



**1949**

**NYÍLTLÁNCÚ ÉS MAKROCIKLUSOS LIGANDUMOK  
Mn(II)-KOMPLEXEI MINT LEHETSÉGES  
MRI KONTRASZTANYAGOK**

Egyetemi doktori (PhD) értekezés

**Garda Zoltán**

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

**DEBRECENI EGYETEM  
Természettudományi és Informatikai Doktori Tanács  
Kémiai Tudományok Doktori Iskola  
Debrecen, 2019**

Ezen értekezést a Debreceni Egyetem Természettudományi és Informatikai Doktori Tanács Kémia Doktori Iskola K/2 programja keretében készítettem a Debreceni Egyetem természettudományi doktori (PhD) fokozatának elnyerése céljából.

Nyilatkozom arról, hogy a tézisekben leírt eredmények nem képezik más PhD disszertáció részét.

Debrecen, 2019.

a jelölt aláírása

Tanúsítom, hogy Garda Zoltán doktorjelölt 2013 - 2016 között a fent megnevezett Doktori Iskola K/2 programjának keretében irányításommal végezte munkáját. Az értekezésben foglalt eredményekhez a jelölt önálló alkotó tevékenységével meghatározóan hozzájárult. Nyilatkozom továbbá arról, hogy a tézisekben leírt eredmények nem képezik más PhD disszertáció részét.

Az értekezés elfogadását javasolom.

Debrecen, 2019.

a témavezető aláírása  
Dr. Tóth Imre, prof. emeritus

Tanúsítom, hogy Garda Zoltán doktorjelölt 2013 - 2016 között a fent megnevezett Doktori Iskola K/2 programjának keretében irányításommal végezte munkáját. Az értekezésben foglalt eredményekhez a jelölt önálló alkotó tevékenységével meghatározóan hozzájárult. Nyilatkozom továbbá arról, hogy a tézisekben leírt eredmények nem képezik más PhD disszertáció részét.

Az értekezés elfogadását javasolom.

Debrecen, 2019.

a témavezető aláírása  
Dr. Tirsó Gyula, egyetemi docens

## A doktori értekezés betétlapja

### NYÍLTLÁNCÚ ÉS MAKROCIKLUSOS LIGANDUMOK $Mn(II)$ - KOMPLEXEI, MINT LEHETSÉGES MRI KONTRASZTANYAGOK

Értekezés a doktori (PhD) fokozat megszerzése érdekében  
a kémia tudományágban

Írta: Garda Zoltán okleveles vegyész

Készült a Debreceni Egyetem Kémiai doktori iskolája  
(K/2 programja) keretében

Témavezetők: Dr. Tóth Imre

Dr. Tircsó Gyula

A doktori szigorlati bizottság:

elnök: Dr. Kövér Katalin

tagok: Dr. Kaizer József

Dr. Lázár István

A doktori szigorlat időpontja: 2017. november 24.

Az értekezés bírálói:

|          |       |
|----------|-------|
| Dr. .... | ..... |
| Dr. .... | ..... |
| Dr. .... | ..... |

A bírálóbizottság:

|        |          |       |
|--------|----------|-------|
| elnök: | Dr. .... | ..... |
| tagok: | Dr. .... | ..... |
|        | Dr. .... | ..... |
|        | Dr. .... | ..... |
|        | Dr. .... | ..... |

Az értekezés védésének időpontja: 2019. .... .

## **Köszönetnyilvánítás**

Ezúton szeretnék köszönetet mondani témavezetőimnek Dr. Tóth Imrének és Dr. Tircsó Gyulának az elmúlt évek során nyújtott segítségükért, támogatásukért.

Szeretnék köszönetet mondani Dr. Brücher Ernő professzor emeritusnak, akihez bármikor fordulhattam tanácsért az értekezés elkészítése során. Köszönettel tartozom Dr. Baranyai Zsoltnak munkám során nyújtott segítségéért. Továbbá szeretném megköszönni Dr. Kálmán Ferenc Krisztiánnak munkám során nyújtott segítségét és a dolgozat alapos áttekintését.

Szeretném megköszönni Zékány László Tanár Úr segítségét a számítógépes problémák megoldásában, valamint az adatok kiértékelése során.

Szeretnék köszönetet mondani Takács Katalinnak a támogatásért, a beszélgetésekért és a munkám segítésében való aktív részvételért. Köszönettel tartozom kollégáimnak és barátaimnak Babinszkiné Farkas Editnek, Botár Richárdnak, Csupász Tibornak, Dr. Forgács Attilának, Dr. Fodor Tamásnak, Horváth Dávidnak, Tóth-Molnár Enikőnek, Dr. Vágner Adriennek és Váradi Baláznak a szakmai segítségért és a baráti légkörért a mindennapi munka során.

Végül, de nem utolsó sorban nagyon nagy hálával tartozom Családomnak és Páromnak az elmúlt évek során végzett munkám, valamint a dolgozat megírása alatt tanúsított türelmükért, megértésükért.

A kutatás a GINOP-2.3.2-15-2016-00008 és a GINOP-2.3.3-15-2016-00004 számú projekt keretében, az Európai Unió támogatásával, az Európai Regionális Fejlesztési Alap társfinanszírozásával valósult meg. Az értekezésben foglalt eredmények megszületéséhez a Nemzeti Kutatási Fejlesztési és Innovációs Hivatal (NKFIH) K-120224 sz. pályázata és az Emberi Erőforrások Minisztériuma ÚNKP-17-3. kódszámú Új Nemzeti Kiválóság Programja is hozzájárult.

## A dolgozatban szereplő rövidítések magyarázata

|                         |                                                               |                                        |                                                                                               |
|-------------------------|---------------------------------------------------------------|----------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>CN:</b>              | Koordinációs szám                                             | <b>NHE:</b>                            | Normál hidrogénelektrod                                                                       |
| <b>CPMG:</b>            | Carr-Purcell-Meiboom-Gill<br>szekvencia                       | <b>NMP:</b>                            | 1-metil-piperazin                                                                             |
| <b>CT:</b>              | Komputertomográfia                                            | <b>NMR:</b>                            | Mágneses magrezonancia                                                                        |
| <b>CV:</b>              | Ciklikus voltammetria                                         | <b>NMRD:</b>                           | Nuclear magnetic relaxation<br>dispersion (relaxációs idő változása a<br>tézerő függvényében) |
| <b>D:</b>               | Aszparaginsav                                                 | <b>NSF:</b>                            | Nefrogén Szisztémás Fibrózis                                                                  |
| <b>DFT:</b>             | Sűrűségfunkcionál elmélet                                     | <b>SOD:</b>                            | Szuperoxid-diszmutáz (enzim)                                                                  |
| <b>DMP:</b>             | 1,4-dimetil-piperazin                                         | <b>Szalén:</b>                         | Szalicilaldehid-etiléndiamin                                                                  |
| <b>ESR:</b>             | Elektronspin rezonancia                                       | <b>OI:</b>                             | Optikai Képképzés                                                                             |
| <b>GdKA:</b>            | Gd(III)-ion alapú kontrasztanyagok                            | <b>PBS:</b>                            | Foszfát puffertelt sóoldat                                                                    |
| <b>H:</b>               | Hisztidin                                                     | <b>PET:</b>                            | Pozitron Emissziós Tomográfia                                                                 |
| <b>HPLC:</b>            | Nagynyomású vagy<br>Nagyhatékonyságú<br>folyadékkromatográfia | <b>q:</b>                              | Hidratációs fok, a fémionhoz<br>koordinált vízmolekulák száma                                 |
| <b>HSA:</b>             | Humán Szérum Albumin                                          | <b>SCE:</b>                            | Telített kalomel elektród                                                                     |
| <b>KA:</b>              | Kontrasztanyag                                                | <b>SPECT:</b>                          | Egy-fotonemissziós<br>komputertomográfia                                                      |
| <b>LD<sub>50</sub>:</b> | Medián halálos adag                                           | <b>T<sub>1</sub> és T<sub>2</sub>:</b> | Longitudinális és Transzverzális<br>relaxációs idők                                           |
| <b>MEMRI:</b>           | Mangán-kontrasztos MRI                                        | <b>UH:</b>                             | Ultrahang                                                                                     |
| <b>MRI:</b>             | Mágneses Rezonanciás Képképzés                                | <b>TFA:</b>                            | Trifluor-ecetsav                                                                              |
| <b>ACN:</b>             | Acetonitril                                                   |                                        |                                                                                               |
| <b>NEP:</b>             | N-etil-piperazin                                              |                                        |                                                                                               |



# Tartalomjegyzék

|                                                                                                                                                         |           |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>I. BEVEZETÉS ÉS CÉLKITŰZÉSEK.....</b>                                                                                                                | <b>1</b>  |
| <b>II. IRODALMI ÁTTEKINTÉS.....</b>                                                                                                                     | <b>5</b>  |
| II.1 PARAMÁGNESES FÉMIONT TARTALMAZÓ KOMPLEXEK AZ ORVOSI DIAGNOSZTIKÁBAN ...                                                                            | 5         |
| II.2 MANGÁN(II)KOMPLEXEK A KLINIKAI GYAKORLATBAN.....                                                                                                   | 8         |
| II.3 A MANGÁN BIOLÓGIAI SZEREPE AZ ÉLŐ SZERVEZETBEN.....                                                                                                | 9         |
| II.4 A MANGÁN KÉMIAI TULAJDONSÁGAI ÉS KOORDINÁCIÓS KÉMIAJA .....                                                                                        | 11        |
| II.5 FÉMKOMPLEXEK RELAXITÁSA.....                                                                                                                       | 13        |
| II.6 AZ IRODALOMBAN MEGTALÁLHATÓ NYÍLTLÁNCÚ ÉS MAKROCIKLUSOS LIGANDUMOK ÉS Mn(II)-KOMPLEXEIK.....                                                       | 15        |
| II.6.1 Nyíltláncú ligandumok Mn(II)-komplexei.....                                                                                                      | 16        |
| II.6.2 Makrociklusos ligandumok Mn(II)-komplexei .....                                                                                                  | 24        |
| II.6.2.1 Makrociklusban három donoratomot tartalmazó 9-tagú makrociklusos ligandumok és származékaik.....                                               | 24        |
| II.6.2.2 Makrociklusban négy donoratomot tartalmazó 12-tagú makrociklusos ligandumok és származékaik.....                                               | 27        |
| II.6.2.3 Makrociklusban öt vagy több donoratomot tartalmazó 15-, 16-, 17-, 18-tagú makrociklusos ligandumok és származékaik.....                        | 32        |
| II.6.3 Más típusú ligandumok Mn(II)-komplexei.....                                                                                                      | 36        |
| <b>III. ALKALMAZOTT ANYAGOK, MÓDSZEREK ÉS KÍSÉRLETI KÖRÜLMÉNYEK.....</b>                                                                                | <b>39</b> |
| III.1 A VIZSGÁLT LIGANDUMOK ÉS FÉMKOMPLEXEIK EGYENSÚLYI JELLEMZÉSE .....                                                                                | 39        |
| III.2 A Mn(II)-KOMPLEXEK FÉMION- ÉS LIGANDUMCSERE REAKCIÓINAK KINETIKAI VIZSGÁLATA.....                                                                 | 42        |
| III.3 A VIZSGÁLT Mn(II)-KOMPLEXEK RELAXÁCIÓS SAJÁTSÁGAINAK ELEMZÉSE .....                                                                               | 45        |
| III.4 A [Mn( <i>transz</i> -DO2A)]- ÉS A [Mn( <i>cisz</i> -DO2A)]-KOMPLEXEK REDOXI STABILITÁSÁNAK JELLEMZÉSE CIKLIKUS VOLTAMMETRIÁS TECHNIKÁVAL .....   | 46        |
| III.5 NAGYNYOMÁSÚ FOLYADÉKKROMATOGRÁFIÁS TECHNIKA ÉS ALKALMAZÁSA A LIGANDUMOK TISZTÍTÁSA, VALAMINT A Mn(II)- ÉS Zn(II)-KOMPLEXEK VIZSGÁLATA SORÁN ..... | 49        |
| III.6 A FELHASZNÁLT FÉMSÓ- ÉS LIGANDUMOLDATOK KÉSZÍTÉSE .....                                                                                           | 49        |
| <b>IV. KÍSÉRLETI EREDMÉNYEK ÉS ÉRTELMEZÉSÜK.....</b>                                                                                                    | <b>50</b> |
| IV.1 HÁROMSZOROSAN HELYETTESÍTETT 12-TAGÚ MAKROCIKLUSOS LIGANDUMOK Mn(II)-KOMPLEXEI .....                                                               | 50        |
| IV.1.1 Háromszorosan helyettesített 12-tagú makrociklusos ligandumok és Mn(II)-komplexeik egyensúlyi vizsgálata .....                                   | 51        |

|                                                                                                                                                      |              |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------|
| IV.1.2 Háromszorosan helyettesített 12-tagú makrociklusos ligandumok Mn(II)-komplexeinek disszociációs kinetikai vizsgálata .....                    | 57           |
| IV.1.3 Háromszorosan helyettesített 12-tagú makrociklusos ligandumok Mn(II)-komplexeinek relaxometriás vizsgálata .....                              | 66           |
| IV.2 DO2A-SZÁRMAZÉK LIGANDUMOK ÉS Mn(II)-KOMPLEXEINEK FIZIKAI-KÉMIAI JELLEMZÉSE .....                                                                | 68           |
| IV.2.1 Cisz- és transz-DO2A ligandumok és Mn(II)-komplexeik egyensúlyi vizsgálata..                                                                  | 69           |
| IV.2.2 A [Mn(transz-DO2A)]- és a [Mn(cisz-DO2A)]-komplexek disszociációs kinetikai vizsgálata.....                                                   | 73           |
| IV.2.3 A [Mn(transz-DO2A)]- és a [Mn(cisz-DO2A)]-komplexek elektrokémiai vizsgálata.....                                                             | 79           |
| IV.3 A transz-1,2-DIAMINO-CIKLOHEXÁN-TETRAECETSAV (transz-CDTA) SZÁRMAZÉK LIGANDUMOK ÉS Mn(II)-KOMPLEXEIK FIZIKAI-KÉMIAI JELLEMZÉSE.....             | 82           |
| IV.3.1 A transz-CDTA-bisz-amid származék ligandumok előállítása .....                                                                                | 84           |
| IV.3.2 transz-CDTA-bisz-amid származék ligandumok és Mn(II)-ionnal alkotott komplexeik egyensúlyi és relaxációs tulajdonságainak tanulmányozása..... | 87           |
| IV.3.3 A transz-CDTA-bisz-amid származék ligandumok Mn(II)-ionnal alkotott komplexeinek kinetikai vizsgálata .....                                   | 93           |
| <b>VI. ÖSSZEFOGLALÁS.....</b>                                                                                                                        | <b>107</b>   |
| <b>VII. SUMMARY .....</b>                                                                                                                            | <b>113</b>   |
| <b>VIII. IRODALOMJEGYZÉK.....</b>                                                                                                                    | <b>119</b>   |
| <b>IX. FÜGGELÉK .....</b>                                                                                                                            | <b>.....</b> |
| IX.1 A CDTA-BISZ-AMID SZÁRMAZÉK LIGANDUMOK JELLEMZÉSE (NMR ÉS MS) .....                                                                              | .....        |

## I. BEVEZETÉS ÉS CÉLKITŰZÉSEK

Az elmúlt évtizedekben a technika fejlődése nagy hatással volt az orvostudományra, ami egyre újabb és újabb módszerek megjelenését tette lehetővé az orvosi diagnosztika és terápia területén. Az egyik ilyen diagnosztikai módszer az MRI, ami az 1980-as évek közepétől szolgálja az emberiséget. Ezen módszer nagy előnye jó felbontóképességében rejlik,<sup>1</sup> emellett lehetőséget adhat az élő szervezetben lejátszódó biológiai folyamatok vizsgálatára is. A vizsgálatok során a beteget erős mágneses térbe helyezik és a testében lévő protonok (főleg vízprotonok) gerjesztődése (megfelelő radiofrekvenciás impulzus-szekvencia hatására) és relaxációja eredményezi a kép alapjául szolgáló jelet. A jel intenzitása arányos a szövetekben lévő protonok mennyiségével, és mivel a szervezetben lévő (egészséges és kóros) szövetek víztartalma különböző, ill. a bennük mérhető relaxációs idők is eltérők, ez elősegíti a részletgazdag 3D MRI kép „előállítását”. Kontrasztanyagok alkalmazásával a protonok relaxációs ideje csökkenthető, amely az MRI kép kontrasztosságának növekedését, valamint a vizsgálat idejének csökkenését eredményezi. Kontrasztanyagként paramágneses fémionok jöhetnek szóba (Gd(III), Mn(II), Fe(III), stb.), de toxicitásuk miatt csak kelátképző ligandumokkal alkotott komplexeik formájában alkalmazhatóak. A klinikai gyakorlatban (néhány esettől eltekintve) a paramágneses fémionok közül csak a hét párosítatlan elektronnal rendelkező Gd(III)-ion komplexeit alkalmazzák kontrasztanyagként.

Újabban a Gd(III)-komplexeik egyeduralma megdőlni látszik egy, a vesebetegek esetében jelentős számban észlelt betegség, a Nefrogén Szisztémás Fibrózis (Nephrogenic Systemic Fibrosis, NSF) miatt. Ezt a betegséget először 1997-ben<sup>2</sup> diagnosztizálták és csak egy évtizeddel később,

2006-ban<sup>3</sup> hozták összefüggésbe egyes Gd(III)-ion alapú kontrasztanyagok alkalmazásával. (Leggyakrabban ezek a [Gd(DTPA-BMA)]- és [Gd(DTPA-BMEA)]-komplexek, de a [Gd(DTPA)]<sup>2-</sup>-komplex alkalmazása után is fordultak elő megbetegedések). Mára alapvetően egyetértés alakult ki abban, hogy az NSF betegség kialakulásáért az emberi szervezetbe juttatott MRI kontrasztanyagokból disszociáció során felszabaduló Gd(III)-ion a felelős. Ugyanakkor az irodalomban már olyan esetek is ismertek, melyekben egészséges vesefunkcióval rendelkező, kontrasztanyagot MRI vizsgálaton átesett betegekben kismértékű hiperintenzív régiókat találtak, melyek a Gd(III)-ion felhalmozódására mutattak rá egyes szervekben/szövetekben (pl.: agy és csont).<sup>4,5</sup> A Gd(III)-ion felhalmozódását patkányokon végzett állatkísérletekkel is alátámasztották a közelmúltban.<sup>6</sup> Ez a betegség azonban főleg a veseelégtelenségben szenvedő páciensek esetén okozott komoly egészségügyi problémát és több szervrendszer érintettsége esetén gyors lefolyású, akár halálos kimenetelű is lehet.

Az NSF megjelenésével párhuzamosan megnőtt az érdeklődés olyan kontrasztanyagok kifejlesztése iránt, melyek biokompatibilisek, vagyis a szervezet számára jobban tolerálhatók. A paramágneses fémionok között ilyen lehet pl. a Mn(II)- vagy a nagyspinszámú Fe(II)- ill. Fe(III)-ionok vegyületei/komplexei.<sup>7</sup> A Mn(II) öt párosítatlan elektronnal rendelkező paramágneses fémion. A hét párosítatlan elektront hordozó Gd(III)-ionnal szemben így kisebb mágneses momentummal és emellett rövidebb elektron-relaxációs idővel rendelkezik. Ugyanakkor a Mn(II)-ion az élő szervezetben is megtalálható (esszenciális) fémion, tehát a szervezet nyilvánvalóan rendelkezik a kiürítéséhez szükséges útvonalakkal, így vélhetően nem halmozódhat fel és nagyobb dózisban is alkalmazható lehet, mellyel a fentebb említett hátrányok ellensúlyozhatók. A Mn(II)-ion nagyobb mennyiségben történő alkalmazása egyáltalán nem járna többlet költséggel, mivel a GdCl<sub>3</sub> ára

tizennégyszerese a  $\text{MnCl}_2$  árának. Nagy mennyiségben a  $\text{MnCl}_2$  is toxikus lehet az emberi szervezet számára, mivel neurotoxikus hatású és vegyületeit a következő  $\text{LD}_{50}$  értékek jellemzik:  $\text{LD}_{50} = 0,3 \text{ mmol/kg}$  intravénás injekció,  $\text{LD}_{50} = 1,0 \text{ mmol/kg}$  intraperitoneálisan (hasfalba adva).<sup>8</sup>

A Gd(III)-komplexek termodinamikai stabilitása és kinetikai inertsége messze felülmúlja a Mn(II)-komplexeit, mert a Mn(II)-komplexek esetében a kristálytér-stabilizációs energia értéke zérus, valamint a Mn(II) eleve kisebb töltéssel rendelkezik. A stabilitás mellett, a kinetikai inertség is nagyon fontos tulajdonsága a kontrasztanyagként alkalmazni kívánt komplexeknek, mivel a kis kinetikai inertséggel rendelkező komplexek esetében a szervezetbe való injektálást követően fém- és ligandumcsere reakciók játszódhatnak le. Ezekben a kicserélődési reakciókban nagy szerephez jutnak a szervezetben megtalálható endogén fémionok (Mg(II), Ca(II), Zn(II) és Cu(II)) és/vagy a bioligandumok (pl. citrát, foszfát, laktát, karbonát, továbbá nagyobb biomolekulák, peptidek, fehérjék). Ezen fémionok és bioligandumok a komplexek disszociációját és a paramágneses fémion, ill. az azt koordináló ligandum felszabadulását segíthetik elő, melyek egyaránt toxikusak lehetnek a szervezet számára.

A Gd(III)-komplexek alkalmazása kapcsán felmerült, fentebb már ismertetett problémák kiküszöbölése a 2000-es évek elején döntő fontosságúvá vált. **Munkánk célkitűzése** tehát olyan biokompatibilis nyíltláncú- és makrociklusos komplexek tervezése és vizsgálata volt, melyek Mn(II) fémiont tartalmaznak, és potenciálisan alkalmasak lehetnek a jelenleg kereskedelmi forgalomban lévő Gd(III)-ion alapú kontrasztanyagok helyettesítésére az MRI vizsgálatok során, vagy olyan alapkutatói (fizikai-kémiai) információkat szolgáltatnak, melyek felhasználásával új, Mn(II)-alapú potenciális kontrasztanyagok tervezhetők:

- Ezért célul tűztük ki a rendelkezésünkre álló nagyszámú ciklotetradekánszármazék Mn(II)-komplexének oldategyensúlyi, kinetikai és relaxációs paramétereinek vizsgálatát. A kutatással arra kerestük a választ, hogy a makrociklusban található donoratomok (N és O), valamint az oldalláncok (acetát, foszfonát és amid) minőségének és mennyiségének változtatása milyen hatással lehet a Mn(II)-kelátok fizikai-kémiai paramétereire.
- Két, az irodalomban már ismert ligandum a *cisz*- és *transz*-DO2A ligandum Mn(II)-komplexének egyensúlyi, kinetikai és redoxkémiai vizsgálata is céljaink között szerepelt, mivel ezek a DOTA ligandumból további donoratomok eltávolításával vezethetők le. Ezen szerkezeti módosítások célja a Mn(II)-komplekek relaxációs paramétereinek javítása volt, miközben próbáltuk a termodinamikai és a kinetikai paramétereket az *in vivo* alkalmazásokhoz megfelelő szinten tartani.
- A Gd(III)-komplekek esetében bevált stratégiát alkalmazva megterveztünk, előállítottunk és vizsgáltunk továbbá számos *transz*-CDTA-*bisz*-amid származék ligandumot. Ezen vizsgálatokkal kerestük a választ arra, hogy a *transz*-CDTA ligandum két acetátcsoportjának amidcsoportokra történő cseréje milyen hatással van a képződő Mn(II)-komplekek MRI szempontjából releváns paramétereire (stabilitás/inertség/relaxivitás).

