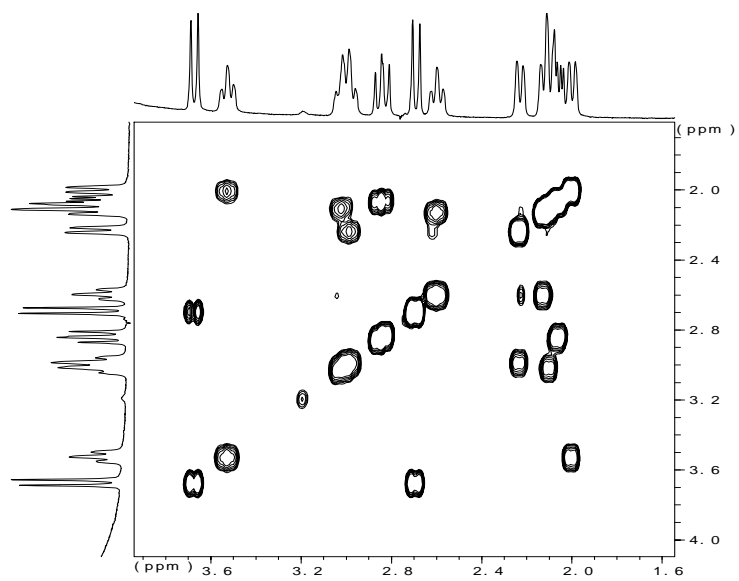
IV.3.4.4 ábra A  $\text{Lu}(\text{DO2A2P})^{3-}$ -komplex  $^1\text{H-NMR}$  spektruma 274 (A) és 298 K (B) hőmérsékleten és a jelek multiplicitása ( $[\text{LuL}] = 0,08 \text{ M}$ )



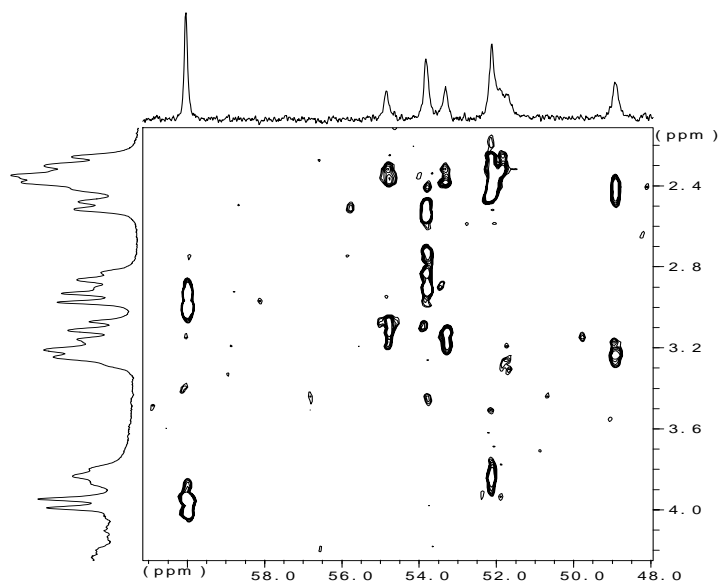
IV.3.4.5 ábra A  $\text{Lu}(\text{DO2A2P})^{3-}$   $^{13}\text{C-NMR}$  spektruma 278 (A), 288 (B), és 298 (C) K hőmérsékleten ( $[\text{LuL}] = 0,08 \text{ M}$ )



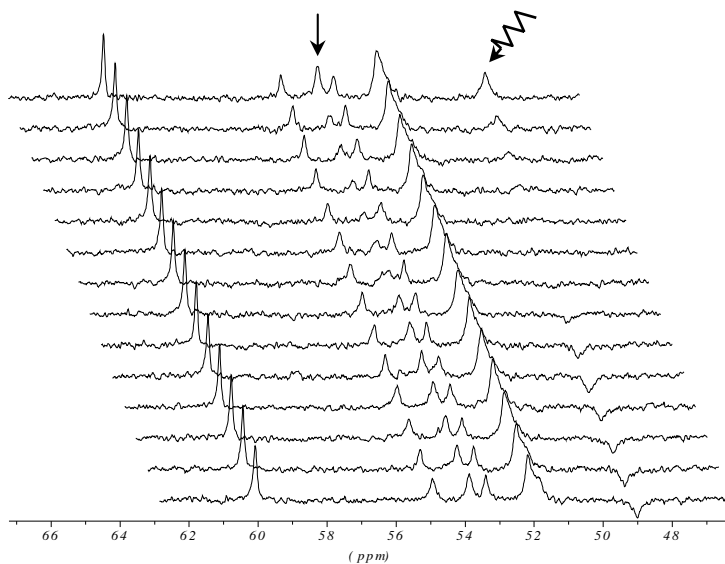
IV.3.4.6 ábra A Lu(DO2A2P)<sup>3-</sup>-komplex H-H COSY spektruma (274 K, [LuL] = 0,08 M)



IV.3.4.7 ábra A Lu(DO2A2P)<sup>3-</sup>-komplex H-H EXSY spektruma (274 K, [LuL] = 0,08 M, mixing time  $\tau_M=500$  ms)



IV.3.4.8 ábra A  $\text{Lu}(\text{DO2A2P})^3$ -komplex H-C HETCOR spektruma (298 K,  $[\text{LuL}] = 0,08$  M)



IV.3.4.9 ábra Mágnesezettség átvitel a  $\text{Lu}(\text{DO2A2P})$   $^{13}\text{C}$ -NMR spektrumán

A proton és  $^{13}\text{C}$ -NMR spektrumok azonosítása, illetve az ennek alapján tett megállapítások a következők:

- a. A  $\text{Lu}(\text{DO}_2\text{A}_2\text{P})^{3-}$ -komplex  $^{13}\text{C}$ -NMR spektrumában 51,6ppm-nél lévő jel a 3. C-atomhoz rendelhető. A jel 278 K-en még dublett (51,69 és 51,52 ppm), ami a hőmérséklet növekedésével egy jellé alakul, majd egybeolvad az 51,96 ppm-nél lévő C-atom jelével. A folyamat a tetraaza gyűrű gyorsabb inverziójával magyarázható. Míg 278 K-en a gyűrű inverzió lassabb és megjelenik a 3. C-atomon a gyenge foszfor csatolás ( $^3J_{\text{C}_3\text{P}} = 15,47 \text{ Hz}$ ), addig szobahőmérsékleten a gyorsabb gyűrű inverzió miatt a 2. C és a 3. C-atomok közötti csere felgyorsul, ami mindkét C-atom jelének a szélességét megnöveli. Így az 51,6 ppm-nél megjelenő dublett a 3. C-atom jele, míg az azzal kémiai cserében levő 2. C jele 51,96 ppm-nél található. Mágnesezettség átviteli kísérletek alapján igazoltuk, hogy kémiai csere az 48,77 és 53,66 ppm-nél lévő C-atomok között is van (IV.3.4.9 ábra). Így a 48,77 és 53,66 ppm-nél lévő C atomok jele a karboxilát csoport melletti gyűrű metilén 1. C és 4. C-atomokhoz rendelhető. A  $^{13}\text{C}$ -NMR spektrumban 53,13 és 54,66 ppm-nél lévő kisebb intenzitású jelek a  $\text{CH}_2\text{-PO}_3^{2-}$  szén  $^{31}\text{P}$ -csatolt jelei ( $^1J_{\text{CP}} = 138,21 \text{ Hz}$ ).
- b. A 3,7 és 2,7 ppm körüli két dublett ( $^2J_{\text{HH}} = 15,95 \text{ Hz}$ ) az acetát csoport metilén protonjaihoz rendelhető. Az acetát metilén  $^{13}\text{C}$ -NMR jele a HETCOR spektrum szerint 59,85 ppm-nél található.
- c. A 2,93 és 2,17 ppm körül lévő két dupla dublett a foszfonát oldallánc metilén protonjaihoz rendelhető ( $^2J_{\text{HP}} = 13,85 \text{ Hz}$  és  $^2J_{\text{HP}} = 16,7 \text{ Hz}$ ).
- d. A HETCOR spektrum alapján a 3,61 ppm-nél található triplett a foszfonátcsoporthoz melletti  $^2\text{H}_a$  gyűrű metilén protonokhoz rendelhető ( $^3J_{\text{HH}} = 14 \text{ Hz}$ ). A  $^{13}\text{C}$ -NMR spektrumban 51,96 ppm-nél lévő jel az 2. C-atomhoz tartozik.
- e. A COSY és a HETCOR spektrumok alapján az axiális helyzetű  $^2\text{H}_a$  protonok ekvatoriális párjának  $^2\text{H}_e$  dublett jele 2,17 és 2,14 ppm-nél található. Az  $^2\text{H}_e$  protonok dublett jele átfed a metilénfoszfonát protonok jelével.

- f. Mivel az  ${}^2\text{H}_a$  és  ${}^3\text{H}_e$  illetve  ${}^2\text{H}_e$  és  ${}^3\text{H}_a$  protonok között kémiai csere lehetséges, így az említett protonok keresztcsúcsot adnak az EXSY spektrumban. Az  ${}^2\text{H}_a$  proton a 2,1 ppm-nél lévő dublettel csatol az EXSY spektrumban, amelyek a  ${}^3\text{H}_e$  protonokhoz rendelhetők. A  ${}^3\text{H}_e$  protonok és a  ${}^2\text{H}_a$  protonok között nincs skaláris csatolás (nem adnak keresztcsúcsot a COSY spektrumban) (A  ${}^3\text{H}_e$ - ${}^3\text{H}_a$  geminális csatolásra  ${}^2J_{\text{HH}} = 14$  Hz).
- g. A  ${}^3\text{H}_e$  protonok csak a  ${}^3\text{H}_a$  protonokkal adnak keresztcsúcsot a COSY spektrumban. Ennek megfelelően a  ${}^3\text{H}_a$  protonok triplettje 3,10 ppm-nél található. A  ${}^3\text{H}_a$ - ${}^4\text{H}_a$  vicinális csatolásra  ${}^3J_{\text{HH}} = 14,85$  Hz.
- h. A  ${}^2\text{H}_a$  protonok csatolnak az  ${}^1\text{H}_a$  protonokkal, és keresztcsúcsot adnak a COSY spektrumban. Így a 3,10 ppm-nél lévő multiplett 2 triplettből tevődik össze, amelynek a vízjeltől távolabb lévő triplettje az  ${}^1\text{H}_a$  protonokhoz rendelhető ( ${}^1\text{H}_a$ - ${}^2\text{H}_a$  csatolásra,  ${}^3J_{\text{HH}}=13,7$  Hz).
- i. Az  ${}^1\text{H}_a$  protonok csatolnak a  ${}^1\text{H}_e$  protonokkal, és keresztcsúcsot adnak a COSY spektrumban. Ennek megfelelően a  ${}^1\text{H}_e$  protonoknak megfelelő dublett 2,23–2,20 ppm-nél található ( ${}^1\text{H}_e$ - ${}^1\text{H}_a$  csatolásra,  ${}^2J_{\text{HH}}=13,95$ ).
- j. Az  ${}^1\text{H}_e$  protonok a  ${}^4\text{H}_a$  protonokkal, míg az  ${}^1\text{H}_a$  protonok a  ${}^4\text{H}_e$  protonokkal lehetnek kémiai cserében, aminek megfelelően a  ${}^4\text{H}_a$  protonok triplettje 2,69 ppm-nél, míg a  ${}^4\text{H}_e$  protonok dublettje 2,32 ppm-nél található. A  ${}^4\text{H}_a$  protonok jelének asszignációját alátámasztja a  ${}^4\text{H}_a$ - ${}^3\text{H}_a$  protonok közötti keresztcsúcs a COSY spektrumban ( ${}^4\text{H}_a$ - ${}^3\text{H}_a$  vicinális csatolásra  ${}^3J_{\text{HH}}=13,6$  Hz; a  ${}^4\text{H}_e$ - ${}^4\text{H}_a$  geminális csatolásra  ${}^2J_{\text{HH}}=13,45$  Hz). A HETCOR spektrum alapján a 4. C-atom jele 53,66 ppm-nél található a  ${}^{13}\text{C}$ -NMR spektrumban.

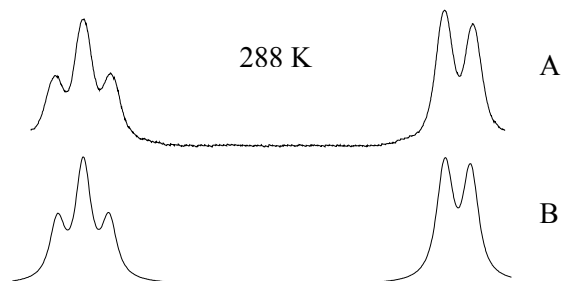
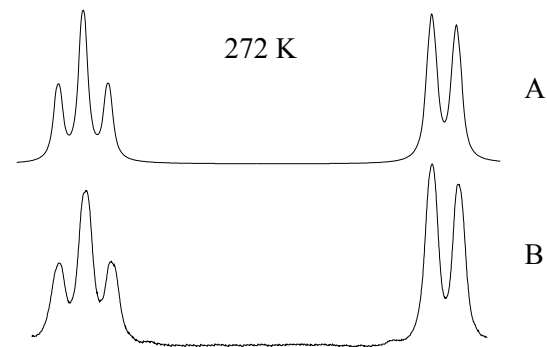
A korábban említett adatok szerint a Lu(DO2A2P)  ${}^1\text{H}_a$ - ${}^2\text{H}_a$  és  ${}^3\text{H}_a$ - ${}^4\text{H}_a$  axiális protonjai közötti  ${}^3J_{\text{HH}}$  csatolási állandók értéke 13–14 Hz volt. Az alifás vegyületekre megállapított Karplus egyenlet ( ${}^3J_{\text{HH}} = 7 - \cos\phi + 5\cos 2\phi$  [161]) alapján a vicinális helyzetű axiális protonok diéderes szöge  $180^\circ$  körüli, mivel a  $\phi = 180^\circ$  behelyettesítésével kapott csatolási állandó értéke  ${}^3J_{\text{HH}} = 13$  Hz.

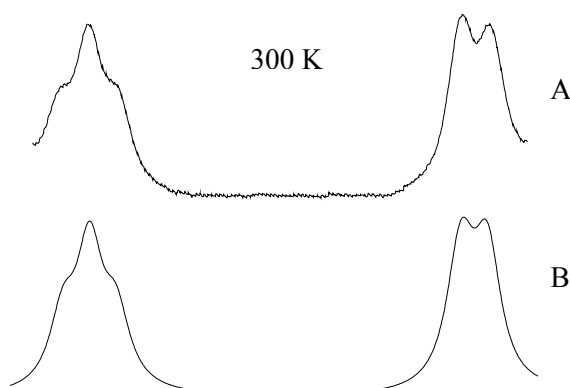
A Lu(DO2A2P)-komplexek  $^1\text{H}$ - és  $^{13}\text{C}$ -NMR jelei a hőmérséklet növekedésével szélesednek, ami az enantiomerizáció sebességének a növekedésére mutat. Az enantiomerizáció sebességét az analóg  $\text{La}(\text{DOTA})^-$ - és  $\text{La}(\text{DOTP})^{5-}$ -komplexek esetében vizsgálták és a kapott aktiválási paraméter értékek alapján a  $\text{La}(\text{DOTP})^{5-}$ -komplex szerkezetét lényegesen merevebbnek tartják. A Lu(DO2A2P) dinamikai viselkedésének vizsgálatára tanulmányoztuk a gyűrű inverzió sebességét a 272–306 K tartományban. A gyűrű inverzió során az egyes etilén-csoportok konformációja egymást követően változik az óramutató járásával egyező, vagy azzal ellentétes irányban (közben az axiális és ekvatoriális protonok helyzete periódikusan felcserélődik), amivel párhuzamosan az acetát- és metilénfoszfónát-csoportok rotációja is végbemegy. A gyűrű protonjai közül a  $4\text{H}_a$  és  $4\text{H}_e$  protonok jelei jól elkülönülnek a  $^1\text{H}$ -NMR spektrumban, ezért ezek vizsgálatával jel-alak analízist végeztünk a különböző hőmérsékleteken felvett spektrumok szimulációjával. A 272 K-en felvett spektrum szimulációjával határoztuk meg a  $4\text{H}_a$  és  $4\text{H}_e$  protonok transzverzális relaxációs idejét ( $T_2 = 0,07$  s), ami gyakorlatilag nem függ az inverzió sebességétől. A két multipllett jelre jellemző – a szimulációhoz használt – csatolási állandó értékeket korábban megállapítottuk. A hőmérséklet növekedésével a jelek alakja változik, ami egy-egy enantiomer átlagos élettartamától ( $\tau$ ) függ. A spektrumok szimulációjához használt különböző „látszólagos”  $T_2^*$  értékek egy-egy állapot átlagos élettartamától a IV.3.4.1 egyenlettel kifejezhető módon függenek:

$$\frac{1}{T_2^*} = \frac{1}{T_2} + \frac{1}{\tau} = \frac{0,07 + \tau}{0,07\tau} \quad \text{IV.3.4.1}$$

Az átlagos élettartam értékeket a kísérleti és szimulált spektrumok egyezése esetén a spektrumok szimulálására használt  $T_2^*$  értékek felhasználásával számítottuk. A enantiomerizáció sebességét jellemző  $k_i$  sebességi állandó az átlagos élettartam reciproka,  $k_i = 1/\tau$ .

A Lu(DO2A2P) spektrumát 272 és 306 K között 7 különböző hőmérsékleten vettük fel. A IV.3.4.10 ábrán 3 jellegzetes kísérleti és szimulált spektrumot mutatunk be. A IV.3.4.1 egyenlet alapján számolt  $\tau$  értékekből kapott  $k_i$  értékeket a IV.3.4.1 táblázatban tüntettük fel.





**IV.3.4.10 ábra** A  $\text{Lu}(\text{DO2A2P})^{3-}$   $^1\text{H}$ -NMR spektrumának részlete (A) és a szimulált spektrumok (B)

**IV.3.4.1 táblázat** A gyűrű inverziót jellemző sebességi állandók

$T$ (K)	276	282	288	294	300	306
$k_i$ ( $\text{s}^{-1}$ )	3,89	8,97	12,7	19,0	35,7	62,6

A IV.3.4.1 táblázatban bemutatott sebességi állandók felhasználásával az Eyring egyenlet (IV.3.4.2 egyenlet) alkalmazásával kiszámítottuk az enantiomerizációt jellemző aktiválási paramétereket:  $\Delta H^\ddagger = 60,2 \pm 3,6 \text{ kJmol}^{-1}$  és  $\Delta S^\ddagger = -14,3 \pm 12,3 \text{ Jmol}^{-1}\text{K}^{-1}$ . Ezek az aktiválási paraméterek hasonlóak a  $\text{La}(\text{DOTA})^-$ -komplexek vizsgálatánál kapott  $\Delta H^\ddagger = 59,4 \text{ kJmol}^{-1}$  és  $\Delta S^\ddagger = -4,6 \text{ Jmol}^{-1}\text{K}^{-1}$  értékekhez de kisebbek a  $\text{Lu}(\text{DOTA})^-$  esetében megállapított  $\Delta H^\ddagger = 100,5 \text{ kJmol}^{-1}$  és  $\Delta S^\ddagger = 116,0 \text{ Jmol}^{-1}\text{K}^{-1}$  paramétereknél [148, 149], valamint a  $\text{La}(\text{DOTP})^{5-}$ -komplexek esetében megállapított aktiválási energia ( $\Delta E = 101 \text{ kJmol}^{-1}$ ) értékénél [157].

$$k_i = \frac{kT}{h} e^{\Delta S_A^\ddagger / R} e^{-\Delta H_A^\ddagger / (RT)} \quad \text{IV.3.4.2}$$



Az aktivitási paraméterek összehasonlításával megállapíthatjuk, hogy a két acetát és két metilénfoszfonát funkciós csoportot tartalmazó DO2A2P ligandummal képződő  $\text{Ln}^{3+}$ -komplexek lényegesen kevésbé merevek, mint a  $\text{Ln}(\text{DOTP})^{5-}$ -komplexek és a gyűrű inverziójuk sebessége hasonló a  $\text{La}(\text{DOTA})^-$ -komplexéhez. Valószínű, hogy a kétféle funkciós csoport eltérő térigénye eredményezi a  $\text{Ln}(\text{DO2A2P})^{3-}$ -komplexek kevésbé merev szerkezetét.

## IV.4 A DO3P és DO3PA ligandumok komplexképző sajátosságai

### IV.4.1 Egyensúlyi vizsgálatok

Az előző fejezetben részletesen tárgyaltuk a DO2A2P ligandum lantanoidakomplexeinek egyensúlyi, kinetikai és oldatszerkezeti tulajdonságait. A DO2A2P ligandumhoz hasonlóan az ebben a fejezetben tárgyalásra kerülő DO3PA olyan DOTA-származék amelyben vegyesen találunk metilénfoszfonát (3) és acetát (1) funkciós csoportokat. A címben említett DO3P ligandumban pedig a makrociklusos gyűrűnek csak 3 nitrogénjén található metilénfoszfonát funkciós csoport, míg a negyedik nitrogéneken nincs funkciós csoport. Érdekesnek tűnt megvizsgálni, hogy milyen a hatása annak, ha a DOTP ligandum egyik metilénfoszfonát-csoportját acetátcsoportra cseréljük, vagy egyszerűen „eltávolítjuk” a molekulából.

Egyensúlyi vizsgálataink során meghatároztuk a két ligandum protonálódási állandóit, valamint néhány fémionnal kialakuló komplexeik stabilitási állandóját. A protonálódási állandókat a IV.4.1.1 táblázatban tüntettük fel.

Mind a két ligandum esetében az első protonálódási állandó értéke igen nagy, amit pH-potenciometriás módszerrel nem lehet meghatározni. A DO3P ligandum esetében nagy ligandumkoncentrációt alkalmazva a titrálás során (0,01 M) és pH = 12,5-ig titrálva sikerült meghatározni az első protonálódási állandót pH-potenciometriásan, míg a DO3PA ligandum esetében NMR titrálást végeztünk (Me<sub>4</sub>NOH).

Az előző fejezetben részletesen tárgyaltuk a DO2A2P ligandum protonálódási sorrendjét, az alapján itt is elmondható, hogy mind a két ligandum esetében az első két protonálódási folyamat a gyűrű két szemben levő N donoratomján következik be. Az ezt követő három protonálódási lépés (log  $K_3$ –log  $K_5$ ) a foszfonátcsoportok bázikusabb oxigénjéhez rendelhető.

**IV.4.1.1 táblázat** A DO3P és DO3PA ligandumok protonálódási állandó értékei (1,0 M KCl, 25 °C)

	DO3P	DO3PA	DOTP <sup>a</sup>	DOTA <sup>b</sup>
log $K_1$	13,2(0,01)	13,6(0,09)	13,7	12,6
log $K_2$	11,13(0,01)	11,42(0,002)	12,2	9,70
log $K_3$	8,45(0,01)	7,69(0,003)	9,28	4,50
log $K_4$	6,79(0,01)	6,33(0,003)	8,09	4,14
log $K_5$	5,12(0,01)	5,13(0,003)	6,12	2,32
log $K_6$	1,95(0,03)	2,73(0,005)	5,22	–
log $K_7$	–	1,62(0,007)	–	–

<sup>a</sup>, [117], <sup>b</sup>, [118]

Ugyanakkor a DO3P ligandum hatodik protonálódási folyamatának értelmezése, már nem ilyen egyszerű, mert a hatodik proton, az állandó értékét figyelembe véve, protonálhatja az egyik foszfonátcsoportot, de bekövetkezhet a makrociklusos gyűrű harmadik N donoratomjának protonálódása is. A DO3PA ligandum esetében a hatodik protonálódási folyamat az acetátcsoport protonálódásához rendelhető, míg a hetedik, a DO3P ligandumhoz hasonlóan, mind a foszfonátcsoporton, mind a makrociklusos gyűrű N donoratomján bekövetkezhet.

Meghatároztuk a DO3P (IV.4.1.2 táblázat) és a DO3PA (IV.4.1.3 táblázat) ligandumok  $\text{Ca}^{2+}$ -,  $\text{Cu}^{2+}$ -,  $\text{Zn}^{2+}$ -ionokkal kialakuló komplexeinek stabilitási állandóját.