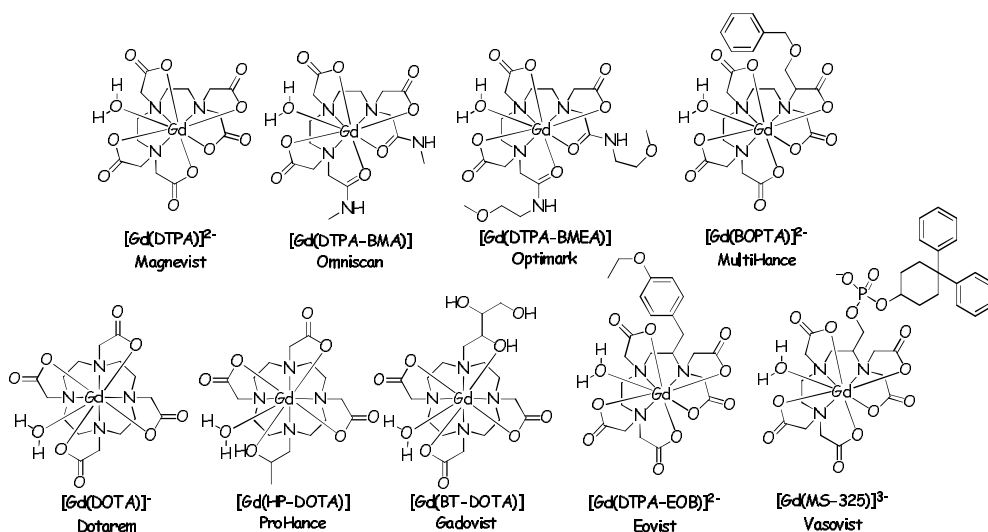
## II. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

### II.1 Paramágneses fémiont tartalmazó komplexek az orvosi diagnosztikában

A röntgensugárzás felfedezéséig,<sup>9</sup> az orvosok számára a kóros elváltozások tanulmányozása, csak post mortem vizsgálatok során volt lehetséges. A klasszikus röntgen vizsgálatok csaknem százéves diadalmenetét az elmúlt évtizedek során a tudomány és a technológia fejlődésének köszönhetően olyan noninvazív eljárások kidolgozása követte, mint például az Ultrahang (UH), a Komputertomográfia (CT), a Mágneses Rezonanciás Képalkotás (MRI), az Optikai Képalkotás (OI), a Pozitron Emissziós Tomográfia (PET) és az Egy-fotonemissziós komputertomográfia (SPECT). Az említett képalkotó technikák közül az MRI és az UH kontrasztanyag (KA) nélkül is alkalmazható (CT is alkalmazható KA nélkül), míg a további technikák esetén a vizsgálatok során elengedhetetlen a radioaktív készítmény (SPECT, PET), vagy a kontrasztanyagok alkalmazása (nehéz atomok, pl. I-ot vagy Ba-ot tartalmazó ágensek a CT esetében). Az MRI vizsgálatok során kontrasztnövelő hatású anyagként lantanoida és/vagy paramágneses fémion alapú komplexeket alkalmaznak. A nukleáris medicinában a  $^{67}\text{Ga}$ , a  $^{111}\text{In}$ , a  $^{99\text{m}}\text{Tc}$  és a  $^{201}\text{Tl}$   $\gamma$ -sugárzó izotópokat alkalmazzák a SPECT esetén, míg  $^{18}\text{F}$ -,  $^{11}\text{C}$ -,  $^{15}\text{O}$ - és  $^{13}\text{N}$ -izotópokat használják a PET vizsgálatok során. Ebből kifolyólag az orvosi diagnosztikában nagy figyelmet kaptak ezen fémionok nyíltláncú és makrociklusos ligandumokkal alkotott komplexei.

A modern klinikai gyakorlatban alkalmazott vizsgálati módok közül az MRI napjaink egyik legnagyobb teljesítőképességű, noninvazív diagnosztikai eljárása. Nagymértékben csökkentené a vizsgálat során felhasznált kontrasztanyag mennyiségét olyan szervspecifikus vagy „intelligens”

kontrasztanyagok kifejlesztése, melyekkel kisebb dózisok esetén is el lehetne érni ugyanazt a kontrasztnövelő hatást azáltal, hogy az adott kontrasztanyag egy adott szervben/szövetben dúsul (pl.: a  $[\text{Gd}(\text{EOB-DTPA})]^{2-}$  vagy az MS-325)).<sup>7</sup>

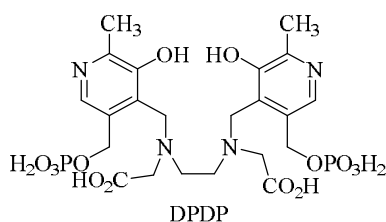


**II.1.1 ábra:** A klinikai gyakorlatban alkalmazott kontrasztanyagok

Az elsőként alkalmazott Gd(III)-ion alapú kontrasztanyag a töltéssel rendelkező  $[\text{Gd}(\text{DTPA})]^{2-}$  (Magnevist<sup>®</sup>) volt,<sup>10</sup> majd röviddel ezt követően a  $[\text{Gd}(\text{DOTA})]^{-}$  (Dotarem<sup>®</sup>)<sup>11</sup> is forgalomba került (II.1.1 ábra). Mivel a kontrasztanyagokat intravénásan, injekció formájában juttatják be a szervezetbe a jelentős ozmotikus koncentráció különbség miatt az fájdalommal jár. A fent említett probléma megoldása érdekében kerültek kifejlesztésre olyan DTPA- és DOTA-származék ligandumok, melyek Gd(III)-komplexei töltés nélküliek. Így például a  $[\text{Gd}(\text{DTPA-BMA})]$  (Omniscan<sup>®</sup>), a  $[\text{Gd}(\text{DTPA-BMEA})]$  (Optimark<sup>®</sup>), a  $[\text{Gd}(\text{HP-DOTA})]$  (Prohance<sup>®</sup>) és a  $[\text{Gd}(\text{BT-DOTA})]$  (Gadovist<sup>®</sup>) (II.1.1. ábra). Ahogyan ezt a II.1.1 ábra mutatja, a komplexek töltéssémlegességét a nyítláncú és a makrociklusos ligandumok esetében eltérő módon oldották meg: amid oldalláncokat használtak a DTPA-származékok esetén, míg alkoholos OH csoporto(ka)t tartalmazó

oldalláncokkal helyettesítették a DOTA egyik acetát oldalláncát. Az alkalmazott kontrasztanyagok dózisa 0,1 - 0,3 mmol/testsúly kg tartományban változik. A beinjektált kontrasztanyag egyenletesen oszlik el az extracelluláris térben és körülbelül 1,6 órás felezési idővel ürül ki a veséken keresztül.

A II.1.1 ábra alapján látszik az is, hogy napjainkban az alkalmazott MRI kontrasztanyagok kizárólag Gd(III)-ion alapúak, de korábban a máj és a vese vizsgálatnál alkalmaztak Mn(II)-alapú kontrasztanyagot is, név szerint a  $[\text{Mn}(\text{DPDP})]^{4-}$ -kompleket (Teslascan<sup>®</sup>).<sup>12,13</sup> A  $[\text{Mn}(\text{DPDP})]^{4-}$ -komplex előállításához használt DPDP ligandum szerkezeti képletét a II.1.2 ábrán tüntettem fel. Ennek a komplexnek kontrasztanyagként való alkalmazhatósága a komplex kinetikai labilitásában rejlik, szemben a Gd(III)-alapú kontrasztanyagokkal, melyek alkalmazhatósága a komplexek nagy inertségén alapul. A Mn(II)-ion endogén fémion, azaz a szervezetben is megtalálható és így kis mennyiségben alkalmazva toxikus hatása elhanyagolható. Ugyanakkor nagyobb mennyiségben a Parkinson-,<sup>14</sup> valamint az Alzheimer-kórhoz<sup>15</sup> hasonló tünetekkel járó problémákat okozhat. A  $[\text{Mn}(\text{DPDP})]^{4-}$ -komplex piacról történő kivonását főként gyenge eladási eredmények tették indokolttá, amely az Amerikai Egyesült Államokban 2003-ban, míg az Európai Unió országaiban 2012-ben történt meg.



**II.1.2 ábra:** DPDP ligandum szerkezeti képlete

Az alkalmazott kontrasztanyagok szervezetben való tartózkodása alatt a paramágneses fémion a komplexben kicserélődhet endogén fémionokkal. Az

így felszabaduló toxikus (paramágneses) fémion okozhatja elsősorban az előzőekben már említett NSF betegséget.<sup>16</sup> A szabad Gd(III)-ion a szervezet számára mérgező, LD<sub>50</sub> értéke 0,2 - 0,5 mmol/kg. Az NSF betegség megjelenése megmutatta, hogy a kontrasztanyagként alkalmazni kívánt komplexeknél a termodinamikai stabilitás mellett nagyon fontos követelmény a kinetikai inertség is.<sup>17</sup>

Az NSF-hez hasonló betegségek, valamint a lehetséges mellékhatások kiküszöbölése miatt jelenleg is intenzív kutatások folynak világszerte, hogy inert, biokompatibilis kontrasztanyagokat állítsanak elő. A Mn(II)-, Fe(II)- és Fe(III)-ionok komplexeinek alkalmazása<sup>18</sup> megoldást jelenthetne az olyan problémákra, mint a komplex kismértékű disszociációja vagy biodegradációja a szervezetben.<sup>19-21</sup> Ezen esszenciális fémionok kontrasztnövelő ágensként való alkalmazásával a szabaddá váló paramágneses fémionok toxikus hatása kiküszöbölhetővé válhatna, azonban a ligandum ilyen tulajdonságaival továbbra is számolni kell. Érthető módon az utóbbi években egyre több publikáció jelent meg olyan nyíltláncú (EDTA, DTPA és származékaik)<sup>19,22</sup> és makrociklusos (DOTA, TETA és származékaik)<sup>23</sup> ligandumokról, amelyek Mn(II)- és/vagy Fe(II)-komplexei a kontrasztanyagokkal szemben támasztott követelmények közül többnek is megfelelnek. De ezek nem teljes körűen elégítik ki a biztonsági és hatékonysági feltételeket.

## **II.2 Mangán(II)komplexek a klinikai gyakorlatban**

A mangán fontos szerepet tölt be a MRI történetében, mivel Lauterbur az első MRI képet  $[\text{Mn}(\text{H}_2\text{O})_6]^{2+}$ -ion (mint relaxációs ágens) felhasználásával vette fel.<sup>24</sup> A későbbiekben a  $\text{MnCl}_2$  relaxációs hatását kutyákban,<sup>25,26</sup> patkányokban<sup>27</sup> és emberi vérben<sup>28</sup> egyaránt vizsgálták. Az így kapott eredmények egyértelműen megmutatták, hogy a paramágneses Mn(II)-ion

kölcsönhatása a vérben lévő nagymolekulákkal (HSA;  $\gamma$ -globulin) jelentősen felgyorsítja a protonok relaxációját, kontrasztosabbá téve a képet. Oroszországban Ussov és mtsai. kutyákban és emberben egyaránt tesztelték a  $[\text{Mn}(\text{CDTA})]^{2-}$ -komplexet a szív és az agy vizsgálata során.<sup>29,30</sup>

A Mn(II)-ion erős relaxációs hatásának és egyedülálló biológiai szerepének (SOD, glutamin szintetáz, argináz, stb.) érdekes kombinációja eredményezte az új képalkotási eljárás, a MEMRI (Mangán-kontrasztos MRI) kialakulását, ami biológiai rendszerekben nagy *in vivo* térbeli és időbeli felbontóképességgel ( $\sim 100 \mu\text{m}$ ) rendelkezik. Ez a technika alkalmas a központi idegrendszer, az agy és a szív működésének tanulmányozására is, mivel a feszültségfüggő Ca(II)-csatornákon keresztül a Mn(II) bejuthat az sejtekbe.<sup>31,32</sup> Hátránya ennek a módszernek az, hogy nagy mennyiségben a  $\text{MnCl}_2$  is toxikus, ezért a lehető legkisebb mennyiséget kell injektálni (általában ez nem több, mint 6,6 - 175 mg/testsúly kg hasüregbe vagy intravénásan), így alkalmazása jelenleg a kisállatok vizsgálatára korlátozódik (patkány és egér<sup>33</sup>), de humán MRI vizsgálatok előtt az orvosok előszeretettel javasolják a vörösbogyós gyümölcsökből (pl. tőzegáfonya) vagy ananászból készült gyümölcslevek fogyasztását, mivel ezeknek nagy a Mn(II)-tartalma.

Korábban a LumenHance<sup>®</sup> elnevezésű  $\text{MnCl}_2$ -alapú készítményt is alkalmazták a gasztrointesztinális<sup>34</sup> (gyomor-bél traktus) vizsgálatok során, de a készítmény felhasználása jelenleg szünetel.

### **II.3 A mangán biológiai szerepe az élő szervezetben**

A mangán egy esszenciális nyomelem, amely számos, az emberi szervezetben lejátszódó biológiai folyamat kofaktoraként működik pl. neurotranszmitterek szintézise, szabadgyökök semlegesítése és elektron transzport folyamatok során.

Az emberek számára szükségesnek vélt napi bevitel 2 - 5 mg között változik, egy átlagos 70 kg-os testsúlyú ember szervezetében (a lágy szövetekben és a csontban) körülbelül 20 mg mangán van. Eloszlása nem egyenletes, a központi idegrendszerben nagyságrendekkel nagyobb a koncentrációja, mint máshol az emberi szervezetben. Az emberek esetén az étrendből eredő mangán hiány ritkán fordul elő, de az állatoknál károsodást okozhat a szív-és érrendszeri, valamint az inzulin termelő szervrendszerekben, továbbá arterioszklerózishoz (érelmeszesedés) és cukorbetegséghez vezethet. Mangánmérgezés az embereknél csak hosszú idejű mangán-tartalmú levegőnek való kitettség esetén vagy a mangán kiválasztási-útvonal meghibásodásával következhet be.

A fehérjékben a Mn(II)-iont rendszerint hatos koordinációs szám jellemzi, de négyes és ötös koordináció (pl.: MnSOD enzim esetében ötös) is ismert. Az összes eddig szerkezetileg jellemzett mangántartalmú fehérje esetén oxigén donortom veszi körül a mangánt és gyakran ez az egyetlen koordinálódásra képes donortom a mangán közvetlen környezetében. Ha a Mn(III)-iont tekintjük, akkor általános tapasztalatként megállapítható, hogy (az eddig jellemzett fehérjék esetén) minimum egy hisztidin nitrogén koordinálódik a központi Mn(III)-ionhoz (pl. MnSOD és aminoszteináz enzimek).

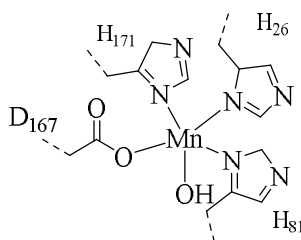
Az enzimek olyan biokatalizátorok, melyek minden élő szervezet esetén növelik a sejtek életfolyamataihoz elengedhetetlen kémiai reakciók sebességét. Számos enzim aktív centrumában egy vagy több (akár négy pl.: a fotoszintézis esetén, ahol a víz oxidációjában vesz részt<sup>35</sup>) Mn(II) vagy Mn(III)-ion játszik szerepet az aktivitás kialakulásában.

A mononukleáris aktív centrummal rendelkező enzimek közül az egyik legjobban felderített a MnSOD, amely a szervezeten belül keletkező

szuperoxid anionok semlegesítéséért felelős és a következő folyamatot katalizálja:



Az MnSOD aktív centrumában a mangánt három hisztidin (rövv.: H) nitrogén, egy aszparaginsav (rövv.: D) oxigén és egy vízmolekula koordinálja, amint az a II.3.1 ábrán is látszik.



**II.3.1 ábra:** A MnSOD molekula aktív centruma. A koordinálódó aminosavak sorszáma az *E. coli* baktérium enzim aktív centrumának felel meg<sup>36</sup>

## II.4 A mangán kémiai tulajdonságai és koordinációs kémiája

A mangán a periódusos rendszer huszonötödik eleme. Csak egy természetes stabil izotópja van, az  $^{55}\text{Mn}$ , valamint 18 radioizotópja ismert, melyek közül a legstabilabbak a 3,7 millió év felezési idejű  $^{53}\text{Mn}$ , a 312,3 nap felezési idejű  $^{54}\text{Mn}$  és az  $^{52}\text{Mn}$ , melynek felezési ideje 5,591 nap. A mangán oxidációs száma vegyületeiben +1 és +7 között változik és a körülmények változásával az összes oxidációs állapotára ismert stabil vegyület. A Mn(II)-ion nem koordinálódó ligandumokkal alkotott sóinak tömény vizes oldata halvány rózsaszínű, az oldatban jelenlévő  $[\text{Mn}(\text{H}_2\text{O})_6]^{2+}$ -komplexek miatt.

A mangán koordinációs kémiája igen változatos, mivel a +1-től a +7-es oxidációs állapotig ismertek és előállíthatók oxo-, halogeno- és különböző donoratomokat (oxigén, nitrogén és kén) tartalmazó ligandumokkal képződő

komplexei. A +1-es oxidációs állapotú mangánkomplexekre is ismert irodalmi példa nitrogén, foszfor és kén donoratomokat<sup>37–40</sup> tartalmazó makrociklusos ligandumokkal. A mangán fémorganikus kémiájában csak a 0, +1 és +2 oxidációs állapotok fordulnak elő.<sup>41</sup> Változatos oxidációs állapotából eredően a szervetlen, szerves és a biológiai rendszerek esetén is egyaránt fontos szerephez jutott. A szervetlen kémia területén jelentős a nagyobb oxidációs állapotú oxovegyületek oxidálószerként történő felhasználása ( $\text{KMnO}_4$ ,  $\text{K}_2\text{MnO}_4$  és  $\text{MnO}_2$ ). Az iparban a mangán 90%-át az acélgégyártás során ötvözőanyagként használják ferromangán (30 – 80% mangánt tartalmaz) formájában. A szerves kémiában a mangánt oxigén, ill. nitrogén transzfer, valamint epoxid képzési reakciók (Mn(III) és Mn(V) szalénkomplexek<sup>42,43</sup>) során alkalmazzák. Biológiai rendszerekben pedig számos enzim aktív centrumában megtalálható (II.3 fejezet).

Szigorúan véve a hard-soft sav-bázis elmélet alapján a mangán(II) a hard karakterű fémionok (kis méret, nagy töltés és kis polarizálhatóság) közé tartozik, azaz Lewis-sav karakterű, ezáltal az ugyancsak hard oxigénatom felé nagy affinitást mutat, de nitrogén donoratomot tartalmazó ligandumokkal is képes nagy stabilitású komplexet kialakítani. A Mn(II)-ionok esetén a nagy spinszámú  $d^5$  elektronkonfiguráció miatt valamennyi d-d elektronátmenet tiltott (ezért csaknem színtelen a  $[\text{Mn}(\text{H}_2\text{O})_6]^{2+}$ -komplex) és a kristálytér stabilizációs energia értéke zérus. Ebből következik az is, hogy a mangánkomplexek termodinamikai stabilitása kisebb lesz, mint a legtöbb 3d átmenetifém komplexé.

A Mn(II)-amino-polikarboxilát komplexekről sokáig azt gondolták, hogy kinetikailag labilisak, azaz könnyen disszociálnak, de 2011-ben Drahos és mtsai. a  $[\text{Mn}(\text{NOTA})]^-$  és a  $[\text{Mn}(\text{DOTA})]^{2-}$ -komplexek példáján bemutatták, hogy ezen makrociklusos Mn(II)-komplexek  $\text{pH} = 7,4$  és  $1 \times 10^{-5}$

M Zn(II)-ion koncentráció mellett számolva viszonylag nagy disszociációra jellemző felezési idővel rendelkeznek (rendre 74 és 1037 óra), azaz inerteek.<sup>44</sup>

## II.5 Fémkomplexek relaxivitása

Az MRI alkalmazhatósága az egészséges és a beteg szövetek eltérő víztartalmán, valamint a vízprotonok eltérő relaxációs idején ( $T_1$  és  $T_2$ ) alapszik. A vizsgálatok során jellemzően spin-echo impulzus szekvenciát alkalmaznak. A kapott jel intenzitása (SI) az II.5.1. egyenlettel írható le:

$$SI = N(H) \left[ 1 - e^{-\frac{TR}{T_1}} \right] e^{-\frac{TE}{T_2}} \quad (\text{II.5.1})$$

ahol,  $N(H)$  a térfogategységben lévő protonspinek sűrűsége,  $T_1$  és  $T_2$  rendre a spinek longitudinális és transzverzális relaxációs ideje,  $TE$  az echo késleltetési idő és  $TR$  az ismétlési idő. Az egyenletből következik, hogy a  $T_1$  relaxációs idő csökkenése a jelintenzitás növekedését, míg  $T_2$  relaxációs idő csökkenése a jelintenzitás csökkenését eredményezi.

A protonok relaxációjára gyakorolt hatásuk alapján a kontrasztanyagokat alapvetően két csoportba soroljuk, úgymint  $T_1$  és  $T_2$  kontrasztanyagok. A  $T_1$  kontrasztanyagok a vízprotonok longitudinális relaxációs sebességére, míg a  $T_2$  kontrasztanyagok a protonok transzverzális relaxációs sebességére vannak nagyobb hatással. A  $T_1$  kontrasztanyagokban található fémionok sok párosítatlan elektront tartalmaznak, ilyen a Gd(III)-ion (hét párosítatlan elektron), az Fe(III) (öt párosítatlan elektron, csak nagyspinszámú komplex esetén) és a Mn(II) (öt párosítatlan elektron). Ezek közül a legnagyobb kontrasztnövelő hatást a Gd(III) okozza, mivel nagy mágneses momentummal, hét párosítatlan elektronnal és  $10^{-9}$  szekundumos elektron-relaxációs idővel rendelkezik. A  $T_2$  kontrasztanyagok közül a

szuperparamágneses vasoxid mikrorészecskék (SPIO) a jelentősek, melyek az alábbi összegképlettel jellemezhetők  $\text{Fe}_2^{\text{III}}\text{O}_3\text{M}^{\text{II}}\text{O}$ , ahol az  $\text{M}^{\text{II}}$  helyére  $\text{Fe(II)}$ -,  $\text{Mn(II)}$ -,  $\text{Mg(II)}$ -,  $\text{Co(II)}$ - vagy  $\text{Ni(II)}$ -ion helyettesíthető be. Ezen anyagok közül már többet is eredményesen alkalmaznak az MRI vizsgálatok során (Lumirem, Abdoscan, Endorem),<sup>45–48</sup> bár a klinikai gyakorlatba még nem kerültek ilyen készítmények.

A diamágneses és paramágneses hozzájárulás a relaxációsebességhez additív és a II.5.2 egyenlettel adható meg, ahol az  $(1/T_i)_{\text{obs}}$  a kapott oldat relaxációs sebességét definiálja a paramágneses anyag jelenlétében, az  $(1/T_i)_d$  az (diamágneses) oldószer relaxációs sebessége a paramágneses anyag távollétében és az  $(1/T_i)_p$  a további paramágneses hozzájárulást jelöli.

$$\left(\frac{1}{T_i}\right)_{\text{obs}} = \left(\frac{1}{T_i}\right)_d + \left(\frac{1}{T_i}\right)_p \quad i = 1, 2 \quad (\text{II. 5.2})$$

Az oldott anyag - oldott anyag kölcsönhatások távollétében az oldószer relaxációs sebessége lineáris függést mutat a hozzáadott paramágneses anyag ( $[\text{M}]$ ) koncentrációjával. Ezen összefüggésből kapott egyenes meredekségeként definiálható a komplex relaxivitása, ami a vízprotonok relaxáció-sebességének 1 mM paramágneses anyagféleség által eredményezett növekedése, mértékegysége  $\text{mM}^{-1}\text{s}^{-1}$  (II.5.3 egyenlet):

$$\left(\frac{1}{T_i}\right)_{\text{obs}} = \left(\frac{1}{T_i}\right)_d + r_i[\text{M}] \quad i = 1, 2 \quad (\text{II. 5.3})$$

ahol,  $r_i$  a komplex relaxivitása.<sup>49</sup>

A relaxivitást a belső, a második és a külső koordinációs szférában lévő vízprotonok relaxációs sebességeinek  $((1/T_i)_{\text{belsősféra}}$  és  $(1/T_i)_{\text{külsősféra}}$ ) összegeként adhatjuk meg:

$$\left(\frac{1}{T_i}\right)_p = \left(\frac{1}{T_i}\right)_{\text{belsősféra}} + \left(\frac{1}{T_i}\right)_{\text{külsősféra}} \quad i = 1, 2 \quad (\text{II. 5.4})$$

A relaxációs sebességet befolyásolja továbbá a fémion belső koordinációs szférájában lévő vízmolekulák száma ( $q$ ). A belső sféra hozzájárulását a relaxitás értékhez a Swift-Connick<sup>50</sup> elmélet alapján az alábbi egyenlettel adhatjuk meg:

$$\left(\frac{1}{T_1}\right)_{\text{belső sféra}} = \frac{cq}{55,55} \frac{1}{T_{1m}^H + \tau_M} \quad (\text{II. 5.5})$$

ahol,  $q$  és  $\tau_M$  rendre a paramágneses fémionhoz kötött vízmolekulák számát (hidratációs fok) és átlagos tartózkodási idejét ( $k_{\text{ex}} = 1/\tau_M$  vízcsera sebesség), míg a  $T_{1m}^H$  a koordinált vízmolekula protonok  $T_1$  relaxációs idejét jelölik. A külsősféra hozzájárulása a Freed-féle közelítéssel<sup>51,52</sup> adható meg, és az egy vízmolekulát tartalmazó Gd(III)-komplexek esetén akár a teljes hatás 40 %-át is kiteheti. A másodíkszféra szerepét Botta<sup>53</sup> és mtsai. tanulmányozták és írták le részletesen.

## II.6 Az irodalomban megtalálható nyíltláncú és makrociklusos ligandumok és Mn(II)-komplexeik

Az egyre növekvő számú kontrasztanyag vizsgálat hatására folyamatosan nő a szennyvizek Gd-tartalma, ami a nagyobb diagnosztikai

központok környezetében kimutatható a folyóvizekből/ivóvízből is. Ez pozitív Gd-anomáliaként vált ismertté és kelt jogos aggodalmat, noha eddig konkrét károsító hatást nem detektáltak.<sup>54</sup>

Ezen probléma és a korábban már említett NSF betegség kiküszöbölésére, vagyis a Gd(III)-ion, más ugyancsak paramágneses fémionnal történő helyettesítésére komoly erőfeszítéseket tesznek a világ több kutatócsoportjában. Az irodalomban eddig leírt nem Gd(III)-tartalmú komplexek ugyanakkor nem elégítik ki teljeskörűen az alkalmazás feltételeit, vagy inertségük vagy relaxivitásuk jelentősen elmarad a jelenleg alkalmazott komplexekéhez képest. Az eddig előállított és jellemzett komplexképzőket alapvetően két nagy csoportba, nyíltláncú és makrociklusos ligandumok csoportjába sorolhatjuk. Az alábbiakban a munkánk közvetlen előzményének tekinthető publikációkat tekintjük át. Sajnos nincs egy olyan paraméter, amelyik önmagában megadná egy kontrasztanyag „jóságát”, mint ahogy a termodinamikai stabilitás, a kinetikai inertség vagy a relaxitás értékek közvetlen összehasonlítása sem lehetséges minden esetben. Mégis igyekszünk az adatokat úgy csoportosítani és elemezni, hogy az egyes komplexek előnyös és hátrányos tulajdonságai a szerkezet és a fizikai-kémiai sajátságok összefüggései, a biztonságos alkalmazás kritériumainak való megfelelés vagy annak hiánya lehetőleg kiderüljenek.

### ***II.6.1 Nyíltláncú ligandumok Mn(II)-komplexei***

A Mn(II)-ion komplexálására eddig javasolt nyíltláncú ligandumok (II.6.1.1 ábra) főként az EDTA (etiléndiamin-tetraecetsav) ligandum származékai (II.6.1.1 táblázat, II.6.1.1 ábra). Az összes ilyen típusú komplex esetén a koordinációs szám hét (kivéve az NTA ligandum).

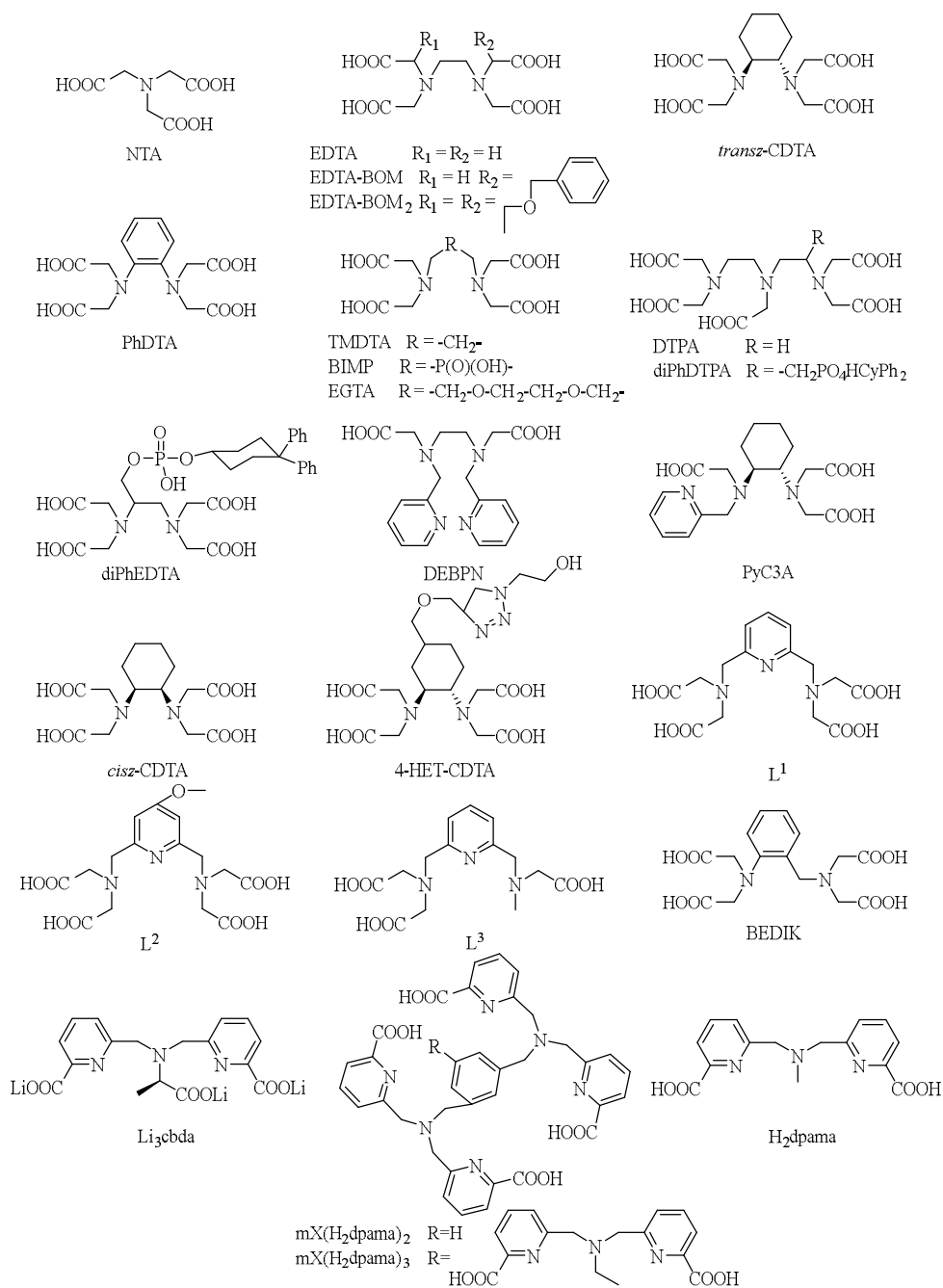
Hunt és mtsai. még a kontrasztanyagok iránti érdeklődés fellendülése előtt, az 1970-es években meghatározták az NTA, EDTA és PhDTA

ligandumok Mn(II)-ionnal alkotott komplexeinek vízcsera sebességét  $^{17}\text{O}$ -NMR spektroszkópiás módszerrel, melyek rendre  $k_{\text{ex}}^{298} = 150 \times 10^7$ ,  $43,8 \times 10^7$  és  $35,0 \times 10^7 \text{ s}^{-1}$ .<sup>55,56</sup> Az EDTA, TMDTA és *transz*-CDTA Mn(II)-, Fe(II/III)- és Ni(II)-komplexek szerkezetének finomítását Maigut és mtsai. végezték el 2008-ban.<sup>57,58</sup> A komplexek szerkezetének vizsgálata során egy belső szférás vízmolekula jelenlétét erősítették meg alkalmazva egy sokkal pontosabb megközelítést, amelybe belevontak egy hőmérséklettől függő egyensúlyi állandót is. Ez az egyensúly a vízmolekulát nem tartalmazó és az egy vízmolekulát tartalmazó komplex között áll fent ( $K_{6-7}^{298}$ , CN = 6 vagy 7).

Aime és mtsai. két benziloximetil (BOM) funkciós csoporttal módosított EDTA-származék Mn(II)-komplexét tanulmányozták, melyektől nagymértékű fehérjéhez való kötődést vártak. Ezen módosítás az EDTA alapvázon jelentősen növelte a relaxivitást szérumban jelenlétében (akár  $r_1 \sim 58 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$  értékig 0,49 T térerőn).<sup>59</sup> Caravan és mtsai. a Gd(III)-ion alapú MS-325 komplexszel analóg EDTA-származékot állították elő (diPhEDTA) a szérumban való erős kötődés megvalósításának érdekében.<sup>60</sup> A  $[\text{Mn}(\text{diPhEDTA})(\text{H}_2\text{O})]^{2-}$ -komplex vízcsera sebesség értéke nagyon hasonló az EDTA-BOM-származék  $k_{\text{ex}}$  értékéhez, továbbá nyúl vagy emberi szérumban hozzáadásával a relaxitás nagymértékű növekedése volt tapasztalható (nagy térerőn megjelenő csúcs). Ez a jelentős növekedés a komplex forgásának lassulására vezethető vissza.

2011-ben Zhang és mtsai. tanulmányozták a semleges DEPN ligandum (az EDTA ligandum két karboxilátcsoportját két metil-piridin fémkötő egységgel helyettesítve) Mn(II)-komplexét, amely kétszer nagyobb relaxivitással rendelkezik, mint a  $[\text{Mn}(\text{EDTA})]^{2-}$ -komplex ( $r_1 = 3,56$  vs.  $1,76 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ , 3,18 T térerőn). Ebben a komplexben a Mn(II)-ion koordinációs száma 7 és egy vízmolekula található a fémion belső koordinációs szférájában, amelyet röntgenkristallográfiás vizsgálatok eredményei is alátámasztottak.

Ezért ez a nagy különbség a kelátok relaxivitásában az EDTA Mn(II)-komplexéhez képest, a második- vagy külsősférában található vízmolekulák relaxációsebességhez való hozzájárulásával magyarázható.<sup>61</sup>



**II.6.1.1 ábra:** A fejezetben bemutatott nyíltláncú ligandumok szerkezeti képletei**II.6.1.1 táblázat:** A  $[\text{Mn}(\text{H}_2\text{O})_6]^{2+}$ -komplex és az irodalomban található nyíltláncú ligandumok Mn(II)-komplexeinek relaxivitása (0,49 T, 25 °C) és koordinációs száma (CN)

|                                                                   | <b>Relaxivitás (<math>r_{1p}</math>)<br/><math>\text{mM}^{-1}\text{s}^{-1}</math></b> | <b>CN</b>      |
|-------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|----------------|
| $[\text{Mn}(\text{H}_2\text{O})_6]^{2+}$                          | 5,93 <sup>a</sup> ; 8,03                                                              | 6              |
| $[\text{Mn}(\text{NTA})(\text{H}_2\text{O})_2]^-$                 | -                                                                                     | 6              |
| $[\text{Mn}(\text{EDTA})(\text{H}_2\text{O})]^{2-}$               | 3,20 <sup>b</sup>                                                                     | 7              |
| $[\text{Mn}(\text{transz-CDTA})(\text{H}_2\text{O})]^{2-}$        | 3,62 <sup>b</sup>                                                                     | 7              |
| $[\text{Mn}(\text{PhDTA})(\text{H}_2\text{O})]^{2-}$              | 3,72 <sup>c</sup>                                                                     | 7              |
| $[\text{Mn}(\text{PyC3A})(\text{H}_2\text{O})]^-$                 | 2,10 <sup>d</sup>                                                                     | 7              |
| $[\text{Mn}(\text{TMDTA})(\text{H}_2\text{O})]^{2-}$              | 2,2 <sup>b</sup>                                                                      | 7              |
| $[\text{Mn}(\text{EDTA}(\text{BOM}))(\text{H}_2\text{O})]^{2-}$   | 3,6 <sup>e</sup>                                                                      | 7              |
| $[\text{Mn}(\text{EDTA}(\text{BOM})_2)(\text{H}_2\text{O})]^{2-}$ | 4,3 <sup>e</sup>                                                                      | 7              |
| $[\text{Mn}(\text{diPhEDTA})(\text{H}_2\text{O})]^{2-}$           | -                                                                                     | 7              |
| $[\text{Mn}(\text{4-HET-CDTA})]^{2-}$                             | 4,56 <sup>f</sup>                                                                     | 7              |
| $[\text{Mn}(\text{cisz-CDTA})]^{2-}$                              | 3,85 <sup>g</sup>                                                                     | 7              |
| $[\text{Mn}(\text{DTPA})]^{3-}$                                   | 1,7 <sup>b</sup>                                                                      | 7 <sup>h</sup> |
| $[\text{Mn}(\text{L}^1)]$                                         | - <sup>i</sup>                                                                        | 7              |
| $[\text{Mn}(\text{L}^2)]$                                         | 1,51 <sup>i</sup>                                                                     | 7              |
| $[\text{Mn}(\text{L}^3)]$                                         | 2,64 <sup>i</sup>                                                                     | 7              |
| $[\text{Mn}(\text{BEDIK})(\text{H}_2\text{O})]^{2-}$              | 3,11 <sup>a, j</sup>                                                                  | 7              |
| $[\text{Mn}(\text{cbda})(\text{H}_2\text{O})]^-$                  | 3,02 <sup>a, k</sup>                                                                  | 7              |
| $[(\text{Mn}(\text{dpama})(\text{H}_2\text{O})_2)]$               | 5,3                                                                                   | 7              |
| $[\text{mX}(\text{Mn}(\text{dpama})(\text{H}_2\text{O})_2)_2]$    | 8,6                                                                                   | 7              |
| $[\text{mX}(\text{Mn}(\text{dpama})(\text{H}_2\text{O})_2)_3]$    | 11,4                                                                                  | 7              |

<sup>a</sup> 1,41 T; <sup>b</sup> Ref. 22; <sup>c</sup> Ref. 62; <sup>d</sup> Ref. 63; <sup>e</sup> Ref. 19; <sup>f</sup> Ref. 64; <sup>g</sup> Ref. 65; <sup>h</sup> Az egyik oldallánc nem koordinálódik, Ref. 66; <sup>i</sup> Ref. 67; <sup>j</sup> Ref. 68; <sup>k</sup> Ref. 69; <sup>l</sup> Ref. 70

2012-ben csoportunkban Kálmán F. és mtsai. számos nyíltláncú ligandum (*transz*-CDTA, EDTA, TMDTA, BIMP és EGTA) Mn(II)-komplexének inertségét vizsgálták fiziológiához közeli körülmények között (pH = 7,4, 25 °C-on). Az eredmények azt mutatták, hogy a merev *transz*-CDTA ligandum Mn(II)-komplexének disszociációjára jellemző felezési idő ( $t_{1/2}$  = 12 óra) a legnagyobb a vizsgált Mn(II)-komplexek közül. A komplex relaxivitása is elfogadható nagyságú (II.6.1.1 táblázat, 0,49 T térerőn), így reményteljes alapot adott további Mn(II)-ion alapú MRI kontrasztanyagok fejlesztéséhez.<sup>22</sup>

P. Caravan és mtsai. az előbb részletezett eredményekre alapozva 2015-ben egy új nyíltláncú ligandumot állítottak elő a Mn(II)-ion komplexálásának céljából. A  $[\text{Mn}(\text{PyC3A})(\text{H}_2\text{O})]^-$ -komplex disszociációja az általuk alkalmazott körülmények között (1 mM MnL, 25 mM Zn(II), 50 mM pH = 6,0 MES puffer, 37 °C és 1,4 T térerő) feleannyi idő alatt játszódott le, mint azt a *transz*-CDTA ligandum Mn(II)-komplexe esetében tapasztalták.<sup>63</sup>

2017-ben Vanasschen és mtsai. egy új bifunkciós (PET/MR képalkotó ágens) *transz*-CDTA származék ligandum (4-HET-CDTA) előállítását és Mn(II)-komplexének fizikai-kémiai jellemzését végezték el.<sup>64</sup> A komplex látszólagos stabilitási állandója szinte megegyezik a *transz*-CDTA Mn(II)-komplex megfelelő értékével (pMn = 8,62 vs. 8,68), de az inertség ( $t_{1/2}$  = 16,2 vs 12,1 óra) és a relaxitás érték ( $r_1$  = 4,56 vs. 3,62 mM<sup>-1</sup>s<sup>-1</sup>; 0,49 T és 25 °C-on) esetében javulást tapasztaltak. A komplex inertségének növekedését a ligandum bázicitásának csökkenésével és a ligandum „gerincének” merevebbé válásával magyarázták. A Mn(II)-komplex relaxitás értékében tapasztalható javulást pedig, a komplex rotációs korrelációs idejének a növekedésével ( $\tau_R^{298}$  = 105 ps) értelmezték. A  $[\text{Mn}(4\text{-HET-CDTA})]^{2-}$ -komplex esetén tapasztalt gyors vízcsere sebesség nagyon hasonló a  $[\text{Mn}(\textit{transz}\text{-CDTA})]^{2-}$ -komplex esetén kapott értékhez (rendre,  $k_{\text{ex}}^{298}$  =  $17,6 \times 10^7$  és  $14 \times 10^7$  s<sup>-1</sup>).

Kutatócsoportunkban 2018-ban tanulmányoztuk a *cisz*-CDTA ligandum Mn(II)-ionnal képződő komplexét, de a  $[\text{Mn}(\text{cisz-CDTA})]^{2-}$ -komplex kinetikai inertsége elmarad a *transz*-származék esetében tapasztalt inertségtől ( $t_{1/2} = 0,47$  vs.  $12,2$  óra<sup>65, 22</sup>), ami megerősítette, hogy a *transz*-1,2-ciklohexándiamin „jó építőkönek” tekinthető további ligandumok tervezéséhez.

Kutatócsoportunk legújabb publikált eredményei között szerepel a PhDTA (*orto*-fenilén-diamin-tetraecetsav) ligandum Mn(II)-ionnal képződő komplexének egyensúlyi, kinetikai és relaxometriás jellemzése. A  $[\text{Mn}(\text{PhDTA})]^{2-}$ -komplex látszólagos stabilitási állandója ( $pMn = 8,38$  vs.  $8,68$ ) és relaxitás értéke ( $r_{1p} = 3,72$  vs.  $3,62 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ ,  $0,49 \text{ T}$  és  $25 \text{ }^{\circ}\text{C-on}$ ) nagyon hasonló a  $[\text{Mn}(\text{transz-CDTA})]^{2-}$ -komplex megfelelő értékéhez, de a  $[\text{Mn}(\text{PhDTA})]^{2-}$ -komplex inertsége jobb, mint azt a  $[\text{Mn}(\text{transz-CDTA})]^{2-}$ -komplex esetében tapasztalták ( $t_{1/2} = 12,2$  vs.  $19,1$  óra).<sup>22,62</sup>

A PhDTA ligandumhoz nagyon hasonló szerkezetű BEDIK ligandumot Phukan és mtsai. állították elő és jellemezték Mn(II)-ionnal képződő komplexének termodinamikai stabilitását és relaxációs sajátosságait. A komplex a  $[\text{Mn}(\text{EDTA})]^{2-}$ -komplexszel összemérhető stabilitással rendelkezik. A kétmagvú komplex egykristály röntgenszerkezetében a két Mn(II) fémion közül az egyiket egy BEDIK ligandum hat donoratomja és egy vízmolekula koordinálja, míg a másik mangánt négy vízmolekula és két különböző BEDIK komplexképző egy-egy karboxilátcsoportjának O-atomjai. A komplex relaxitás értéke Mn(II) egységenként  $r_1 = 3,11 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$  ( $1,41 \text{ T}$ ).<sup>68</sup>

Forgács A. és mtsai. 2015-ben olyan komplexképzőket állítottak elő, melyek fémkötő egységenként két-két pikolinátcsoportot tartalmaztak ( $\text{H}_2\text{dpama}$ ,  $\text{mX}(\text{H}_2\text{dpama})_2$  és  $\text{mX}(\text{H}_2\text{dpama})_3$ ). A  $\text{H}_2\text{dpama}$  egységek

számának növekedésével a megköthető Mn(II)-ionok száma is nőtt és a ligandumok rendre 1, 2 ill. 3 darab Mn(II)-ion megkötésére voltak alkalmasak. Ciklikus voltammetriás mérések alapján megállapították, hogy a [Mn(dpama)]-komplex nem oxidálódik a 0,0 – 1,0 V tartományban (Ag/AgCl elektróddal szemben), azaz a kelátok oxidációval szemben stabilak. Az [mX(Mn(dpama)(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>)<sub>3</sub>]-komplex esetén meghatározták a HSA-val létrejövő adduktum egyensúlyi állandóját is, ami  $K_{\text{aff}} = 1286 \text{ M}^{-1}$ -nek adódott. Ez az érték nagyon közel van a kétmagvú komplex esetében számolt állandóhoz ( $K_{\text{aff}} = 1125 \text{ M}^{-1}$ ) és összességében stabil fehérje-komplex kölcsönhatásra utal. A [mX(Mn(dpama)(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>)<sub>3</sub>]-komplex HSA-val képződő adduktumának relaxivitása feltűnően nagy  $45,2 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$  érték, mivel a kölcsönhatás kialakításáért csak az egyik [Mn(dpama)] egység felel a további két [Mn(dpama)] egység nem kötődik a HSA-hoz.<sup>70</sup>

Khannam és mtsai. egy alanin alapú, két pikolinátsoportot tartalmazó ligandumot (Li<sub>3</sub>cbda) állítottak elő és jellemezték Mn(II)-ionnal kialakuló komplexének szerkezetét, valamint vizsgálták a különböző bioligandumok hatását a komplex relaxivitas értékére. Szilárd formában két monomer egység kapcsolódik össze egy karboxilátsoporton keresztül, míg oldatfázisban monomerként van jelen a komplex, melyet ESI-MS mérésekkel alá is támasztottak. A [Mn(EDTA)]<sup>2-</sup>-komplexhez képest nagy stabilitással és nagy relaxivitas értékkel ( $r_1 = 3,02 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ , 25 °C és 1,41 T) rendelkezik. A vizsgált bioligandumok (foszfát, fluorid és hidrogénkarbonát) jelenlétében a relaxivitas érték nem változik.<sup>69</sup>

Bár az oktaedentát DTPA ligandum (3 N- és 5 O-donoratomot tartalmaz) Mn(II)-komplexében nem található vízmolekula a fémion belső koordinációs szférájában, de ettől függetlenül vannak adatok a [Mn(DTPA)]<sup>3-</sup>-komplexre és származékaira vonatkozóan.<sup>66</sup> A [Mn(DTPA)]<sup>3-</sup>-komplex rendkívül labilis. A kelát és a Cu(II)-ion között lejátszódó cserereakció olyan gyors, hogy stopped-

flow technikával (gyorskinetikai módszer) sem volt követhető, ami valószínűleg a központi N-atom nagy bázicitásával (pK) magyarázható.<sup>22</sup> P. Caravan és mtsai. a DTPA ligandum difenilciklohexil-származékának Mn(II)-komplexét vizsgálták.<sup>60</sup> Céljuk volt, hogy felderítsék a második és a külső koordinációs szféra hozzájárulásának mértékét a relaxitás értékhez. Megállapították, hogy a második- és a külsőszféra hozzájárulásának összege negyede a belsőszféra hozzájárulás mértékének. Összehasonlítási alapon az EDTA ligandum hasonlóan szubsztituált származékát választották.

Laine és mtsai. 2018-ban három új, nyíltláncú 2,6-bisz-aminometilpiridin egységet tartalmazó poli(aminokarboxilát) ligandum ( $L^1$ ,  $L^2$  és  $L^3$ ) előállítását és jellemzését végezték el.<sup>67</sup> A három ligandum Mn(II)-komplexének stabilitása összemérhető az EDTA-származékokra jellemző állandókkal, de a komplexek kinetikai inertsége messze elmarad a  $[Mn(EDTA)]^{2-}$ -komplex inertségétől. Az azonos körülmények mellett számolt felezési idők az alábbiak szerint alakulnak:  $t_{1/2}[Mn(L1)] = 0,024$  s,  $t_{1/2}[Mn(L2)] = 2,75$  s,  $t_{1/2}[Mn(L3)] = 55$  s vs.  $t_{1/2}[Mn(EDTA)]^{2-} = 274$  s. Az említett Mn(II)-komplexek közül csak a  $[Mn(L^3)]$ -komplex esetén található vízmolekula a fémion belső koordinációs szférájában, de a relaxitás értéke még így is elmarad az EDTA vagy a CDTA ligandumok Mn(II)-komplexei relaxitásától (II.6.1.1 táblázat). Az  $[Mn(L^3)]$ -komplex vízcseréje sebessége ( $k_{ex}^{298} = 2,8 \times 10^9$  s<sup>-1</sup>) az egyik legnagyobb, az eddig közölt Mn(II)-komplexek közül.<sup>67</sup>

A bemutatott számos nyíltláncú ligandum közül egyik sem rendelkezik olyan mutatókkal a termodinamikai stabilitás, inertség és relaxitás terén, melyek alkalmassá tennék az *in vivo* alkalmazásra. De a *transz*-CDTA, PhDTA és PyC3A ligandumok jó kiindulási pontot jelenthetnek további ligandumok tervezése során. A PyC3A ligandum Mn(II)-komplexéről azt tartják, hogy ez a „jövő generáció”.<sup>71</sup>

## ***II.6.2 Makrociklusos ligandumok Mn(II)-komplexei***

A nyíltláncú ligandumok Mn(II)-komplexeivel összehasonlítva a makrociklusos ligandumok Mn(II)-komplexei általában jobb MRI kontrasztanyag jelölteknek tekinthetők, mivel többnyire nagyobb stabilitással és inertséggel rendelkeznek. Ebben a fejezetben, az irodalomban eddig publikált makrociklusos Mn(II)-komplexeiket fogom bemutatni és csoportosítani a ligandum üregmérete és a donoratomok száma alapján. A ligandumok rövidített nevének megfelelő szerkezeteket minden esetben a fejezet végén található ábrán mutatom be.