A három fémion közül a  $\text{Cu}^{2+}$  nagyon nagy stabilitású komplexeket képez mind a két ligandummal és ahogy az a IV.4.1.4 és IV.4.1.5 táblázatokban látszik, ez a DO3P ligandum lantanoidaionokkal kialakuló komplexeinek stabilitási állandóját 5–6 nagyságrenddel meghaladja, míg a DO3PA ligandummal kialakuló komplexekével gyakorlatilag megegyezik. Ez feltehetően a  $\text{Cu}^{2+}$ -ionnak a  $\text{Ln}^{3+}$ -

ionokénál kisebb koordinációs számával kapcsolatos (a  $\text{Ca}^{2+}$  magával a ciklénnel is stabilis komplexet képez).

**IV.4.1.2 táblázat** A DO3P  $\text{Ca}^{2+}$ -,  $\text{Cu}^{2+}$ -,  $\text{Zn}^{2+}$ -ionnal kialakuló komplexeinek stabilitási és protonálódási állandói (1,0 M KCl, 25 °C)

	$\text{Ca}^{2+}$	$\text{Cu}^{2+}$	$\text{Zn}^{2+}$
$\log K_{\text{ML}}$	11,20(0,05)	26,9(0,05)	20,9(0,05)
$\log K_{\text{MHL}}$	8,62(0,03)	6,93(0,05)	7,26(0,04)
$\log K_{\text{MH2L}}$	–	6,10(0,05)	5,97(0,06)
$\log K_{\text{MH3L}}$	–	4,65(0,03)	–
$\log K_{\text{MH4L}}$	–	1,77(0,06)	–
$\log K_{\text{M2L}}$	–	5,96(0,04)	6,46(0,05)
$\log K_{\text{M2HL}}$	–	5,37(0,05)	6,19(0,04)
$\log K_{\text{M2H2L}}$	–	–	5,01(0,02)

**IV.4.1.3 táblázat** A DO3PA  $\text{Ca}^{2+}$ -,  $\text{Cu}^{2+}$ -,  $\text{Zn}^{2+}$ -ionnal kialakuló komplexeinek stabilitási és protonálódási állandói (1,0 M KCl, 25 °C)

	$\text{Ca}^{2+}$	$\text{Cu}^{2+}$	$\text{Zn}^{2+}$
$\log K_{\text{ML}}$	14,50(0,03)	27,3(0,05)	22,9(0,02)
$\log K_{\text{MHL}}$	8,46(0,03)	6,98(0,05)	7,30(0,02)
$\log K_{\text{MH2L}}$	6,99(0,02)	6,23(0,05)	6,55(0,01)
$\log K_{\text{MH3L}}$	5,96(0,03)	5,21(0,04)	4,89(0,01)
$\log K_{\text{MH4L}}$	–	2,52(0,04)	1,93(0,04)
$\log K_{\text{M2L}}$	4,51(0,03)	5,91(0,04)	5,45(0,02)
$\log K_{\text{M2HL}}$	7,13(0,06)	6,09(0,05)	6,47(0,01)
$\log K_{\text{M2H2L}}$	–	4,67(0,06)	4,78(0,05)

A  $\text{Ln}^{3+}$ -ionokkal kialakuló komplexek stabilitási állandóinak meghatározása nehézségekbe ütközött, főleg a DO3P ligandum esetében. Az

Ln(DO3P)-komplexek stabilitási állandóinak meghatározását a savasabb tartományban megjelenő feltételezhetően töltésnélküli, háromszor protonált komplex kis oldhatóságából adódó csapadékképződés pH-potenciometriás módszerrel nem tette lehetővé. Az Ln(DO3P)-komplexek protonálódási állandóit meghatároztuk pH-potenciometriás titrálásokkal úgy, hogy a komplexeket a 10–11 pH-tartományban előállítottuk, majd savval titráltuk a csapadék megjelenéséig. Az említett problémák miatt kerülő utat kellett találni a stabilitási állandók meghatározására, ezért az EDTA ligandummal kompetíciós titrálásokat végeztünk pH > 7,0 értékeknél, ahol a gyors ligandumcsere folyamatoknak köszönhetően az egyensúly beállítására nem kellett sokat várni. Az így meghatározott stabilitási állandó értékeket, valamint a komplexek protonálódási állandó értékeit a IV.4.1.4 táblázatban tüntettük fel. Látható, hogy az egy foszfonát- ill. acetátcsoport hiánya a Ln(DO3PA)<sup>4-</sup>- vagy Ln(DOTP)<sup>-</sup>-komplexeihez viszonyítva (IV.4.1.5 és IV.4.1.6. táblázat) lényeges stabilitás csökkenést okoz.

**IV.4.1.4 táblázat** A DO3P ligandum Ln<sup>3+</sup>- és Y<sup>3+</sup>-ionokkal kialakuló komplexeinek stabilitási és protonálódási állandói (1,0 M KCl, 25 °C)

	La <sup>3+</sup>	Eu <sup>3+</sup>	Gd <sup>3+</sup>	Y <sup>3+</sup>	Lu <sup>3+</sup>
log $K_{ML}$	19,3(0,05)	20,37(0,02)	20,39(0,08)	20,10(0,08)	21,16(0,04)
log $K_{MHL}$	–	7,15(0,05)	7,14(0,03)	7,29(0,03)	–
log $K_{MH2L}$	–	6,47(0,03)	6,76(0,02)	6,60(0,01)	–
log $K_{MH3L}$	–	4,99(0,08)	5,41(0,04)	5,72(0,05)	–

A táblázatban szereplő stabilitási állandó értékeket az általunk meghatározott Ln(EDTA) stabilitási állandók segítségével számítottuk ki. A kétmagvú komplexek stabilitási állandóját a titrálás közben bekövetkező csapadékképződés miatt nem tudtuk meghatározni.

A La<sup>3+</sup>-, Eu<sup>3+</sup>- és Gd<sup>3+</sup>-ionok DO3PA ligandummal képződő komplexeinek stabilitási állandóját különmintás módszerrel határoztuk meg. A stabilitási állandók

számításánál fölhasználtuk az előzőekben az egyes komplexekre meghatározott protonálódási állandókat. A Lu(DO3PA)- és Y(DO3PA)-komplexek stabilitási állandó értékeit nem sikerült pH-potenciometriásan meghatározni, mert savas tartományban csapadék kiválás történt. A kétmagvú komplexek stabilitási állandóit a komplexek fémfelesleg mellett elvégzett titrálásával határoztuk meg. A kapott stabilitási állandó értékeket a IV.4.1.5 táblázatban mutatjuk be.

**IV.4.1.5 táblázat** A DO3PA ligandum Ln<sup>3+</sup>- és Y<sup>3+</sup>-ionokkal kialakuló komplexeinek stabilitási és protonálódási állandói (1,0 M KCl, 25 °C)

	La <sup>3+</sup>	Eu <sup>3+</sup>	Gd <sup>3+</sup>	Y <sup>3+</sup>	Lu <sup>3+</sup>
log $K_{ML}$	25,7(0,07)	27,5(0,08)	27,3(0,05)	–	–
log $K_{MHL}$	6,07(0,07)	5,93(0,08)	5,95(0,05)	6,04(0,05)	6,23(0,07)
log $K_{MH2L}$	5,14(0,07)	5,05(0,08)	5,04(0,05)	5,02(0,04)	5,09(0,06)
log $K_{MH3L}$	4,35(0,07)	4,23(0,09)	4,23(0,05)	4,16(0,05)	4,25(0,07)
log $K_{M2L}$	5,52(0,04)	6,89(0,03)	6,97(0,02)	5,89(0,04)	7,54(0,06)
log $K_{M2HL}$	4,36(0,07)	3,43(0,09)	3,70(0,03)	5,10(0,01)	4,43(0,04)

A DO3PA ligandummal kialakuló komplexek stabilitási állandója rendkívül nagy, értékét tekintve a DO2A2P és a DOTP ligandumokkal kialakuló komplexek stabilitási állandó értékei közé esik. A IV.4.1.6 táblázatban bemutatjuk, hogyan változik a Gd<sup>3+</sup>-ionnal kialakuló komplexek stabilitási állandó értéke a metilénfoszfónát-csoportok számának növekedésével.

**IV.4.1.6 táblázat** A DOTA, DO2A2P, DO3PA és DOTP ligandumok Gd<sup>3+</sup>-ionnal kialakuló komplexeinek stabilitási állandói

	DOTA <sup>a</sup>	DO2A2P	DO3PA	DOTP <sup>b</sup>
Gd <sup>3+</sup>	24,7	25,7	27,3	28,8

<sup>a</sup>, [121], <sup>b</sup>, [96]

A táblázatban szereplő adatokból látható, hogy a ligandumok metilénfoszfonát-csoportjai számának növekedésével a stabilitási állandók értéke fokozatosan nő. Ez egyúttal azt is mutatja, hogy a tetraaza makrociklushoz kapcsolt foszfonát-csoportok nagyobb térigénye ellenére lehetséges a koordinációs „kalitka” térbeli gátlás nélküli kialakulása és a nagyon stabilis komplexek képződése.

#### ***IV.4.2 Kinetikai vizsgálatok***

Megvizsgáltuk a Gd(DO3P)-komplex disszociációjának, valamint a Gd(DO3PA)-komplex képződésének és disszociációjának a kinetikáját.

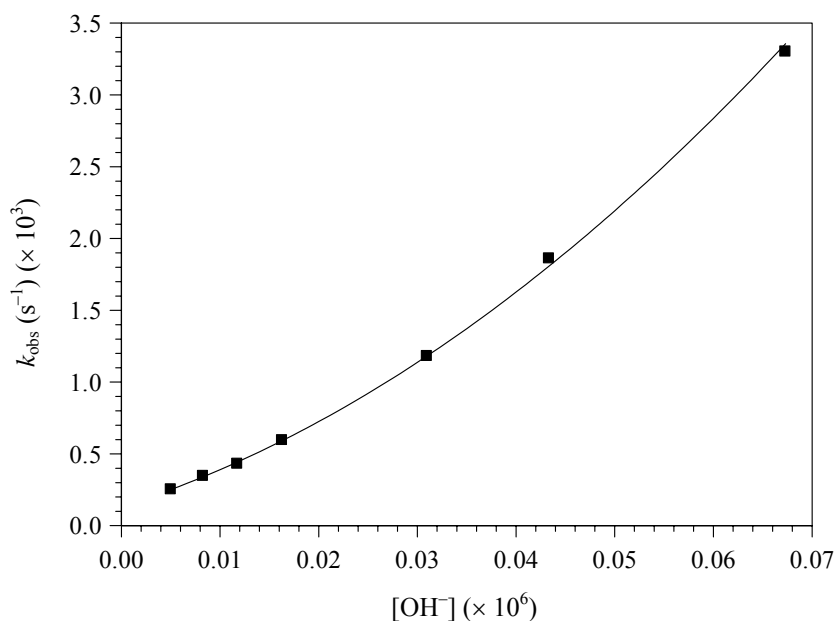
A Gd(DO3P)-komplex képződési kinetikáját nem tudtuk megvizsgálni, mert a komplex a 6–7 pH-tartományban olyan gyorsan képződik, amit nem tudunk követni relaxometriás módszerrel. A pH csökkentésével a képződési reakciók lassulnak ugyan, de az egyensúlyi részben említett oldhatósági problémák miatt nem tudtuk a pH-t csökkenteni, mert a mintákban csapadék jelent meg. A komplexek gyors képződésének magyarázata az lehet, hogy a „hiányzó” funkciócsoport nyitottá teszi a ligandumot és így a fémion könnyebben be tud lépni a sokkal kevésbé merev koordinációs kalitkába. Ezt a feltételezést részben alátámasztják a disszociációs kinetikai vizsgálatnál tapasztaltak (lásd később).

A Gd<sup>3+</sup>-ion DO3PA ligandummal kialakuló komplexének képződési kinetikáját sikerült tanulmányoznunk az 5,8 – 7,0 pH-tartományban ahol a komplexképződés sebessége elegendően kicsi volt a relaxometriás mérések alkalmazásához. A lantanoida(III)ionok DO2A2P ligandummal kialakuló komplexeinél tapasztaltak alapján a reakciókat ligandumfelesleg mellett vizsgáltuk, ezzel elkerülve az kétmagvú köztitermékek esetleges képződését, valamint így biztosítottuk a pszeudo-elsőrendű feltételt. Ezek alapján a képződési reakció a következő sebességi egyenlettel jellemezhető:

$$\frac{d[\text{Gd}(\text{DO3PA})]_t}{dt} = k_{\text{obs}} [\text{Gd}^{3+}] \quad \text{IV.4.2.1}$$

ahol  $[\text{Gd}(\text{DO3PA})]_t$  a komplex teljes koncentrációját jelöli.

A  $\text{Gd}^{3+}$ -ion és DO3PA ligandum között lejátszódó képződési reakció esetében (IV.4.2.1 ábra) a reakciósebesség növekszik a  $\text{OH}^-$ -koncentráció növekedésével, ugyanakkor a görbe nem a nulla értékben metszi az y-tengelyt, ami a  $\text{OH}^-$ -koncentrációtól független reakcióutat jelöl, ahogy azt a DO2A2P ligandummal képződő lantanoidakomplexek esetében is tapasztaltuk. A  $k_{\text{obs}}$  értékek nem lineárisan növekednek a  $\text{OH}^-$ -koncentráció növekedésével, amit feltételezhetően a  $\text{OH}^-$ -ion koncentrációtól való négyzetes függés okoz.



**IV.4.2.1 ábra** A  $\text{Gd}(\text{DO3PA})$ -komplex képződési reakciójának  $k_{\text{obs}}$  értékei a  $[\text{OH}^-]$  függvényében ( $[\text{Gd}^{3+}] = 1\text{mM}$ ,  $[\text{DO3PA}] = 10\text{mM}$ ).

A  $\text{Gd}^{3+}$ -ion és a DO3PA ligandum képződési reakciói során kialakuló  $\text{Gd}(\text{H}_2\text{DO3PA})^{2-}$  közttermék stabilitási állandóját ugyan nem határoztuk meg pH-



potenciometriásan, de várható, hogy a köztitermék stabilitási állandójának értéke biztosan eléri a DO2A2P ligandummal kialakuló köztitermékek stabilitási állandóját. Ezt figyelembe véve, a képződési reakciók során számolhatunk a kétszer protonált köztitermék kialakulásával. A kétszer protonált köztitermék a IV.3.2.2. egyensúlyban várhatóan egyszer protonált köztitermékké alakul és a  $\text{Gd}(\text{HDO3PA})^{3-}$  deprotonálódása a sebességmeghatározó lépés. A  $\text{Gd}(\text{HDO3PA})^{3-}$  koncentrációja az  $1/[\text{H}^+]$ -val, ill. a  $[\text{OH}^-]$ -val arányos és deprotonálódása végbemehet a vízmolekulák (vagy puffer anionok mint Brönsted bázisok) és a  $\text{OH}^-$ -ionok közreműködésével, így a  $k_{\text{obs}}$  értékek pH-függése a IV.4.2.2. egyenlettel fejezhető ki. A  $\text{Gd}^{3+}$  belépése a deprotonált koordinációs kalitkába várhatóan gyors. A  $k_{\text{obs}}$  értékeket a IV.4.2.2 egyenletre illesztve kiszámítottuk a képződési reakciót jellemző sebességi állandókat (IV.4.2.1. táblázat).

$$k_{\text{obs}} = k_{\text{L}} + k_{\text{OH}}[\text{OH}^-] + k_{\text{OH}^2} [\text{OH}^-]^2 \quad \text{IV.4.2.2}$$

**IV.4.2.1 táblázat** A DOTA, DO2A2P, DO3PA és DOTP ligandumok  $\text{Gd}^{3+}$ -ionnal kialakuló komplexeinek képződését jellemző sebességi állandók (25 °C)

	DOTA <sup>a</sup>	DO2A2P	DO3PA	DOTP <sup>b</sup>
$k_{\text{L}} (\text{M}^{-1})$	–	$(3,0 \pm 0,3) \times 10^{-5}$	$(1,3 \pm 0,1) \times 10^{-4}$	–
$k_{\text{OH}} (\text{M}^{-1}\text{s}^{-1})$	$5,9 \times 10^6$	$(6,6 \pm 0,3) \times 10^4$	$(2,2 \pm 0,1) \times 10^4$	$7,2 \times 10^3$
$k_{\text{OH}^2} (\text{M}^{-2}\text{s}^{-1})$	–	–	$(3,8 \pm 0,3) \times 10^{11}$	–

<sup>a</sup>, [118], <sup>b</sup>, [124]

A táblázatban szereplő adatokból látható, hogy a DOTA ligandum acetátcsoportjainak foszfonátcsoportokra történő cseréje, a DO2A2P ligandummal képződő komplexekhez képest is tovább lassítja a képződés sebességét a DO3PA ligandumok esetén. Ugyanakkor a bázistól független reakcióútra vonatkozóan azt mondhatjuk, hogy a foszfonátcsoportok számának eggyel történő növekedése a

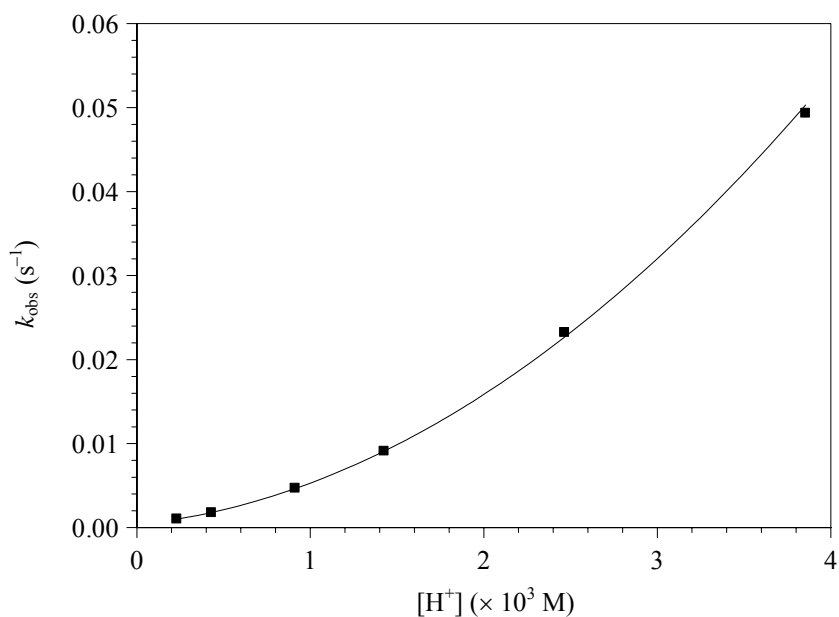
spontán átalakulás sebességét – amikor a köztitermék N-atomjáról egy foszfonát oxigénre lép a proton – majdnem egy nagyságrendbel növeli meg.

Megvizsgáltuk a Gd(DO3P)- és a Gd(DO3PA)-komplex disszociációjának sebességét. A DO3P ligandumokkal kialakuló kisebb stabilitású komplexek, valamint a gyorsabb disszociáció miatt a Gd(DO3P)-komplexek disszociációjának sebességét a 2,3–3,6 pH-tartományban vizsgáltuk Cu<sup>2+</sup> kicserélő fémion alkalmazásával spektrofotometriásan. A Gd(DO3PA)-komplex estében vizsgálatainkat 0,1–1,0 M HCl koncentráció tartományban végeztük, ahol a komplex disszociációjának sebessége elegendően nagy ([HCl] + [KCl] = 1,0 M) és a komplex teljesen disszociál. A Gd(DO3PA) komplex relaxitás értéke ebben a pH-tartományban, ahol az egyensúlyi adatok alapján a domináns részecske a háromszor protonált komplex,  $r_{1,\text{komplex}} = 6,5 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ , míg a felszabaduló Gd<sup>3+</sup>-ion relaxitása  $r_{1,\text{Gd}} = 17 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ . Ez elegendően nagy relaxitás különbség a kinetikai vizsgálatok végrehajtásához. A komplexek disszociációja a következő sebességi egyenlettel jellemezhető:

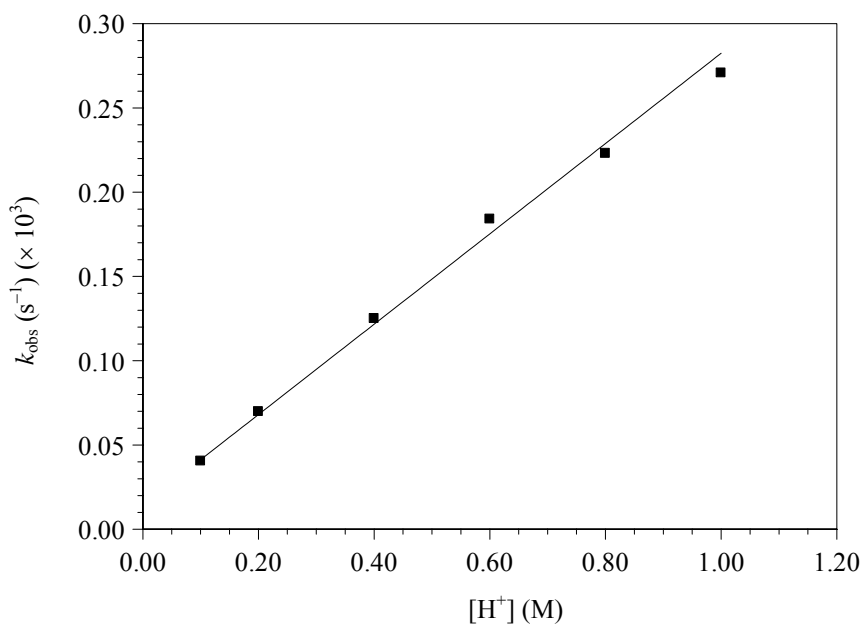
$$-\frac{d[\text{Gd(L)}]}{dt} = k_{\text{obs}}[\text{Gd(L)}] \quad \text{IV.4.2.3}$$

L = DO3P vagy DO3PA

A disszociációs reakciók során kapott  $k_{\text{obs}}$  értékeket a IV.4.2.2 (Gd(DO3P)) és a IV.4.2.3 ábrán (Gd(DO3PA)) tüntettük fel a H<sup>+</sup>-ion koncentrációjának függvényében.

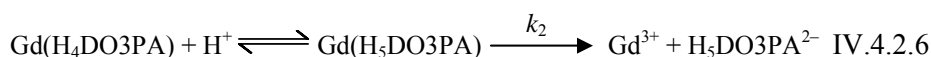
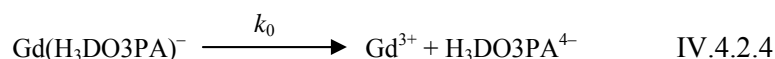


**IV.4.2.2 ábra** A Gd(DO3P)-komplex disszociációs reakciójának  $k_{\text{obs}}$  értékei a  $[\text{H}^+]$  függvényében. ( $[\text{Gd}(\text{DO3P})] = 1 \times 10^{-3} \text{ M}$ ,  $25 \text{ }^\circ\text{C}$ )



**IV.4.2.3 ábra** A Gd(DO3PA)-komplex disszociációs reakciójának  $k_{\text{obs}}$  értékei a  $[\text{H}^+]$  függvényében. ( $[\text{Gd}(\text{DO3PA})] = 1 \times 10^{-3} \text{ M}$ ,  $25 \text{ }^\circ\text{C}$ )

A Gd(DO3P)-komplex disszociációja, a IV.4.2.2 ábra alapján lejátszódhat a komplex spontán disszociációjával és protonkatalizált úton. A disszociációs reakció sebessége négyzetes függést mutat a protonkoncentráció változásával, az alkalmazott pH-tartományban. Az egyensúlyi adatok alapján a Gd(DO3P)-komplex legalább háromszor protonált formában van jelen ebben a pH-tartományban, így a négyzetes függés egy ötször protonált köztitermék kialakulásával, illetve egy protonnak a négyszer protonált köztiterméken történő támadásával magyarázható. Ellentétben az egyensúlyi vizsgálatokkal, ebben a pH-tartományban (2,3–3,6) nem tapasztaltunk csapadékképződést, ami a feltételezhetően a négyszer, esetleg ötször protonált köztitermékek kialakulásával magyarázható. A feltételezett reakcióutakat a következő egyenletek mutatják:



Ezeket a reakcióutakat figyelembe véve a  $k_{\text{obs}}$  értékeket a következő egyenletre illetve kiszámítottuk a komplex disszociációját jellemző sebességi állandókat.

$$k_{\text{obs}} = k_0 + k_1[\text{H}^+] + k_2[\text{H}^+]^2 \quad \text{IV.4.2.7}$$

A kapott sebességi állandókat a Gd(DO3PA)-komplexre kapott sebességi állandókkal együtt a IV.4.2.2 táblázatban tüntettük fel.