### *II.6.2.1 Makrociklusban három donoratomot tartalmazó 9-tagú makrociklusos ligandumok és származékaik*

A kilenc tagszámú, három donoratomot tartalmazó és különböző oldalláncokkal rendelkező makrociklusos ligandumok kis üregméretük alapján ígéretes platformot jelentenek a Mn(II)-ion számára. Ezért számos triazaciklononán (TACN),<sup>72,73</sup> ENOTA (amely két NO<sub>2</sub>A egység etilén-„híddal” történő összekapcsolásával vezethető le)<sup>74</sup> és diaza-oxaciklononán (9-aneN<sub>2</sub>O) származék Mn(II)-komplexét állították elő és jellemezték az elmúlt évtizedekben (II.6.2.1.1 ábra).

Geraldes és mtsai. közölték a [Mn(NOTA)]<sup>-</sup>-komplex <sup>1</sup>H-NMRD profilját,<sup>72</sup> melyből egyértelműen kiderül, hogy ez a komplex nem tartalmaz vízmolekulát ( $q = 0$ ). A relaxitás ezért ebben az esetben csak a második és külsősférás hozzájárulás eredménye. Az ENOTA ligandum esetén a képződő kétmagvú komplexben fémcentrumonként már található egy-egy szabad kötőhely a víz számára ( $q = 2$ , a kétmagvú komplexre nézve).<sup>74</sup> Balogh és

mtsai. eredményei alapján a kétmagvú Mn(II)-komplex nagy termodinamikai stabilitással rendelkezik ( $\log K_{M2L} = 24,06$ ). Ebből következően fiziológiás pH érték körül teljes mértékben az  $[Mn_2(L)]$ -komplex van jelen. A komplex röntgenszerkezete egyértelműen bizonyítja a vízmolekulák jelenlétét a fémion belső koordinációs szférájában. Meglepő, hogy a komplex  $^1H$ -NMR profiljában kis térerőnél ( $\approx 0,0024$  T) található egy második inflexiós pont (diszperzió) is. Ilyen viselkedést ezt megelőzően csak a mangán aqua-komplex esetében tapasztaltak. Ezt a jelenséget a szerzők a Mn-H<sub>w</sub> távolság rövidülésével vagy az elektronrelaxációs idő növekedésével magyarázzák.

A Mn(II)-komplekek hidratációs számának növelése érdekében a legtöbb Gd(III)-ion komplexálására előállított ligandum esetében csökkenteni kell a kelátor koordinációra képes donoratommjainak számát. Drahos és mtsai. egy új megközelítést javasoltak ennek megoldására. Olyan új, három donoratomot tartalmazó 9-tagú makrociklusos ligandumokat állítottak elő, ahol a gyűrűben található egyik N-atomot O-atomra cserélték.<sup>75</sup> Ezen ligandumok így csak két oldallánccal (karboxil, foszfonát és fenilfoszfinát funkciós csoportok) rendelkeztek, ami biztosított egy szabad kötőhelyet a vízmolekula számára a komplexben. A fenilfoszfinát-származék Mn(II)-komplexében a Mn(II)-ion hatos koordinációs számmal (CN = 6) rendelkezett, de szilárd állapotban a komplex dimerként van jelen és a röntgendiffrakcióval meghatározott szerkezete nem mutatott a fémionhoz koordinálódó vízmolekulát. Ugyanakkor a kelát vizes oldatban az oldószer  $^{17}O$ -NMR jelének kémiai eltolódás adatai alapján a 9-aneN<sub>2</sub>O-2A Mn(II)-komplexe esetében egyensúly áll fenn az „egyvizes” és a „kétvizes” specieszek között (a CN = 6, ill. 7), és a komplex vízcseréje extrém gyors ( $k_{ex}^{298} = 1,2 \times 10^9$  s<sup>-1</sup>). A foszfonát-származék esetén viszont csak egy vízmolekula található a fémionhoz koordinálódva és a vízcseréje is

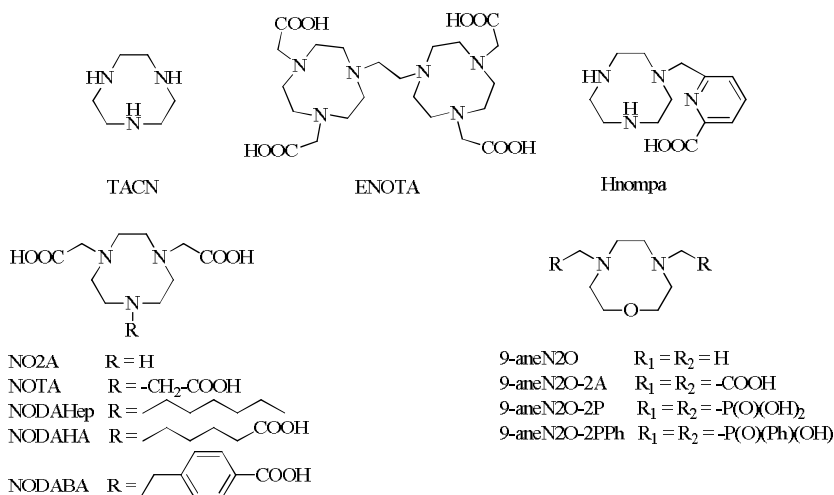
két nagyságrenddel kisebb, mint azt a foszfinátcsoportokat tartalmazó komplex esetében tapasztalták ( $k_{\text{ex}}^{298} = 1,2 \times 10^7 \text{ s}^{-1}$ ).

A donoratomok száma nem csak a gyűrűben található donoratomok minőségi cseréjével csökkenthető, hanem az oldalláncok számának „redukálásával” is. A NOTA esetében ilyen megközelítéssel az NO<sub>2</sub>A ligandumhoz jutunk. A két acetátcsoporthal rendelkező NO<sub>2</sub>A ligandumot Lázár és mtsai. már 2000-ben előállították és meghatározták a Mn(II)-ionnal képződő komplexének stabilitási állandóját ( $\log K_{\text{ML}} = 11,56$ , 0,1 M KCl),<sup>76</sup> de a komplex inertségére és relaxivitására vonatkozóan nem találhatók adatok az irodalomban.

2016-ban Arsénio de Sá és mtsai. három NO<sub>2</sub>A-származékot állítottak elő és vizsgálták a képződő Mn(II)-komplexek termodinamikai stabilitását és relaxációs tulajdonságait (NODAHep, NODABA és NODAHA).<sup>77</sup> A tapasztalatok alapján a képződő Mn(II)-komplexek látszólagos stabilitási állandója (pH = 7,4, [Mn] =  $10^{-6}$  M, [L] =  $10^{-5}$  M) kisebb, mint a NOTA ligandum komplexének megfelelő értéke (rendre, 7,35, 7,09, 7,41 vs. 11,8). <sup>17</sup>O-NMR mérésekkel alátámasztották, hogy a Mn(II)-komplexek tartalmaznak vízmolekulát a mangán belső koordinációs szférájában és a kelátok vízcseréi sebességei „a lassútól a közepes” vízcseréi sebesség tartományba esnek, ill. nagy rotációs korrelációs idővel jellemezhetők. A Mn(II)-komplexek esetében tapasztalt nagy relaxitás értékek is valószínűleg ezen paraméterrel összhangban adódtak kimagaslóan nagy (4,7 – 5,8 mM<sup>-1</sup>s<sup>-1</sup>, 0,49 T és 25 °C) a  $q = 1$  komplexek körében.

Egyszeresen helyettesített triazaciklononán-származék ligandumra is található példa az irodalomban (Hnomp ligandum), melyben a makrociklus egyik N-atomjához egy bidentát pikolinátcsoport kapcsolódik.<sup>78</sup> A ligandumot és Mn(II)-ionnal képződő komplexét csoportunkban Molnár és mtsai. részletesen tanulmányozták. A Mn(II)-komplex röntgendiffrakciós szerkezete

alapján egyértelmű, hogy a komplex olyan dimerként kristályosodik, melyben a Mn(II) koordinációs száma hét ( $CN = 7$ , a ligandum öt donoratomja, egy vízmolekula és egy szomszédos komplex karboxilátcsoportja koordinálódik a fémionhoz). A komplexre jellemző disszociáció felezési idejét semlegeshez közeli pH-n főként a komplex spontán disszociációja határozza meg, ami  $t_{1/2} = 0,15$  percnak ( $pH = 7,4$  és  $1 \times 10^{-5}$  M kicserélő fémion koncentrációjával számolva) adódik. Ezen rövid felezési idő alapján a komplex nem tesz eleget a kontrasztanyagokkal szemben támasztott követelményeknek, annak ellenére sem, hogy a komplex relaxivitása a koordinált vízmolekulának köszönhetően az egy vízmolekulát tartalmazó komplexekre jellemző értéktartományba esik ( $r_{1p} = 3,32 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ ). Az  $^1\text{H}$ -NMRD és  $^{17}\text{O}$ -NMR mérések eredményei azt is megmutatták, hogy a komplex vízcsere sebessége gyors ( $k_{\text{ex}}^{298} = 2,8 \times 10^9 \text{ s}^{-1}$ ).



**II.6.2.1.1 ábra:** Kilenctagú makrociklusos ligandumok szerkezeti képletei

## II.6.2.2 Makrociklusban négy donoratomot tartalmazó 12-tagú makrociklusos ligandumok és származékaik

A Mn(II) komplexálásának szempontjából legfontosabb ligandumcsaládot a 12-tagú, makrociklusban négy N-atomot tartalmazó ciklén ligandum és származékai alkotják (II.6.2.2.1 ábra). Nagy denticitása ellenére a 8-fogú DOTA és négynél kevesebb oldallánccal rendelkező származékai (DO3A, *cisz*-DO2A vagy *transz*-DO2A származék ligandumok) a legszélesebb körben tanulmányozott ligandumok közé tartoznak. Gerald és mtsai. a  $[\text{Mn}(\text{DOTA})]^{2-}$ -komplex  $^1\text{H-NMRD}$  profil vizsgálata alapján megállapították,<sup>72</sup> hogy ebben az esetben sem található közvetlenül a fémionhoz koordinálódó vízmolekula és a mért kis relaxivitás érték jórészt a külső szférás hozzájárulásokból adódik (ami jó összhangban van azzal, hogy szilárd fázisban a  $[\text{Mn}(\text{H}_2\text{DOTA})]^{2-}$ -komplex szerkezetében sem koordinálódik vízmolekula a fémionhoz<sup>79</sup>). 2011-ben Drahos és mtsai. vizsgálták a  $[\text{Mn}(\text{DOTA})]^{2-}$ -komplex kinetikai viselkedését Zn(II)-ionnal lejátszódó fémcsere reakciók segítségével. Ezen vizsgálatok eredményei alapján a komplex fiziológiás körülmények között számolt ( $\text{pH} = 7,40$ ,  $c_{\text{Zn(II)}} = 1 \times 10^{-5} \text{ M}$ ,  $25^\circ \text{C}$ ) felezési ideje 1037 óra. Így tehát a DOTA ligandum jó alapot szolgáltat jövőbeni Mn(II)-komplexek tervezéséhez,<sup>44</sup> de a komplex relaxivitása finombeállítást igényel.

Wang és Westmoreland a koordinációs szám (CN) és a relaxitás kapcsolatát vizsgálta különböző DOTA-származék ligandumok Mn(II)-komplexe esetén.<sup>79</sup> A DOTAM ligandum Mn(II)-komplexének röntgenszerkezete alapján a ligandum nyolcfogúként koordinálódik, így telítve a Mn(II) belső koordinációs szféráját, ebből eredően a relaxitás értéke is kicsi ( $r_{1p} = 0,96 \text{ mM}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ). A hétfogú DO3A-származékok esetében (pl. a DO3AM és a DO3AM-cyOH ligandumok) a Mn(II) koordinációs száma hetes ( $\text{CN} = 7$ ), de a  $q$  értéke ezekben a kelátokban is nullának adódik.

Amorim és mtsai. 1988-ban előállítottak egy olyan DOTA-származékot, melyben az egyik N-atomot O-atomra cserélték

(ODO3A).<sup>80</sup> Meghatározták az ODO3A ligandum számos alkáliföldfém-mel és átmenetifém-mel (Mn(II)-ionnal is) képződő komplexének stabilitását és megállapították, hogy a komplexek termodinamikai stabilitása elmarad ugyan a megfelelő DOTA-komplexek stabilitásától, de így is megfelelően nagy stabilitással rendelkeznek ( $\log K_{\text{MnL}} = 16,09$ ,  $I = 0,1 \text{ M Me}_4\text{NNO}_3$ ).

A *transz*-DO2A és a kétszeresen protonált DOTA (H<sub>2</sub>DOTA) ligandumok Mn(II)-komplexeinek röntgenszerkezete ismert az irodalomban, ami hatos koordinációjú Mn(II)-ionokat mutat mindkét kelátban (CN = 6). A két komplex esetében tehát még nem található fémionhoz kötött vízmolekula, amit a komplexek kis relaxivitása is alátámaszt, rendre  $r_{1p} = 1,5 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$  (0,49 T és 25 °C)<sup>81</sup> és  $r_{1p} = 3,2 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$  (0,49 T és 37 °C)<sup>79</sup>. A [Mn(H<sub>2</sub>DOTA)]<sup>2-</sup>-komplex esetében tapasztalt nagy relaxitás a protonált karboxilátcsoport hozzájárulásának eredménye. A *cisz*-DO2A származék Mn(II)-komplexéről<sup>81</sup> Rolla és mtsai. igazolták, hogy a kelát oldatban két izomer formában található meg, melyek a koordinált vízmolekulák számában különböznek. Kisebb mennyiségben a  $q = 0$  komplex található oldatban, 90%-ban a heptakoordinált ( $q = 1$ ) izomer van jelen. Ebből eredően a komplex relaxivitása ( $r_{1p} = 2,1 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ , 0,49 T és 25 °C) nagyobb, mint azt a *transz*-származék esetében tapasztalták. Az oldalláncok további csökkentése a DO1A ligandumot eredményezi, melyet Rolla és mtsai. állítottak elő és jellemezték a Mn(II)-komplexét.<sup>81</sup> Ebben a komplexben a Mn(II)-koordinációs száma hat (CN = 6), melyben a fémiont egy vízmolekula is koordinálja ( $q = 1$ ). Ezzel összhangban a [Mn(DO1A)]<sup>+</sup>-komplex relaxivitása nagyobb, mint az előzőleg említett DO2A-származékoké ( $r_{1p} = 2,4 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ , 0,49 T és 25 °C) és vízcseresebességi állandója ( $k_{\text{ex}}^{298} = 6,0 \times 10^9 \text{ s}^{-1}$ ) is ötször nagyobb, mint amit a [Mn(*cisz*-DO2A)]-komplex esetén mértek ( $k_{\text{ex}}^{298} = 1,13 \times 10^9 \text{ s}^{-1}$ ).

A 2000-es évek elején Aime és mtsai. az EDTA-BOM-származékok analógiájára előállították a három hidrofób benziloximetil oldallánccal

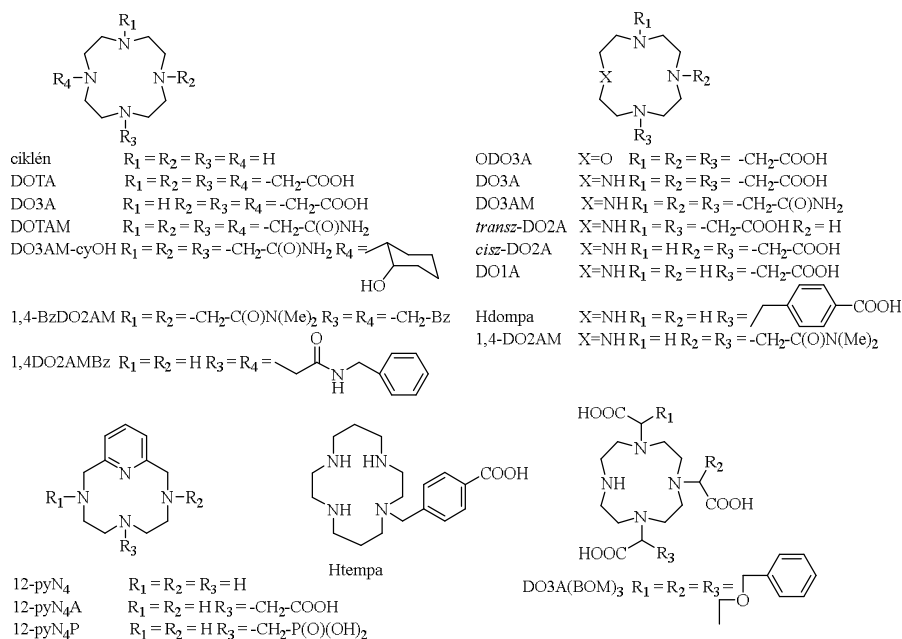
rendelkező DO3A(BOM)<sub>3</sub> ligandumot.<sup>59</sup> A ligandum Mn(II)-komplexe nem tartalmaz vízmolekulát, előállításával csak a külső szférás hozzájárulást jellemző paraméterek meghatározása volt a cél.

Drahoš és mtsai. 2011-ben a 12-pyN<sub>4</sub> makrociklus (piklén, ami az 1,4,7,10-tetraazaciklododekán makrociklus egyik N-atomjának piridingyűrűbe történő „kényszerítésével” vezethető le) acetát (12-pyN<sub>4</sub>A) és metilfoszfónát (12-N<sub>4</sub>P) oldalláncokkal funkcionalizált származékait állították elő és jellemezték a Mn(II)-ionnal képződő komplexeket.<sup>82</sup> Röntgenkristallográfiás vizsgálatok mindkét esetben hatos koordinációs számmal rendelkező (CN = 6) Mn(II)-komplexeket igazoltak, ami a ligandum öt donoratomjának és egy vízmolekula oxigénatomjának koordinációját jelenti. <sup>17</sup>O-NMR mérések alapján mindkét komplex extrém gyors vízcsere sebességgel rendelkezik, továbbá az acetát-származék ezen értéke közel kétszerese a foszfónát-származék vízcsere sebességének ( $k_{\text{ex}}^{298} = 3,03 \times 10^9$  és  $1,77 \times 10^9 \text{ s}^{-1}$ ). A relaxivitás érték mindkét esetben elmaradt a tipikusan egy vízmolekulát tartalmazó komplexekre (pl. [Mn(EDTA)]<sup>2-</sup>) jellemző értéktől ([Mn(12-pyN<sub>4</sub>A)]<sup>+</sup>:  $r_{1p} = 2,38 \text{ mM}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ; ([Mn(12-pyN<sub>4</sub>P)]<sup>+</sup>:  $r_{1p} = 2,84 \text{ mM}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ).

Csoportunkban Tóth-Molnár E. vizsgálta az egy pikolinát oldallánccal rendelkező ciklén-származékot (dompa ligandumot), ami potenciálisan hat donoratomot tartalmaz. A komplex látszólagos stabilitási állandója (pH = 7,4,  $c_{\text{Mn}} = 1 \times 10^{-6}$ ,  $c_{\text{L}} = 1 \times 10^{-5} \text{ M}$ ) nagymértékben csökkent a [Mn(DOTA)]<sup>2-</sup>-komplex megfelelő értékéhez képest (pMn = 9,07 vs. 14,23 0,15 M NaCl). A disszociációs kinetikai vizsgálatok alapján pH = 7,4 és  $1 \times 10^{-5} \text{ M}$  kicserélő fémion koncentráció mellett számolt felezési idő nagyságrendekkel kisebb, mint azt a megfelelő DOTA-komplex esetén tapasztalták ( $t_{1/2} = 0,16$  vs. 1037 óra). A Mn(II)-komplex relaxivitása  $r_{1p} = 1,50 \text{ mM}^{-1} \text{ s}^{-1}$ -nek adódott, ami a koordinált vízmolekula távollétét igazolja (az <sup>17</sup>O-NMR adatokkal összhangban).<sup>78</sup>

Az MRI alkalmazás szempontjából legfontosabb paraméterek nem változnak abban az esetben sem, ha a makrociklus üregméretét 12-tagszámról 14-re növelték (1,4,8,11-tetraazaciklotetradekán, tempa ligandum), de a komplex stabilitása lényegesen csökkent.<sup>78</sup>

Forgács és mtsai. a Ln(III)-ionok esetében a kinetikai inertség hangolására már bevált módszert alkalmazták a *cisz*-DO2AM ligandum tervezésekor/előállításakor.<sup>83</sup> Habár a  $[\text{Mn}(\textit{cisz}\text{-DO2AM})]^{2+}$ -komplex termodinamikai stabilitása ( $\log K_{\text{MnL}} = 12,64$ ) két log egységgel kisebb, mint azt a  $[\text{Mn}(\textit{cisz}\text{-DO2A})]$ -komplex esetében tapasztaltuk (ezen dolgozat részét képezi), de a fémioncsere reakciók jellemzése alapján becsült disszociációra jellemző felezési idő egy nagyságrenddel nagyobbak adódott ( $t_{1/2} = 556$  vs. 49,4 óra). Nem sokkal később további két olyan 1,4-DO2AM-származék szintézisét és Mn(II)-komplexeinek a vizsgálatát is elvégezték, melyek két-két benzilcsoportot tartalmaztak: az 1,4-BzDO2AM ligandum esetén a benzilcsoportok a makrociklus két szabad N-atomjához kapcsolódtak, míg a 1,4-DO2AMBz ligandumban az amid oldallánchoz. Mind a két ligandum Mn(II)-komplexe nagy egyensúlyi állandóval jellemezhető adduktumot képez a HSA-val. A HSA-val való kölcsönhatás egyensúlyi állandója a  $[\text{Mn}(1,4\text{-BzDO2AM})]^{2+}$ - és  $[\text{Mn}(1,4\text{-DO2AMBz})]^{2+}$ -komplexekre rendre  $3,9 \times 10^3$  és  $2,0 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$ . A fehérjével való kölcsönhatás növeli a komplex rotációs korrelációs idejét, ami a komplex relaxivitásának a növekedését ( $[\text{Mn}(1,4\text{-BzDO2AM})]^{2+}$ -komplex  $r_{1p} = 3,8$  vs. 18,5 és  $[\text{Mn}(1,4\text{-DO2AMBz})]^{2+}$ -komplex  $r_{1p} = 3,5$  vs. 27,4  $\text{mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ ) eredményezi (a *cisz*-DO2A ligandummal való analógia alapján feltételezik, hogy oldatban 90%-ban az az izomer van jelen, ami tartalmaz koordinált vízmolekulát).



**II.6.2.2.1 ábra:** A 12- és 14-tagú makrociklusos ligandumok szerkezeti képletei

### II.6.2.3 Makrociklusban öt vagy több donoratomot tartalmazó 15-, 16-, 17-, 18-tagú makrociklusos ligandumok és származékaik

A két vízmolekulát tartalmazó Mn(II)-komplexek különböző szerkezeti motívumokat tartalmazó aza vagy aza-oxa koronaéter ligandumokkal alakulhatnak ki. Ezekben az esetekben a makrociklusban található donoratombok ekvatoriális síkban koordinálják a fémiont. Ezekben a kelátokban két vízmolekula axiális pozícióban helyezkedik el, ami összességében pentagonális bipyramisos szerkezetet ( $CN = 7$ ) jelent. A makrociklus merevsége/mérete és a komplex térszerkezete/hidratációs foka ( $q$ ) közötti kapcsolatot 1992-ben Jackels és mtsai. már tanulmányozták [X]pydienNy (X: makrociklus tagszáma, y: nitrogének száma a gyűrűben) típusú ligandumok Mn(II)-komplexeinek bevonásával és arra a megállapításra jutottak, hogy a várakozásoknak megfelelően a koordinált vízmolekulák száma

lineáris összefüggést mutat a kis térerőn mért relaxivitás értékekkel.<sup>84</sup> A bemutatott ligandumok szerkezeti képletei a II.6.2.3.1 ábrán láthatók.

Az ESR spektrumok alapján oldatban és szilárd állapotban a hét donoratómmal rendelkező (NH<sub>2</sub>Et)<sub>2</sub>-15-PyN<sub>5</sub> ligandum Mn(II)-komplexének pentagonális bipiramisos szerkezete van.<sup>85</sup> Ezen komplex lehető legkisebb térerőn (0,00023 T) mért relaxivitás értéke fele, más olyan töltéssel rendelkező, külsősférás komplex relaxivitás értékének, ahol  $q = 0$  (pl. DTPA, DOTA és NOTA ligandumok Mn(II)-komplexei).

A ligandum szerkezetének merevsége hatással van a kialakuló komplex térszerkezetére is. A piridingyűrűt nem tartalmazó ötfogú 15-aneN<sub>5</sub> ligandum sokkal flexibilisebb, mint az előbb említett piklén típusú ligandum és ebben az esetben a kialakuló komplexben a Mn(II) koordinációs száma hat (CN = 6, ESR spektrum alapján) és tartalmaz egy fémionhoz koordinálódó vízmolekulát ( $q = 1$ ).<sup>86</sup> A relaxitás térerő függése (NMRD profil) alapján erre a komplexre nézve  $q = 1$  és a komplex relaxitás értéke közel 2,5-szerese ( $r_1 = 2,3 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ , 24 MHz és 25 °C) a (NH<sub>2</sub>Et)<sub>2</sub>-15-PyN<sub>5</sub> ligandum Mn(II)-komplexének ( $r_1 = 0,92 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ ), ahol a relaxitás érték tisztán külső sférás hozzájárulásból ered (II.6.2.3.1 táblázat).

Jackels és mtsai. kapcsolatot kerestek a makrociklusok üregmérete (ezáltal a komplexek szerkezete) és a Mn(II)-komplexek relaxitás értékei között a következő ligandumok felhasználásával: 15-pydienN<sub>5</sub>, 16-pydienN<sub>5</sub>, 17-pydienN<sub>5</sub>, 18-pydienN<sub>6</sub>, 15-pyaneN<sub>5</sub> és 16-pyaneN<sub>5</sub>.<sup>84</sup> Az ESR és vezetőképességi mérések alapján hetes koordinációs számot (CN = 7) feltételeztek a Mn(II)-ion körül egy pentagonális bipiramisos szerkezetben. Két vízmolekula van axiális helyzetben a 15-pydienN<sub>5</sub>, a 16-pydienN<sub>5</sub>, a 15-pyaneN<sub>5</sub> és a 16-pydienN<sub>5</sub> ligandumok Mn(II)-komplexeinél, míg a (NH<sub>2</sub>Et)<sub>2</sub>-15-pydieneN<sub>5</sub> Mn(II)-komplexénél két amincsoport van axiális pozícióban. A 17-pydienN<sub>5</sub>, 18-pydienN<sub>6</sub> és 15-aneN<sub>5</sub> ligandumok

komplexeiben a Mn(II)-ion koordinációs száma hat, ami a ligandum öt donoratomjából és a fémiont koordináló egy vízmolekulából ( $q = 1$ ) tevődik össze. A relaxivitás értékek a gyűrű méretének növekedésével csökkennek. A kettős kötések (aromás gyűrű és kettős kötések) számában különböző Mn(15-pydienN<sub>5</sub>)]<sup>2+</sup>- és a [Mn(15-pyaneN<sub>5</sub>)]<sup>2+</sup>-komplexek esetében kis térerőn mért relaxivitás értékek között körülbelül 20% eltérés tapasztalható (a Mn(15-pydienN<sub>5</sub>)]<sup>2+</sup>-komplex rendelkezik nagyobb relaxivitással). Habár mind a két komplex esetén két vízmolekula koordinálódik a fémionhoz. Sokkal szembetűnőbb a különbség a [Mn(15-aneN<sub>5</sub>)]<sup>2+</sup>-komplex esetén, amely körülbelül 45%-al kisebb relaxivitással (korrigálva a koordinált vízmolekulák számával) rendelkezik, mint a Mn(15-pydienN<sub>5</sub>)]<sup>2+</sup>-komplex (II.6.2.3.1 táblázat).

**II.6.2.3.1 táblázat:** Néhány 15-, 16-, 17- és 18-tagú makrociklusos ligandum Mn(II)-komplexének koordinációs száma (CN), hidratációs foka ( $q$ ) és relaxivitása ( $r_1$ , 0,56 T és 25 °C)

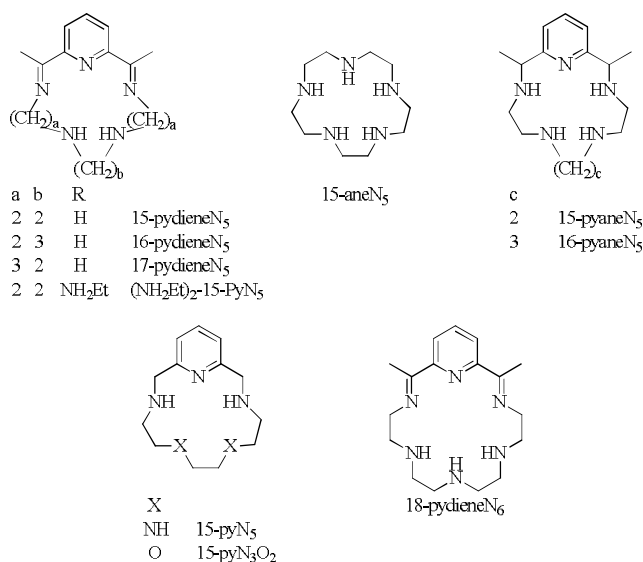
| MnL-komplex                                                                 | $r_1$ (mM <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> )        | $q$ | CN |
|-----------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------|-----|----|
| [Mn(15-pydienN <sub>5</sub> )] <sup>2+</sup>                                | 5,83 <sup>b</sup><br>21,5 (0,024 T) <sup>c</sup> | 2   | 7  |
| [Mn(16-pydienN <sub>5</sub> )] <sup>2+</sup>                                | -<br>20,5 (0,024 T) <sup>c</sup>                 | 2   | 7  |
| [Mn(17-pydienN <sub>5</sub> )] <sup>2+</sup>                                | 3,35 <sup>b</sup><br>14,5 (0,024 T) <sup>c</sup> | 1   | 6  |
| [Mn(18-pydienN <sub>6</sub> )] <sup>2+</sup>                                | -<br>10,5 (0,024 T) <sup>c</sup>                 | 1   | 6  |
| [Mn(15-pyaneN <sub>5</sub> )] <sup>2+</sup>                                 | -<br>17,5 (0,024 T) <sup>c</sup>                 | 2   | 7  |
| [Mn(15-aneN <sub>5</sub> )] <sup>2+</sup>                                   | 2,3 <sup>a</sup><br>6,5 (0,024 T) <sup>c</sup>   | 1   | 6  |
| [Mn((NH <sub>2</sub> Et) <sub>2</sub> -15-PyN <sub>5</sub> )] <sup>2+</sup> | 0,92 <sup>b</sup><br>2,0 (0,024 T) <sup>c</sup>  | 0   | 7  |

<sup>a</sup> Ref. 86; <sup>b</sup> Ref. 85; <sup>c</sup> Ref. 84 cikkben közölt NMRD görbék alapján általunk becsült relaxivitás értékek  $T = 5$  °C-on

A relaxivitás hőmérsékletől való függéséből arra következtettek, hogy ezekben a komplexekben a vízcsere sebesség a gyors csere tartományban van. A 15-aneN<sub>5</sub>, 15-pydienN<sub>5</sub>, 15-pyaneN<sub>5</sub> és 15-pyN<sub>5</sub> Mn(II)-komplexei vízcsere sebességét csak később határozták meg <sup>17</sup>O-NMR spektroszkópia segítségével Dees és mtsai.<sup>87</sup>, és az eredmények alapján a vízcsere sebességek a közepes csere sebesség tartományba esnek ( $k_{\text{ex}}^{298} = 1,6 - 5,8 \times 10^7 \text{ s}^{-1}$ ). A kis aktiválási paraméter értékek alapján az feltételezhető, hogy a vízcsere disszociatív úton játszódik le. A vizsgált komplexek nagy termodinamikai stabilitással rendelkeznek.

Drahos és mtsai. 2010-ben<sup>88</sup> két piridin-tartalmú Mn(II)-komplex (15-pyN<sub>3</sub>O<sub>2</sub> és 15-pyN<sub>5</sub>) átfogó vizsgálatát végezték el (egyensúly, disszociációs kinetika, szerkezet és relaxációs tulajdonságok). A Mn(II)-komplexek röntgenszerkezete egyértelműen bizonyította a Mn(II)-ion hetes koordinációs számát (CN = 7) a komplexben, a ligandum donatoratomjai mellett két vízmolekula is koordinálódik ( $q = 2$ ). Meglepő módon azt tapasztalták, hogy a 15-pyN<sub>3</sub>O<sub>2</sub> ligandum Mn(II)-komplexének vízcsere sebessége bizonyult a legkisebbnek az eddig vizsgált mangán(II)komplexek között ( $k_{\text{ex}}^{298} = 3,8 \times 10^6$ ), ami tizenheted része a 15-pyN<sub>5</sub>-származék esetében tapasztalt értéknek. Ezt a különbséget a fémionhoz koordinálódó vízmolekula hidrogénatomja és a makrociklus O-atom(ok) között létrejövő hidrogénkötésnek tulajdonították. A kis pozitív aktiválási energia érték a [Mn(15-pyN<sub>5</sub>)]<sup>2+</sup>-komplex esetén disszociatív úton lezajló vízcsere utal, de a közel nulla aktiválási paraméterekkel rendelkező [Mn(15-pyN<sub>3</sub>O<sub>2</sub>)]<sup>2+</sup>-komplex esetében inkább a két véglet (az asszociatív (A) és disszociatív (D)) között található „pure interchange” vízcserét valószínűsítik a szerzők. A makrociklusban található N-atomok O-atommal történő helyettesítése a komplex stabilitási állandójának jelentős csökkenését eredményezte ( $\log K_{[\text{Mn}(15\text{-pyN}_5)]^{2+}} = 10,89$  vs.  $\log K_{[\text{Mn}(15\text{-pyN}_3\text{O}_2)]^{2+}} = 7,18$ ). A

$[\text{Mn}(\text{15-pyN}_3\text{O}_2)]^{2+}$ -komplex disszociációja  $\text{pH} = 6$  alatt túl gyorsnak bizonyult ahhoz, hogy a rendelkezésre álló módszerekkel disszociációs kinetikai adatokat gyűjtsenek a komplexről, de a  $[\text{Mn}(\text{15-pyN}_5)]^{2+}$ -komplex esetén a kapott sebességi állandók felhasználásával fiziológiás körülmények között ( $\text{pH} = 7,4$  és  $1 \times 10^{-5} \text{ M } [\text{Zn}(\text{II})]$ ) számolt felezési idő 11,4 órának adódott.



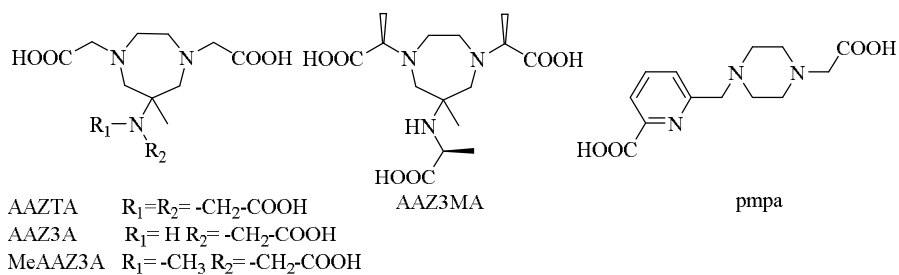
**II.6.2.3.1 ábra:** A 15-, 16-, 17- és 18-tagú makrociklusos ligandumok szerkezeti képletei

### II.6.3 Más típusú ligandumok Mn(II)-komplexei

Az eddig említettektől eltérő, alapvetően más szerkezetű komplexképzők vizsgálatát bemutató tanulmányok csak kis számban jelentek meg eddig az irodalomban. Érdekesnek számítanak a Botta és mtsai. által vizsgált AAZTA-származékok. Ezek a ligandumok két szubsztituált N-atomot tartalmazó héttagú gyűrűből és egy, a gyűrűhöz kapcsolódó exociklusos N-atomból állnak, amely ugyancsak tartalmaz a fémionok megkötéséért felelős donorcsoportokat. Az ilyen komplexképzőket (melyek nyíltláncú és

makrociklusos fragmenst egyaránt tartalmaznak) „hibrid” ligandumoknak tekinthetjük, melyek fémkomplexei (elsősorban Ln(III), Sc(III) és Ga(III)-ionok) ígéretes tulajdonságokat mutatnak az orvosi felhasználás szempontjából.<sup>89-91</sup> A következő három származék AAZ3A, MeAAZ3A és AAZ3MA (II.6.3.1 ábra)<sup>92</sup> esetén a szerzők hetes koordinációs számú (CN = 7) komplexek képződését javasolták, de kézzelfogható szerkezeti információt nem mutattak be a Mn(II)-komplexekre vonatkozóan. Az NMRD profilok elemzése alapján a komplexek relaxivitása a következő sorrendben csökken: AAZ3A, MeAAZ3A és AAZ3MA (rendre:  $r_1 = 2,49, 2,01$  és  $1,90 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ ). A relaxometriás és  $^{17}\text{O}$ -NMR mérések azt jelezték, hogy oldatban az egy vízmolekulát és a koordinált vizet nem tartalmazó komplexek vannak egymással egyensúlyban. A hidratációs fok ( $q$ ) az exociklusos aminocsoport (nem a gyűrűben lévő N-atom) szubsztituáltságától függ és az AAZ3A, az MeAAZ3A, valamint az AAZ3MA ligandumok Mn(II)-komplexei esetén rendre 0,64, 0,32 és 0,24-nek adódott. A komplexekre jellemző vízcseresebesség értékek  $k_{\text{ex}}$ ,  $4,7 - 13,3 \times 10^7 \text{ s}^{-1}$  között változtak. Az AAZTA ligandummal képződő Mn(II)-komplexre vonatkozóan csoportunkban megállapították, hogy a komplex labilitása miatt nem alkalmas *in vivo* alkalmazásra ( $t_{1/2} = 0,7$  vs  $0,076$  óra, rendre a  $[\text{Mn}(\text{AAZTA})]^{2-}$ - és  $[\text{Mn}(\text{EDTA})]^{2-}$ -komplexre vonatkozóan,  $\text{pH} = 7,4$  és  $1 \times 10^{-5} \text{ Zn(II)}$ -ion koncentráció mellett számolva).<sup>22</sup>

Ebben a fejezetben kell megemlíteni, egy a közelmúltban Phukan és mtsai. által közölt<sup>93</sup> a hibrid ligandumok közé tartozó komplexképzőt a pmpa-t is (II.6.3.1 ábra). Ennek Mn(II)-komplexe két vízmolekulát tartalmaz és ezzel összhangban nagy relaxivitással rendelkezik ( $r_1 = 5,88 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ ,  $1,41 \text{ T}$ ,  $25 \text{ }^\circ\text{C}$  és  $\text{pH} = 7,4$ ), valamint termodinamikai stabilitása meghaladja a  $[\text{Mn}(\text{EDTA})]^{2-}$ -komplex megfelelő értékét ( $\log K_{\text{MnL}} = 14,29$  vs.  $13,88^{94}$ ).



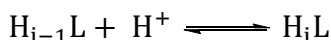
**II.6.3.1 ábra:** A fejezetben bemutatott ligandumok szerkezeti képletei

### III. ALKALMAZOTT ANYAGOK, MÓDSZEREK ÉS KÍSÉRLETI KÖRÜLMÉNYEK

#### III.1 A vizsgált ligandumok és fémkomplexeik egyensúlyi jellemzése

Munkánk során a vizsgált ligandumok protonálódási és Mn(II)-ionnal képződő komplexeinek stabilitási és protonálódási állandóit jellemzően közvetlen pH-potenciometriás módszer segítségével határoztuk meg. Azokban az esetekben, ahol a komplex lassú képződése vagy éppen nagy termodinamikai stabilitása nem tette lehetővé ezen technika alkalmazását ott UV-látható spektrofotometriát vagy  $^1\text{H}$ -NMR relaxometriát ( $T_1$  vagy  $T_2$  relaxációs idő mérése a pH/savkoncentráció függvényében) alkalmaztunk. Számos komplex képződése nagyon lassú volt és így közvetlen követése körülményes lett volna. Ezekben az esetekben 0,5 - 1,0 cm<sup>3</sup> térfogatú különmintákat készítettem és ezen minták pH-értékeit, valamint relaxitási értékeit (Mn(II)-komplexek esetén) az egyensúly várható (kontroll mintával ellenőrzött) beállítását követően mértük.

A fémkomplexek stabilitási állandóinak meghatározásához szükséges a ligandumok protonálódási állandóinak ismerete. Ezt általánosan a következő módon definiáljuk:



$$K_i^{\text{H}} = \frac{[\text{H}_i\text{L}]}{[\text{H}_{i-1}\text{L}][\text{H}^+]} \quad i = 1 - 6 \quad (\text{III. 1.1})$$

ahol, a  $[\text{H}_i\text{L}]$ ,  $[\text{H}_{i-1}\text{L}]$  és a  $[\text{H}^+]$  a  $\text{H}_i\text{L}$ ,  $\text{H}_{i-1}\text{L}$  protonált ligandumok és a  $\text{H}^+$ -ionok egyensúlyi koncentrációit jelölik.

A protonálódási állandók ismeretében nyílik lehetőség a komplexek stabilitási állandóinak meghatározására. Az ML komplexek stabilitási állandóját a következő egyenlettel definiáljuk:

$$\begin{aligned} M + L &\rightleftharpoons ML \\ K_{ML} &= \frac{[ML]}{[M][L]} \end{aligned} \quad (\text{III. 1.2})$$

A III.1.2 egyenletben az  $[M]$ ,  $[ML]$  és az  $[L]$  rendre az M(II) fémionok, az ML komplexek és az L ligandumok egyensúlyi koncentrációit jelölik.

A fémion és a proton kompetícióba lép a ligandumért, de kis pH-értéken a protonált komplex képződése is bekövetkezhet. A komplexek protonálódási állandóit általános alakban a következő módon definiáljuk:

$$\begin{aligned} MH_{i-1}L + H^+ &\rightleftharpoons MH_iL \\ K_{ML}^{H_i} &= \frac{[MH_iL]}{[MH_{i-1}L][H^+]} \quad i = 1 \text{ vagy } 2 \end{aligned} \quad (\text{III. 1.3})$$

ahol,  $[M(H_iL)]$  és  $[M(H_{i-1}L)]$  a protonált komplexek koncentrációja.

Nagyobb pH értékek esetén bekövetkezhet a gyengén koordinálódó donoratom hidroxidionnal ( $OH^-$ ) történő helyettesítése, vagy a fémionhoz közvetlenül koordinálódó vízmolekula deprotonálódása is. A képződő vegyes hidroxidokomplexek stabilitását a következő egyenlettel fejezzük ki:

$$\begin{aligned} M + L + OH^- &\rightleftharpoons ML(OH) \\ \beta_{MLH-1} &= \frac{[ML(OH)]}{[M][L][OH^-]} \end{aligned} \quad (\text{III. 1.4})$$

A pH-potenciometriás titrálások során a vizsgált minták osztérfogata 5 vagy 6 ml (a rendelkezésre álló ligandum függvényében) volt és az

ionerősséget ( $I = 0,15 \text{ M NaCl}$ ) és a hőmérsékletet ( $T = 25,0 \pm 0,2 \text{ }^\circ\text{C}$ ) közel állandó értéken tartottuk. A titrálást minden esetben NaOH mérőoldattal ( $0,15 - 0,20 \text{ M}$ ) végeztük  $2 - 3 \text{ mM}$  ligandum koncentráció alkalmazásával  $\text{pH} = 1,75 - 12,0$  tartományban (csapadékképződés esetén a csapadék megjelenése előtti adatpárokat használtuk számolásainkhoz). A ligandum törzsoldatok koncentrációjának meghatározását pH-potenciometriás titrálással  $\text{MnCl}_2$  felesleg ( $5 - 10$ -szeres) alkalmazása mellett mért és a  $\text{MnCl}_2$  távollétében kapott titrálási adatokból végeztük el. A dolgozatban bemutatott ligandumok Mn(II)-ionnal képződő komplexeinek stabilitási állandóit  $1:1$  fém ligandum aránynál határoztuk meg. Ha a komplex képződésének sebessége nem tette lehetővé a pH-potenciometria alkalmazását, akkor ugyanilyen arány mellett összeállított különminták segítségével  $^1\text{H-NMR}$  relaxometriás és pH-potenciometriás technika kombinációjával határoztuk meg a stabilitási állandó értékét (a kísérleti eredményeknél jelölve van a meghatározás módja). A ligandumok protonálódási és a mangán(II)komplexeik protonálódási, valamint stabilitási és vegyes hidroxidokomplexeik stabilitási állandóit  $50 - 180 \text{ pH}$  – ml adatpár felhasználásával számoltuk a pH-potenciometriás görbékből a  $\text{pH} = 1,75 - 12,0$  tartományban. A kombinált technika esetében  $10 - 15 r_{1\text{obs}}/r_{2\text{obs}} - \text{pH}$  adatpárt használtunk fel a  $\text{pH} = 2 - 4,5$  tartományban (a minták egyensúlyba állására  $4 - 7$  napot vártunk, de a kellő időt relaxometriásan ellenőriztük).

A pH-potenciometriás titrálásokat *Metrohm 888 Titrand* automata titrátorral és *Metrohm-6.0233.100* kombinált üvegelektrod alkalmazásával végeztük el. A mintákat folyamatosan kevertettük és  $\text{N}_2$ -gázt buborékolattunk át rajta, hogy elkerüljük a  $\text{CO}_2$  beoldódását a mintába. Az elektrod kalibrálásához KH-ftalát ( $\text{pH} = 4,005$ ) és bórax ( $\text{pH} = 9,177$ ) puffert alkalmaztunk. A mért pH-értékekből a  $\text{H}^+$ -ion koncentrációt az Irving és mtsai. által javasolt módszerrel számoltuk.<sup>95</sup> Ehhez  $0,02 \text{ M HCl}$ -oldatot titráltunk

(0,15 M NaCl) ismert koncentrációjú NaOH-oldattal és a korrekciós faktor értékét az így kapott pH-érték ( $\text{pH} = 1,75$  és  $2,20$  között) és a valós pH-érték különbsége adta meg, melyet figyelembe vettünk a számolások során. A rendszerre jellemző víziionszorzatot pedig, ugyan ezen titrálási görbének a lúgos szakaszából határoztuk meg  $\text{pH} = 11,2 - 11,85$  között ( $\text{pK}_w = 13,75 - 13,83$  tartományba esett).

A relaxometriás vizsgálatokat  $0,49$  és  $1,41$  T térerőn működő *Bruker Minispec MQ20* és *Bruker Minispec MQ60* relaxométeren mértük. A bemutatott ábrákon  $5 - 6$   $T_1$ , ill.  $T_2$  érték átlagolásával kapott értékeket tüntettünk fel. Az adatok illesztéséhez a Mn(II)-ion relaxivitás értékeit is felhasználtuk a vizsgált térerőkön ( $r_{1p} = 7,90$  és  $6,04 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$  rendre  $0,49$  és  $1,41$  T az  $r_{2p} = 38,35$  és  $63,32 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$  rendre  $0,49$  és  $1,41$  T). A protonálódási és stabilitási állandókat minden esetben a PSEQUAD program segítségével számoltuk ki.<sup>96</sup>

Az egyes komplexek Mn(II)-kötő képességének jellemzésére minden esetben kiszámoltuk a komplexek  $\text{pMn}$  értékeit, amely a szabad, nem komplexált Mn(II)-ion koncentrációját adja meg ( $\text{pH} = 7,4$ ,  $c_{\text{Mn}} = c_{\text{L}} = 1 \times 10^{-5} \text{ M}$ ) a Tóth és mtsai. által javasolt körülmények között (III.1.5 egyenlet).<sup>88</sup> A nagyobb  $\text{pMn}$  érték nagyobb komplex stabilitást jelent és az érték alsó határa az  $5,0$ , ahol nincs komplexképződés (az alkalmazott körülmények között). A  $\text{pMn}$  érték a következő képlettel számolható:

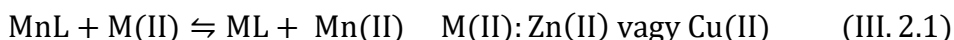
$$\text{pMn} = -\log[\text{Mn}^{2+}]_{\text{szabad}} \quad (\text{III. 1.5})$$

### III.2 A Mn(II)-komplexek fémion- és ligandumcsere reakcióinak kinetikai vizsgálata

A vizsgált makrociklusos és nyítláncú ligandumok Mn(II)-ionnal képzett komplexeinek kinetikai inertségét fémioncsere reakciók segítségével

vizsgáltuk. Ezeket a kicserélődési reakciókat spektrofotometriás ill.  $^1\text{H-NMR}$  relaxometriás technikával követtem Cu(II) vagy Zn(II) kicserélő fémion, ill. CDTA és DTPA kicserélő ligandum alkalmazása mellett.