A Gd(DO3PA)-komplexek esetében a disszociáció sebessége lineárisan változik a  $\text{H}^+$ -ion-koncentráció változásával, így a  $k_{\text{obs}}$  értékeket a következő egyenletre illesztettük:

$$k_{\text{obs}} = k_0 + k_1[\text{H}^+] \quad \text{IV.4.2.8}$$

Az IV.4.2.8 egyenlet segítségével kiszámított sebességi állandókat a IV.4.2.2 táblázatban tüntettük fel.

**IV.4.2.2 táblázat** A DOTA, DO2A2P, DO3P, DO3PA és DOTP ligandumok Gd<sup>3+</sup>-ionnal kialakuló komplexeinek disszociációját jellemző sebességi állandók (25 °C)

	$k_0$ (s <sup>-1</sup> )	$k_1$ (M <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> )	$k_2$ (M <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup> )
Gd(DOTA) <sup>a</sup>	$<5 \times 10^{-8}$	$8,4 \times 10^{-6}$	–
Gd(DO2A2P)	$(4,3 \pm 0,5) \times 10^{-6}$	$(1,95 \pm 0,04) \times 10^{-4}$	–
Gd(DO3PA)	$(1,4 \pm 0,2) \times 10^{-5}$	$(2,7 \pm 0,1) \times 10^{-4}$	–
Gd(DOTP) <sup>b</sup>	–	$5,4 \times 10^{-4}$	–
Gd(DO3P)	$(3,6 \pm 0,5) \times 10^{-4}$	$2,1 \pm 0,2$	$2811 \pm 93$

<sup>a</sup>, [122], <sup>b</sup>, [124]

A IV.4.2.2 táblázatban szereplő adatok összehasonlításából kitűnik, hogy a foszfonátcsoportok számának növekedése kedvez a disszociáció lejárásának, mind a spontán ( $k_0$ ) mind a protonkatalizált disszociáció ( $k_1$ ) esetén. A Gd(DO3P)-komplex disszociációjának szokatlanul nagy sebessége pedig egyértelműen a koordinációs kalitka sokkal kevésbé merev szerkezetének tulajdonítható, illetve annak, hogy a makrociklus szabad nitrogénje könnyebben protonálható, mint a többi nitrogén. A Gd(DO3P)-komplexben kötött ligandum N-donoratomjának protonálódását követően a fémion könnyebben kilép a nyitottabb koordinációs kalitkából. Összeségében elmondható, hogy a DOTA acetátcsoportjainak metilénfoszfonát-csoportokra történő fokozatos cseréje, a komplexképződés sebességének csökkenését, míg a komplexek sav katalizálta disszociációja sebességének növekedését eredményezi.

## IV.5 A Ln(TETA(PO<sub>2</sub>H)<sub>2</sub>)-komplexek egyensúlyi és kinetikai sajátosságai

### IV.5.1 Egyensúlyi vizsgálatok

Az irodalomból már ismert, hogy a tetraaza-makrociklusos ligandumok gyűrűméretének növelése a DOTA 12-es gyűrűtagszámához képest, mind a termodinamikai stabilitási állandók, mind a kinetikai inertség szempontjából kedvezőtlen. Kinetikai szempontból, a nagyobb gyűrű nagyobb flexibilitása megkönnyíti a komplexek képződését és disszociációját. A 12, 13 és 14 tagszámú makrociklusos ligandumokkal képződő komplexek stabilitási állandóit a IV.5.1.1 táblázatban hasonlítjuk össze.

**IV.5.1.1 táblázat** A DOTA, TRITA és TETA ligandumok Gd<sup>3+</sup>-komplexeinek stabilitási állandói

	DOTA <sup>a</sup>	TRITA <sup>a</sup>	TETA <sup>a</sup>
log $K_{GdL}$	24,0	19,17	13,77

<sup>a</sup> Ref. [127]

A TETA(PO<sub>2</sub>H)<sub>2</sub> (későbbiekben TETAPO) ligandum lantanoida- és más fémionokkal képződő komplexeinek vizsgálata olyan szempontból érdekes, hogy milyen hatással van a stabilitási állandókra, valamint a kinetikai inertségre a TETA ligandum gyűrűjébe bevitt két foszfinátcsoport. Ez azért is különösen érdekes, mert olyan makrociklusos ligandumot, melynek a gyűrűjében töltéssel rendelkező funkciós csoport lenne, korábban nem szintetizáltak.

*Orvig* és munkatársai tanulmányozták a TETAPO ligandum és komplexeinek (La<sup>3+</sup>, Gd<sup>3+</sup>, Lu<sup>3+</sup>) egyensúlyi viselkedését, meghatározták a ligandum protonálódási állandóit (IV.5.1.2 táblázat), valamint néhány komplexének stabilitási állandóit (IV.5.1.3 táblázat). Ugyanakkor, annak ellenére, hogy a ligandum donoratomjainak száma 10, egyik esetben sem feltételezték a

kétmagvú komplexek kialakulásának lehetőségét. Ezért tartottuk célszerűnek meghatározni a stabilitási állandó értékeket újra, oly módon, hogy részletesen vizsgáljuk a kétmagvú komplexek kialakulásának lehetőségét.

Egyensúlyi vizsgálataink során ezért pH-potenciometriásan, különböző fém–ligandum arányoknál végeztünk méréseket és ezeket együtt illetve számoltuk a kialakuló részecskék stabilitási állandóit (IV.5.1.3 táblázat). A ligandum donoratomjainak és a fémionok koordinációs számának figyelembevétele alapján az ML összetételű komplexek mellett protonált és kétmagvú részecskék képződését feltételeztük.

**IV.5.1.2 táblázat** A TETAPO ligandum protonálódási állandói (25 °C, 1,0 M KCl)

	TETAPO	TETAPO <sup>a</sup>
log $K_1$	8,43(0,01)	8,45
log $K_2$	7,73(0,01)	7,76
log $K_3$	4,84(0,01)	4,78
log $K_4$	4,13(0,01)	4,08
log $K_5$	2,43(0,01)	1,89

<sup>a</sup> [128] (0,16 M NaCl, 25 °C)

**IV.5.1.3 táblázat** A TETAPO ligandum komplexeinek stabilitási állandói (25 °C, 1,0 M KCl)

	log $K_{ML}$	log $K_{MLH}$	log $K_{MH2L}$	log $K_{MLM}$
$Cu^{2+}$	13,88(0,07)	7,83(0,05)	3,54(0,03)	10,29(0,02)
<sup>a</sup> $Cu^{2+}$	12,44	8,19	4,48	–
$Zn^{2+}$	8,94(0,05)	7,87(0,03)	4,28(0,01)	7,20(0,01)
<sup>a</sup> $Zn^{2+}$	8,63	8,36	4,37	–
$Ca^{2+}$	5,02(0,02)	7,86(0,01)	4,76(0,05)	3,89(0,01)
<sup>a</sup> $Ca^{2+}$	6,24	7,04	3,33	–
$Mg^{2+}$	2,76(0,02)	7,91(0,04)	–	–

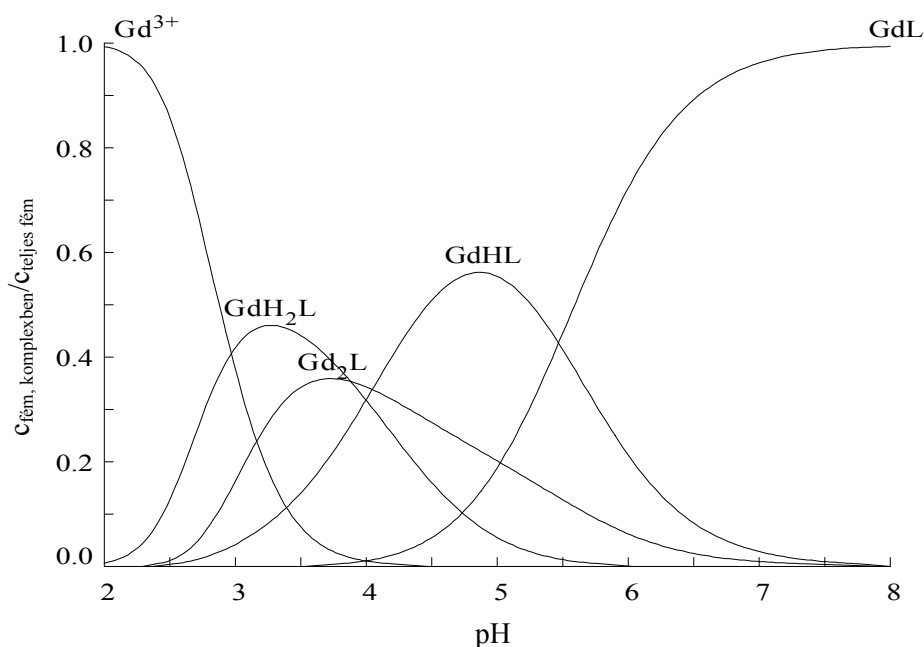
## IV.5.1.3 táblázat (folytatás)

	$\log K_{ML}$	$\log K_{MLH}$	$\log K_{MH2L}$	$\log K_{MLM}$	$\log K_{MLOH}$
$Ce^{3+}$	14,74(0,01)	3,81(0,02)	3,72(0,01)	3,74(0,01)	–
$Nd^{3+}$	14,53(0,03)	4,22(0,05)	3,88(0,01)	4,68(0,02)	–
$Eu^{3+}$	13,66(0,05)	5,16(0,06)	4,01(0,02)	6,03(0,02)	11,32(0,07)
$Gd^{3+}$	12,88(0,03)	5,47(0,03)	4,00(0,01)	6,18(0,01)	10,84(0,05)
<sup>a)</sup> $Gd^{3+}$	12,74	6,33	4,25	–	–
$Ho^{3+}$	11,94(0,04)	6,54(0,03)	3,73(0,02)	7,49(0,02)	10,72(0,05)
$Er^{3+}$	11,86(0,05)	6,59(0,04)	3,83(0,02)	7,39(0,02)	10,27(0,07)
$Yb^{3+}$	12,55(0,05)	6,46(0,03)	3,36(0,05)	7,78(0,02)	10,44(0,06)
$Lu^{3+}$	13,15(0,05)	6,38(0,04)	3,52(0,05)	7,46(0,03)	10,48(0,07)
<sup>a)</sup> $Lu^{3+}$	11,71	7,56	4,46	–	–

<sup>a)</sup> [128] (0,16 M NaCl, 25 °C)

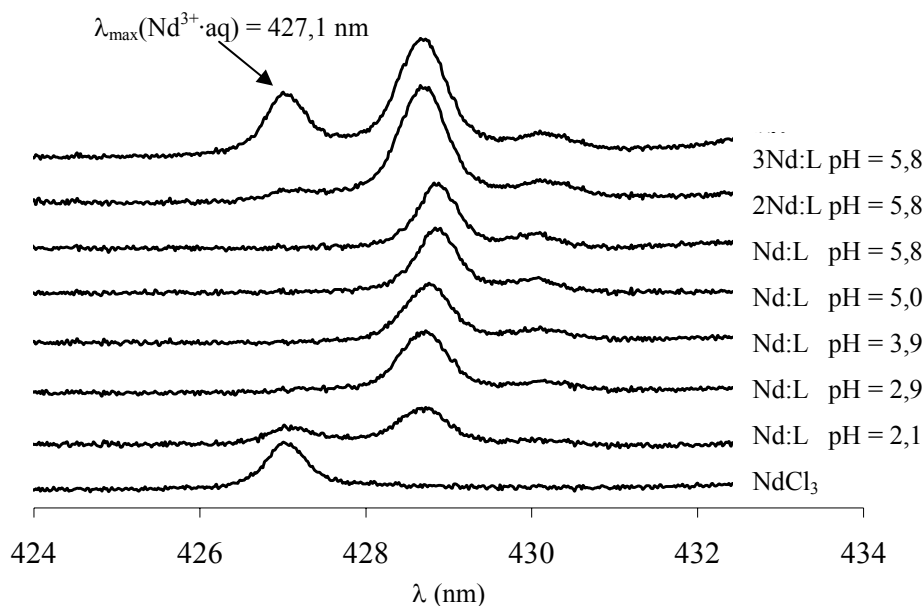
Az eredmények illetve a stabilitási állandókban mutatkozó különbségek értelmezése könnyen megtehető, ha megnézzük a  $Gd(TETAPO)^{3-}$ -komplex eloszlási diagramját (IV.5.1.1 ábra).





IV.5.1.1 ábra A  $Gd^{3+}$  –  $TETAPO^{6-}$  –  $H^+$  rendszer eloszlási diagramja (1 mM)

Az eloszlási diagramból egyértelműen kiderül, hogy a 2 – 7 pH-tartományban még 1–1 fém–ligandum arány esetében is megjelenik a kétmagvú  $Gd_2(TETAPO)$  részecske (pH = 8 fölött a komplex hidrolízise is bekövetkezik). A kétmagvú komplexek képződésének figyelembevétele nélkül a számított stabilitási állandókban a vizsgált rendszertől függően kisebb-nagyobb eltéréseket tapasztalunk és az egyensúlyi rendszerek viselkedése nem írható le jól. A pH-potenciometriás mérések alapján feltételezett modell érvényességének bizonyítására spektrofotometriás méréseket végeztünk. Fölvettük a  $Nd$ – $TETAPO$  rendszer látható abszorpciós spektrumait a 420–440 nm-es tartományban különböző fém–ligandum arányoknál és eltérő pH értékeknél (IV.5.1.2 ábra). Ahogy azt az irodalmi áttekintésben már tárgyaltuk a  $Nd^{3+}$ -ion abszorpciós spektrumai alkalmasak a komplexképződés követésére.

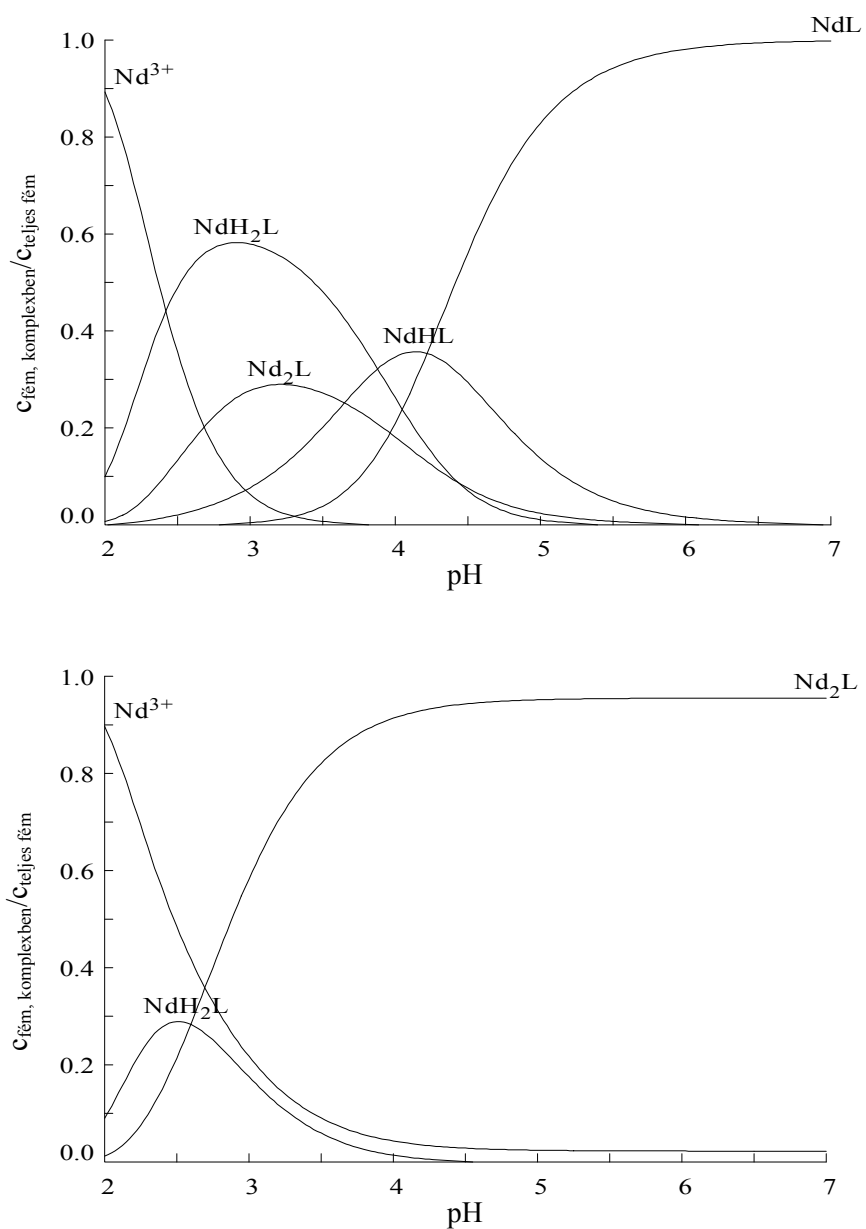


**IV.5.1.2 ábra** A Nd-TETAPO rendszer abszorbanca spektrumai különböző fém-ligandum arányoknál és pH értékeknél (25 °C)

A Nd-TETAPO rendszerben a komplexképződés pH = 3 értéknél gyakorlatilag befejeződik, amit a szabad  $\text{Nd}^{3+}\cdot\text{aq}$  abszorpciós sávjának (427,1 nm) eltűnése jelez. Ezzel párhuzamosan új sáv jelenik meg a nagyobb hullámhosszak irányában (428,6 nm). Ennek a sávnak a maximuma a pH növekedésével a 3–6 pH-tartományban további igen kis mértékű eltolódást mutat (428,8 nm). Ennek magyarázata, az eloszlási görbe alapján (IV.5.1.3 ábra) az lehet, hogy ebben a tartományban a pH növekedésével fokozatosan csökken a protonált és a kétmagvú komplexek mennyisége és pH = 6-tól már csak a teljesen deprotonált  $\text{Nd}(\text{TETAPO})^{3-}$ -komplex van jelen. A  $\text{Nd}^{3+}$ -ion ezen abszorpciós sávja eltolódásának mértéke arányos a fémion koordinációs szférájának „telítettségével”, azaz több donoratomb koordinációja nagyobb mértékű eltolódást okoz. Az itt tapasztalt kismértékű eltolódás lehetséges magyarázata, hogy a deprotonálódás ligandum koordinációját nem befolyásolja nagymértékben, vagyis a protonálódás

szabad donoratomon történik. Az egyszeres  $\text{Nd}^{3+}$ -ion feleslegnél ( $2[\text{Nd}^{3+}]:[\text{L}]$  arány) felvett spektrumban alig jelenik meg az akvakomplexre jellemző abszorpciós sáv, ami bizonyítja a kétmagvú komplex képződését, valamint alátámasztja az egyensúlyi mérések értékelésénél tett feltevések helyességét (IV.5.1.3 ábra). Kétszeres fémion feleslegnél ( $3[\text{Nd}^{3+}]:[\text{L}]$ ) azonban már megjelenik a szabad  $\text{Nd}^{3+}$ -ionra jellemző abszorpciós sáv, melynek intenzitása megfelel az egy ekvivalens  $\text{Nd}^{3+}$ -aq-ionnak. A kétmagvú komplex képződése mellett tehát kizárható a hárommagvú komplex képződése. Szembetűnő, hogy az 1:1 fém-ligandum arányú valamint a kétmagvú komplexre jellemző sáv maximumai csak kis mértékben különböznek egymástól (1:1  $[\text{Nd}^{3+}]:[\text{L}] = 428,8$  nm, 2:1  $[\text{Nd}^{3+}]:[\text{L}] = 428,6$  nm). Ez azt mutatja, hogy a kétmagvú komplexben a fémionok koordinációs szférája nem tér el jelentősen az 1:1 komplexben levő fémionétól. Az 1:1 komplexben a makrociklusos gyűrű térbeli elrendeződése miatt nem valósulhat meg a makrociklus négy N és két foszfinát-oxigén donoratomjának egyidejű koordinációja. Ugyanakkor a kétmagvú komplexben a két fémion kölcsönhatásba léphet a ligandummal úgy (két oldalról), hogy annak minden donoratomja koordinálódik, így az egyes fémionok koordinációs szférájának telítettsége nem különbözik jelentősen az 1:1 komplexben kötött fémionétól.

Érdekes, hogy a  $\text{Ce}_2\text{L}$  összetételű komplex stabilitása viszonylag kicsi, de a rendszám növekedésével az  $\text{Ln}_2\text{L}$  komplexeké határozottan nő (IV.5.1.3 táblázat). Ez azt mutatja, hogy a  $\text{LaL}$ - vagy  $\text{CeL}$ -komplexek esetében feltételezhetően még a ligandum közel összes donoratomja koordinálódik, majd a  $\text{Ln}^{3+}$ -ionok méretének csökkenésével egyre nagyobb a szabad donoratomok száma, ezért a második  $\text{Ln}^{3+}$  koordinációja mind nagyobb valószínűséggel következik be. Ezzel a megállapítással teljesen összhangban vannak a  $^{31}\text{P}$ -NMR vizsgálataink eredményei (lásd később).