A Mn(II)-komplexei Cu(II)- és Zn(II)-ionnal, vagy az előzőleg említett kicserélő ligandumokkal lejátszódó cserereakcióinak sebességét a kicserélő fémion/ligandum nagy koncentrációjának (10 - 40-szeres felesleg) alkalmazása mellett, a pH = 3,5 – 6,0 tartományban megfelelő pufferek (DMP  $\log K_2^{\text{H}} = 4,18$ , NMP  $\log K_2^{\text{H}} = 4,90$ ) felhasználásával határoztuk meg 25 °C-on. A spektrofotometriás vizsgálatok során a komplex koncentrációja 0,25 - 0,35 mM között változott, míg a relaxometriás vizsgálatok esetén Mn(II)-kelátok koncentrációja általában 1,0 - 2,0 mM volt a mintában. Az általunk követett reakciókat a III.2.1 és III.2.2 egyenletekkel adjuk meg:



Az inert Mn(II)-komplexei esetén csak kis pH-n volt lehetőségünk a kinetikai paraméterek vizsgálatára, ahol a pszeudo-elsőrendű körülményeket a  $\text{H}^+$ -ion komplexhez viszonyított nagy koncentrációjával (0,1 - 1,2 M) biztosítottuk ( $[\text{Mn}(\text{PCTA})]^-$ ,  $[\text{Mn}(\text{PC3AM}^{\text{H}})]^{2+}$ ,  $[\text{Mn}(\text{PC3AM}^{\text{Gly}})]^-$  és  $[\text{Mn}(\text{PC3AM}^{\text{Pip}})]^{2+}$ ).

Pszeudo-elsőrendű körülmények biztosítása mellett a disszociációra jellemző sebességi állandó értékét az alábbi egyenlettel írjuk le:

$$-\frac{d[\text{MnL}]_t}{dt} = k_{\text{obs}}[\text{MnL}]_t \quad (\text{III. 2.3})$$

ahol  $k_{\text{obs}}$  a pszeudo-elsőrendű sebességi állandó, az  $[\text{MnL}]_t$  pedig az adott  $t$  időpontban az  $[\text{MnL}]$  részecskék koncentrációja. A pszeudo-elsőrendű sebességi állandók számítása a III.2.4 egyenlet felhasználásával történt, az egyes kísérleti módszerekre jellemző adatok (abszorbancia és  $T_1$ , spektrofotometriás, valamint  $^1\text{H}$ -NMR relaxometriás technika alkalmazásával) adott  $t$  időpillanatban való mérésével:

$$I_t = I_i + (I_0 - I_i)e^{-k_{\text{obs}}t} \quad (\text{III. 2.4})$$

ahol  $I_t$ ,  $I_0$ , és  $I_i$  rendre a  $t$  időpillanatban, a reakció kezdetekor, valamint az egyensúly beállását követően meghatározott abszorbancia vagy  $T_1$  értékeket jelölik. A mérések kiértékelését Micromath Scientist számítógépes program 2.0 verziójának segítségével végeztük el (Salt Lake City, UT, USA).

Az előzőekben említett „*in vitro*” fémcsere reakciók jó közelítést adnak ugyan a komplex szerkezetbeli viselkedéséről, de korántsem nyújtanak teljes képet, mivel ezek a vizsgálatok nem 7,4 pH-értéken történtek és a vérben megtalálható bioligandumok (citrát, laktát foszfát és karbonát), fémionok (Ca(II) és Mg(II)), valamint további alkotóelemek (aminosavak, HSA, transferrin, cöruoplazmin stb.) sem voltak jelen a vizsgált mintában. Ezért egyes Mn(II)-komplexek vérszérumban (seronorm<sup>TM</sup> SERO) bekövetkező disszociációját is vizsgáltuk pH = 7,4 értéken, 25, ill. 37 °C-on ( $[\text{Mn}(\text{CD2A2AM}^{\text{Pip}})]$ - és a  $[\text{Mn}(\text{CD2A2AM}^{\text{nSer}})]$ -komplexek esetén). A disszociációs folyamat  $^1\text{H}$ -NMR relaxometriás technikával egyszerűen követhető, mivel a komplexben kötött ( $r_1 = 3,8 - 5,56 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ , 0,49 T, 25 °C) és a vérszérum alkotóelemeihez kötődő ( $r_1 = 65,70 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ , 0,49 T, 25 °C és  $r_1 = 57,66 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ , 0,49 T, 37 °C) Mn(II)-ion relaxivitásában nagy különbség tapasztalható. Ezeket a reakciókat 5 ml térfogatban végeztük és többnyire 48

órán keresztül követtük (a mintavételezés sűrűségét a disszociációs folyamat sebességéhez igazítottuk).

A komplexek kinetikai inertségének legegyszerűbb összehasonlítási módja, ha kiszámoljuk a komplexek disszociációra jellemző felezési időt ( $t_{1/2}$ ). A dolgozatban általában  $\text{pH} = 7,4$  értéken és  $1 \times 10^{-5}$  M kicserélő fémion koncentráció alkalmazása mellett számoltuk ki a  $k_{\text{obs}}$  értékeket és a felezési idő számításához a III.2.5 egyenletet használtuk fel.

$$t_{1/2} = \frac{\ln 2}{k_{\text{obs}}} \quad \text{III. 2.5}$$

### III.3 A vizsgált Mn(II)-komplexek relaxációs sajátságainak elemzése

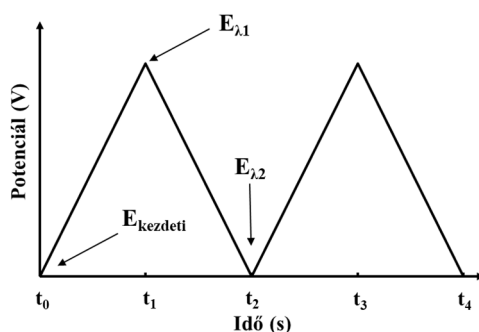
A vizsgált komplexek relaxitász értékeit 0,49 és 1,41 T térerőn működő *Bruker Minispec MQ20* és *Bruker Minispec MQ60* relaxométeren mértem 25 és 37 °C-on, 0,4 vagy 0,3 cm<sup>3</sup> oldattérfogatban, 1 - 2 mM komplex koncentráció alkalmazásával. A  $T_1$  longitudinális relaxációs időket mágnesezettség inverzió módszerrel („inversion recovery” impulzus szekvenciával, 180°- $\tau$ -90°), a  $T_2$  transzverzális relaxációs időket pedig Carr-Purcell-Meiboom-Gill (CPMG) szekvenciával határoztam meg. A komplexek relaxitász értékeit  $\text{pH} = 7,4$  érték körül (ahol, a komplexképződés ezekben az esetekben 100 %-os) határoztuk meg, pontosan ismert koncentrációjú Mn(II) törzsoldattal való titrálással (50 mM HEPES puffer,  $I = 0,15$  M NaCl és 25 °C). Az  $1/T_1$  értékeket ( $r_1$ ) a Mn(II)-ion koncentrációjának függvényében ábrázolva egymást metsző egyeneseket kaptunk, melyek közül a  $[\text{Ligandum}] > [\text{Mn(II)}]$  esetében az egyenes meredeksége megadja a kelát moláris relaxitászát ( $r_{1p}$ ). Azokban az esetekben, ahol a relaxitász érték meghatározása ettől eltérően történt, azt jelöltem a későbbiekben.

A relaxivitás értékeket néhány esetben HSA jelenlétében (0,05 mM, pH = 7,4, HEPES pufferben) és szeronorm oldatokban egyaránt meghatároztuk, hogy minél pontosabb képet kapjunk a vizsgált Mn(II)-komplexek kontrasztnövelő hatásáról és fehérjékkel való kölcsönhatásának mértékéről. A HSA koncentrációja a mintában 0,8 mM (ez megfelel a HSA vészérumban lévő koncentrációjának), a vizsgált komplex koncentrációja pedig 1,0 mM volt.

### III.4 A [Mn(*transz*-DO2A)]- és a [Mn(*cisz*-DO2A)]-komplexek redoxi stabilitásának jellemzése ciklikus voltammetriás technikával

A DO2A-származék ligandumok Mn(II)-komplexeinek redoxipotenciál értékeit ciklikus voltammetria (CV) segítségével határoztuk meg.

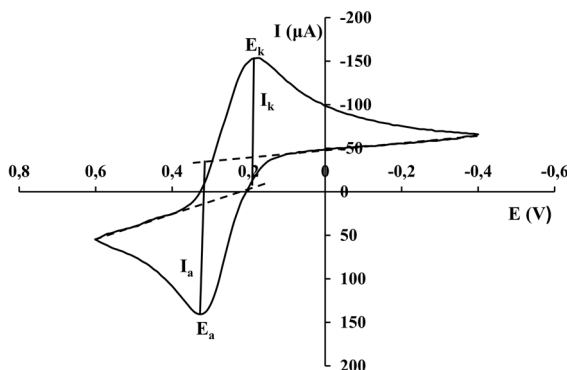
A ciklikus voltammetriás mérés során lineárisan változtatjuk a munkaelektrodon a feszültséget egy kezdeti értéktől ( $E_{\text{kezdeti}}$ ) egy előre meghatározott feszültség értékig ( $E_{\lambda}$ ), ahol a pásztázás iránya megfordul (III.4.1 ábra).<sup>97</sup>



III.4.1 ábra: A potenciál változása a ciklikus voltammetriás mérés során

Ha a munkaelektrodon áthaladó áramerősséget a potenciál függvényében ábrázoljuk, akkor ciklikus voltammogramot kapunk. A III.4.2

ábrán egy reprezentatív ciklikus voltammogram látható, melyen feltüntettem a voltammogramról leolvasható jellegzetes paramétereket is.



**III.4.2 ábra:** Egy reprezentatív voltammogram és jellegzetes értékei

A katódos ( $E_k$ ) és az anódos ( $E_a$ ) csúcspotenciál értékek számtani közepe megadja a féllépcsőpotenciál-értékeket (III.4.1 egyenlet).

$$E_{1/2} = \frac{E_k + E_a}{2} \quad \text{III. 4.1}$$

A végbemenő folyamatokra jellemző redoxipotenciál értékeket normál hidrogénelektrodra (NHE) vonatkoztatva úgy kapjuk meg, ha az Ag/AgCl referenciaelektrod potenciál értékével korrigáljuk a kapott féllépcsőpotenciál-értékeket (III.4.2 egyenlet).

$$E^0 = E_{1/2} + E^0(\text{Ag/AgCl}) \quad \text{III. 4.2}$$

Lényeges információt hordoz továbbá a katódos és anódos csúcspotenciál különbsége, melyet csúcsszeparációnak is nevezünk és következtetni enged a reakció mechanizmusára és a redoxi folyamatban résztvevő elektronok számára ( $n$ ).

$$\Delta E = E_a - E_k = \frac{0,059}{n} \quad \text{III. 4.3}$$

Abban az esetben, ha a lejátszódó reakció reverzibilis, azaz az oxidált és a redukált formára jellemző diffúziós koefficiens azonos, akkor a  $\Delta E$  értéket  $0,059/n$  V-nak várjuk.

Az anódos és a katódos csúcsáram ( $i_k$  és  $i_a$ ) aránya is fontos, mivel reverzibilis folyamatok esetén értéke 1.

$$\frac{i_a}{i_k} \approx 1$$

A ciklikus voltammogramokat *Metrohm VA 746 Trace Analyzer* készülékkel vettük fel. A vizsgálni kívánt mintát egy 25 ml térfogatú három elektródot tartalmazó termosztálható cellában helyeztük el, melyet minden esetben 25 °C-ra termosztáltunk. A minták térfogata 10 ml volt és a Mn(II)-komplex koncentrációját 1,0 mM-nak választottuk (amely 2 - 3 % ligandumfelesleget tartalmazott). Az elektrokémiai cellát a  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}/[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$  redoxi rendszerre kalibráltuk. Az összes mérést vizes oldatban pH = 7,0 és 0,15 M  $\text{NaNO}_3$  ionerősség mellett végeztük el. Az oldatok pH értékének méréséhez *Metrohm 827 pH lab* készülékhez csatlakoztatott kombinált elektródot (*Metrohm 6.0234.100*) használtunk.

A mérések kivitelezéséhez szén (*Metrohm 6.1204.120*) és platina (*Metrohm 6.1204.120*) munkaelektrodót egyaránt alkalmaztunk. Mérőelektrodként platinaelektrodót (*Metrohm 6.0343.000*) alkalmaztunk, míg a referencia elektród egy 3 M KCl oldattal töltött *Vycor* Ag/AgCl elektród volt (*Metrohm 6.0728.020*). A levegő kizárását a rendszerből argon gáz áramoltatásával biztosítottuk. A voltammogramokat a -0,20 és +1,30 V feszültség tartományban vettük fel, valamint a pásztázási sebességet  $20 \text{ mVs}^{-1}$  és  $200 \text{ mVs}^{-1}$  tartományon belül változtattuk. A voltammogramokat a CACYVO szoftver felhasználásával értékeltük ki.

### III.5 Nagynyomású folyadékkromatográfiás technika és alkalmazása a ligandumok tisztítása, valamint a Mn(II)- és Zn(II)-komplexek vizsgálata során

A HPLC technikát széles körben alkalmazzák az analitikai kémiában vegyületek elválasztására, azonosítására és mennyiségi meghatározására.

A CDTA-*bisz*-amid származék ligandumok reakcióelegyből történő kinyerésére, a  $[\text{Mn}(\text{CD}_2\text{A}_2\text{AM}^{\text{Pip}})]$ -,  $[\text{Zn}(\text{CD}_2\text{A}_2\text{AM}^{\text{Pip}})]$ -komplexek oldatban jelenlévő izomereinek az elválasztására, valamint az egyes szerkezeti izomerek izomerizációs folyamatainak a követésére (Mn(II)-komplexek esetén) HPLC technikát alkalmaztunk. Ezen elválasztásokhoz és vizsgálatokhoz gradiens elúciót, valamint fordított fázisú kolonnát használtunk és eluensként pedig ACN:H<sub>2</sub>O vagy H<sub>2</sub>O/TFA alkalmaztunk (a TFA-t csak a víz tartalmazta 0,005 M koncentrációban). A kolonna típusa az analitikai HPLC-s vizsgálatok során Luna 5 $\mu$  C18(2) a preparatív elválasztások során Luna 10 $\mu$ -Prep C18(2) 100A (250 $\times$ 21,20 mm; 10  $\mu$ m) volt.

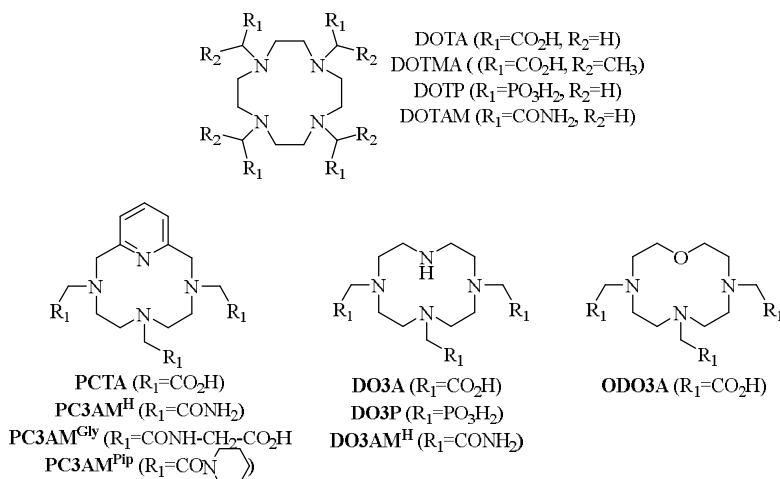
### III.6 A felhasznált fém-só- és ligandumoldatok készítése

A felhasznált kétvegyértékű fém-só oldatokat (MnCl<sub>2</sub>, ZnCl<sub>2</sub> és CuCl<sub>2</sub>) a megfelelő klorid sók kétszer desztillált vízben történő oldásával készítettük. Ezen törzsoldatok standardizálását pedig pontosan ismert 0,01 M Na<sub>2</sub>H<sub>2</sub>EDTA mérőoldattal, a megfelelő indikátor (murexid vagy xilanolnarancs) jelenlétében végeztük.<sup>98</sup> A felhasznált (CDTA és DTPA) és a vizsgált ligandumok esetén a komplexképzőket kétszer desztillált vízben oldottuk és azokban az esetekben, melyekben indokolt volt a pH-t szilárd NaOH-al (nyíltláncú *bisz*-amid származékoknál, mivel savas közegben az amidoldallánc elvesztését tapasztaltuk) vagy cc. HCl gőzzel állítottuk be.

## IV. KÍSÉRLETI EREDMÉNYEK ÉS ÉRTELMEZÉSÜK

### IV.1 Háromszorosan helyettesített 12-tagú makrociklusos ligandumok Mn(II)-komplexei

Ebben a fejezetben összesen nyolc háromszorosan helyettesített 12-tagú makrociklusos ligandum (IV.1.1 ábra, a vizsgált ligandumok nevei félkövérrel szedve) Mn(II)-komplexének a stabilitását, ill. disszociációs kinetikai és relaxometriás jellemzésének eredményeit tüntettük fel.



**IV.1.1 ábra:** A vizsgált és összehasonlítás céljából feltüntetett hét és nyolc donoratomot tartalmazó 12-tagú makrociklusos ligandumok szerkezeti képletei

A vizsgált ligandumokat úgy választottuk meg, hogy az eredmények információt hordozzanak arról, hogy a vizsgált fizikai-kémiai paraméterekben milyen változások válnak mérhetővé a ligandumok szerkezetében alkalmazott változtatások eredményeként. Kíváncsiak voltunk arra, hogy milyen változást jelent az, ha a makrociklus egyik N-atomját O-atomra cseréljük, vagy piridingyűrűbe foglaljuk. Egy másik lehetőség a szokásosnak számító

karboxilátcsoportok amid- (melyek primer-, szekunder- és tercier-amidesoportok lehetnek) vagy foszfonátcsoportokra történő cseréje és ezen módosítás hatásának vizsgálata a már említett paraméterekre.

#### ***IV.1.1 Háromszorosan helyettesített 12-tagú makrociklusos ligandumok és Mn(II)-komplexeik egyensúlyi vizsgálata***

A IV.1.1 ábrán látható háromszorosan helyettesített makrociklusos ligandumok (DO3A, DO3P, DO3AM<sup>H</sup>, ODO3A, PCTA, PC3AM<sup>H</sup>, PC3AM<sup>Gly</sup>, és PC3AM<sup>Pip</sup>) protonálódási állandóit pH-potenciometriás technikával, Mn(II)-ionnal képződő komplexei protonálódási és stabilitási állandóit pedig pH-potenciometriás és/vagy <sup>1</sup>H-NMR relaxometriás ( $1/T_{1\rho}$  adatok mérése a pH-függvényében) technika alkalmazásával határoztuk meg.

**IV.1.1.1 táblázat:** A vizsgált és az összehasonlításként feltüntetett ligandumok protonálódási állandói ( $I = 0,15$  M NaCl, 25,0 °C)

|                            | $\log K_1^H$         | $\log K_2^H$ | $\log K_3^H$ | $\log K_4^H$ | $\log K_5^H$ | $\log K_6^H$ | $\sum_{i=1}^2 \log K_i^H$ |
|----------------------------|----------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|---------------------------|
| <b>DO3A</b>                | 10,07(5)             | 8,93(6)      | 4,43(9)      | 4,11(7)      | 1,88(7)      | –            | <b>19,00</b>              |
| <b>DO3AM<sup>H</sup></b>   | 9,40(5)              | 6,28(8)      | –            | –            | –            | –            | <b>15,68</b>              |
| <b>DO3P</b>                | 12,55(2)             | 11,37(1)     | 8,57(2)      | 7,02(2)      | 5,36(2)      | 1,84(2)      | <b>23,92</b>              |
| <b>ODO3A</b>               | 8,74(2)              | 7,58(2)      | 3,99(3)      | 2,39(3)      | –            | –            | <b>16,32</b>              |
| <b>PCTA</b>                | 9,97(3)              | 6,73(5)      | 3,22(6)      | 1,40(9)      | –            | –            | <b>16,70</b>              |
| <b>PC3AM<sup>H</sup></b>   | 8,76(3)              | 4,10(4)      | –            | –            | –            | –            | <b>12,86</b>              |
| <b>PC3AM<sup>Gly</sup></b> | 8,85(1)              | 4,55(1)      | 3,81(1)      | 3,21(1)      | 2,80(1)      | 1,38(1)      | <b>13,40</b>              |
| <b>PC3AM<sup>Pip</sup></b> | 8,74(1)              | 5,77(2)      | 1,42(9)      | –            | –            | –            | <b>14,51</b>              |
| DOTA <sup>a</sup>          | 11,41                | 9,83         | 4,38         | 4,63         | 1,92         | 1,58         | <b>21,24</b>              |
| DOTMA <sup>b</sup>         | 11,72                | 9,06         | 4,74         | 5,59         | 1,92         | –            | <b>20,78</b>              |
| DOTAM <sup>d</sup>         | 7,31(1)              | 6,07(1)      | –            | –            | –            | –            | <b>13,38</b>              |
| DOTP <sup>d</sup>          | 13,6(2) <sup>c</sup> | 12,23(3)     | 8,63(5)      | 7,45(4)      | 5,84(5)      | 5,02(5)      | <b>25,83</b>              |

<sup>a</sup> Ref. 99, 0,1 M KCl; <sup>b</sup> Ref. 100, 0,1 M KCl; <sup>c</sup> <sup>1</sup>H- és <sup>31</sup>P-NMR segítségével meghatározott állandó; <sup>d</sup> a kutatócsoportban korábban meghatározott adatok

A ligandumok protonálódási állandóit a pH-potenciometriás titrálási görbékből (V(ml)-pH adatpárok) a PSEQUAD számítógépes program segítségével számoltuk ki. A ligandumok protonálódási állandóit a III.1.1 egyenlettel definiáltuk. A vizsgált és az összehasonlítás céljából feltüntetett ligandumokra jellemző protonálódási állandók értékei a IV.1.1.1 táblázatban kerülnek bemutatásra.

Ahogy azt már több közleményben megállapították,<sup>101,102</sup> az 1,4,7,10-tetraazaciklododekán származékai esetén az első két protonálódás a gyűrű egymással szemben lévő nitrogén donoratomjain történik, melyeket az oldalláncokban jelenlévő donoratomok minőségétől függően további protonálódási folyamatok követhetnek. A PCTA, ODO3A, valamint ezek származékai esetében a donoratomok protonálódási sorrendje eltér a DOTA esetében tapasztalt protonálódási szekvenciától.<sup>102</sup> <sup>1</sup>H-NMR titrálásokkal alátámasztották, hogy ezekben a ligandumokban az első protonálódás az éteres oxigén- (vagy a piridin nitrogén) atomhoz képest a *transz* helyzetű nitrogénatomon történik. A második lépésben az egyik *cisz*-helyzetű nitrogénatom protonálódásának hatására a *transz*-helyzetű donoratomról a proton a másik *cisz*-helyzetű nitrogénatomra tolódik.<sup>102</sup> A vizsgált vegyületek esetében a karboxilcsoportok amidcsoportokra történő cseréje (DO3AM<sup>H</sup>, PC3AM<sup>H</sup>) nagymértékben csökkentette, míg a foszfónátcsoportok (DO3P) megjelenése jelentősen növelte a ligandumok összbázicitás értékét. Ezek a szerkezeti változtatások nemcsak a protonálódási állandók értékét, de a protonálódási folyamatok számát is befolyásolták. Amint az a IV.1.1.1 táblázat adataiból egyértelműen látható, az első két protonálódási állandó összege ( $\log \beta_2^H = \log K_1^H + \log K_2^H$ ) az acetát-származékok esetében nagyobb, mint az amid-származékok esetében. Ez a negatív töltésű oldalláncok számának csökkenésével, ezáltal gyengébb hidrogénkötés kialakulásával magyarázható a makrociklus donoratomjai között. Ellenben a DO3P ligandumban a

makrociklusos nitrogénatomok bázicitása nagyobb, mint a DO3A ligandumban, ez okozza a jelentősen nagyobb összbázicitást. A protonálódási szekvencia változása miatt az ODO3A ligandum első két protonálódási állapotjának összegében szintén tapasztalható csökkenés.<sup>80</sup>

Azért, hogy információt nyerjünk a Mn(II)-komplekek stabilitásáról 1:1 fém-ligandum aránynál, pH-potenciometriás és/vagy relaxometriás titrálásokat végeztünk, valamint néhány esetben a két módszer kombinálásával határoztuk meg a stabilitási állandókat. A titrálások során kapott adatokat az ML komplex mellett, kis-pH értéken protonált formák ( $[M(H_iL)]$ ), valamint nagy pH-értékeknél hidroxidokomplekek ( $[ML(OH)]$ ) feltételezésével tudtuk jól leírni. A stabilitási állandókat ( $K_{ML}$ ) és a különböző protonáltsági formákra jellemző állandókat a III.1.2 – III.1.4 egyenletekkel írhatjuk le. Azonban, ha kizárólag csak az  $[M(L)]$ -komplekek stabilitási állandóival akarnánk összehasonlítani a ligandumok fémkötő képességét, akkor ez a ligandumok bázicitásbeli különbségéből eredően félrevezető lehetne. Ezért a III.1. fejezetben megadott körülmények között és a III.1.5. egyenlet alapján kiszámoltuk a ligandumokra jellemző  $pMn$  értékeket.