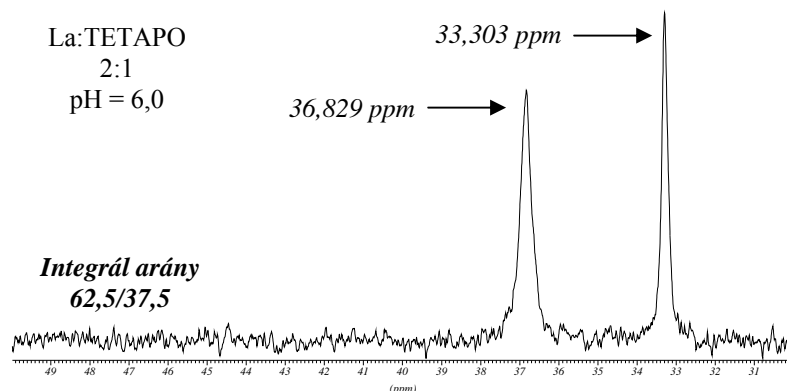
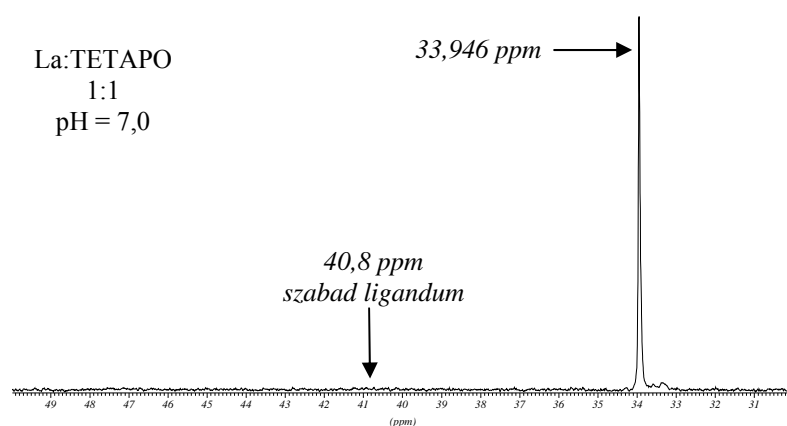
**IV.5.1.3 ábra** A  $\text{Nd}^{3+}$  (TETAPO)-komplexek koncentráció eloszlási diagramja 1:1 és 2:1  $[\text{Nd}^{3+}]:[\text{L}]$  arányánál (10 mM ligandum koncentrációra)

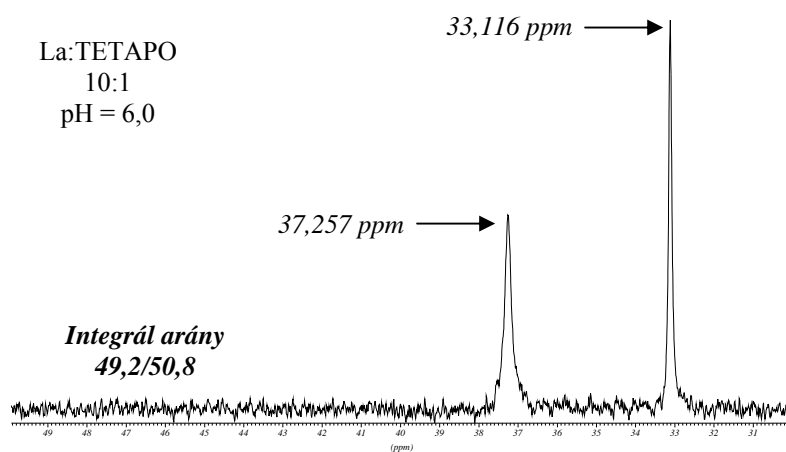
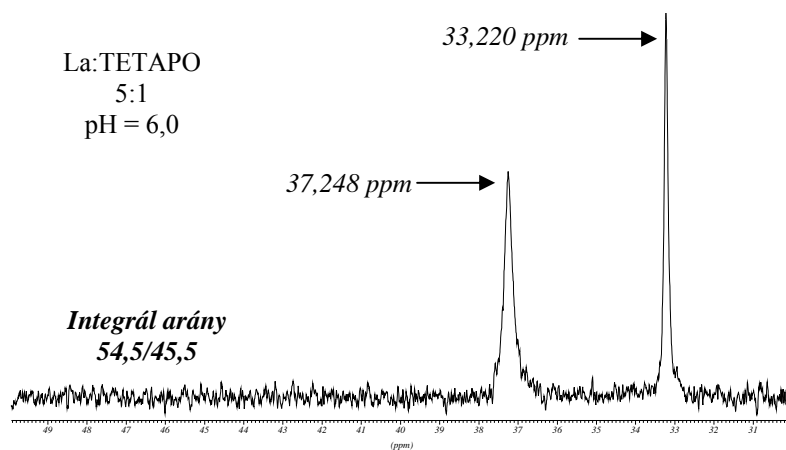
A kisebb rendszámú, nagyobb méretű  $\text{Ln}^{3+}$ -ionok még feltehetően a donoratomok alkotta, a DOTA-énál kevésbé merevebb koordinációs „kalitka” közepén helyezkednek el, de az ionméret csökkenésével a  $\text{Ln}^{3+}$ -ion egyre inkább a kalitka egyik felében helyezkedik el, amikor 2 nitrogén, két karboxilát oxigén mellett esetleg foszfinát oxigén koordinálódik. A komplexek szerkezetében a rendszám növekedésével bekövetkező ilyen változás eredményezheti az LnL-komplexek stabilitási állandói értékében tapasztalt menetet. A  $\log K_{\text{ML}}$  értékek a  $\text{Ce}^{3+}$ -iontól az  $\text{Er}^{3+}$ -ionig csökkennek feltehetően a koordinációs kalitka és a fémionok méretének növekvő különbsége miatt. Az  $\text{Er}^{3+}$ -ion utáni fémionok még kisebb mérete azt eredményezi, hogy azok inkább a TETAPO egyik felét alkotó bisz-(N-karboximetil-N-metil)-foszfinsav  $((\text{HOOC-CH}_2\text{-N-CH}_2)_2\text{PO}_2\text{H})$  donoratomjaihoz koordinálódnak, amivel erősebb lehet a kölcsönhatásuk és a stabilitási állandók  $\text{Lu}^{3+}$ -ionig nőnek. A stabilitási állandó értékében persze szerepe van a TETAPO nagyobb negatív töltésének és ezzel magyarázhatjuk, hogy a stabilitási állandó értéke a  $\text{Lu}(\text{TETAPO})$  esetében  $\log K_{\text{ML}} = 13,15$  (IV.5.1.3 táblázat), míg a  $\text{Lu}$ -bisz(N-karboximetil-N-metil)-foszfinát esetében csak  $\log K_{\text{ML}} = 8,68$  [129].

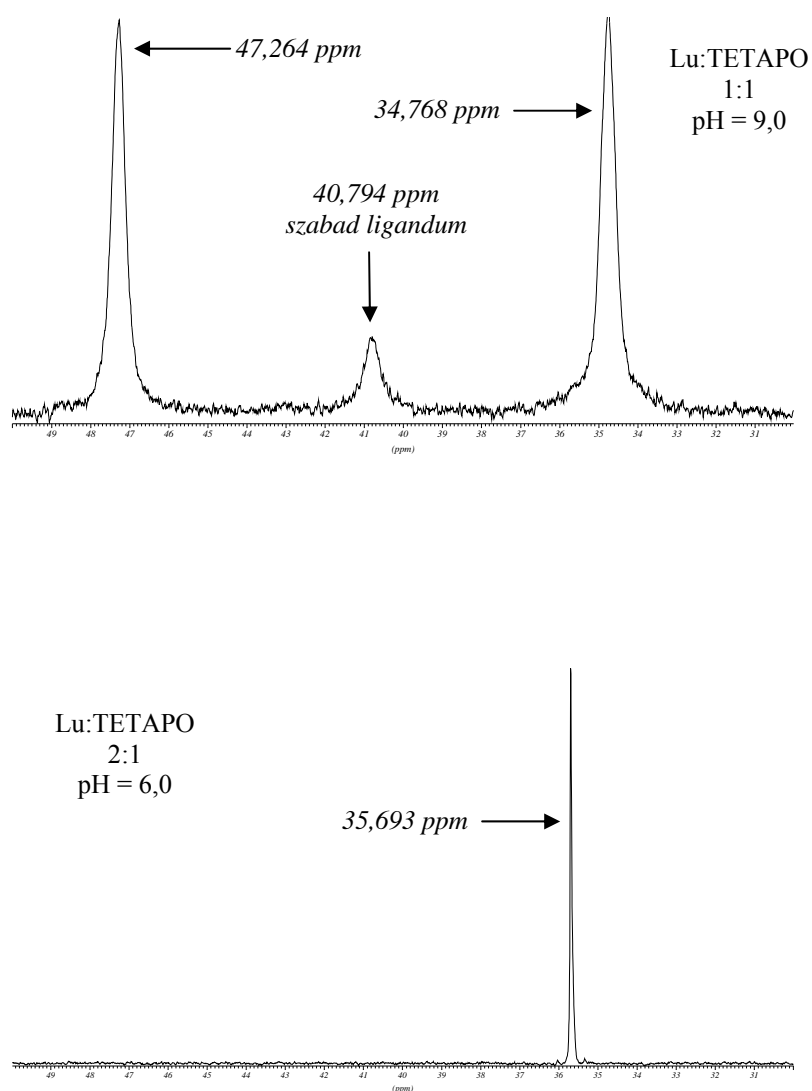
A komplexekben kialakuló, úgymond „laza” koordinációt támasztja alá a protonálódási állandók nagy értéke, ami az első protonálódási állandók esetében egyértelműen a gyűrű egyik N donoratomjához rendelhető (IV.5.1.3 táblázat). Ha jobban szemügyre vesszük az első protonálódási állandók értékeit, akkor azt látjuk, hogy a  $\text{Ce}^{3+}$ -tól a  $\text{Er}^{3+}$ -ig határozottan növekednek a  $\log K_{\text{MHL}}$  állandók, míg a lantanoida sor végén közel megegyeznek. Ez a tény is igazolhatja az előzőekben vázolt magyarázatot a stabilitási állandók menetének a változására.

Elképzelésünk igazolására  $^{31}\text{P}$ -NMR-es méréseket végeztünk  $\text{La}(\text{TETAPO})$  és  $\text{Lu}(\text{TETAPO})$  komplexek esetén. Mind a két rendszernél fölvtettük az LnL és  $\text{Ln}_2\text{L}$  összetételű komplexek  $^{31}\text{P}$ -NMR spektrumát, amit a IV.5.1.4 ábrán mutatunk be. A  $\text{La}$ -TETAPO 1-1 összetételű rendszerben, egyetlen foszforjelet találunk, ami csak abban az esetben lehetséges, ha a makrociklusos gyűrűben található két

foszforatom kémiai környezete azonos, tehát a  $\text{La}^{3+}$ -ion koordinációja szimmetrikus a makrociklus donoratomjaival. Ha a  $\text{La}^{3+}$ -iont feleslegben alkalmazzuk a ligandumhoz képest, a spektrumokban két foszfor jel mutatkozik, ami egyértelműen utal a kétmagvú komplexek képződésére, tehát a gyűrű két foszforatomjának kémiai környezete eltérő, ami egyben a  $\text{La}^{3+}$ -ionok kémiai környezetének különbözőségét is jelenti.







**IV.5.1.3 ábra** A La(TETAPO)- és Lu(TETAPO)-komplexek  $^{31}\text{P}$ -NMR spektrumai (25 °C)

A Lu–TETAPO rendszerek esetében pontosan fordított a helyzet. 1:1  $\text{Lu}^{3+}$ –L összetételnél a spektrumban két jelet találunk, tehát a két foszfor nem ekvivalens egymással, környezetük eltérő, a  $\text{Lu}^{3+}$ -ion az egyikhez közelebb helyezkedik el. Ugyanakkor 2:1 arányú összetételnél egy jelet kaptunk, így nincs különbség a foszforatomok kémiai környezetében, ami csak abban az esetben valósulhat meg,



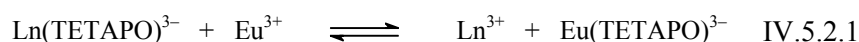
ha a két  $\text{Lu}^{3+}$ -ion megegyező módon koordinálódik a ligandumhoz, ami alátámasztja, azt a feltevést, hogy a két  $\text{Lu}^{3+}$ -ion a ligandum egy-egy „feléhez” koordinálódik.

Egyensúlyi méréseink eredményeit, miszerint a TETAPO ligandum képes kétmagvú komplexek kialakítására, sikerült igazolnunk, mind spektrofotometriás, mind  $^{31}\text{P}$ -NMR spektroszkópiás mérésekkel. A TETAPO ligandum nagy stabilitású kétmagvú komplexeket képez, amiben döntő szerepe van a makrociklusban található két foszfinátcsoportnak, hiszen a gyűrűméretében hasonló TETA ligandumnál kétmagvú komplexek képződését nem figyelték meg. A  $\text{Lu}(\text{TETAPO})$  és  $\text{Lu}_2(\text{TETAPO})$  esetében a  $^{31}\text{P}$  jel kémiai eltolódása közel azonos, ami alátámasztja azt az elképzelést, hogy a  $\text{Lu}_2$ -komplexben a ligandum „fele” koordinálódik a  $\text{Lu}^{3+}$ -ionhoz.

#### *IV.5.2 Kinetikai vizsgálatok*

Ahogy azt a bevezetőben már említettük, a makrociklus nagyobb gyűrűmérete a flexibilitás növekedésén keresztül, csökkenti a lantanoidakomplexek kinetikai stabilitását. Az irodalomból már ismert, hogy a  $\text{Ln}^{3+}$ -ionok komplexeinek kinetikai stabilitása a  $\text{DOTA} > \text{TRITA} > \text{TETA}$  irányban csökken (IV.5.2.1 táblázat). Célszerűnek tűnt megvizsgálni a TETAPO ligandum  $\text{Ln}^{3+}$ -ionokkal alkotott komplexeinek kinetikai stabilitását abból a célból, hogy a makrociklusban levő foszfinátcsoportok hogyan befolyásolják a komplexek kinetikai viselkedését.

Megvizsgáltuk a  $\text{Nd}(\text{TETAPO})$  és  $\text{Yb}(\text{TETAPO})$  komplexek disszociációs reakcióinak kinetikáját a következő (IV.5.2.1 egyenlet) fémioncsere reakció segítségével:



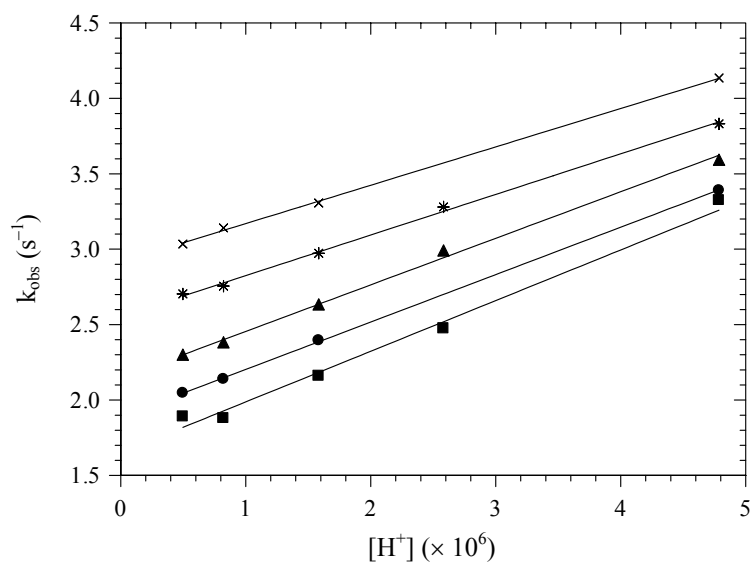
Az egyenletből látható, hogy kicserélő fémionként  $\text{Eu}^{3+}$ -iont használtunk, melynek koncentrációját 10–40-szeres feleslegben alkalmaztuk egyrészt a pseudo-elsőrendű feltétel biztosítására, másrészt azért, hogy a konverzió nagymértékű legyen. Vizsgálatainkat az 5,3–6,3 pH-tartományban végeztük spektrofotometriásan, stopped-flow technikával, mivel a kicserélődési reakciók nagy sebessége nem tette lehetővé a konvencionális spektrofotometria használatát.

Mivel a fémioncsere reakciókat pseudo-elsőrendű feltételek között hajtottuk végre, így a kicserélődési reakciók sebessége a következő:

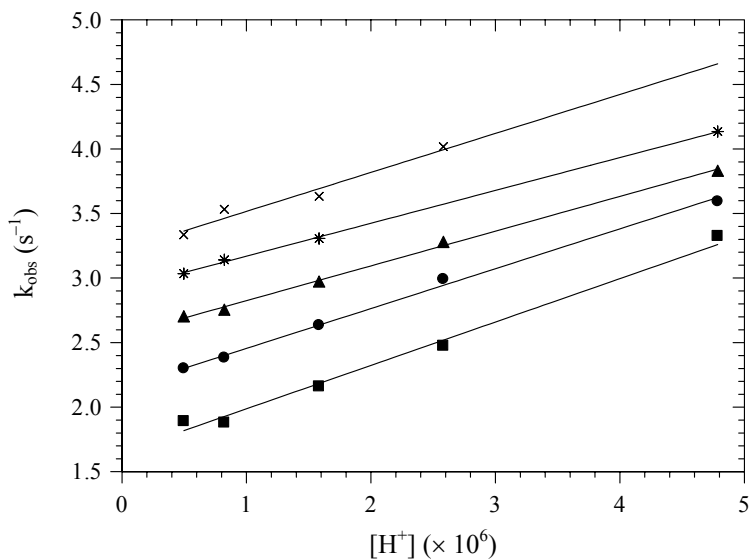
$$-\frac{d[\text{Ln}(\text{TETAPO})]}{dt} = k_{\text{obs}}[\text{Ln}(\text{TETAPO})] \quad \text{IV.5.2.2}$$

ahol  $k_{\text{obs}}$  pseudo-elsőrendű sebességi állandó,  $[\text{Ln}(\text{TETAPO})]$  pedig a komplex teljes koncentrációját jelöli.

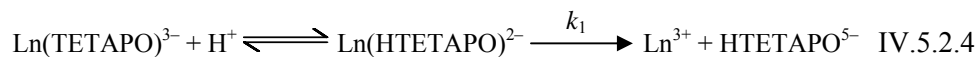
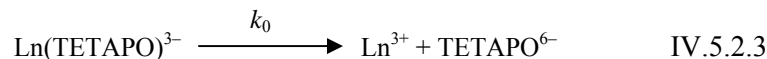
A  $\text{Ln}(\text{TETAPO})$ -komplex fémioncsere reakcióira kapott  $k_{\text{obs}}$  értékeket a protonkoncentráció függvényében ábrázolva (IV.5.2.1 ábra, IV.5.2.2 ábra) látható, hogy a kicserélődési reakció sebessége lineárisan növekszik a proton koncentráció növekedésével, valamint a reakció sebessége nő a kicserélő fémion koncentrációjának növekedésével. Ezek alapján a következő reakció utakat feltételezhetjük: a komplex disszociációja elvben végbemehet spontán módon (IV.5.2.3 egyenlet), protonkatalizált úton (IV.5.2.4 egyenlet), amit a hidrogénion-koncentrációtól való lineáris függés indokol, valamint a kicserélő fémion közvetlen támadásával egy kétmagvú köztiterméken keresztül (IV.5.2.5 egyenlet). A szabaddá váló ligandum gyorsan reakcióba lép a főlegben jelenlevő  $\text{Eu}^{3+}$ -ionokkal.



**IV.5.2.1 ábra** A Nd(TETAPO)-komplexek disszociációs reakciójának  $k_{\text{obs}}$  értékei a  $[\text{H}^+]$  függvényében. Az  $\text{Eu}^{3+}$  kicserélő fémion koncentrációja 10- (■), 15-(●), 20-(▲), 30-(\*) és 40-szeres (×). (25 °C)



**IV.5.2.2 ábra** A Yb(TETAPO)-komplexek disszociációs reakciójának  $k_{\text{obs}}$  értékei a  $[\text{H}^+]$  függvényében. Az  $\text{Eu}^{3+}$  kicserélő fémion koncentrációja 10- (■), 20-(●), 30-(▲), 40-(\*) és 50-szeres (×). (25 °C)



Az említett három reakcióutat, a IV.5.2.1 és IV.5.2.2 ábrák adatait figyelembe véve a komplexek disszociációjának sebességeit jellemző  $k_{\text{obs}}$  értéke a következőképpen adható meg:

$$k_{\text{obs}} = k_0 + k_1[\text{H}^+] + k_3[\text{Eu}^{3+}] \quad \text{IV.5.2.6}$$

ahol  $k_0$  a spontán disszociációt,  $k_1$  a protonkatalizált disszociációt, míg  $k_3$  a kicserélő fémion közvetlen támadásával lejátszódó reakcióutat jellemző sebességi állandó.

A kapott  $k_{\text{obs}}$  értékeket a IV.5.2.6 egyenlettel illesztve kiszámoltuk az egyes reakcióutakat jellemző sebességi állandókat, amelyeket a IV.5.2.1 táblázatban mutatunk be. A táblázatban összehasonlítás céljából föltüntettük az analóg TETA, TRITA és DOTA komplexek disszociációs reakcióit jellemző sebességi állandókat.

A TETAPO ligandum lantanoidakomplexeinek kinetikai stabilitását jellemző sebességi állandókat összehasonlítva a DOTA-, TRITA- és TETA-komplexeivel, szembeűnő, hogy a TETAPO-komplexek kinetikai stabilitása nagyságrendekkel kisebb. A sebességi állandókban mutatkozó különbségek oka egyértelműen a makrociklusban jelenlevő foszfinátcsoportoknak tulajdonítható.

**IV.5.2.1 táblázat** Az Nd(TETAPO)- és Yb(TETAPO), valamint a Yb(TETA)-, Gd(TRITA)- és Gd(DOTA)-komplexek disszociációs reakcióit jellemző sebességi állandók

	$k_0$ (s <sup>-1</sup> )	$k_1$ (M <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> )	$k_3$ (M <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup> )
Nd(TETAPO)	1,3 ± 0,04	(3,1 ± 0,1) × 10 <sup>5</sup>	76,6 ± 2,4
Yb(TETAPO)	0,23 ± 0,02	(3,0 ± 0,07) × 10 <sup>5</sup>	34,6 ± 1,2
Yb(TETA) <sup>a</sup>	0,8 × 10 <sup>-4</sup>	1,76	–
Gd(TRITA) <sup>b</sup>	≤6,0 × 10 <sup>-7</sup>	0,21	3,7 × 10 <sup>-4</sup>
Gd(DOTA) <sup>c</sup>	5 × 10 <sup>-10</sup>	2 × 10 <sup>-5</sup>	–

<sup>a</sup>, [130], <sup>b</sup>, [131], <sup>c</sup>, [132]

Úgy tűnik, hogy a foszfinátcsoportok beépítése a gyűrűbe, a gyűrű flexibilitásának nagymértékű növekedését eredményezi, valamint a Ln<sup>3+</sup>-ionok koordinációja sem valósulhat meg sztérikus okok miatt, oly módon, ahogy az a TETA, TRITA és DOTA ligandumok esetén. Mivel a gyűrű N donoratomjainak koordinációja sokkal gyengébb, amit a nagy protonálódási értékek is mutatnak, a kicserélődési reakciók során a komplex protonálódása könnyebben bekövetkezik, ami a protonkatalizált úton lefolyó csere sebességi állandójának növekedéséhez vezet. Az adatokból jól látható, hogy a fémcsere reakciókban nagyobb pH értékeknél jelentős szerepe van a kicserélő fémion közvetlen támadásával lefolyó reakcióútnak is, ami a kétmagvú TETAPO-komplexek nagy stabilitásával magyarázható.

## IV.6 A Gd(DOTA-4AMP)-komplex vizsgálata

### IV.6.1 Egyensúlyi vizsgálatok

Az orvostudomány fejlődésével egyre nagyobb igény mutatkozik olyan kontrasztanyagok kifejlesztésére, amelyek segítségével az élő szervezetben lehet lokális hőmérsékletet [67, 68], pH-t [69], oxigén parciális nyomást [70–72], enzimaktivitást [73], vagy akár egyes fémionok koncentrációját [74] MRI vizsgálat közben meghatározni. A legfontosabb felhasználási területek közé tartoznak a vese különböző kóros elváltozásainak diagnosztikája, valamint a rákos daganatok helyének meghatározása az élő szervezetben [133, 134]. A rákos elváltozások azonosításában fontos szerepe lehet a pH-érzékeny kontrasztanyagoknak, mivel a rákos szervben a testfolyadék pH értéke alacsonyabb az élő szervezetre általánosan jellemző pH = 7,4-es értéknél. Az MRI-kontrasztanyagokat már évtizedek óta alkalmazzák az orvosi diagnosztikában, de közöttük nincs a pH mérésére alkalmas vegyület. A DOTA-tetraamid származék DOTA-4AMP ligandum Gd-komplexe egy új lehetőség a pH *in vivo* meghatározására, főleg olyan szövetek, szervek esetén, ahová a már régóta ismert mikroelektrodokat nem lehet bejuttatni [135, 136]. Az MRI technika, megfelelő kontrasztanyag alkalmazásával, a legjobban alkalmazható módszerré válhat a szervezeten belüli pH-mérésre, hiszen a szövetekben található víz mennyisége és pH-értéke jelentős hatást gyakorol a kapott kép kontrasztosságára, a kontrasztanyagként használt komplex belső szférájában található vízmolekula és a szervezet vízmolekulái között lejátszódó cserének köszönhetően. Az alkalmazásra kerülő komplexeknek ugyanakkor nagyon sok kritériumnak meg kell felelni, amelyek között ott találjuk a nagy termodinamikai és kinetikai stabilitást, a nagy érzékenységet a pH változására. Az alkalmazott komplex nem lehet toxikus és nem lehet érzékeny a szervezetben jelen lévő endogén fémionokra, anionokra és enzimekre [137]. Ebben a fejezetben a pH

értékére érzékeny Gd(DOTA-4AMP)-komplex egyensúlyi és relaxometriás mérésekkel végzett vizsgálatának eredményeit mutatjuk be.

Meghatároztuk a DOTA-4AMP ligandum protonálódási állandóinak értékét pH-potenciometriásan, mind  $\text{Me}_4\text{NCl}$ , mind  $\text{KCl}$  ionerősség mellett, amiket a IV.6.1.1 táblázatban tüntettünk fel.

**IV.6.1.1 táblázat** A DOTA-4AMP ligandum protonálódási állandói (25 °C)

	1,0 M $\text{Me}_4\text{NCl}$	1,0 M $\text{KCl}$	DOTAGly <sup>a</sup>
$\log K_1$	9,97(0,03)	8,78(0,03)	9,19
$\log K_2$	7,84(0,05)	7,69(0,03)	6,25
$\log K_3$	7,44(0,04)	7,21(0,04)	4,08
$\log K_4$	7,01(0,04)	6,66(0,04)	3,45
$\log K_5$	6,50(0,04)	6,17(0,04)	3,20
$\log K_6$	5,91(0,03)	5,44(0,04)	1,40
$\log K_7$	2,46(0,04)	2,17(0,05)	–
$\log K_8$	1,92(0,03)	1,1(0,1)	–

<sup>a</sup> [138] (1,0 M  $\text{KCl}$ )

Ahogy az a IV.6.1.1 táblázatban látható, mindkét ionerősség esetén nyolc protonálódási állandót tudtunk meghatározni és amint az várható is,  $\text{KCl}$  ionerősség esetén a protonálódási állandók értéke kisebb, ami azt mutatja, hogy a ligandum és a  $\text{K}^+$ -ion között valamiféle kölcsönhatás alakul ki. Ennek vizsgálatára, a későbbiekben külön titrálásokat is végeztünk és ahogy az a IV.6.1.2 táblázatban szerepel, a  $\text{K}^+$ -ion nem elhanyagolhatóan kis stabilitású komplexet képez a DOTA-4AMP ligandummal. A protonálódási állandókhoz visszatérve, elmondhatjuk, hogy az első két protonálódási folyamat, a protonálódási állandók értékét tekintve,

feltételezhetően a makrociklusos gyűrű két nitrogén donoratomjához rendelhető, ahogy azt a DOTA-Gly ligandumnál tapasztalták, [138] míg a következő négy protonálódási folyamat ( $\log K_3 - \log K_6$ ) a foszfonátcsoportok bázikusabb oxigénjéhez. A hetedik és nyolcadik protonálódási folyamat esetében azonban bonyolultabb a helyzet. Mivel NMR-spektroszkópiás méréseket nem végeztünk, nem tudjuk megmondani, hogy az utolsó két protonálódási folyamat a gyűrű nitrogénekhez rendelhető-e, vagy a foszfonát oxigénekhez. A protonálódási állandók értékét tekintve mind a két lehetőség fennáll.

A különböző ionerőségeknél meghatározott protonálódási állandók különbségéből adódóan, ahogy azt már korábban említettük, kiderült, hogy a DOTA-4AMP ligandum kölcsönhatásba lép a  $K^+$ -ionnal, ezért  $Me_4NCl$  ionerősség alkalmazása mellett titrálásokat végeztünk a  $K^+$ -ionnal kialakuló komplex stabilitási állandójának meghatározására. Hasonló titrálásokat végeztünk  $Na^+$ - és  $Ca^{2+}$ -ion esetében is és meghatároztuk az egyes ionok komplexeinek stabilitási állandóit (IV.6.1.2 táblázat).

**IV.6.1.2 táblázat** A DOTA-4AMP ligandum  $K^+$ ,  $Na^+$  és  $Ca^{2+}$ -ionnal kialakuló komplexeinek stabilitási állandói (25 °C, 1,0 M  $Me_4NCl$ )

	$Na^+$	$K^+$	$Ca^{2+}$
M + L	3,72(0,03)	2,34(0,09)	11,16(0,06)
ML + H	7,87(0,06)	8,86(0,06)	8,11(0,06)
MHL + H	7,77(0,04)	–	7,29(0,05)
MH <sub>2</sub> L + H	–	–	6,69(0,06)
MH <sub>3</sub> L + H	–	–	6,14(0,03)

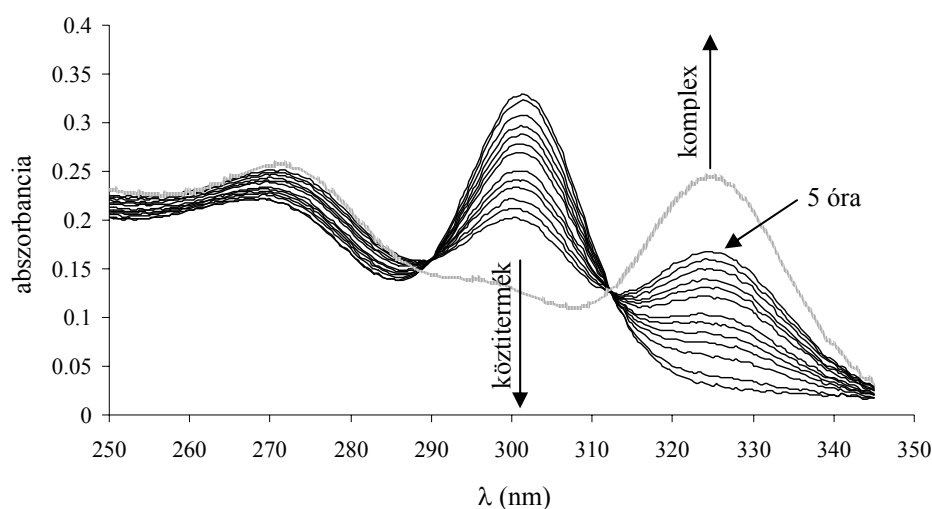
Nem meglepő, hogy a vizsgált ionok közül a  $Ca^{2+}$  képezi a legstabilisabb komplexet, ugyanakkor a komplex stabilitási állandója nem tér el jelentősen a



DOTA-Gly ligandummal kialakuló komplex stabilitási állandójától ( $\log K_{\text{CaDOTA-Gly}} = 10,4$ ), a két ligandum között meglévő nagy bázicitás különbség ellenére. A  $\text{Ca}^{2+}$ -ionnal végzett titrálásaink során azt tapasztaltuk, hogy savas tartományban lúg adagolását követően a komplex kialakulása nem volt pillanatszerű, amit a pH lassú csökkenése jelzett. Ennek oka feltételezhetően az, hogy a  $\text{Ca}^{2+}$ -ion komplexet képez a ligandum foszfonátcsoportjaival, ami megnehezíti belépését a makrociklusos gyűrű és az amid-oxigének által meghatározott koordinációs kalitkába. Ugyanakkor  $\text{Ca}(\text{DOTA-4AMP})$ - és a  $\text{Ca}(\text{DOTAGly})$ -komplexek stabilitási állandóinak kis különbsége valószínűsíti a  $\text{Ca}^{2+}$ -ionnak a gyűrű nitrogénekhez és az amid-oxigénekhez történő koordinálódását a  $\text{Ca}(\text{DOTAGly})$ -komplexhez hasonlóan. Ez a tapasztalat egyben előrevetíti a DOTA-4AMP ligandum lantanoidaionokkal kialakuló komplexeinek lassú képződését is.

Azokban az esetekben, amikor egy adott ligandummal kialakuló  $\text{Ln}^{3+}$ -komplex képződése lassú, akkor a stabilitási állandó meghatározására pH-potenciometriásan, különmintás módszert alkalmazunk. Esetünkben a  $\text{Ca}^{2+}$ -ionnal tapasztalt „lassú” komplexképződés indokolta tette, hogy előkísérletekben vizsgáljuk az egyensúly beállításához szükséges időt. Ezért megvizsgáltuk a DOTA-4AMP és a  $\text{Ce}^{3+}$ -ion között lejátszódó komplexképződési reakciót spektrofotometriásan (IV.6.1.1 ábra). Az abszorbancia görbét  $\text{pH} = 7,0$  értéknél vettük fel az idő függvényében. Azt tapasztaltuk, hogy az összekeverés után egy köztitermék alakul ki pillanatszerűen. A köztitermékben a  $\text{Ce}^{3+}$ -ion a DOTA-4AMP ligandum foszfonátcsoportjait koordinálja, majd ezután egy lassú folyamatban kerül be a gyűrű nitrogének és az amid-oxigének által meghatározott koordinációs kalitkába. A  $\text{pH} = 7,0$  értéknél azonban azt figyeltük meg, hogy a komplex képződése még 5 óra elteltével sem teljes (a komplexre jellemző abszorbancia görbét pontozott vonallal jelöltük) ezért könnyen belátható, hogy a komplex stabilitási állandójának meghatározása 2,0-es pH-értéknél nem lehetséges. Ha feltételezzük, hogy a komplex kialakulásához szükséges idő 7,0-es pH-n 10 óra, akkor irreálisan hosszú időt kellene várni az egyensúly beállítására. Mindemellet a

köztitermék stabilitási állandójának valószínűsíthetően nagy értéke miatt, kisebb pH-értékeknél a fémion nem is lép be a koordinációs kalitkába. Ez könnyen elképzelhető, hiszen a DOTA származék DO2A2P ligandum esetében, ahogy azt az előzőekben már tárgyaltuk, a kialakuló köztitermék stabilitása, amikor a lantanoida ion a ligandum két karboxilát- és két foszfonátcsoportját koordinálhatja  $\log K_{\text{CeLH}_2} = 10,45$ . Ha azt is figyelembe vesszük, hogy a DOTAGly ligandummal kialakuló Gd-komplex stabilitási állandójának értéke  $\log K_{\text{GdDOTAGly}} = 14,54$ , akkor savasabb pH tartományban ( $\text{pH} < 4,0$ ) a proton valószínűleg sikerrel verseng a lantanoida ionnal szemben a gyűrű nitrogénekért, ami a komplex kialakulását lehetetlenné teszi.



**IV.6.1.1 ábra** A  $\text{Ce}^{3+}$ -ion és a DOTA-4AMP ligandum között lejátszódó komplexképződési reakció abszorbancia görbéinek változása az idő függvényében. ( $[\text{Ce}^{3+}] = [\text{DOTA-4AMP}] = 5 \times 10^{-4} \text{ M}$ ) (A mérés 5 óra után leállítva!)

Fölvetődhet a kérdés, hogy ha meg tudjuk határozni a köztitermék stabilitási állandóját, esetleg ha az létezik, protonálódási állandóját is, akkor annak felhasználásával, miért nem tudjuk meghatározni a komplex stabilitási állandóját nagyobb pH-értékeknél összeállított különminták segítségével, vagy közvetlen

titrálással? A pH-potenciometria ebben az esetben nem alkalmas a stabilitási állandó meghatározására, hiszen nem tudunk különbséget tenni a közttermék  $GdLH_2$  (melyben két gyűrű N protonálódik), valamint a kialakuló komplex kétszer protonált formája között ( $GdH_2L$ , ahol két foszfonát O-atom protonálódik), a stabilitási állandók számításánál. A Gd-, vagy más lantanoidaionok DOTA-4AMP ligandummal kialakuló komplexei stabilitási állandóinak meghatározására tehát más módot kell találni a jövőben.

Az előzőekben vázolt problémák miatt nem tudtuk meghatározni a  $Gd(DOTA-4AMP)$ -komplex stabilitási állandóját, ugyanakkor protonálódási állandóit (IV.6.1.3 táblázat), valamint  $Ca^{2+}$ -,  $Zn^{2+}$ - és  $Cu^{2+}$ -ionnal kialakuló kétmagvú komplexeinek stabilitási állandóit meghatároztuk (IV.6.1.4 táblázat).

**IV.6.1.3 táblázat** A  $Gd(DOTA-4AMP)$  komplex protonálódási állandói (25 °C, 1,0 M KCl)

	pK <sub>a</sub>
$\log K_{GdLH_1}$	7,20(0,01)
$\log K_{GdLH_2}$	6,47(0,01)
$\log K_{GdLH_3}$	6,03(0,01)
$\log K_{GdLH_4}$	5,36(0,01)

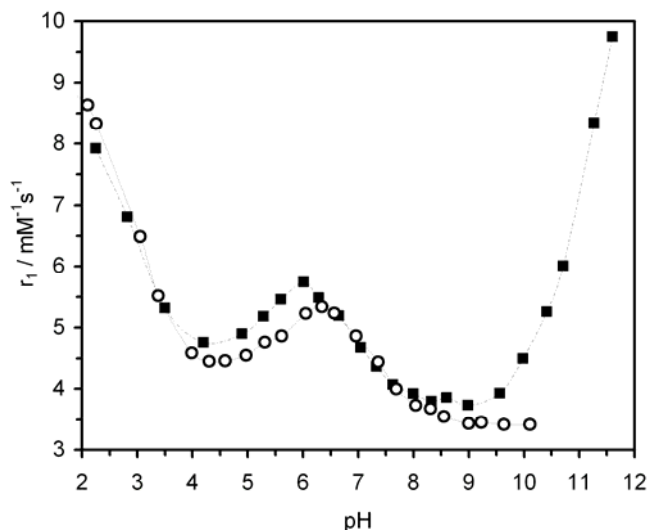
**IV.6.1.4 táblázat** A  $Gd(DOTA-4AMP)$   $Ca^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$  és  $Cu^{2+}$ -ionnal kialakuló kétmagvú komplexeinek stabilitási állandói (25 °C, 1,0 M KCl,  $\log K$ )

M =	$Ca^{2+}$	$Zn^{2+}$	$Cu^{2+}$
GdL + M	1,87(0,04)	5,28(0,05)	5,39(0,04)
GdLM + H	6,94(0,05)	6,98(0,02)	6,18(0,04)

A protonálódási állandók meghatározásánál úgy jártunk el, hogy a Gd(DOTA-4AMP)-komplexet először lúgos közegben előállítottuk ( $\text{pH} > 10$ ) és ezután savval titráltuk. A kapott négy protonálódási állandó a foszfonátsoportok egy-egy oxigénjéhez rendelhető és értéküket tekintve gyakorlatilag nem különböznek a szabad ligandum protonálódási állandó értékeitől, amelyeket a foszfonátsoportok protonálódásához rendeltünk ( $\log K_3 - \log K_6$ ). Ez bizonyítja, hogy a kialakuló komplexben nem következik be a foszfonátsoportok koordinációja. A kétmagvú komplexek stabilitási állandóit a Gd(DOTA-4AMP)-komplexre kapott protonálódási állandók figyelembevételével számítottuk ki. A kialakuló kétmagvú komplexek vizsgálata azért is fontos, mert a kontrasztanyag szervezetbe történő injektálása után a vérben jelen lévő fémionok befolyásolhatják annak viselkedését. A három vizsgált fémion közül a  $\text{Ca}^{2+}$  képezi a legkisebb stabilitású kétmagvú komplexet a Gd(DOTA-4AMP)-vel, ugyanakkor ez a kis stabilitás sem elhanyagolható annak fényében, hogy a vér  $\text{Ca}^{2+}$ -koncentrációja körülbelül 2,5 mM, míg a hozzáférhető, szabad  $\text{Zn}^{2+}$  koncentrációja körülbelül 10  $\mu\text{M}$ , a  $\text{Cu}^{2+}$ -ioné pedig 1,0  $\mu\text{M}$  [105]. Így a  $\text{Zn}^{2+}$ - és  $\text{Cu}^{2+}$ -ionok hatása a Gd(DOTA-4AMP)-komplex viselkedésére várhatóan nagyon kicsi a  $\text{Ca}^{2+}$ -ionokéhoz képest. Általában az egy vizsgálathoz alkalmazott kontrasztanyag mennyiség 0,1–0,3 mmol/kg, így koncentrációja kisebb a vérben jelen lévő  $\text{Ca}^{2+}$  koncentrációjánál.

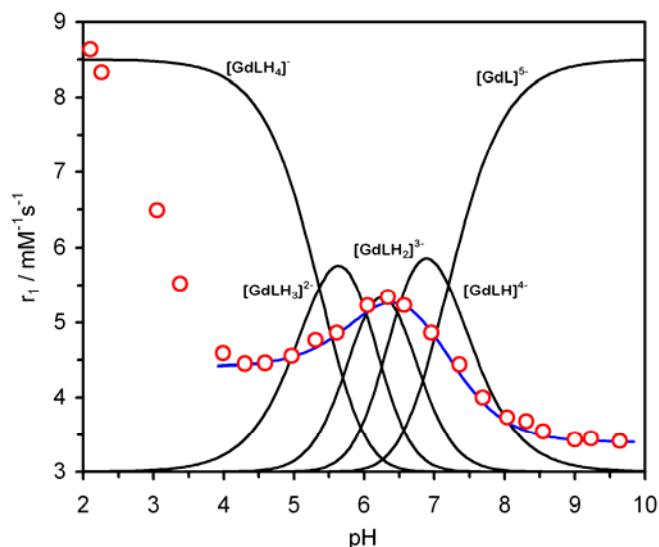
#### ***IV.6.2 Relaxometriás vizsgálatok***

A pH hatását a Gd(DOTA-4AMP)-komplex relaxivitására korábban már tanulmányozták és publikálták [139], ugyanakkor a komplexképződési egyensúly lassú beállása miatt, valamint a  $\text{Ca}^{2+}$ -ionnal kialakuló kétmagvú komplexe képződése indokoltta tette, hogy a relaxitás változását a pH függvényében újra megvizsgáljuk  $\text{Ca}^{2+}$ -ion jelenlétében és távollétében egyaránt. A kapott relaxitás görbéket a IV.6.2.1 ábrán mutatjuk be.



**IV.6.2.1 ábra** A Gd(DOTA-4AMP)-komplex (1 mM) relaxitás értékei a pH függvényében (25 °C, 20 MHz) (135 mM NaCl, 5 mM KCl and 2,5 mM CaCl<sub>2</sub> jelenlétében ■ és távollétében ○) (minden az ábrán szereplő relaxitás érték 5 mérési pont átlaga)

Meglepő eredmény volt, hogy a Gd(DOTA-4AMP)-komplex relaxitás értékei sokkal kisebbnek adódtak, mint a korábban publikált értékek [139]. Ennek magyarázata, hogy az első vizsgálatok során még nem volt ismert a Gd(DOTA-4AMP)-komplex egyensúlyi viselkedése, ami nélkülözhetetlenné teszi a komplex lúgos pH-n történő előállítását, hogy kiküszöböljük a köztitermék okozta zavaró hatásokat. Ugyanakkor a már publikált eredményekkel megegyezően a Gd(DOTA-4AMP)-komplex relaxitása maximum görbe szerint változik a pH változásával. Abban az esetben, ha a komplex mellett nincs jelen más fémion a relaxitás maximum pH = 6,3, míg fémionok jelenlétében pH = 6,0 értéknél található. Összefüggést kerestünk a relaxitás maximumok, valamint a komplex oldatában megjelenő különböző protonáltsági fokú részecskék között. Azt tapasztaltuk, hogy a relaxitás maximum értékek a Gd(DOTA-4AMP)-komplex kétszer protonált formájának maximális koncentráció értékével esnek egybe, ahogy azt a IV.6.2.2 ábra mutatja, melyen a relaxitás és részecskeeloszlás együtt van feltüntetve.

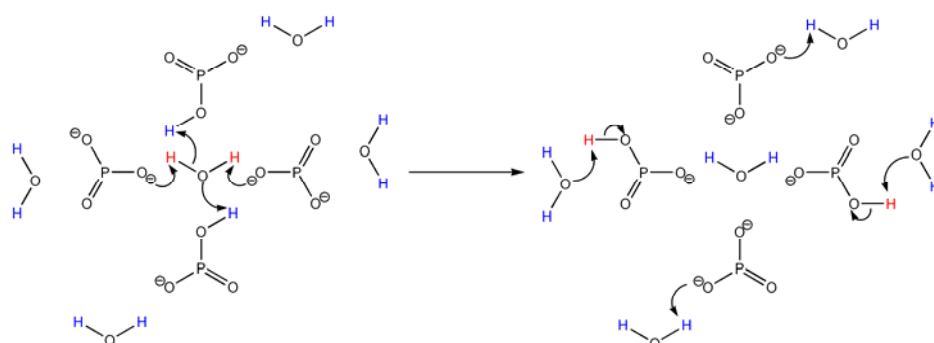


**IV.6.2.2 ábra** A Gd(DOTA-4AMP)-komplex részecskeeloszlási diagramjának és relaxivitás értékeinek összehasonlítása (○ relaxitás)

A klinikai vizsgálatokban használt kontrasztanyagok (pl. Gd(DTPA), Gd(DOTA), stb.) relaxivitása a 3–9 pH-tartományban független a pH értékeitől, mivel a  $\text{Gd}^{3+}$ -ionhoz koordinált  $\text{H}_2\text{O}$ -molekula cseresebessége egy adott érték, ugyanakkor ebben a tartományban a vízmolekulák közötti protoncsere sebessége is állandó (nincs sav- vagy bázis katalizálta protoncsere). A Gd(DOTA-4AMP) relaxitás értékei szokatlan menetében nyilván a foszfonátcsoportok lehetséges protonálódásának, különösen a kétszer protonált komplexek képződésének van döntő szerepe.

A kétszer protonált komplex relaxitásra gyakorolt hatásának egyik lehetséges magyarázata, hogy a komplexben kötött vízmolekula protoncsere reakcióban vesz részt a protonált és deprotonált foszfonátcsoportokkal, ami felgyorsítja az oldószer vízmolekulák protonjainak relaxációját. A komplexben a  $\text{Gd}^{3+}$ -hoz koordinált vízmolekula protonjai átadódhatnak a deprotonált foszfonátcsoportok oxigénjeinek, majd onnan a következő vízmolekulának,

miközben a protonált foszfonátcsoportokról proton kerül a vízmolekula oxigénjére (IV.6.2.3 ábra). Ez a körfolyamat biztosítani tudja a  $Gd^{3+}$ -ion belső szférájában elhelyezkedő vízmolekula protonjai és az oldószer vízmolekulák protonjai közötti gyors cserét, ami a relaxitás növekedését eredményezi. A protoncsere lehetséges útjai a IV.6.2.3 ábrán vannak feltüntetve.



**IV.6.2.3 ábra** A  $Gd(DOTA-4AMP)$  komplexben kötött vízmolekula protoncsere folyamatainak lehetséges mechanizmusa.

A  $Na^+$ ,  $K^+$ ,  $Ca^{2+}$ -ionokat is tartalmazó rendszer relaxitás maximumának eltolódását a fémionok és a foszfonátcsoportok között kialakuló gyenge köcsönhatás okozhatja, ami a protonálódási folyamatokat a savasabb tartomány felé tolja. Az eltolódás mértéke ugyan nem jelentős, azonban ez a tény is igazolja a korábban vázolt elképzelést, miszerint a foszfonátcsoportoknak van döntő szerepe a komplex relaxációsebességre gyakorolt hatásának kialakításában.

A  $Gd(DOTA-4AMP)$ -komplex érzékenysége a pH változására ugyan nem olyan jelentős, mint amennyire azt korábban publikálták, de a 6,0–8,0 pH-tartományban bekövetkező közel két egységnyi relaxitás változás lehetőséget adhat a komplex kontrasztanyagként való alkalmazására. Annak ellenére, hogy nem sikerült meghatározni a  $Gd(DOTA-4AMP)$ -komplex stabilitási állandóját, a  $Gd(DOTA-Gly)$ -komplex stabilitási állandó értékéből, valamint a  $Ca^{2+}$ -ionnal

kialakuló komplexek stabilitási állandó értékeiből, jó közelítéssel azt mondhatjuk, hogy a Gd(DOTA-4AMP)-komplex stabilitási állandójának logaritmus 14,5–16-os körüli lehet. A Gd(DOTA-4AMP) endogén fémionokkal kialakuló kétmagvú komplexei várhatóan nem befolyásolják jelentősen a komplex relaxációs viselkedését *in vivo* körülmények között sem.



---

## V. KÍSÉRLETI RÉSZ

A ritkaföldfém(III)-klorid törzsoldatokat 99,9 % tisztaságú (Aldrich, Fluka, Sigma) ritkaföldfém-oxidokból készítettük, 1:1 hígítású sósavban való oldással. A sósav felesleget vízfürdőn végzett, óvatos, többszöri bepárlással távolítottuk el. A  $\text{CeCl}_3$ -oldatot 99,9 %-os tisztaságú  $\text{CeCl}_3$ -ből készítettük. A ritkaföldfém(III)-klorid törzsoldatok koncentrációját komplexometriás titrálással, standardizált  $\text{Na}_2\text{H}_2\text{EDTA}$  mérőoldattal, hexametilén-tetraamin puffer alkalmazásával ( $\text{pH} = 5,8-6$ ), xilenolnarancs indikátor mellett határoztuk meg.

Az alkáliföldfém- és átmenetifém-klorid törzsoldatok analitikai tisztaságú alkáliföldfém- és átmenetifém-kloridokból (Sigma) készültek, kétszer desztillált vízben való oldással. A törzsoldatok koncentrációinak meghatározása szintén komplexometriásan történt  $\text{Na}_2\text{H}_2\text{EDTA}$  mérőoldattal [140].

A pH-étekek és az ionerősség állításához, valamint a pufferként használt oldatok a.l.t. minőségű vagy átkristályosított vegyszerekből készültek közvetlen beméréssel.