A fémkomplekek irodalmában a DOTA ligandum mintegy „aranystandard”-ként jelenik meg. A  $[Mn(DOTA)]^{2-}$ -komplex  $\log K_{MnL} = 19,44$  stabilitási állandójának megfelelően a  $pMn$  értéke 9,02, azaz nagyon jó mangánkötő ágensnek tekinthető.

A IV.1.1.2 táblázatban szereplő stabilitási állandók elemzéséből megállapítható, hogy a foszfonát oldallánccal rendelkező  $[Mn(DOTP)]^{6-}$ - és  $[Mn(DO3P)]^{4-}$ -komplekek (rendre,  $\log K_{MnL} = 18,98(1)$  és  $\log K_{MnL} = 17,45(2)$ ) értékei, ill. az alfa szénatomon metilcsoportot tartalmazó komplexképző  $[Mn(DOTMA)]^{2-}$ -komplex stabilitása ( $K_{MnL} = 18,37$ ) közelíti meg a  $[Mn(DOTA)]^{2-}$ -komplex megfelelő értékét (a foszfonát-származékok esetén a ligandumok nagy bázicitásával magyarázható). Azonban, ha a  $pMn$  értékeket

hasonlítjuk össze, akkor egyértelművé válik, hogy a  $[\text{Mn}(\text{DOTP})]^{6-}$  és  $[\text{Mn}(\text{DO3P})]^{4-}$ -komplexek látszólagos stabilitási állandói (IV.1.1.2 táblázat) a legkisebbek, valójában tehát ezek a ligandumok rendelkeznek a legkisebb affinitással a mangán felé. Ez a tény világossá teszi, hogy a foszfonát funkció csoportok oldalláncként történő alkalmazását kerülni kell a további ligandumok tervezése során, mivel csökkentik a komplex látszólagos stabilitását.

**IV.1.1.2 táblázat:** A Mn(II)-komplexek protonálódási és stabilitási állandói, valamint a pMn értékek (0,15 M NaCl, 25,0 °C)

|                            | $\log K_{\text{ML}}$              | $\log K_{\text{ML}}^{\text{H}}$ | $\log K_{\text{MHL}}^{\text{H}}$ | $\log K_{\text{MH2L}}^{\text{H}}$ | $\log K_{\text{ML}}^{\text{OH}}$ | pMn <sup>e</sup> |
|----------------------------|-----------------------------------|---------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|----------------------------------|------------------|
| <b>DO3A</b>                | 16,55(4)                          | 4,26(2)                         | –                                | –                                 | –                                | <b>8,66</b>      |
| <b>DO3AM<sup>H</sup></b>   | 11,69(2)                          | –                               | –                                | –                                 | –                                | <b>7,32</b>      |
| <b>DO3P</b>                | 17,45(2)                          | 8,06(2)                         | 7,05(1)                          | 5,31(2)                           | –                                | <b>6,43</b>      |
| <b>ODO3A</b>               | 13,88(1)                          | 2,77(5)                         | –                                | –                                 | –                                | <b>8,57</b>      |
| <b>PCTA</b>                | 16,83(1)<br>16,64(7) <sup>a</sup> | 1,96(1)                         | –                                | –                                 | –                                | <b>9,74</b>      |
| <b>PC3AM<sup>H</sup></b>   | 11,94(3)<br>11,78(8) <sup>a</sup> | –                               | –                                | –                                 | 10,90(4)                         | <b>7,77</b>      |
| <b>PC3AM<sup>Gly</sup></b> | 13,20(1)                          | 3,98(1)                         | 3,14(1)                          | 2,87(1)                           | 10,67(2)                         | <b>8,37</b>      |
| <b>PC3AM<sup>Pip</sup></b> | 14,05(2)                          | –                               | –                                | –                                 | 11,63(2)                         | <b>8,86</b>      |
| <b>DOTA<sup>b</sup></b>    | 19,44                             | 3,96                            | –                                | –                                 | –                                | <b>9,02</b>      |
| <b>DOTMA<sup>c</sup></b>   | 18,37 <sup>a</sup>                | 4,56 <sup>[a]</sup>             | –                                | –                                 | –                                | <b>8,69</b>      |
| <b>DOTAM<sup>f</sup></b>   | 11,96(1)                          | –                               | –                                | –                                 | –                                | <b>8,60</b>      |
| <b>DOTP<sup>d, f</sup></b> | 18,98(1)                          | 8,09(1)                         | 7,79(1)                          | 6,74(1)                           | –                                | <b>6,43</b>      |

<sup>a</sup> <sup>1</sup>H-relaxometria; <sup>b</sup> Ref. 99, 0,1 M KCl; <sup>c</sup> Tircsó, Gy., Woods, M., (2019) közlésre előkészítve; <sup>d</sup> a negyedik protonálódási állandó értéke  $\log K_{\text{MH3L}}^{\text{H}} = 5,02(1)$ ; <sup>e</sup> Ref. 88, A pMn értéket pH = 7,4,  $c_{\text{M}} = c_{\text{L}} = 10^{-5}$  M koncentráció mellett számoltuk; <sup>f</sup> a kutatócsoportban korábban meghatározott adatok

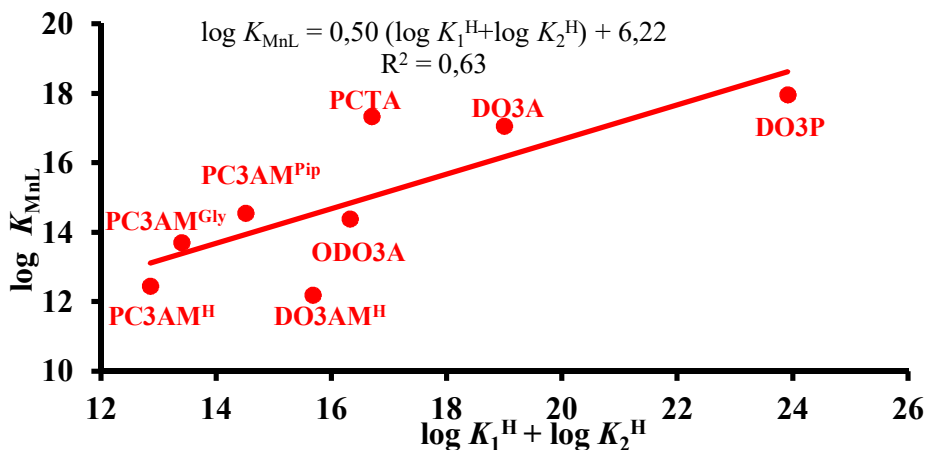
Elemezve a IV.1.1.2 táblázatban található adatokat láthatjuk, hogy fiziológiás körülmények között a vizsgált hétfogú ligandumok közül a merev

piklén alapvázat tartalmazó PCTA ligandum Mn(II)-komplexe rendelkezik a legnagyobb látszólagos stabilitási állandó értékkel ( $pMn = 9,74$ ). Ez nagyobb, mint a  $[Mn(DO3A)]^-$ -komplekre jellemző állandó ( $pMn = 8,66$ ), annak ellenére, hogy a donorumok száma azonos (4N és 3O) és a minősége hasonló mindkét ligandum esetén. A  $[Mn(PCTA)]^-$ -komplekre számolt  $pMn$  érték 0,7 log egységgel nagyobb, mint  $[Mn(DOTA)]^{2-}$ -kompleket jellemző érték, míg a DO3A, ODO3A és a PCTA ligandumok amid-származékainak ( $PC3AM^{Gly}$ , valamint  $PC3AM^{Pip}$  ligandumok) Mn(II)-komplexeire jellemző adatok csak kis mértékben maradnak el a  $[Mn(DOTA)]^{2-}$ -komplekre számolt értékétől. Továbbá, az amid oldalláncot tartalmazó piklén-származékok esetében a  $pMn$  értékben szembetűnő növekedés figyelhető meg a primer amid-származékoktól a tercier amid-származékok felé haladva ( $PC3AM^H$ ,  $PC3AM^{Gly}$ ,  $PC3AM^{Pip}$ ; IV.1.1.2 táblázat). Az előbbieken említett, a DOTA ligandumhoz képest kisebb mangánkötő képesség valószínűleg az oldalláncok számának csökkentésével hozható kapcsolatba, de egyes szerkezeti módosítások, mint a piridingyűrű makrociklusba történő rögzítése, vagy a karboxilátcsoportok amidcsoporra történő cseréje jó hatással van a ligandumok Mn(II)-kötő képességére.

Martell és mtsai. lineáris összefüggést mutattak ki a kísérletileg meghatározott  $\log K_{ML}$  és a ligandumok bázicitása között a szerkezetileg hasonló ligandumok esetében.<sup>103</sup> Később Choppin a nyíltláncú poliamino-polikarboxilát komplexekre is lineáris összefüggést tapasztalt azon többfogú ligandumok esetén, ahol öttagú kelátgyűrű képződésére van lehetőség a Ln(III)-ionokkal.<sup>104</sup> Újabban több kutatócsoport az előzőekben említett lineáris kapcsolatot találta a makrociklusos poliamino-polikarboxilát származékok esetében.<sup>105,106</sup> A kutatások előrehaladtával a ligandumok egyre változatosabbak lettek és nyilvánvalóvá vált, hogy az adatok közötti kapcsolat felállításában a fő bizonytalansági tényező azon protonálódási lépések száma,

melyeket figyelembe veszünk a  $\sum \log K_i^H$  számolása során (az amidok, foszfinátok, karboxilátok és a foszfonátok bázicitása nagymértékben különbözik, azaz valós összefüggést várhatóan itt is csak a szerkezetileg hasonló ligandumok esetén kaphatunk). Hasonló empirikus kapcsolatról számoltak be Lukes és mtsai. 2001-ben számos nyíltláncú és makrociklusos ligandum Cu(II)-ionnal képződő komplexeinek stabilitási állandója ( $\log K_{CuL}$ ) és a N atomokhoz rendelhető első két protonálódási állandó összege között.<sup>107</sup> Bár ez az összefüggés figyelmen kívül hagyja az oldallánc donorcsoportjainak a bázicitását, de egy hasonló megközelítés a makrociklusos ligandumok (karboxilát, karboxamid, foszfonát oldalláncal rendelkező 1,4,7-triazaciklononán, 1,4,7,10-tetraazaciklododekán és 1,4,8,11-tetraazaciklotetradekán ligandumok) Gd(III)-komplexei esetén is egy elfogadható lineáris összefüggést ad ( $R^2 = 0,86$ ;  $\log K_{GdL} = 1,5 (\log K_1^H + \log K_2^H) - 9,7$ ).<sup>108</sup> Ugyanezt a megközelítést alkalmazva a jelen dolgozatban tanulmányozott 12-tagú makrociklusos ligandumok Mn(II)-komplexeire a következő egyenlethez jutottunk,  $\log K_{MnL} = 0,50 (\log K_1^H + \log K_2^H) + 6,22$  ( $R^2 = 0,63$ ) (IV.1.1.1. ábra). Azonban jelentős mértékben javítható az  $R^2$  értéke, ha kihagyjuk a PCTA (pozitív eltérés) és a DO3AM<sup>H</sup> ligandumhoz (negatív eltérés) tartozó adatokat ( $R^2 = 0,89$ ;  $\log K_{MnL} = 0,47 (\log K_1^H + \log K_2^H) + 6,68$ ), úgy hogy az egyenletben szereplő együtthatók csak kis mértékben módosulnak. A IV.1.1.1. ábra azt is mutatja, hogy egy szerkezeti elem által okozott negatív irányú eltérés (pl. primer amidcsoport a DO3AM<sup>H</sup> esetében) hogyan javítható egy másik szerkezeti elem (pl. egy piridin gyűrű a PC3AM<sup>H</sup> esetében) beépítésével. A PC3AM<sup>H</sup> ligandum a DO3AM<sup>H</sup> ligandumhoz képest tapasztalt kisebb bázicitása mellett nagyobb stabilitási állandóval rendelkezik és jobb Mn(II)-ion kötő képességet sikerült elérni a makrociklus gerincének a merevítése által, ami az egyik N-atom piridinggyűrűbe való „kényszerítését” jelenti ( $pMn_{DO3AMH} = 7,32$  és

$pMn_{PC3AMH} = 7,77$ ). Továbbá az amidolláncok minőségének változása (primer, szekunder vagy tercier sorrendben növekvő mértékben) szintén pozitívan befolyásolja a Mn(II)-komplexei stabilitását (IV.1.1.2. táblázat).



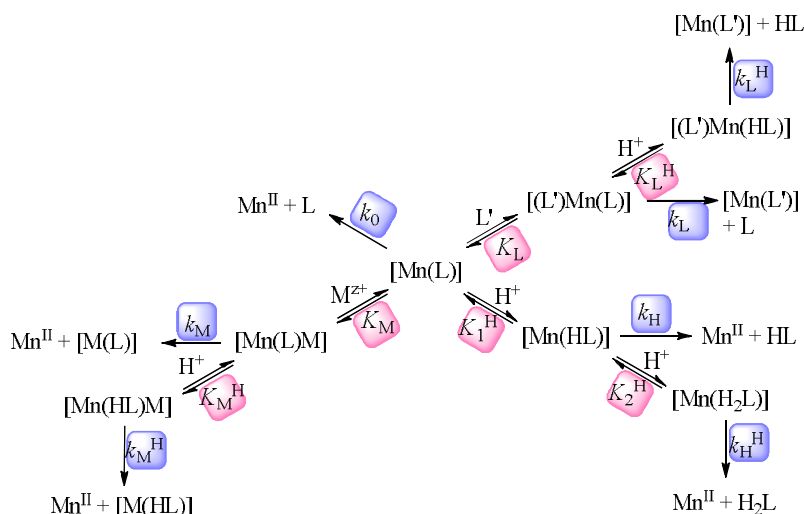
**IV.1.1.1. ábra:** A vizsgált 12-tagú makrociklusos ligandumok Mn(II)-komplexeinek stabilitási állandói ( $I = 0,15$  M NaCl és  $25,0$  °C) a makrociklusos nitrogén atomok bázicitásának ( $\log K_1^H + \log K_2^H$ ) függvényében

#### IV.1.2 Háromszorosan helyettesített 12-tagú makrociklusos ligandumok Mn(II)-komplexeinek disszociációs kinetikai vizsgálata

A háromszorosan helyettesített 12-tagú makrociklusos ligandumok Mn(II)-komplexeinek inertségét vagy a proton-asszisztált disszociáció sebességének követésével, vagy a komplex és egy megfelelő kicserélő fémion (Zn(II) vagy Cu(II)) között lejátszódó fémcsere reakciók segítségével tanulmányoztuk. A kevésbé inert komplexek disszociációs reakcióit pedig nagy pH-n lejátszódó ligandumcsere reakciók követésével tanulmányoztuk, ahol CDTA vagy DTPA ligandumot alkalmaztunk kicserélő ligandumként. A disszociációs reakciók tanulmányozása során a pszeudo-elsőrendű körülmények biztosítása érdekében vagy a Cu(II)/Zn(II)/DTPA/CDTA kicserélő partnerek nagy feleslegét vagy nagy savkoncentrációt (akár  $[H^+] =$

1,2 M) biztosítottunk. A IV.1.2.1 ábrán a Mn(II)-komplexekre jellemző disszociációs útvonalakat láthatjuk. A IV.1.2.1 ábra magában foglalja a másik fémion (M') vagy ligandum (L') részvételével lejátszódó proton-, fém- és ligandum-asszisztált disszociációs útvonalakat. Mivel a Mn(II)-komplexeket is általában nagy képződési sebességek jellemzik, így feltételezhetjük, hogy a felszabaduló Mn(II)-ion és L ligandum reakciója a kicserélő M' fémionnal és L' ligandummal pillanatszerű.

A disszociációs reakciók az alábbi utakon játszódhatnak le: a spontán ( $k_0$ ), a proton-asszisztált ( $k_H$ ,  $k_H^H$ ), a fém-asszisztált ( $k_M$ ), a proton és fém együttes közreműködésével ( $k_M^H$  amikor a proton a kétmagvú köztiterméken „támad”), a ligandum-asszisztált ( $k_L$ ) és a ligandum, valamint a proton együttes közreműködésével ( $k_L^H$ ). A  $K_1^H$ ,  $K_2^H$ ,  $K_M^H$  és  $K_L^H$  rendre az  $[Mn(L)]$ ,  $[Mn(HL)]$ ,  $[Mn(L)M]$ ,  $[Mn(L)(L')]$  összetételű komplexek protonálódási állandóit jelölik, míg a  $K_M$  a kétmagvú komplex  $[Mn(L)M]$ , a  $K_L$  pedig a vegyes ligandumú komplex  $[Mn(L)(L')]$  stabilitási állandóját fejezi ki.



**IV.1.2.1 ábra:** Feltételezett disszociációs útvonalak a kicserélő fémion és ligandum jelenlétében lejátszódó bomlási folyamatokra (ahol M' = Cu vagy Zn, ill. L' = DTPA vagy CDTA, az áttekinthetőség kedvéért a komplexek töltését nem tüntettem fel)

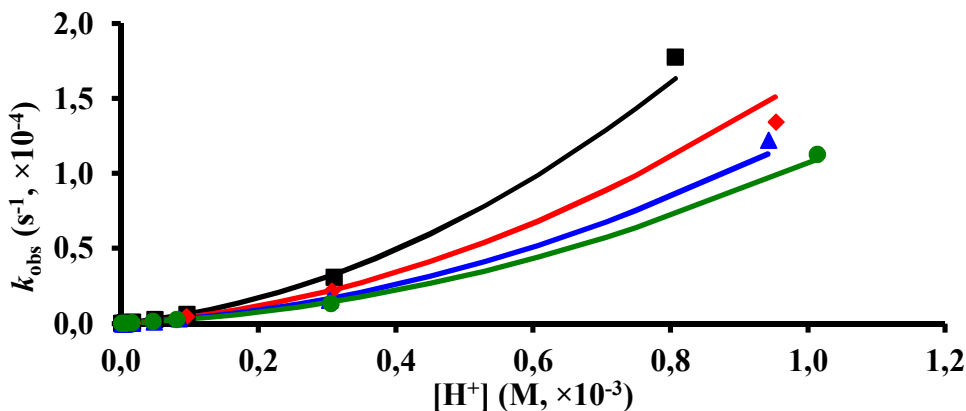
Figyelembe véve a különböző komplexfélésegeket ( $[Mn(L)]$ ,  $[Mn(HL)]$ ,  $[Mn(H_2L)]$ ,  $[Mn(L)M']$ ,  $[Mn(HL)M']$ ,  $[Mn(L)L']$ ) és

[Mn(HL)L']), a lehetséges reakcióutakat, valamint a köztitermékek protonálódási és stabilitási állandóit, a következő általános alakban felírt egyenlet alkalmazható a disszociációs sebesség kifejezésére (IV.1.2.1 egyenlet):

$$k_{\text{obs}} = \frac{k_0 + k_1[\text{H}^+] + k_2[\text{H}^+]^2 + k_3[\text{M}'] + k_4[\text{M}'][\text{H}^+] + k_5[\text{L}] + k_6[\text{L}][\text{H}^+]}{1 + K_1^{\text{H}}[\text{H}^+] + K_1^{\text{H}}K_2^{\text{H}}[\text{H}^+]^2 + K_{\text{M}}[\text{M}'] + K_{\text{M}}^{\text{H}}[\text{M}'][\text{H}^+] + K_{\text{L}}[\text{L}] + K_{\text{L}}^{\text{H}}[\text{L}][\text{H}^+]} \quad (\text{IV. 1.2.1})$$

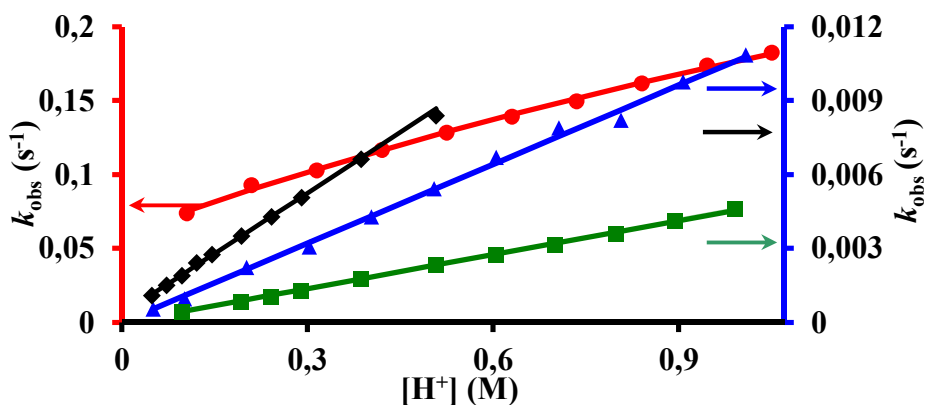
ahol,  $k_1 = k_{\text{H}} \cdot K_1^{\text{H}}$ ,  $k_2 = k_{\text{H}}^{\text{H}} \cdot K_1^{\text{H}} \cdot K_2^{\text{H}}$ ,  $k_3 = k_{\text{M}} \cdot K_{\text{M}}$ ,  $k_4 = k_{\text{M}}^{\text{H}} \cdot K_{\text{M}}^{\text{H}}$ ,  $k_5 = k_{\text{L}} \cdot K_{\text{L}}$  és  $k_6 = k_{\text{L}}^{\text{H}} \cdot K_{\text{L}}^{\text{H}}$ .

A mért  $k_{\text{obs}}$  adatokat a IV.1.2.1 egyenletre illesztve kaptuk meg a spontán ( $k_0$ , s<sup>-1</sup>), proton-asszisztált ( $k_1$ , M<sup>-1</sup>s<sup>-1</sup> és  $k_2$ , M<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup>) és fém-asszisztált ( $k_3$ , M<sup>-1</sup>s<sup>-1</sup>) útvonalakra jellemző sebességi állandók értékeit. A kapott adatokat a IV.1.2.1 táblázatban tüntettem fel. A fém-proton-asszisztált ( $k_4$ , M<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup>), a ligandum ( $k_5$ , M<sup>-1</sup>s<sup>-1</sup>) és ligandum-proton-asszisztált ( $k_6$ , M<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup>) útvonalak ezeknél a disszociációs reakcióknál elhanyagolhatók voltak, valamint a legtöbb esetben a képződő reaktív köztitermékek kis stabilitása miatt a rájuk jellemző protonálódási és stabilitási állandókat ( $K_1^{\text{H}}$ ,  $K_2^{\text{H}}$ ,  $K_{\text{M}}$  és  $K_{\text{L}}^{\text{H}}$ ) sem sikerült meghatározni (az állandók értéke összemérhető volt a hibájukkal vagy negatív érték volt).



IV.1.2.2 ábra: A  $[\text{Mn(PCTA)}]^-$ -komplex pszeudo-elsőrendű sebességi állandói a  $\text{Zn(II)}$ - és  $\text{H}^+$ -ion koncentráció függvényében ( $c_{\text{MnL}} = 0,002 \text{ M}$ ; ■10×, ♦20×, ▲30×, ●40×  $\text{Zn(II)}$ -ion felesleg)

A IV.1.2.2 ábrán a  $[\text{Mn(PCTA)}]^-$ -komplex  $\text{Zn(II)}$ -ion jelenlétében lejátszódó fémioncsere reakcióinak tanulmányozása során kapott  $k_{\text{obs}}$  értékek láthatók a  $\text{H}^+$ -ion koncentráció függvényében. Míg a nagyobb inertséggel rendelkező  $\text{Mn(II)}$ -komplexek esetén (pl. a  $\text{PCTA-trisz-amid}$  származékai esetében) kizárólag a savkatalizált disszociáció sebességét vizsgáltuk 0,05 – 1,0 M savkoncentráció biztosítása mellett (IV.1.2.3 ábra).