A UV-látható spektrofotometriás, relaxometriás és NMR-spektroszkópiás mérésekhez használt minták pH-értékeit Radelkis OP-208/1 pH-mérő és Metrohm kombinált üvegelektrod (6.0234.100) segítségével állítottuk be. A pH-mérő kétpontos kalibrációja során  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 + \text{KH}_2\text{PO}_4$  ( $\text{pH}=6,865$ ), valamint KH-ftalát puffert ( $\text{pH}=4,005$ ) használtunk. A minták pH értékeit cc. HCl-val és tömény MOH-al ( $\text{M} = \text{K}^+, \text{Na}^+$ , és  $\text{Me}_4\text{N}^+$ ) állítottuk be.

Az egyensúlyi vizsgálatokhoz, valamint a  $\text{Ce}(\text{DO}_2\text{A}_2\text{P})$ -komplex képződési kinetikájának és a  $\text{Gd}(\text{DO}_3\text{P})$ -komplex disszociációja kinetikájának vizsgálatához Cary 1E típusú spektrofotométert alkalmaztunk (UV-látható,  $25\text{ }^\circ\text{C}$ , 1 cm kvarc kivetta, a kinetikai vizsgálatokhoz tandem kivetta), míg a  $\text{Ln}(\text{EDTMP})$ -,  $\text{Gd}(\text{DTTAMP})$ - és  $\text{Ln}(\text{TETAPO})$ -komplexek disszociációja kinetikájának vizsgálatához Applied Photophysics SX-18 MV (1–1,5 ms holtidő, 5  $\mu\text{s}$  időfelbontású fotoelektronsokszorozó [141]) stopped-flow készüléket.

A Gd(DO2A2P)-komplex relaxivitásának tanulmányozásához, valamint a Gd(DO2A2P)- és Gd(DO3PA)-komplexek képződési és disszociációs reakciói kinetikájának vizsgálatához MS-4 típusú NMR spektrométert (Josef Stephan Institut, Ljubljana) alkalmaztunk. A spektrométer a vízprotonok longitudinális relaxációs idejét 9 MHz protonrezonancia frekvencián, 0,2 cm<sup>3</sup> oldattérfogatban, mágnesezettség inverzió módszerrel (inversion recovery impulzus szekvenciával 180°- $\tau$ -90°) méri. Az egyes mérések során 6–8 különböző késleltetési időt ( $\tau$ ) alkalmaztunk, amit a készülék automatikusan állít be, és egy adott késleltetési időnél 5–9 mérés átlagolásával számítottuk az adott  $T_1$  értékeket. A mérések során a hőmérséklet állandóságát ultratermosztáttal temperált levegő befűvásával biztosítottuk. A Gd(DOTA-4AMP)-komplex relaxációs vizsgálatainál az előzőekben említett MS-4 típusú NMR spektrométerhez nagyon hasonló 20 MHz-protonrezonancia frekvencián működő Bruker MRS-6 típusú NMR spektrométert alkalmaztunk.

A Gd(DO2A2P) esetében az <sup>17</sup>O-NMR spektrumokat Bruker Avance 600 NMR spektrométerrel különböző hőmérsékleteken, 5 mm-es NMR cső alkalmazásával vettük fel. A méréseket álló mintán a következő mérési körülmények között végeztük: SW = 10000 Hz, 7  $\mu$ s-os 90°-os impulzus, Aq = 10 ms, NS = 1000 scan. A vizsgált oldatok 2,6 %-ban tartalmaztak H<sub>2</sub><sup>17</sup>O-et (Yeda, Israel). A mintát tartalmazó NMR-csővekbe a lockolás megkönnyítésére leforrasztott kapilárisban D<sub>2</sub>O-t tettünk.

A DO2A2P és DO3PA ligandumok <sup>1</sup>H- és <sup>31</sup>P-NMR spektrumait, valamint az Ln(TETAPO)-komplexek <sup>31</sup>P-NMR spektrumait Bruker DRX 360 NMR-készüléken vettük fel. A ligandum oldatokat 10–20 % D<sub>2</sub>O-ban készítettük 0,04–0,07 M koncentrációban. Az Eu(DO2A2P) és Lu(DO2A2P) mintákat 10–20 % D<sub>2</sub>O-ban készítettük (0,04–0,07 M) koncentrációban. A <sup>1</sup>H-, <sup>13</sup>C- és <sup>31</sup>P-NMR-es vizsgálatokat JEOL EX-400, Bruker DRX 360 és Bruker Avance 500 NMR-készülékeken végeztük. A <sup>13</sup>C-NMR spektrumokat különböző hőmérsékleten Bruker DRX 360 NMR készüléken Bruker VT-1000 hőmérsékletszabályzó egység segítségével vettük fel. Az Eu(DO2A2P)-komplex <sup>31</sup>P-NMR spektrumait 40 dB-es

$^1\text{H}$ -lecsatoló impulzussal vettük fel.  $^1\text{H}$ - és  $^{13}\text{C}$ -NMR spektrumokhoz belső referenciának TMS-t, míg a  $^{31}\text{P}$  spektrumokhoz 80 %-os  $\text{H}_3\text{PO}_4$ -at használtunk külső standardként. A H-H COSY és EXSY spektrumokat  $z$  irányú gradienst alkalmazva standard JEOL és Bruker impulzus programmal vettük fel. A EXSY spektrumok esetében az  $\text{Eu}(\text{DO}_2\text{A}_2\text{P})$ -komplexhez 10 ms-os, míg a  $\text{Lu}(\text{DO}_2\text{A}_2\text{P})$ -komplexhez 500 ms-os mixing időt használtunk. A H-C HETCOR és HMQC spektrumokat JEOL EX-400 és Bruker DRX 360 NMR-spektrométereken vettük fel inverz detektálással  $z$  irányú gradienst alkalmazva, JEOL HMQC és Bruker HETCOR impulzus programokkal.

A  $\text{D}_2\text{O}$ -os minták pD értékeit cc. DCI- és 2 M NaOD-oldatokkal állítottuk be ( $\text{pD} = \text{pH}_{\text{mért}} + 0,4$ ) [142]. A vizes oldatok pH értékeinek beállítása, a pH-mérő kalibrálása és a minták pH mérése az előzőekben leírt módon történt.

A spektrumok kiértékelését és szimulációját a Bruker Winmr<sup>®</sup> szoftvercsomaggal végeztük.

A vizsgált ligandumok származási helyei:

EDTMP: D.E. Szervetlen és Analitikai Kémiai Tanszék, Debrecen; DTTAMP: Charles University, Prága, Csehország;  $\text{DO}_2\text{A}_2\text{P}$ ,  $\text{DO}_3\text{P}$ ,  $\text{DO}_3\text{PA}$ , TETAPO és DOTA-4AMP: University of Texas at Dallas, USA.

### V.1 Egyensúlyi vizsgálatok

A pH-potenciometriás vizsgálatok során Radiometer PHM 93 Reference és Radiometer PHM 85 Precision pH-mérőt, Metrohm kombinált üvegelektrodát (6.0234.100) és Radiometer ABU 80 automata bürettát alkalmaztunk. A DOTA-4AMP ligandummal végzett vizsgálatok egyik részéhez az előzőekben említetteken túl, Thermo Orion EA 940 pH-mérőt, Orion Ross félmikro kombinált elektrodát és 665 Metrohm Dosimat automata bürettát használtunk. A titrálásokat 5, 10, 15  $\text{cm}^3$ -es oldattérfogatban, állandó keverés és termosztálás ( $25 \pm 0,2$  °C), valamint 0,15 M NaCl, vagy 1,0 M KCl és  $\text{Me}_4\text{NCl}$  ionerősségek mellett 0,2 M NaOH-, KOH-,  $\text{Me}_4\text{NOH}$ -oldattal végeztük. A lúgoldatok koncentrációját ismert koncentrációjú

KH-ftalát pufferoldat titrálásával határoztunk meg. A mérések előtt és alatt a karbonátosodás elkerülése érdekében N<sub>2</sub>- vagy Ar-gázt buborékolattunk át a rendszeren.

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

A minták állandó ionerősségű oldata és a kombinált üvegelektrod kálium- vagy nátrium-klorid-oldata között kialakuló potenciálkülönbség nem egyezik meg a pH-mérő beállítására használt KH-ftalát-, illetve bóraxoldatok és a kombinált üvegelektrod kálium- és nátrium-klorid-oldata között kialakuló diffúziós potenciálkülönbséggel. Az eltérésből származó hibát az *Irving* és munkatársai által kidolgozott módszerrel vettük figyelembe [143], amelynek megfelelően egy 0,01 M HCl-oldatot az adott ionerősség mellett lúgoldattal titrálva, meghatároztuk a mért és a számított pH különbségét. Vizsgálataink során ezt az értéket használtuk fel a H<sup>+</sup>-ion koncentrációnak a leolvasott pH értékekből történő kiszámítására.

A protonálódási és a stabilitási állandókat a pH-potenciometriás titrálások adataiból a PSEQUAD számítógépes program segítségével számítottuk [102].

A ligandumok protonálódási állandóinak ( $K^H_i$ ) meghatározása során ismert mennyiségű és pontos koncentrációjú HCl-oldattal a ligandumok 0,002–0,01 M oldatainak pH értékeit 1,7–1,8 körülire állítottuk és állandó ionerősség mellett (0,15 M NaCl, 1,0 M KCl vagy Me<sub>4</sub>NCl) 0,2 M NaOH-, KOH-, Me<sub>4</sub>NOH-oldattal titráltuk pH = 12,5-ig, ligandumtól függően. A  $\log K^H_i$  értékeket mindegyik ligandum esetében 120–220 V(cm<sup>3</sup>)-pH adatpár felhasználásával számítottuk.

Az alkáliföldfém-, átmenetifém- és lantanoida(III)ionokkal képződő komplexek stabilitási és protonálódási állandóinak meghatározásakor, ahol a lassú komplexképződés nem akadályozta a közvetlen pH-potenciometria alkalmazását, gyakorlatilag 1:1 fém-ligandum arányt állítottunk be úgy, hogy kb. 0,5 % ligandum felesleget alkalmaztunk. A pH-potenciometriás titrálásokat 0,002 M fém és ligandum koncentrációjú oldatokban az 1,8–11,5 pH tartományban végeztük. A

komplexek stabilitási, protonálódási és a vegyes hidroxo komplexek stabilitási állandóinak ( $\log K_{MLH-1}$ ) számítása a 1,8–11,5 pH tartományban meghatározott 100-120 V(cm<sup>3</sup>)-pH adatpárokból történtek.

A kétmagvú komplex stabilitási állandóit minden esetben közvetlen pH-potenciometriásan határoztuk meg a kb. 2–6 pH tartományban kapott titrálási adatokból. A kétmagvú komplexek stabilitási állandóinak meghatározása során a számításokat 40–70 V(cm<sup>3</sup>)-pH adatpárból végeztük az 1:1 fém-ligandum aránynál kiszámított stabilitási és protonálódási állandók ( $\log K_{ML}$ ,  $\log K_{MHL}$ ,  $\log K_{MH2L}$ ) felhasználásával, vagy az 1:1, 2:1 esetleg 3:1 fém-ligandum aránynál felvett titrálási görbék együttes számításával.

A lantanoida(III)ionok DO2A2P, DO3P és DO3PA ligandumokkal kialakuló komplexeinek lassú képződése miatt a komplexek stabilitási állandóit különmintás pH-potenciometriás módszerrel határoztuk meg. Nyolc-tíz egyenként 4 cm<sup>3</sup> térfogatú különálló mintát készítettünk, 1:1 fém-ligandum aránynál ( $[Ln] = [L] = 0,002$  M), a pH = 1,7–3,0 tartományban. A minták pH értékeit az egyensúly beálltát követően (2–3 hét, 30–50 °C és 1–2 hét, 25 °C) mértük. A Ln-komplexek stabilitási állandóinak számításához felhasználtuk a ligandum és a komplexek protonálódási állandóit. Utóbbiakat az előzőleg lúgos pH-n előállított Ln-komplexek 0,002 M koncentrációjú oldatának savas, vagy a visszasavanyítás után lúgos titrálásával számítottuk (40–70 cm<sup>3</sup>-pH adatpár).

A lantanoida(III)ionok DO3P ligandummal kialakuló komplexeinek stabilitási állandóit EDTA ligandummal végzett kompetíciós titrálással határoztuk meg. A titrált oldatokban a komplexek koncentrációja 0,002 M, míg az EDTA koncentrációja 0,002–0,004 M volt. A titrálásokat a 9,0–12 pH-tartományban végeztük, ahol az egyensúly beállása gyors. A számításokhoz felhasználunk az EDTA és DO3P ligandumok protonálódási állandóit, valamint az EDTA-komplexek stabilitási állandóit. A stabilitási állandók kiszámításához 30–50 cm<sup>3</sup>-pH adatpárt használtunk.

A Lu(DO2A2P)-komplex stabilitási állandóját kompetíciós módszerrel Cu<sup>2+</sup>-ion segítségével határoztuk meg (Cary1E spektrofotométer). A

meghatározáshoz 9, egyenként 5 cm<sup>3</sup>-es mintát készítettünk, amelyben a Cu<sup>2+</sup>-ion és a DO2A2P ligandum koncentrációja 0,0001 M volt, míg a Lu<sup>3+</sup>-ion koncentrációját 0,1–45 mM tartományban változtattuk (1,0 KCl). Az egyensúly beállítását követően (3 hét 40 °C + 1 hét 25 °C) mértük a minták egyensúlyi pH-értékeit és abszorbanciáját a 240–340 nm tartományban. A számításokhoz felhasználtuk a Cu(DO2A2P)-komplex előzőleg meghatározott moláris abszorbancia értékeit, az egyensúlyi pH-értékeket, a DO2A2P ligandum protonálódási állandóit, a Cu(DO2A2P)-komplex stabilitási és protonálódási, valamint a Lu(DO2A2P)-komplex protonálódási állandóit. A számításokhoz 15 hullámhossznál mért abszorbancia értéket használtunk.

A Sm(EDTMP)- és Y(EDTMP)-komplexek stabilitási állandóit fotometriásan kompetíciós módszerrel határoztuk meg Cu<sup>2+</sup>-ion és citrát ligandum segítségével. A vizsgálatok során 10–14 10 cm<sup>3</sup>-es mintát készítettünk. A mintákban a Cu<sup>2+</sup>-ion és az EDTMP ligandum koncentrációja 0,1 mM, a citrát koncentrációja 10 mM volt, míg a lantanoidaionok koncentrációja 0,1–5 mM tartományban változott (0,15 M NaCl). A minták pH-értéke a 9,8–10,3 tartományba esett. Az abszorbancia értékeket a 250–340 nm tartományban vizsgáltuk és 7–9 hullámhossznál kapott értéket használtunk fel a stabilitási állandók számításához. A számításokhoz felhasználtuk még a Cu(EDTMP)-komplex és Cu(citrát)-komplexek előzőleg meghatározott moláris abszorbancia értékeit, az egyensúlyi pH-értékeket, az EDTMP és citrát ligandumok protonálódási állandóit, a Cu(EDTMP)-, Cu(citrát)- és Ln(citrát)-komplexek stabilitási és protonálódási állandóit.

A Nd(TETAPO)-komplex képződésének spektrofotometriás vizsgálatánál, készítettünk egy a Nd(TETAPO)-komplexre 0,01 M-os oldatot, amiből a pH állítás után egy-egy részletet kivéve vettük fel az abszorbancia spektrumokat. A komplex oldat 1,0 M KCl-ot tartalmazott. A 2:1 és 3:1 fém-ligandum arányokat az oldathoz adott ismert koncentrációjú tömény NdCl<sub>3</sub>-oldattal állítottuk be.

## V.2 Kinetikai vizsgálatok

A spektrofotometriás módszerrel vizsgált kinetikai reakciók során  $\text{Cu}^{2+}$  kicserélő fémion alkalmazása esetén 300–320 nm tartományban, míg  $\text{Eu}^{3+}$  kicserélő fémion esetén 230–250 nm tartományban követtük a reakciók előrehaladását, a vizsgált rendszertől függően.

A  $\text{Sm}(\text{EDTMP})$ - és  $\text{Y}(\text{EDTMP})$ -komplexek disszociációja kinetikájának vizsgálatát stopped-flow módszerrel végeztük. A vizsgált oldatokban összekeverés után a komplex koncentrációja 0,1 mM, a  $\text{Cu}^{2+}$ -koncentráció ennek 10–35-szöröse, a  $\text{NaCl}$ -koncentráció 0,15 M volt. A 7–9 pH-tartományban végzett vizsgálatok során az egyik puffer 0,02 M HEPES (pH = 7–7,8), míg a másik 0,02 M DMP (pH = 8–9) volt.

A  $\text{Gd}(\text{DTTAMP})$ -komplex és a  $\text{Cu}^{2+}$ -ionok között lejátszódó kicserélődési reakció vizsgálatokor a komplex 0,2 mM, a  $\text{KCl}$  1,0 M és az oldat 0,02 M bórsav-mannit puffer tartalmazott. Az  $\text{Eu}^{3+}$ -ionokkal lejátszódó cserereakciók esetében a komplex koncentrációja 2,0 mM, az oldat  $\text{KCl}$ -ra 1,0 M, és 0,02 M *N*-metil piperazin puffert tartalmazott. A komplex koncentrációjához képest a  $\text{Cu}^{2+}$ -ion feleslege 10–50-szeres, míg az  $\text{Eu}^{3+}$ -ioné 10–70-szeres tartományban változott. Minden  $k_{\text{obs}}$  érték 3 kinetikai mérés átlaga (stopped-flow módszer).

A  $\text{DO2A2P}$  ligandum  $\text{Ce}^{3+}$ -komplexének képződési sebességét  $\text{Ce}^{3+}$  és ligandum felesleg esetén is vizsgáltuk. Mind a két esetben 1,0 M  $\text{KCl}$  ionerősséget és 0,05 M  $\text{MES}$  puffert alkalmaztunk. A  $\text{Ce}^{3+}$ -ion feleslegével végzett kinetikai reakciók során a ligandum koncentrációja 0,4 mM volt, míg a  $\text{Ce}^{3+}$ -koncentrációk 2–16 mM között változtak. A vizsgált pH-tartomány 5,3–6,0 volt. Ligandum felesleg alkalmazása esetén a fémion koncentrációja 0,4 mM, míg a ligandum koncentrációja 2–8 mM tartományban változott, a vizsgált pH-tartomány 5,3–6,6 (konvencionális spektrofotometria).

A  $\text{Gd}(\text{DO2A2P})$ -komplex képződésének kinetikai vizsgálatát relaxometriás módszerrel végeztük. A vizsgálatok során tízszeres ligandumfelesleget alkalmaztunk, a  $\text{Gd}^{3+}$ -ion koncentrációja 1 mM volt. Az állandó ionerősség

biztosítására 1,0 M-os KCl-ot használtunk, míg a pH állandóságát 0,05 M-os MES pufferrel biztosítottuk. A reakciókat 5,1–6,6 pH-tartományban vizsgáltuk. A Gd(DO2A2P)-komplex disszociáció sebességét szintén relaxometriás módszerrel vizsgáltuk. A Gd(DO2A2P)-komplex koncentrációja a mintákban 1,0 mM volt, míg a HCl koncentrációja 0,1–1,0 M között változott. Az ionerősséget 1,0 M-ra állítottuk ( $[HCl] + [KCl] = 1,0 M$ ).

A Gd(DO3PA)-komplex képződésének és disszociációjának kinetikáját a Gd(DO2A2P)-komplexnél leírtakkal megegyezően vizsgáltuk, azzal a kivétellel, hogy a képződési kinetika során alkalmazott pH-tartomány 5,8–7,0 volt.

A Gd(DO3P)-komplex disszociációjának kinetikáját spektrofotometriásan 2,3–3,6 pH-tartományban 100-szoros  $Cu^{2+}$  kicserélő fémion koncentráció alkalmazásával vizsgáltuk. A komplex koncentrációja 0,1 mM volt, emellett az oldat 1,0 M KCl-ot és 0,05 M monoklór-ecetsav puffert tartalmazott.

A Nd(TETAPO)- és Yb(TETAPO)-komplexek disszociációja kinetikájának vizsgálatát  $Eu^{3+}$  kicserélő fémionnal végeztük az 5,0–6,2 pH-tartományban MES puffer (25 mM) alkalmazásával. A komplexek koncentrációja 0,5 mM volt, míg az  $Eu^{3+}$ -ion koncentrációja 5–25 mM között változott. Az oldatok 1,0 M KCl-ot tartalmaztak (stopped-flow módszer).

### V.3 Relaxometriás vizsgálatok

A Gd(DO2A2P)-komplex relaxivitásának változását a pH-függvényében úgy vizsgáltuk, hogy előállítottuk a komplex 1 mM-os lúgos oldatát, majd a pH-értékeket sósav adagolásával állítottuk be. Minden méréshez 0,2 cm<sup>3</sup> oldatot használtunk és pH-értékenként 5 mérést végeztünk, amelyeket átlagoltuk.

A Gd(DOTA-4AMP) komplex relaxivitásának vizsgálata során hasonló módon jártunk el, csak a pH-értékek beállítására szilárd 4-toluol-szulfonsavat, valamint szilárd LiOH-ot használtunk.



## VI. ÖSSZEFOGLALÁS

A munkám során nyílt láncú és makrociklusos karboxilát és foszfonát, valamint foszfinát funkciós csoportot egyaránt tartalmazó di-, tri- és tetraaszázarmazék ligandumok lantanoida(III)-, alkálifém-, alkáliföldfém- és néhány átmentifém-ionnal képzett komplexeinek egyensúlyi, kinetikai viselkedését és a DO2A2P lantanoida(III) komplexei oldatszerkezeti tulajdonságait vizsgáltam. Ezek a vizsgálatok főként alapkutatási jelleggel, új ligandumok koordinációs kémiai viselkedésének megismerésére irányultak, de tanulmányoztam olyan, a Nukleáris Medicinában már alkalmazott komplexeket is ( $^{153}\text{Sm}(\text{EDTMP})$ ,  $^{90}\text{Y}(\text{EDTMP})$ ), amelyeknek az oldategyensúlyi és szerkezetbeli viselkedése a mai napig nem tisztázott. Az elért új tudományos eredmények a következők:

Meghatároztuk a  $\text{Sm}(\text{EDTMP})$ - és  $\text{Y}(\text{EDTMP})$ -komplexek stabilitási állandó értékeit, amelyek jól egyeznek az *Ernestová* és mtsai, által a  $\text{Ho}(\text{EDTMP})$ -komplekre meghatározott állandóval, de a  $\text{Sm}(\text{EDTMP})$ - és  $\text{Y}(\text{EDTMP})$ -komplexekre korábban publikált értékeknél 6–9 nagyságrenddel nagyobbak. Kimutattuk a  $\text{Sm}(\text{EDTMP})$ - és  $\text{Y}(\text{EDTMP})$ -komplexek, valamint a  $\text{Ca}^{2+}$ -ion közötti kétmagvú komplexek képződését, majd a kapott stabilitási és protonálódási állandók felhasználásával egy egyszerűsített plazmamodellen számításokat végeztünk. A számítások szerint a  $\text{Ln}(\text{EDTMP})$ -komplexek a szervezetbe történő injekció után mintegy 99 %-ban kétmagvú  $\text{Ln}(\text{HEDTMP})\text{Ca}^{2+}$ -komplexek formájában vannak jelen, másrészt a forgalomban levő kitekben alkalmazott nagy EDTMP felesleg a vérplazma  $\text{Zn}^{2+}$ -ion tartalmának több mint 80 %-át komplexbe viszi.

Meglepő eredmény a  $\text{Ln}(\text{EDTMP})$ -komplexek protonkatalizált disszociációjának a megfelelő  $\text{Ln}(\text{EDTA})$ -komplexeihez viszonyított nagy sebessége. A kinetikai stabilitás ilyen nagyfokú csökkenésének magyarázata, hogy a disszociáció során a ligandum N donoratomja(i) a foszfonát oxigének közvetítésével könnyebben protonálódnak, ami a Gd–N koordináció felbomlásával a komplex disszociációjához vezet. Az  $\text{Ln}(\text{EDTMP})$ -komplexekben a

foszfonátcsoportok bázicitása jóval nagyobb, mint a Ln(EDTA)-komplexek acetátcsoportjaié, így a széles pH-tartományban protonált foszfonátcsoportokról a proton könnyen a N donoratomra kerül. A komplexek disszociációjának számított félideje néhány másodperc, aminek alapján (IV.1.2.1 táblázat) a csontfelszínen mind a Sm(EDTMP)- vagy Y(EDTMP)-komplex, mind a komplex disszociációját követően a szabad fémionok adszorpciója egyaránt bekövetkezhet.

A DTPA ligandum középső karboxilátcsoportjának foszfonátcsoporttal történő helyettesítésével létrejövő DTTAMP ligandum Gd-komplexének disszociációja protonkatalizált úton és a kicserélő  $\text{Cu}^{2+}$  fémion direkt támadásával folyik le. A protonkatalizált disszociáció sebességi állandó értékei 3–4 nagyságrenddel nagyobbak a Gd(DTPA) hasonló reakciójánál megállapítottaknál. A bázikusabb foszfonátcsoport protonálódásával a ligandum középső nitrogénjének a protonálódása, ezzel a  $\text{Gd}^{3+}$ -N kötés felszakadása következhet be, amikor a komplexben csak két iminodiacetát-csoport koordinálódik, és ez a köztitermék viszonylag könnyen disszociál. A DTTAMP ligandum kétmagvú komplexek képzésére mutatott hajlama sokkal nagyobb, mint a DTPA ligandumé. Ez a magyarázata annak, hogy a Gd(DTTAMP)-komplex disszociációjában a fémion közvetlen támadásával lefolyó reakcióútnak a szerepe jóval nagyobb.

Tanulmányoztuk a DOTA két és három karboxilátcsoportjának foszfonátcsoportokkal történő helyettesítésével létrejövő DO2A2P és DO3PA ligandumok komplexképző sajátosságait. Meghatároztuk a DO2A2P és DO3PA protonálódási állandóit, valamint számos fémionnal kialakuló komplexeik stabilitási állandóját. A ligandumok első két protonálódási állandója a DOTA és DOTP ligandumokhoz hasonlóan nagy. A DO2A2P esetében  $^1\text{H}$ - és  $^{31}\text{P}$ -NMR mérésekkel megállapítottuk a protonálódási sorrendet. A ligandum első két protonálódási állandójának nagy értékei a foszfonátcsoportok és a protonált N-donoratomok között kialakuló erős H-kötéseknek tulajdoníthatók. A harmadik és negyedik proton a foszfonátcsoportokat protonálja, amikor a N-atomokról az acetátcsoportokat tartalmazó N-atomokra kerül át az első két proton. A DO3PA

első két protonálódási állandójának a nagy értékét szintén a kialakuló H-kötések okozzák.

A DOTA ligandummal összehasonlítva a DO2A2P és DO3PA ligandumok lantanoida(III)ionokkal kialakuló komplexeinek stabilitási állandóit, azok értékei növekednek a metilénfoszfonát-csoportok számának növekedésével, ami nem meglepő a ligandumok növekvő bázicitása miatt. A foszfonátcsoportok számának növekedésével a kialakuló protonált komplexek száma és a protonálódási állandók nagysága, valamint a képződő kétmagvú komplexek stabilitási állandója is növekszik.

Az acetátcsoportok metilénfoszfonát-csoportokra történő fokozatos cseréje jelentős hatással van a komplexek képződésének és disszociációjának kinetikájára is. A DOTA acetátcsoportjainak foszfonátcsoportokra történő cseréje a komplexek képződési sebességének csökkenéséhez vezet. A DO2A2P és a DO3PA ligandumok  $\text{Ln}^{3+}$ -ionokkal történő komplexképződési reakciói során kétszerprotonált köztitermékek képződését állapítottuk meg. Ezek stabilitási állandói sokkal nagyobbak mint a DOTA reakciói során képződő köztitermékeké, ami a végtermékké történő deprotonálódásnak a sebességét – feltehetően a ligandum nagyobb negatív töltése miatt – csökkenti. A kétszerprotonált köztitermék végtermékké alakulásának sebessége az  $\text{OH}^-$ -koncentráció növekedésével egyenesen arányos, amit az egyszerprotonált köztitermék egyensúlyi képződésével és ennek lassú, általános báziskatalizált ( $\text{H}_2\text{O}$ ) deprotonálódásával értelmeztünk. Ellentétben a  $\text{Ln}(\text{DOTA})$ -komplexek képződésétől a  $\text{Ln}(\text{DO2A2P})$  és  $\text{Ln}(\text{DO3PA})$  képződése az  $[\text{OH}^-]$ -tól független úton is végbemegy. Ezt azzal magyarázzuk, hogy a sebességmeghatározó lépés szempontjából fontos egyszerprotonált köztitermék képződése a kétszerprotonált köztitermék egyik protonjának egy foszfonátcsoportra történő átlépésével is bekövetkezhet. A képződési sebesség csökkenésével ellentétben a komplexek disszociációjának sebessége növekszik a foszfonátcsoportok számának növekedésével. A komplex disszociációjának első lépése egy funkciós csoport,

majd a gyűrű egyik N donoratomjának protonálódása, ami a nagyobb bázicitással rendelkező foszfonátcsoportok jelenléte miatt nagyobb valószínűséggel következhet be, mivel a proton a protonált foszfonátcsoportokról könnyen a N donoratomra kerülhet.

Relaxometriás és  $^{17}\text{O}$ -NMR vizsgálatokkal bizonyítottuk, hogy a Gd(DO2A2P)-komplexben nincs a fémion belső szférájában kötött vízólecula. Az ebből eredő kis relaxivitas érték nem teszi lehetővé a komplex MRI kontrasztanyagként való alkalmazását

Multinukleáris ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{31}\text{P}$ ) NMR-spektroszkópiás módszerrel tanulmányoztuk az Eu(DO2A2P)- és Lu(DO2A2P)-komplexek oldatbeli szerkezetét. A spektrumokban a jelek azonosítása 2D NMR-spektroszkópiás (COSY, EXSY, HETCOR ill. HMQC) módszerekkel történt. A koordinált ligandum merev szerkezetű, és a metilén protonok kémiai eltolódás értékei alapján a komplex szerkezete hasonló a Ln(DOTA)- és Ln(DOTP)-komplexek szerkezetéhez. A Lu(DO2A2P)-komplex oldatfázisban a Lu(DOTP)-komplexhez hasonlóan gyakorlatilag csak a csavart négyzetes antiprizmás szerkezetben (**m** izomer) fordul elő, míg az Eu(DO2A2P) körülbelül 93 %-ban csavart négyzetes antiprizmás (**m**) és 7 %-ban négyzetes antiprizmás (**M** izomer) szerkezetű formában van jelen.

A DO3P ligandum lantanoidaionokkal kialakuló komplexeinek stabilitási állandója 5–6 nagyságrenddel kisebb a Ln(DO2A2P)- és Ln(DO3PA)-komplexeikénél. Meglepő a Gd(DO3P)-komplexnek a Gd(DOTA)- és Gd(DOTP)-komplexeikénél jóval kisebb kinetikai stabilitása. A protonkatalizált úton lefolyó disszociációs reakciókat jellemző sebességi állandók nagy értéke azzal magyarázható, hogy a komplexben kialakuló koordinációs „kalitka” sokkal „nyitottabb” a Ln(DOTP)-komplexeikéhez képest a hiányzó metilénfoszfonát funkciós csoport miatt. Így a disszociációs reakciók során a gyűrű N donoratomjának közvetlen protonálódását követően a fémion könnyebben tud kilépni a koordinációs „kalitkából”.

A makrociklusos TETAPO egy olyan különleges ligandum, amely a 14-tagú gyűrűben két foszfinátcsoportot ( $\text{PO}_2^-$ ) tartalmaz, így a négy N-atommal és négy acetátcsoporttal együtt 10 donoratomja van.

Az  $\text{Ln}(\text{TETAPO})$ -komplexek képződésének egyensúlyi vizsgálata során meghatároztuk a kialakuló komplexek, közöttük a viszonylag stabilis kétmagvú komplexek stabilitási állandóját. A kétmagvú komplexek képződését spektrofotometriás és  $^{31}\text{P}$ -NMR spektroszkópiás vizsgálatokkal igazoltuk. A nagyobb méretű  $\text{Ln}^{3+}$ -ionok ( $\text{La}^{3+}$ ) a donoratomok alkotta, a DOTA-énál kevésbé merev koordinációs „kalitka” közepén, míg az ionméret csökkenésével a  $\text{Ln}^{3+}$ -ionok ( $\text{Lu}^{3+}$ ) egyre inkább a „kalitka” egyik felében helyezkednek el, amikor 2 nitrogén, két karboxilát oxigén mellett esetleg egy foszfinát oxigén koordinálódik hozzájuk. A komplexek szerkezetében a rendszám növekedésével bekövetkező ilyen változás eredményezheti az  $\text{Ln}(\text{TETAPO})$ -komplexek stabilitási állandói értékében tapasztalt menetet. A kétmagvú  $\text{Ln}_2(\text{TETAPO})$ -komplexekben a két  $\text{Lu}^{3+}$  környezete azonos, míg a két  $\text{La}^{3+}$ -ionhoz különböző donoratomok koordinálnak. A  $\text{Ln}(\text{TETAPO})$ -komplexek kinetikai stabilitását a DOTA-, TRITA- és TETA-komplexekével összehasonlítva szembevetve, hogy az nagyságrendekkel kisebb. A sebességi állandókban mutatkozó különbségek oka egyértelműen a makrociklusban jelen levő foszfinátcsoportoknak tulajdonítható, amelyek a gyűrű flexibilitásának növekedését eredményezik. A  $\text{Ln}^{3+}$ -ionok koordinációja szterikus okok miatt nem valósulhat meg, oly módon, ahogy az a TETA, TRITA és DOTA ligandumok esetén. Mivel a gyűrű N donoratomjainak koordinációja a  $\text{Ln}(\text{TETAPO})$ -komplexekben sokkal gyengébb, a kicserélődési reakciók során a komplex protonálódása könnyebben bekövetkezik, ami a protonkatalizált úton lefolyó fémioncsere sebességét növeli.

A  $\text{Gd}(\text{DOTA-4AMP})$  relaxivitása jelentősen változik a pH 6–8 tartományban, ezért a komplexet a testfolyadékok pH értékét „jelző” potenciális kontrasztanyagként tekintik.

A DOTA-4AMP ligandum komplexképző sajátosságainak vizsgálata során meghatároztuk néhány fémionnal kialakuló komplexének, valamint a Gd(DOTA-4AMP) protonálódási és a  $\text{Ca}^{2+}$ -,  $\text{Cu}^{2+}$ - és  $\text{Zn}^{2+}$ -ionokkal képzett kétmagvú komplexeinek stabilitási állandóit. Meghatároztuk a Gd(DOTA-4AMP)-komplex relaxitásának változását a pH függvényében endogén fémionok jelenlétében és távollétében. A 6,0–8,0 pH-tartományban bekövetkező közel két egységnyi relaxitás változás elegendő lehet ahhoz, hogy a komplexet *in vivo* pH-mérésre használják. Endogén fémionok jelenlétében a relaxitás maximum értéke a kétmagvú komplexek képződése miatt nagyon kicsit eltolódik a savasabb tartományba, de az eltolódás nem jelentős, így az endogén fémionok nem befolyásolják jelentősen a komplex viselkedését.

A Gd(DOTA-4AMP) relaxitásának pH-függése a komplex protonálódásával kapcsolatos. A protonált foszfonátcsoportok és a  $\text{Gd}^{3+}$  belső szférájában koordinált vízmolekula közötti H-kötés és a környező vízmolekulákkal bekövetkező protoncsere eredményezi a relaxitás változását.

## VII. SUMMARY

Complexation properties of several open chain and macrocyclic di-, tri- and tetraaza derivative ligands, containing carboxylate, phosphonate and phosphinate functional groups, were studied with lanthanide(III), alkali, alkaline earth and some transition metal ions in solution. The topic of the presented work can be regarded as mainly basic research, involving the equilibrium and kinetic studies on complexes formed with a few new ligands, but the properties of some complexes (e.g. Sm(EDTMP) and Y(EDTMP) ) were also investigated which are already clinically used in Nuclear Medicine. The new scientific results are summarized as follows:

The stability constants of the complexes Sm(EDTMP) and Y(EDTMP) determined by us, are in good agreement with Ernestova's results reported for the complex Ho(EDTMP), but these values are higher by 6–9 orders of magnitude than the stability constants published by others. The formation of dinuclear complexes between  $\text{Ca}^{2+}$  and the complexes Sm(EDTMP) and Y(EDTMP) has been detected. With the use of the stability constants and protonation constants obtained, a simplified plasma model was developed, which predicts that under physiological conditions, 99 % of the complexes Ln(EDTMP) exists in the form of the binuclear Ln(HEDTMP)Ca<sup>2+</sup> complex. Moreover, the excess of EDTMP, used in the commercial kits complexes more than 80 % of the Zn<sup>2+</sup> present in the blood plasma.

The rate of dissociation of the Ln(EDTMP) complexes is high in comparison to the Ln(EDTA) complexes. This high decrease in the kinetic stability can be interpreted with the higher affinity of the coordinated ligand to protons, which causes the easy breaking of the Gd–N bond and the dissociation of the complexes. The basicity of the phosphonate groups in the complexes Ln(EDTMP) is much higher than that of the acetate groups in the complexes Ln(EDTA). Consequently, the phosphonate groups are protonated in a wide pH-range and the proton can be easily transferred from the phosphonate groups to the

N donor atoms. The half-times of dissociation of the complexes at physiological pH, calculated from the kinetic data are a few seconds. By considering these values it is difficult to suggest the mode of absorption of the  $\text{Ln}^{3+}$  ions on the surface of the bone, which may occur either in the form of the complex  $\text{Ln}(\text{EDTMP})$  or the free  $\text{Ln}^{3+}$  ion succeeding the dissociation of the complex.

The ligand DTTAMP has been derived from DTPA with the replacement of its middle carboxylate with a phosphonate group. The dissociation of the complex  $\text{Gd}(\text{DTTAMP})$  takes place in a proton-assisted process and with the direct attack of the displacing  $\text{Cu}^{2+}$  ion. The rate constants for the proton-assisted dissociation are higher by 3–4 orders of magnitude than those observed for the  $\text{Gd}(\text{DTPA})$  complex. The more basic phosphonate group can be protonated easier which is followed by the protonation of the middle N atom of the ligand and it may result in the breaking of the  $\text{Gd}^{3+}\text{-N}$  bond. In this intermediate only two iminodiacetate groups are coordinated and it can dissociate relatively easily. The tendency to form dinuclear complexes is much higher in the case of the ligand DTTAMP than that for DTPA. By this fact, the much more important role of the metal ion-assisted pathway in the dissociation of  $\text{Gd}(\text{DTTAMP})$  can be explained.

For studying the effect of the replacement of two and three carboxylate groups of DOTA with phosphonate groups, the complexation properties of the new ligands DO2A2P and DO3PA were investigated.

The  $^1\text{H}$ - and  $^{31}\text{P}$ -NMR study of the protonation sequence of the DO2A2P indicated that the first two protons protonate two diagonal nitrogens, containing the pendant methylenephosphonate groups. The third and fourth protonation occurs at the phosphonate groups, when the first two protons are transferred to the other two nitrogens, where the acetate groups are attached. The chemical shifts of the ring, acetate and phosphonate methylene protons have been interpreted by assuming the formation of strong H-bonds between the ring nitrogens and phosphonate oxygens. The high values of the first and second protonation constants of DO3PA have been explained similarly, by the formation of the  $\text{N}\cdots\text{H}^+\cdots\text{O}^-\text{-P}$  H-bonds.



The stability constants of the lanthanide(III) complexes of DO2A2P and DO3PA ligands are higher than those but lower than the similar values of DOTP. The stability constants increase with increasing number of methylenephosphonate groups. The basicity of the ligands increases similarly and the higher stability constants can be interpreted by these properties. With increasing number of phosphonate groups, the number of existing protonated complexes, the values of their protonation constants and the stability constants of the dinuclear complexes formed, also increase.

The gradual replacement of the acetate groups with methylenephosphonate groups strongly affects the formation and dissociation kinetics of the  $\text{Ln}^{3+}$  complexes.

In the reactions between the ligands DO2A2P and DO3PA with  $\text{Ln}^{3+}$  ions, the formation of diprotonated intermediates was detected, which were found to be much more stable than the similar intermediates formed in the reactions of DOTA. The gradual replacement of the carboxylate groups of DOTA with phosphonate groups results in a gradual decrease in the rates of the formation reactions. This finding was interpreted with the higher negative charge of the intermediates, which makes its deprotonation more difficult. The rates of formation of the complexes from the diprotonated intermediates are directly proportional to  $[\text{OH}^-]$ . This dependence was interpreted with the equilibrium formation of a monoprotonated intermediate, which deprotonates slowly via general base ( $\text{H}_2\text{O}$  in this case) catalysis. Differently from the formation of  $\text{Ln}(\text{DOTA})$  complexes, for the transformation of the intermediates an  $[\text{OH}^-]$  independent pathway was also observed, which was interpreted by assuming the transfer of a proton of the diprotonated intermediate to a phosphonate oxygen followed by the slow loss of the last proton from a nitrogen.

The dissociation of complexes  $\text{Gd}(\text{DO2A2P})$  and  $\text{Gd}(\text{DO3PA})$  in 0.1–1.0 M HCl occurs spontaneously and via a proton assisted pathway. The rates of dissociation increase with increasing number of the phosphonate groups of the

coordinated ligand. The first step of dissociation is the protonation of complexes which is more probable in the case of larger number of the phosphonate groups. For the dissociation of complexes the proton is transferred from the phosphonate group to a ring nitrogen.

The Gd(DO2A2P) complex does not contain water molecule in the inner coordination sphere as it is indicated by its low relaxivity and as it was proved by  $^{17}\text{O}$ -NMR studies. So this compound can not be a candidate for an efficient MRI contrast agent.

The structure of Eu(DO2A2P) and Lu(DO2A2P) complexes was studied by multinuclear ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{31}\text{P}$ ) NMR spectroscopy in solution. For the assignation of the NMR spectra, 2D NMR spectroscopic methods (COSY, EXSY, HETCOR and HMQC) were used. The coordinated ligand has a rigid structure which is similar to the structure of Ln(DOTA) and Ln(DOTP) complexes. In solution phase, the Lu(DO2A2P) complex is similar to the Lu(DOTP) complex. It has a twisted square antiprismatic structure (m isomer). The Eu(DO2A2P) complex exists in solution in the form of two isomers, the twisted square antiprismatic and square antiprismatic ones, which are present in 93 % and 7 %, respectively.

The stability constants of the complexes of lanthanides formed with the ligand DO3P are lower by 5–6 orders of magnitude than those of the Ln(DO2A2P) and Ln(DO3PA). The kinetic stability of the Gd(DO3P) is also much lower than that of the Gd(DOTA) and Gd(DOTP) complexes. The high values of the rate constants characterizing the proton-assisted dissociation of Gd(DO3P) can be interpreted with the more open “coordination cage” formed by the three methylenephosphonate functional groups. In this case, the protonation of the “free” ring nitrogen can take place directly, when the metal ion leaves the “coordination cage” easily.

The macrocyclic TETAPO is a peculiar decadentate ligand, since it contains two phosphinate ( $\text{PO}_2^-$ ) groups in its fourteen-membered ring beside the four nitrogens and four pendant acetate groups. Due to its larger ring size,

TETAPO forms mononuclear and highly stable dinuclear complexes with lanthanides. In the Ln(TETAPO) complexes, as it was found by  $^{31}\text{P}$ -NMR spectroscopy, the large size  $\text{La}^{3+}$  has an “averaged” position, while the smaller  $\text{Lu}^{3+}$  is coordinated probably by about the half of the donor atoms of the ligand. In the dinuclear complex  $\text{La}_2(\text{TETAPO})$ , the position of the two  $\text{La}^{3+}$  is different, but in the  $\text{Lu}_2(\text{TETAPO})$  the two  $\text{Lu}^{3+}$  are surrounded by the same donor atoms. The stability constants of the complexes of TETAPO found with some alkaline earth, transition metal and  $\text{Ln}^{3+}$  ions have been determined.

The kinetic stabilities of the Ln(TETAPO) complexes are much lower than those of the similar DOTA, TRITA and TETA complexes. The difference can be explained by the presence of the phosphinate groups in the macrocycle which increases the flexibility of the ligand. The coordination mode of the  $\text{Ln}^{3+}$  ions in the complexes Ln(TETAPO) is also different. The interaction of  $\text{Ln}^{3+}$  ions with the ring N atoms is weaker in the Ln(TETAPO) complexes, and these N atoms can be protonated relatively easily, which increases the rate of the proton-assisted dissociation.

The relaxivity values of the complexes Gd(DOTA-4AMP) show a significant change in the pH-range 6–8, so this complex is a potential pH sensitive MRI contrast agent. The complexation properties of the ligand DOTA-4AMP have been studied in detail. The stability constants of the complexes formed with  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$  and  $\text{Zn}^{2+}$  have been determined, but for Gd(DOTA-4AMP) it was not possible because of the high stability of an intermediate, where the  $\text{Gd}^{3+}$  is strongly coordinated by the four phosphonate groups. The protonation constants of the Gd(DOTA-4AMP) were determined and the pH-dependence of the relaxivity values was interpreted by the formation of protonated complexes, of which the diprotonated species has the largest relaxivity.

### VIII. IRODALOMJEGYZÉK

- [1] I. G. Farbenindustrie, DE 718981, **1935** (F. Munz)
- [2] Djatlova, N. M.; Temkina, V. J.; Popov, K. I., Komplexonok és fémkomplexonátok, Moszkva, **1988**. (oroszul)
- [3] Schwarzenbach, G.; Ackermann, H.; Ruckstuhl, P, *Helv. Chim. Acta* **1949**, *32*, 1175-86.
- [4] Petrov, K. A.; Maklyaev, F. L.; Bliznyuk, N. K., *Zh. Obshch. Khim.*, **1959**, *29*, 591-4.
- [5] Westerback, S. J.; Martell, A. E. Clark Univ., Worcester, MA, *Nature* (London, United Kingdom) **1956**, *178*, 321-322.
- [6] Stetter, H.; Frank, W., *Angew. Chem.*, **1976**, *88*, 760.
- [7] Kabachnik, I.M., Medved', T.Y., Belskij, F.I., Piszareva, Sz.A., *Izv. Akad. Nauk. SzSzsZR, Szer. Him.* **1984**, 844.
- [8] Shannon, R.D., *Acta Cryst.*, **1976**, *A32*, 751.
- [9] Nieboer E., *Structure and Bonding*, **1975**, *22*, 1.
- [10] Helm, L.; Merbach, A. E., *Eur. J. Solid State Inorg. Chem.*, **1991**, *28*, 245.
- [11] Yamaguchi, Y.; Nomura, M.; Wakita, H.; Ohtaki, H., *J. Chem. Phys.*, **1988**, *89*, 5153.
- [12] Peacock, R. D., *Structure and Bonding*, **1975**, *22*, 83.
- [13] Bünzli, J.-C. G.; Choppin, G. R., eds., *Lanthanide Probes in Life, Chemical and Earth Sciences: Theory and Practice*. Elsevier, Amsterdam, **1989**.
- [14] Horrocks, W. deW. Jr.; Sudnick, R., *J. Am. Chem. Soc.*, **1979**, *101*, 334-40.
- [15] Forsberg, J. H., NMR studies of Paramagnetic Lanthanide Complexes and Shift Reagents. In Gschneider, K. A., Jr. and Eyring, L., eds., *Handbook on the Physics and Chemistry of Rare Earth*, Vol. 23, Amsterdam, Elsevier, **1996**.
- [16] Peters, J. A.; Huskens, J.; Raber, D. J., *Prog. NMR Spectroscopy*, **1996**, *28*, 283.

- [17] Moller, T.; Martin, D. F.; Thompson, L. C.; Ferrus, R.; Feistel, G.; Randall, W. J., *Chem. Rev.*, **1965**, *65*, 1.
- [18] Carugo, O.; Castellani, C. B., *Inorg. Chim. Acta*, **1992**, *191*, 115.
- [19] Fay, D.; Litchinski, D.; Purdie, N., *J. Phys. Chem.*, **1969**, *73*, 544.
- [20] Garza, V. L.; Purdie, N., *J. Phys. Chem.*, **1970**, *74*, 275.
- [21] Cossy, C.; Helm, L.; Merbach, A. E., *Inorg. Chem.*, **1988**, *27*, 1973.
- [22] Nyssen, G. A.; Margerum, D. W., *Inorg. Chem.*, **1970**, *9*, 1814.
- [23] Tóth, É.; Brücher, E.; Lázár, I.; Tóth, I., *Inorg. Chem.*, **1994**, *33*, 4070.
- [24] Wu, S. L.; Horrocks, W. deW., Jr., *Inorg. Chem.*, **1995**, *34*, 3724.
- [25] Brücher, E.; Laurenczy, G., *J. Inorg. Nucl. Chem.*, **1981**, *43*, 2089.
- [26] Brücher, E.; Sherry, A. D., *Inorg. Chem.*, **1990**, *29*, 1555.
- [27] Kumar, K.; Jin, T.; Wang, X.; Desreux, J. F.; Tweedle, M. F., *Inorg. Chem.*, **1994**, *33*, 3823.
- [28] Pulukkody, P. K.; Norman, T. J.; Parker, D.; Royle, L.; Broan, C. J., *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2*, **1993**, 605.
- [29] Brücher, E.; Bányai, I., *J. Inorg. Nucl. Chem.*, **1980**, *42*, 749.
- [30] Smith, G. F.; Margerum, D. W., *Inorg. Chem.*, **1969**, *8*, 135.
- [31] Sarka, L.; Burai, L.; Brücher, E., *Chem. Eur. J.*, **2000**, *6*, 719.
- [32] Jacques, V.; Desreux, J. F., *New Classes of MRI Contrast Agents*. In: Krause, W., eds., *Topics in Current Chemistry*, Vol. 221: *Contrast Agents I. Magnetic Resonance Imaging*, Berlin: Springer-Verlag, **2002**.
- [33] Lauterbur, P. C., *Nature (London), New Biol.*, **1973**, *242*, 190.
- [34] Lauterbur, P. C.; Mendoca Dias, M. H.; Rudin, A. M., In *Frontier of Biological Energetics*, Dutton, P. L.; Leigh, L. S.; Scarpa, A., eds., New York: Academic P., **1978**
- [35] Tóth, É.; Helm, L. and Merbach, A. E., In *The Chemistry of Contrast Agents in Medical Magnetic Resonance Imaging*, Tóth, É. and Merbach, A. E., eds., Chichester: John Wiley & Sons, **2001**.
- [36] Lauffer, R. B.: *Chem. Rev.*, **1987**, *87*, 901.

- [37] Weinmann, H. J.; Brasch, R. C.; Press, W. R.; Webey, G. E., *Am. J. Roentgenol*, **1984**, *142*, 619.
- [38] Gries, H.; Miklautz, H., *Physiol. Chem. Phys. Med. NMR*, **1984**, *16*, 105.
- [39] Desreux, J.; Barthélemy, P. P., *Nucl. Med Biol.*, **1988**, *15*, 9.
- [40] Shikata, F.; Tokumitsu, H.; Ichikawa, H.; Fukumori, Y., *Eur. J. Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, **2002**, *53*, 57.
- [41] Rizkalla, E. N.; Choppin, G. R.; Cacheris, W. P., *Inorg. Chem.*, **1993**, *32*, 582.
- [42] Kumar, K.; Chang, C. A.; Tweedle, M. F., *Inorg. Chem.*, **1993**, *32*, 587.
- [43] Uggeri, F.; Aime, S.; Anelli, P. L.; Botta, M.; Brochetta, M.; de Haen, C.; Ermondi, G.; Grandi, M.; Paoli, P., *Inorg. Chem.*, **1995**, *34*, 633.
- [44] Schmitt-Willich, H.; Brehm, M.; Evers, C. L. J.; Michl, G.; Müller-Fahrnow, A.; Petrov, O.; Platzek, J.; Radüchel, B.; Sülzle, D., *Inorg. Chem.*, **1999**, *38*, 1134.
- [45] Adzamli, I. K.; Gries, H.; Johnson, D.; Blau, M., *J. Med. Chem.*, **1989**, *32*, 139.
- [46] Kubicek, V.; Rudovsky, J.; Kotek, J.; Hermann, P.; Vander Elst, L.; Muller, R. N.; Kolar, Z. I.; Wolterbeek, H. Th.; Peters, J. A.; Lukes, I. J. *Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 16477.
- [47] Bach-Gensamo, T., *Acta Radiol.*, **1993**, *387*, 1.
- [48] Reimer, P.; Tombach, B., *Eur. Radiol.*, **1998**, *8*, 1198.
- [49] Grubnic, S.; Padhani, A. R.; Revell, P. B.; Husband, J. E., *Am. J. Roentgenol.*, **1999**, *173*, 173.
- [50] Wang, Y. X.; Hussain, S. M.; Krestin, G. P., *Eur. Radiol.*, **2001**, *11*, 2319.
- [51] Aime, S.; Botta, M.; Crich, S. G.; Giovenzana, G. B.; Pagliarin, R.; Piccinini, M.; Sisti, M.; Terreno, E., *J. Biol. Inorg. Chem.*, **1997**, *2*, 470.
- [52] Parker, D.; Williams, A. A. G., *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, **1996**, 3613.
- [53] Luz, Z.; Meiboom, S., *J. Chem. Phys.*, **1964**, *40*, 1058.

- [54] Dwek, R. A.; Williams, R. J. P.; Xavier, A. V.: Application of Paramagnetic Probes in Biochemical Chemistry. In: *Metal Ions in Biological Systems*, Vol. 4., A. Sigel, H. Sigel, eds., New York: Marcel Dekker Inc, **1974**.
- [55] Freed, J. H., *J. Chem. Phys.*, **1978**, *69*, 4034.
- [56] Chen, J. W.; Belford, R. L.; Clarkson, R. B., *J. Phys. Chem. A.*, **1998**, *102*, 2117.
- [57] Shukla, R.; Fernandez, M.; Pillai, R. K.; Ranganathan, R.; Ratsep, P. C.; Zhang, X.; Tweedle, M. F., *Mag. Reson. Med.*, **1996**, *35*, 928.
- [58] Tóth, É.; Vauthey, S.; Pubanz, D.; Merbach, A. E., *Inorg. Chem.*, **1996**, *35*, 3375.
- [59] Wiener, E. C.; Brechbiel, M. W.; Brothers, H.; Magin, R. L.; Gansow, O. A.; Tomalia, D. A.; Lauterbur, P. C., *Magn. Reson. Med.*, **1994**, *31*, 1.
- [60] Tóth, É.; Pubanz, D.; Helm, L.; Merbach, A. E., *Chem. Eur. J.*, **1996**, *2*, 1607.
- [61] Cavagna, F.; Luchinat, C.; Scozzafava, A.; Xia, Z., *Magn. Reson. Med.*, **1994**, *31*, 58.
- [62] Caravan, P.; Ellison, J. J.; McMurry, T. J.; Lauffer, R. B., *Chem. Rev.* **1999**, *99*, 2293.
- [63] Unger, E. C.; Fritz, T.; Wu, G.; et al., *J. Liposome Res.*, **1994**, *4*, 811.
- [64] Paeuser, S.; Reszka, R.; Wagner, S.; Wolf, K. J.; Buhr, H. J.; Berger, G., *Anti-Cancer Drug Des.*, **1997**, *12*, 125.
- [65] Fossheim, S. L.; Collet, J. M.; Mansson, S.; Fahlvik, A. K.; Muller, R. N.; Klaveness, J., *Invest. Radiol.*, **1998**, *33*, 810.
- [66] Curbet, C.; Maton, F.; Havet, T.; Slinkin, M.; Mishra, A.; Chatel, J. F.; Muller, R. N., *Invest. Radiol.*, **1998**, *33*, 752.
- [67] Aime, S.; Botta, M.; Fasano, M.; Terreno, E.; Kinches, P.; Calabi, L.; Paleari, L., *Magn. Reson. Med.*, **1996**, *35*, 648.

- [68] Fosshem, S. L.; Il'yasov, K. A.; Hennig, J.; Bjornerud, A., *Acta Radiol.*, **2000**, *7*, 1107.
- [69] Hall, J.; Häner, R.; Aime, S.; Botta, M.; Faulkner, S.; Parker, D.; de Sausa, A. S., *New J. Chem.*, **1998**, *6*, 627.
- [70] Aime, S.; Botta, M.; Gianolio, E.; Terreno, E., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2000**, *39*, 747.
- [71] Aime, S.; Ascenzi, P.; Comoglio, E.; Fasano, M.; Paoletti, S., *J. Am. Chem. Soc.*, **1995**, *117*, 9365.
- [72] Burai, L.; Tóth, É.; Seibig, S.; Merbach, A. E., *Chem. Eur. J.*, **2000**, *6*, 3761.
- [73] Rudin, M., *Nat. Biotechnol.*, **2000**, *18*, 383.
- [74] Li, W.; Fraser, S. E.; Meade, T. J., *J. Am. Chem. Soc.*, **1999**, *121*, 1413.
- [75] Környei József, A Nukleáris Medicina Fizikai, Kémiai Alapjai, **1997**.
- [76] Rizkalla, E. N., *Rev. Inorg. Chem.* **1983**, *5*, 223-304.
- [77] Kafarski, P.; Mastalerz, P., *Beitr. Wirkst. Forsch.*, **1984**, *21*, 1.
- [78] Kukhar, V. P.; Solodenko, V. A., *Usp. Khim.*, **1987**, *56*, 1504.
- [79] Kafarski, P.; Lejczak, B., *Phosp. Sulf. Silicon.*, **1991**, *63*, 193.
- [80] Taliaferro, C. H.; Martell, A. E., *J. Coord. Chem.*, **1984**, *13*, 249.
- [81] Hayes, R. L.; Hubner, K. F., *Met. Ions Biol. Syst.*, **1983**, *16*, 279.
- [82] Lauffer, R. B., *Chem. Rev.*, **1987**, *87*, 901.
- [83] Kiss, T.; Lázár, I.; Kafarski, P., *Metal Based Drugs*, **1994**, *1*, 247
- [84] Kiss, T., in *Handbook of Metal-Ligand Interactions in Biological Fluids, Bioinorganic Chemistry*, **1995**, Vol. 1, p. 717, Marcel Dekker, New York.
- [85] Appleton, T. G.; Hall, J. R.; Harris, A. D.; Kimlin, H. A.; McMahon, I. J., *Aust. J. Chem.*, **1984**, *37*, 1833.
- [86] Song, B.; Chen, D.; Bastian, M.; Martin, R. B.; Sigel, H., *Helv. Chim. Acta*, **1994**, *77*, 1738.
- [87] Appleton, T. G.; Hall, J. R.; McMahon, I. J., *Inorg. Chem.*, **1986**, *25*, 720.
- [88] Matczak-Jon, E.; Wojciechowski, W., *Inorg. Chim. Acta*, **1990**, *173*, 85.



- 
- [89] Popov, K.; Niskanen, E.; Rönkkömäki, H.; Lajunen, L. H. J., *New Journal of Chemistry* **1999**, *23*, 1209-1213.
- [90] Motekaitis, R. J.; Martell, A. E., *J. Coord. Chem.*, **1985**, *14*, 139
- [91] Sawada, K.; Kanda, T.; Naganuma, Y.; Suzuki, T., *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, **1993**, 2557.
- [92] Sawada, K.; Miyagawa, T.; Sakaguchi, T.; Doi, K., *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, **1993**, 3777.
- [93] Sawada, K.; Ichikawa, T.; Uehara, K., *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, **1996**, 3077.
- [94] Tamás Kiss and István Lázár in *Aminophosphonic and Aminophosphinic Acids. Chemistry and Biological Activity*, ed. V. P. Kukhar, H. R. Hudson, **2000**, John Wiley & Sons, Ltd. Ch. 9. pp. 285.
- [95] Burai, L.; Ren, J.; Kovacs, Z.; Bruecher, E.; Sherry, A. D., *Inorg. Chem.*, **1998**, *37*, 69-75.
- [96] Sherry, A. D.; Ren, J.; Huskens, J.; Brucher, E.; Toth, E.; Geraldès, C. F. C. G.; Castro, M. M. C. A.; Cacheris, W. P., *Inorg. Chem.*, **1996**, *35*, 4604-4612.
- [97] Cassatt, J. C.; Wilkins, R. G., *J. Am. Chem. Soc.*, **1968**, *90*, 6045.
- [98] Swift, T. J.; Connick, R. E., *J. Chem. Phys.*, **1962**, *37*, 307-20.
- [99] Jarvis, N.V., Wagner, J.M., Jackson, G.E., *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, **1995**, 1411.
- [100] Charmaine de Witt, G.; May, P. M.; Webb, J.; Hefter, G., *Inorg. Chim. Acta*, **1998**, 37-42.
- [101] Motekaitis, R.J.; Murase, J.; Martell, A.E., *Inorg. Chem.*, **1976**, *15*, 2303.
- [102] Zékány, L.; Nagypál, I., in *Computational Methods for Determination of Formation Constants*, ed. D. J. Legett, Plenum Press, New York, **1985**, p.291.
- [103] Ernestova, M.; Jedinaková-Křizová, V.; Vanura, P., *Croat. Chem. Acta*, **2004**, *77*, 633.

- [104] Jackson, G.E.; Wynchank, S.; Woudenberg, M., *Magn. Reson. Med.*, **1990**, *16*, 57.
- [105] May, P.M.; Linder, P.W.; Williams, D.R., *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, **1977**, 588.
- [106] Laznicek, M.; Laznicková, A.; Budsky, F.; Prokop, J.; Kopicka, K., *Appl. Radiat. Isot.*, **1994**, *45*, 949.
- [107] Brücher, E.; Boros, L., **1973**, Proc. XV<sup>th</sup> Internat. Conf. Coord. Chem., Moscow, p. 420.
- [108] Brücher, E.; Kukri, Cs. É.; Zékány, L., *J. Inorg. Nucl. Chem.*, **1974**, *36*, 2620.
- [109] Kotek, J.; Lebduskova, P.; Hermann, P.; Vander Elst, L.; Muller, R. N.; Geraldes, C. F. G. C.; Maschmeyer, T.; Lukes, I.; Peters, J. A., *Chem. Eur. J.*, **2003**, *9*, 5899-5915.
- [110] Kotek, J.; Kalman, F. K.; Hermann, P.; Brucher, E.; Binnemans, K.; Lukes, I., *Eur. J. Inorg. Chem.*, **2006**, *10*, 1976.
- [111] Kumar, K.; Chang, C. A.; Francesconi, L. C.; Dischino, D. D.; Malley, M. F.; Gougoutas, J. Z.; Tweedle, M. F., *Inorg. Chem.*, **1994**, *33*, 3567-75.
- [112] NIST Standard Reference Database 46 (Critically Selected Stability Constants of Metal Complexes, Version 7,0, **2003**).
- [113] Sarka, L.; Burai, L.; Kiraly, R.; Zekany, L.; Brucher, E., *J. Inorg. Biochem.*, **2002**, *91*, 320.
- [114] Sherry, A. D.; Malloy, Craig R.; Jeffrey, F. Mark H.; Cacheris, William P.; Geraldes, Carlos F. G. C. J., *Magn. Reson.*, **1988**, *76*, 528-33.
- [115] Pike, M. M.; Luo, C. Su; Clark, M. D.; Kirk, K. A.; Kitakaze, M.; Madden, M. C.; Cragoe, E. J., Jr.; Pohost, G. M., *Am. J. Phys.*, **1993**, *265*, H2017-H2026.
- [116] Bansal, N.; Germann, M. J.; Seshan, V.; Shires, G. T., III; Malloy, C. R.; Sherry, A. *Biochemistry*, **1993**, *32*, 5638-43.

- [117] Delgado, R.; Siegfried, L.C.; Kaden, T.A., *Helv. Chim. Acta*, **1990**, *73*, 140.
- [118] Burai, L.; Fábrián, I.; Király, R.; Szilágyi, E.; Brücher, E., *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, **1998**, 243
- [119] Delgado, R.; Da Silva, J. J. R. F., *Talanta*, **1982**, *72*, 567.
- [120] Chaves, S.; Delgado, R.; Da Silva, J. J. R. F., *Talanta*, **1992**, *39*, 249.
- [121] Cacheris, W. P.; Nickle, S. K.; Sherry, A. D., *Inorg. Chem.*, **1987**, *26*, 958.
- [122] Wang, X.; Jin, T.; Comblin, V.; Lopez-Mut, A.; Merciny, E.; Desreux, J. F., *Inorg. Chem.*, **1992**, *31*, 1095.
- [123] Taborsky, P.; Lubal, P.; Havel, J.; Kotek, J.; Hermann, P.; Lukes, I., *Collect. Czech. Chem. Commun.*, **2005**, *70*, 1909.
- [124] Burai, L.; Király, R.; Lázár, I.; Brücher, E., *Eur. J. Inorg. Chem.*, **2001**, 813.
- [125] Botta, M., *Eur. J. Inorg. Chem.*, **2000**, 399.
- [126] Toth, E.; Helm, L.; Merbach, A. E., *Topics in Current Chemistry*, **2002**, *221*, 61.
- [127] Clarke, T. E.; Martell, A. E., *Inorg. Chim. Acta*, **1991**, *190*, 37.
- [128] Song, B.; Storr, T.; Liu, S.; Orvig, C., *Inorg. Chem.*, **2002**, *41*, 685.
- [129] Tircsó Gyula, PhD. értekezés, Debrecen, **2007**.
- [130] Choi, K.Y.; Ki J.C.; Kim, D.W., *J. Coord. Chem.*, **1993**, *30*, 1.
- [131] Balogh, E.; Tripier, R.; Ruloff, R.; Toth, E., *Dalton Trans.*, **2005**, 1058-1065.
- [132] Brücher, E., in Contrast Agents I. Magn. Reson. Imaging, Topics in Current Chemistry, ed. W. Krause, vol. 221, Springer Verlag, Berlin, **2002**, p.104.
- [133] Sennoune Souad, R.; Luo, D.; Martinez-Zaguilan, R., *Cell Biochem. Biophys.*, **2004**, *40*, 185.
- [134] Wike-Hooley, J. L.; Haveman, J.; Reinhold, J. S., *Radioter. Oncol.*, **1984**, *2*, 343.

- [135] Tannock, I. F.; Rotin, D.; *Cancer Res.*, **1989**, *49*, 4373.
- [136] Vaupel, P.; Kallinowski, F.; Okunieff, P., *Cancer Res.*, **1989**, *49*, 6449.
- [137] Messeri, D.; Lowe, M. P.; Parker, D.; Botta, M., *Chem. Commun.*, **2001**, 2742.
- [138] Baranyai, Zs.; Bruecher, E.; Ivanyi, T.; Kiraly, R.; Lazar, I.; Zekany, L., *Helv. Chim. Acta*, **2005**, *88*, 604-617.
- [139] Zhang, S.; Wu, K.; Sherry, A. D., *Angew. Chem., Int. Ed.*, **1999**, *38*, 3192.
- [140] Sajó, I., *Komplexometria*, Műszaki Könyvkiadó, Budapest, **1973**.
- [141] Tonomura, B.; Nakatani, H.; Ohnishi, M.; Yamaguchi-Ito, J.; Hiromi, K. *Anal. Biochem.*, 1978, *84*, 370.
- [142] Glasoe, P. K.; Long, F. A., *J. Phys. Chem.*, **1960**, *64*, 188.
- [143] Irving, H. M.; Miles, M. G.; Pettit, L., *Anal. Chim. Acta*, **1967**, *28*, 475.
- [144] Spirlet, M. R.; Rebizant, J.; Loncin, M. F.; Desreux, J. F., *Inorg. Chem.*, **1984**, *23*, 4278-83.
- [145] Dubost, J. P.; Leger, J. M.; Langlois, M. H.; Meyer, D.; Schaefer, M., *C. R. Acad. Sci. (Paris)*, **1991**, *312*, 349-54.
- [146] Chang, C. A.; Francesconi, L. C.; Malley, M. F.; Kumar, K.; Gougoutas, J. Z.; Tweedle, M. F.; Lee, D. W.; Wilson, L. J., *Inorg. Chem.*, **1993**, *32*, 3501-8.
- [147] Parker, D.; Pulukkody, K.; Smith, F. C.; Batsanov, A.; Howard, J. A. K., *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, **1994**, 689-93.
- [148] Aime, S.; Barge, A.; Botta, M.; Fasano, M.; Ayala, J. D.; Bombieri, G., *Inorg. Chim. Acta*, **1996**, *246*, 423-429.
- [149] Desreux, J. F., *Inorg. Chem.*, **1980**, *19*, 1319-24.
- [150] Aime, S.; Botta, M.; Ermondi, G., *Inorg. Chem.*, **1992**, *31*, 4291-9.
- [151] Hoefl, S.; Roth, K., *Chem. Ber.*, **1993**, *126*, 869-73.
- [152] Jacques, V.; Desreux, F., *Inorg. Chem.*, **1994**, *33*, 4048.
- [153] Aime, S.; Botta, M.; Fasano, M.; Marques, M. P. M.; Geraldes, C. F. G. C.; Pubanz, D.; Merbach, A. E., *Inorg. Chem.*, **1997**, *36*, 2059-2068.

- [154] Geraldes, C. F. G. C.; Brown, R. D., III; Cacheris, W. P.; Koenig, S. H.; Sherry, A. D.; Spiller, M., *Magn. Res. Med.*, **1989**, *9*, 94-104.
- [155] Aime, S.; Botta, M.; Parker, D.; Williams, J. A. G., *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, **1996**, 17-23.
- [156] Sherry, A. D.; Geraldes, C. F. G. C.; Cacheris, W. P., *Inorg. Chim. Acta*, **1987**, *139*, 137-9.
- [157] Geraldes, C. F. G. C.; Sherry, A. D.; Kiefer, G. E., *J. Magn. Res.*, **1992**, *97*, 290-304.
- [158] Ren J.; Sherry A. D., *J. Magn. Res.*, **1996**, *B111*, 178-82.
- [159] Aime, S.; Botta, M.; Garino, E.; Crich, S. G.; Giovenzana, G.; Pagliarin, R.; Palmisano, G.; Sisti, M., *Chem. Eur. J.*, **2000**, *6*, 2609-2617.
- [160] Avecilla, F.; Peters, J. A.; Geraldes, C. F. G. C., *Eur. J. Inorg. Chem.*, **2003**, 4179-4186.
- [161] Harris, R. K., *Nuclear Magnetic Resonance: A Physicochemical View.*, **1983**, 250 pp.

## KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Ez úton fejezem ki köszönetemet két témavezetőmnek Dr. Brücher Ernőnek és Dr. Király Róbertnek, szakmai irányításukért és barátságukért, amivel lehetővé tették előrejutásomat, és amiért megteremtették azt a baráti légkört, ami miatt várakozással töltött el a mindennapi munka.

Végtelen hálával tartozom szüleimnek, Anyunak, Apunak, akik áldozatos és kemény munkájukkal lehetővé tették, hogy eddig eljussak. Akik mindig megértéssel és szeretettel támogattak egész életem során. Köszönöm Öcsémnek, Péternek, segítségét és támogatását.

Szeretném megköszönni Szabó Ibolyának, menyasszonyomnak, megértését, türelmét, támogatását és azt a szeretetteljes légkört, ami nélkülözhetetlen volt munkám során.

Hálásan köszönöm Rózsa Bélának munkám során nyújtott nélkülözhetetlen segítségét és a kedves szavakat, amivel a rosszabb időkben is derülátóvá tudott tenni.

Köszönöm Zékány Lászlónak a számítástechnikában nyújtott segítségét, valamint túláradó optimizmusát, amit az „Erre a kis időre már mindegy!” szlogennel mindig elém tárt.

Szeretném megköszönni Dr. Tóth Imrének és Dr. Fábíán Istvánnak a munkám során nyújtott hasznos tanácsaikat, a tanulságos és szórakoztató történeteket, a kedves szavakat.

Köszönettel tartozom Dr. Bányai Istvánnak, aki nagyon sokat segített az NMR-es mérésekben és a spektrumok kiértékelésében.

Köszönöm Prof. A. Dean Sherrynek a dallasi tartózkodás lehetőségét, valamint hasznos tanácsait. Köszönöm Dr. Kovács Zoltánnak barátságát és humorát, amellyel kellemessé tette ottani mindennapjaimat.

Köszönöm barátaimnak Baranyai Zsoltnak, Dr. Józai Róbertnek, Papp Gábornak támogatásukat mind a szakmai munkámban, mind a magánéletben.

Köszönöm Vanka Juditnak odaadó segítségét, és támogatását.

Utoljára, de nem utolsó sorban köszönöm kollégáimnak és ismerőseimnek, a türelmüket, szeretetüket és támogatásukat, amivel nap-nap után támogattak és segítettek munkám elvégzésében és magánéletemben.