IV.1.2.3 ábra: A  $[\text{Mn(PCTA)}]^-$  (●),  $[\text{Mn(PC3AM}^{\text{H}})]^{2+}$  (▲),  $[\text{Mn(PC3AM}^{\text{Gly}})]^-$  (◆) és  $[\text{Mn(PC3AM}^{\text{Pip}})]^{2+}$  (■) komplexek pszeudo-elsőrendű sebességi állandói ( $k_{\text{obs}}$ ) a  $[\text{H}^+]$  függvényében

A  $k_{\text{obs}}$  értékek minden vizsgált rendszer esetében nőttek a  $\text{H}^+$ -ion koncentráció növelésével ( $k_1$  és  $k_2$ ), a kicserélő fémion koncentrációjának a növelése pedig vagy gyorsította a reakciókat ( $k_3$ ), vagy nem volt hatással a disszociáció sebességére. A IV.1.2.1 táblázat adatai alapján látható, hogy a vizsgált komplexek eltérő úton disszociálnak, így az egyes reakcióutakra jellemző sebességi állandók direkt összehasonlítása félrevezető is lehet (mivel a reakciók versengenek egymással és így akár ellentétes trendeket is kaphatunk különböző körülmények között.<sup>63</sup> Ezért a Mn(II)-komplexek disszociációjára jellemző felezési időket fiziológiához közeli (pH= 7,4 és 10  $\mu\text{M}$  kicserélő fémion koncentráció) és 0,1 M  $\text{H}^+$ -ion (az inertebb komplexek esetére) koncentráció mellett is kiszámoltuk (IV.1.2.1 táblázat).

Ha a  $k_1$  proton-asszisztált disszociációra jellemző sebességi állandókat vagy a felezési időket hasonlítjuk össze, akkor megállapítható, hogy a 12-tagú makrociklusos ligandumokkal képződő Mn(II)-komplexek disszociációs kinetikai viselkedése nagymértékben függ a makrociklus merevségétől, valamint a makrociklusban megtalálható donoratomok minőségétől, és az oldalláncban található donoratomok kémiai minőségétől is.

**IV.1.2.1 táblázat:** A vizsgált Mn(II)-komplexekre jellemző sebességi állandók és disszociációra jellemző felezési idők (0,15 M NaCl, 25,0 °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> ) | $t_{1/2}$ (s)<br>0,1 M HCl | $t_{1/2}$ (óra)<br>pH=7,4<br>$c_M=10^{-5}$<br>M |
|-------------------------------------------|-----------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------|----------------------------|-------------------------------------------------|
| [Mn(PCA)] <sup>-</sup>                    | (7,0±0,1)×10 <sup>-2</sup> <sup>b</sup> | (8,2±0,7)×10 <sup>-2</sup> <sup>a</sup><br>(1,09±0,01)×10 <sup>-1</sup> <sup>b</sup> | (3,5±0,4)×10 <sup>2</sup> <sup>a</sup>   | 8,6                        | 5,9×10 <sup>4</sup>                             |
| [Mn(PC3AM <sup>H</sup> )] <sup>2+</sup>   | –                                       | (1,07±0,01)×10 <sup>-2</sup>                                                         | –                                        | 6,5×10 <sup>2</sup>        | 4,5×10 <sup>5</sup>                             |
| [Mn(PC3AM <sup>Gly</sup> )] <sup>-</sup>  | (3,4±0,2)×10 <sup>-4</sup> <sup>c</sup> | (1,64±0,02)×10 <sup>-2</sup> [c]                                                     | –                                        | 3,5×10 <sup>2</sup>        | i                                               |
| [Mn(PC3AM <sup>Pip</sup> )] <sup>2+</sup> | –                                       | (4,64±0,04)×10 <sup>-3</sup>                                                         | –                                        | 1,5×10 <sup>3</sup>        | 1,0×10 <sup>6</sup>                             |
| [Mn(DO3A)] <sup>-</sup>                   | –                                       | 0,45±0,03                                                                            | (3,2±0,3)×10 <sup>2</sup>                | 0,21                       | 1,1×10 <sup>4</sup>                             |
| [Mn(DO3AM <sup>H</sup> )] <sup>2+</sup>   | –                                       | 0,94±0,02                                                                            | –                                        | 7,4                        | 5,2×10 <sup>3</sup>                             |
| [Mn(DO3P)] <sup>4-</sup>                  | –                                       | (2,4±0,2)×10 <sup>5</sup>                                                            | (2,2±0,3)×10 <sup>14</sup>               | <sup>h</sup>               | 5,0×10 <sup>-4</sup>                            |
| [Mn(ODO3A)] <sup>-</sup> <sup>d</sup>     | –                                       | 27±2                                                                                 | (1,5±0,3)×10 <sup>5</sup>                | 2,8×10 <sup>-2</sup>       | 1,8×10 <sup>2</sup>                             |
| [Mn(DOTP)] <sup>6- c, j</sup>             | –                                       | (2,35±0,29)×10 <sup>5</sup>                                                          | (8,35±0,8)×10 <sup>14</sup>              | <sup>h</sup>               | 1,5×10 <sup>-4</sup>                            |
| [Mn(DOTAM)] <sup>2+ j</sup>               | –                                       | (1,6±0,03)×10 <sup>-2</sup>                                                          | –                                        | 4,3×10 <sup>2</sup>        | 3,0×10 <sup>5</sup>                             |
| [Mn(DOTMA)] <sup>2- f</sup>               | 1,04×10 <sup>-4</sup>                   | 3,96×10 <sup>-5</sup>                                                                | –                                        | 6,2×10 <sup>3</sup>        | i                                               |
| [Mn(DOTA)] <sup>2- g</sup>                | 1,8×10 <sup>-7</sup>                    | 0,04                                                                                 | 1,6×10 <sup>3</sup>                      | 4,3×10 <sup>-2</sup>       | 1,1×10 <sup>3</sup>                             |

<sup>a</sup> relaxometria, a kétmagvú közttermék ( $K_M$ ) stabilitási állandója 38±6 M<sup>-1</sup> és a fém-asszisztált ( $k_3$ ) útvonalra jellemző sebességi állandó (1,8±0,3)×10<sup>-6</sup> M<sup>-1</sup>s<sup>-1</sup>; <sup>b</sup> stopped-flow technika nagyon savas közegben (0,1 – 1,2 M [H<sup>+</sup>]), ahol a  $k_0$  a spontán és a  $k_1$  a proton-asszisztált disszociációra jellemző sebességi állandó az [Mn(HL)]-komplexnek; <sup>c</sup> a  $k_0$  a spontán és a  $k_1$  a proton-asszisztált disszociációra jellemző sebességi állandó az [Mn(H<sub>3</sub>L)]-komplexnek; <sup>d</sup> a  $K_1^H$  érték pH-potenciometriás titrálás alapján 600-ra volt rögzítve a számolás során; <sup>e</sup> ligandumcsere reakció DTPA ligandum alkalmazásával pH = 8 – 9,5 között, a protonált komplex stabilitása ( $K_1^H$ ) 2,0±0,4×10<sup>8</sup> és a  $K_H$  10<sup>8,06</sup>-ra volt rögzítve a számolások során; <sup>f</sup> Tircsó, Gy., Woods, M., (2019) közlésre előkészítve, 1,0 M KCl, ahol a  $k_0$  a spontán és a  $k_1$  pedig a proton-asszisztált disszociációra jellemző sebességi állandó az [Mn(H<sub>2</sub>L)]-komplex esetén; <sup>g</sup> Ref. 44 a [Mn(DOTA)Zn] kétmagvú komplex ( $K_M$ ) stabilitási állandója 68 M<sup>-1</sup> és a fém-asszisztált ( $k_3$ ) útvonalra jellemző sebességi állandó 1,5×10<sup>-5</sup> M<sup>-1</sup>s<sup>-1</sup>; <sup>h</sup> 0,1 M savkoncentráció mellett (ahol a [Mn(DO3P)]<sup>4-</sup> és [Mn(DOTP)]<sup>6-</sup>-komplexek többszörösen protonált formában vannak jelen és a disszociációjuk nagyon gyors), a felezési idő ( $t_{1/2}$ ) rendkívül rövid lenne és mivel a reakciókat nagy pH-n követtük (pH > 9,0), a sebességi állandók a teljesen deprotonált komplexre vonatkoznak; <sup>i</sup> a felezési időt ( $t_{1/2}$ ) nem számoltam, mivel a disszociációt erősen savas körülmények között vizsgáltuk, ahol a protonált komplex disszociációját követtük; <sup>j</sup> a kutatócsoportunkban korábban meghatározott adatok

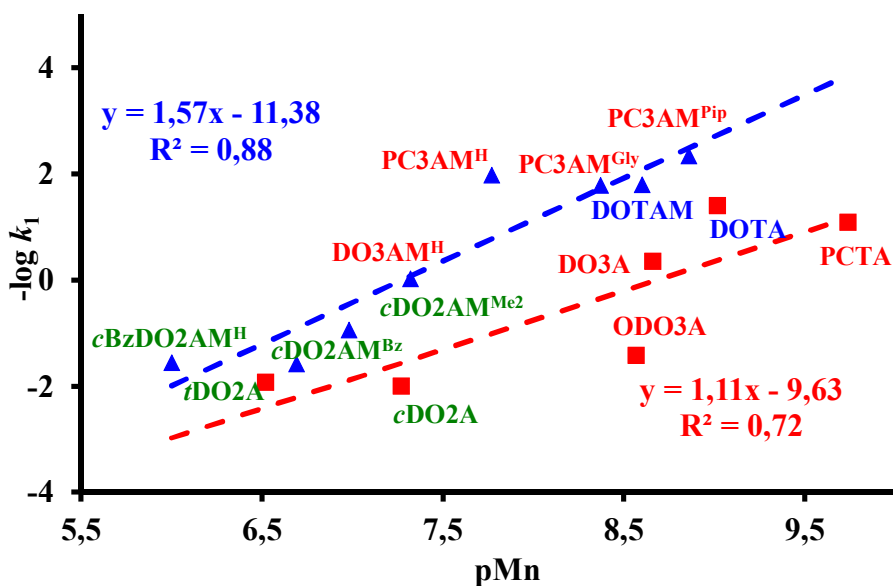
A vizsgált 12-tagú makrociklusos ligandumok tekintetében a komplexek proton-asszisztált disszociációra jellemző  $k_1$  sebességi állandók értékében nyolc nagyságrendnyi különbséget tapasztaltunk ( $2,4 \times 10^5 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$  a  $[\text{Mn}(\text{DO3P})]^{3-}$ , szemben a  $4,64 \times 10^{-3} \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$  a  $[\text{Mn}(\text{PC3AM}^{\text{Pip}})]^{2+}$ ), amely alátámasztja a makrociklusos „gerinc” és az oldalláncok megfelelő megválasztásának fontosságát a további ligandumok tervezése során. Amint az a IV.1.2.1 táblázatból kiderül, a makrociklusban található szekunder amincsoport ( $>\text{NH}$  csoport a DO3A ligandumban) helyettesítése éteres oxigén atommal ( $-\text{O}-$  csoport az ODO3A ligandumban) ötvenszeres növekedést eredményez megfelelő Mn(II)-komplex  $k_1$  értékében. Ez a tapasztalat azt sugallja, hogy ez a szerkezeti módosítás nem hasznos a Mn(II)-ion komplexálására alkalmas ligandumok tervezése során. Másrészt a szekunder amincsoport ( $>\text{NH}$  csoport) piridingyűrűbe történő „rögzítése” ötödére csökkenti a képződő Mn(II)-komplex  $k_1$  sebességi állandóját (DO3A vs. PCTA ligandum). Ha az oldalláncban lévő donoratomok minőségének szerepét vizsgáljuk, akkor látható, hogy az amid-származékok Mn(II)-komplexeinek nagyobb az inertsége, mint az acetát-, ill. foszfonátoldalláncokat tartalmazó komplexek esetében tapasztaltuk. Ez a viselkedés egyértelműen az amid-származék ligandumok kisebb bázicitásával magyarázható. Az amidcsoportok esetében gátolttá válik a protontraszfer az oldalláncokról a makrociklus N-atomjaira (ami elengedhetetlen a proton-asszisztált disszociációhoz), ami nagymértékben javítja az inertséget. Korábban kutatócsoportunkban már bizonyították<sup>109</sup>, hogy a karboxilátcsoportok foszfonátcsoporttal történő helyettesítése ugyanakkor megkönnyíti a komplexek protonálódását és a protontranszfert a makrociklus N-atomjára, mivel a foszfonátcsoport (savas oldatban) még akkor is képes protonálódásra, amikor a fémionhoz koordinálódik. A PCTA ligandum primer amid-származékának ( $\text{PC3AM}^{\text{H}}$ ) a Mn(II)-komplexe ugyanakkor jobb kinetikai

paraméterekkel rendelkeznek, mint azt a PCTA anyavegyület esetében tapasztaltuk, tehát a Gd(III)-komplexekhez<sup>110</sup> hasonlóan az acetátoldallancok primer amidcsoporttal való helyettesítése nagymértékű javulást eredményez a Mn(II)-komplexek kinetikai inertségében. Az inertség további javulása tapasztalható a tercier amid-származék (PC3AM<sup>Pip</sup> ligandum Mn(II)-komplexe) komplexek esetében. Az anionos [Mn(PC3AM<sup>Gly</sup>)]<sup>-</sup>-komplex esetében  $k_1 = 0,109 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ , míg a kationos komplexek (a PC3AM<sup>H</sup> és a PC3AM<sup>Pip</sup> ligandumok komplexei) esetében rendre  $k_1 = 0,0107 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$  és  $k_1 = 0,00464 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$  értékeket kaptunk. Ez a tendencia már ismert volt az irodalomban a DOTA-tetraamid Ln(III)-komplexek esetére.<sup>111,112</sup> A [Mn(PC3AM<sup>Gly</sup>)]<sup>-</sup>-komplex látszólagos (nagyobb  $k_1$  érték, azaz kisebb felezési idő) eltérést mutat ettől a tendenciától a ligandum oldalláncában megjelenő töltéssel rendelkező (és protonálható) csoport miatt. Ezzel szemben, a sztérikusan nagymértékben gátolt amid-komplex a [Mn(PC3AM<sup>Pip</sup>)]<sup>2+</sup> meglepően nagy inertséget mutat a [Mn(DOTA)]<sup>2-</sup>-komplexhez képest (IV.1.2.1 táblázat) annak ellenére, hogy a ligandum kisebb denticitással rendelkezik.

Az előzőleg említett eredmények világossá tették, hogy ha az amid-származékok Mn(II)-komplexei, ha nem is rendelkeznek olyan jó termodinamikai (és látszólagos) stabilitással, mint az acetát és foszfonát analógok, de kinetikai inertségük messze meghaladja azokét.

Megpróbáltunk összefüggést találni a disszociációs kinetikai paraméterek és a termodinamikai stabilitás (vagy a pMn értékek) között. Annak ellenére, hogy nem vártunk direkt összefüggést a termodinamikai és a kinetikai paraméterek között mégis felfedezhető egy lineáris összefüggés, ha a  $-\log k_1$  értékeket a pMn értékek függvényében ábrázoljuk (IV.1.2.4 ábra). Azonban ahhoz, hogy megfelelő korrelációs együttható ( $R^2$ ) értéket kapjunk az acetát- és az amid-származékokat érdemes külön kezelni. Meg kell említeni

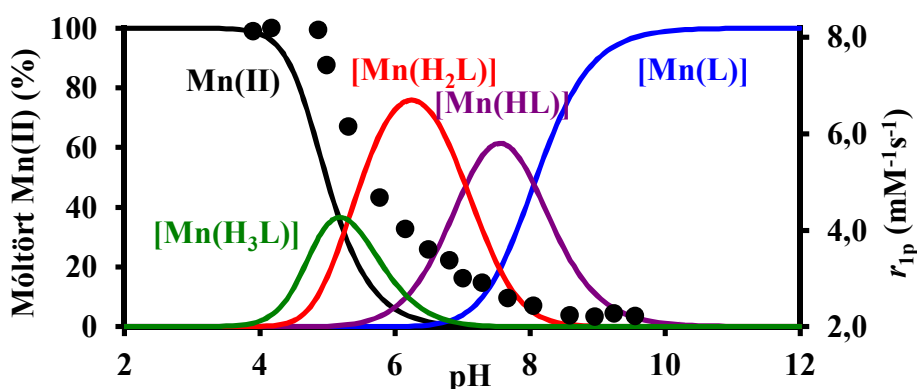
azonban, hogy ezáltal csak kevés adat áll rendelkezésünkre még úgy is, ha az irodalomban található kétszeresen<sup>83,113,114</sup> és négyszeresen helyettesített származékokra vonatkozó adatokat is figyelembe vesszük a vizsgált háromszorosan helyettesített származékok mellett. Az amid-származékok bázicitása elmarad az acetát-származékok megfelelő értékétől, éppen ezért az amid-származékok proton-asszisztált disszociációjára jellemző sebességi állandó értéke kisebb, ezáltal lassabban disszociálnak. Ezt támasztja alá az is, hogy az amidkomplexeire jellemző, a korrelációt leíró egyenes az acetátcsoportot tartalmazó komplexek adatai fölött fut (IV.1.2.4 ábra) és valamelyest nagyobb meredekséggel jellemezhető. Ezek alapján azon amid- származékok Mn(II)-komplexeitől, amelyek nagyobb termodinamikai (és látszólagos) stabilitással rendelkeznek, nagyobb kinetikai inertséget várhatunk.



IV.1.2.4 ábra: A 12-tagú makrociklusos ligandumok amid- (■ és piros szaggatott vonal) és acetát- (▲ és kék szaggatott vonal) származékainak  $-\log k_1$  ( $k_1$  a savkatalizált disszociációra jellemző sebességi állandó) értékeinek ábrázolása a pMn értékek függvényében. A kétszeresen helyettesített származékokat zöld, a háromszorosan helyettesített származékokat piros és a négyszeresen helyettesített ligandumok komplexeit kék színnel jelöltük az ábrán.

### IV.1.3 Háromszorosan helyettesített 12-tagú makrociklusos ligandumok Mn(II)-komplexeinek relaxometriás vizsgálata

A relaxivitás érték jellemzi a paramágneses fémionokat tartalmazó komplexek oldószer protonjainak relaxáció sebessége gyakorolt hatását egy adott térerőn és hőmérsékleten. Irodalmi adatok alapján az várható, hogy a hétfogú DO3A ligandummal képződő Mn(II)-komplexben nincs vízmolekula közvetlenül a fémionhoz koordinálódva ( $q = 0$ ), ezért a kis relaxivitás érték ( $r_{1p} = 1,30 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ ) kizárólag a második- és a külsősférás hozzájárulásából származik.<sup>81</sup> A vizsgált hétfogú 12-tagú makrociklusos ligandumok Mn(II)-komplexeinek relaxivitás értékét ( $r_{1p}$ ) a már korábban publikált hat-, hét- és nyolcfogú ligandumok értékeivel együtt a IV.1.3.1 táblázatban tüntettem fel. A  $[\text{Mn}(\text{ODO3A})]^-$ - és  $[\text{Mn}(\text{PCTA})]^-$ -komplexek relaxivitása is alig tér el a  $[\text{Mn}(\text{DO3A})]^-$ -komplex  $r_{1p}$  értékétől, ezért valószínűsíthető, hogy ezekben a kelátokban sem koordinálódik vízmolekula a fémionhoz. Ezt a feltételezésünket az is alátámasztja, hogy egykristály röntgenszerkezet alapján a PCTA ligandum *tris*-(etil)észter származékának Mn(II)-komplexében ( $[\text{Mn}(\text{PCTA-OEt}_3)]^{2+}$ ) a  $q = 0$ .<sup>115</sup>



IV.1.3.1 ábra: A  $[\text{Mn}(\text{DO3P})]^{4-}$ -komplexe számolt koncentráció eloszlási görbék (folytonos vonalak) és a rendszerre jellemző relaxivitás pH-függése (●) ( $I = 0,15 \text{ M NaCl}$ ,  $T = 25,0 \text{ }^\circ\text{C}$ ,  $0,49 \text{ T}$ )

Az amid-származék ligandumok Mn(II)-komplexei kisebb relaxivitást mutatnak a karboxilát-származékokhoz képest, amely csökkenés a kisebb mértékű második- és külsősférás hozzájárulás eredménye. Ezzel szemben a  $[\text{Mn}(\text{DOTP})]^{6-}$ - és  $[\text{Mn}(\text{DO3P})]^{4-}$ -komplekek relaxitása a megnövekedett második és külső sférás hozzájárulás eredményeként kismértékű növekedést mutat a pH = 10 - 11, ill. a 8,5 - 9,3 tartományban, ahol döntő többségben a deprotonált komplex van jelen az oldatban. Ennél kisebb pH-n a foszfonátcsoportok protonálódnak, ami további relaxitás növekedést eredményez (a  $[\text{Gd}(\text{DOTP})]^{5-}$ -komplexnél már tapasztalták ezt a viselkedést<sup>116</sup>) a  $[\text{Mn}(\text{DO3P})]^{4-}$ -komplex esetén 2,60 - 2,90  $\text{mM}^{-1}\text{s}^{-1}$  pH = 7,4 körül (IV.1.3.1 ábra).

**IV.1.3.1 táblázat:** A vizsgált és összehasonlítási alapként szolgáló Mn(II)-komplekek relaxitás értékei (0,49 T, 25,0 °C és pH = 7,4)

| Komplex                                       | $r_{1p}$ ( $\text{mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ ) | Komplex                                                                                    | $r_{1p}$ ( $\text{mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ ) |
|-----------------------------------------------|--------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------|
| $[\text{Mn}(\text{PCTA})]^{-}$                | 1,50                                       | $[\text{Mn}(\text{ODO3A})]^{-}$                                                            | 1,40                                       |
| $[\text{Mn}(\text{PC3AM}^{\text{H}})]^{2+}$   | 1,21                                       | $[\text{Mn}(\text{AAZTA})]^{2- \text{c}}$                                                  | 1,60 <sup>d</sup>                          |
| $[\text{Mn}(\text{PC3AM}^{\text{Gly}})]^{-}$  | 1,44                                       | $[\text{Mn}(\text{DOTP})]^{6-}$                                                            | 2,37 <sup>e</sup>                          |
| $[\text{Mn}(\text{PC3AM}^{\text{Pip}})]^{2+}$ | 1,28                                       | $[\text{Mn}(\text{DOTAM})]^{2+}$                                                           | 1,11; 0,96 <sup>f</sup>                    |
| $[\text{Mn}(\text{DO3A})]^{-}$                | 1,18-1,31; 1,30 <sup>a</sup>               | $[\text{Mn}(\text{DOTMA})]^{2-}$<br>/ $[\text{Mn}(\text{H}_2\text{DOTMA})]$<br>( $q = 0$ ) | 1,76/2,98 <sup>g</sup>                     |
| $[\text{Mn}(\text{DO3AM}^{\text{H}})]^{2+}$   | 1,33                                       | $[\text{Mn}(\text{DOTA})]^{2-}$<br>/ $[\text{Mn}(\text{H}_2\text{DOTA})]$ ( $q = 0$ )      | 1,25/3,20 <sup>f</sup>                     |
| $[\text{Mn}(\text{DO3P})]^{4-}$               | 2,23 <sup>b</sup>                          | $[\text{Mn}(\text{trans-DO2A})]$                                                           | 1,50 <sup>a</sup>                          |

<sup>a</sup> Ref. 81; <sup>b</sup> a pH = 8,5 – 9,3 tartományból határoztuk meg, ahol főleg az ML összetételű komplex van jelen az oldatban; <sup>c</sup> AAZTA= 1,4-bisz-(acetát)-6-[bisz-(acetát)]-amino-6-metilperhidro-1,4-diazepin vagy 6-amino-6-metilperhidro-1,4-diazepin tetraecetsav; <sup>d</sup> Ref. 92; <sup>e</sup> a pH = 10,0 - 11,0 tartományban mért adatok segítségével határoztuk meg, ahol főleg az ML összetételű komplex van jelen az oldatban; <sup>f</sup> Ref. 79, 0,49 T és 37 °C; <sup>g</sup> Tircsó, Gy., Woods, M., (2019) közlésre előkészítve

Hasonló viselkedés figyelhető meg (3,20  $\text{mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ -ra 0,49 T és 37 °C) a  $[\text{Mn}(\text{DOTA})]^{2-}$ -komplex esetén is kis pH-n, ahol a termodinamikailag stabil kétszeresen protonált komplex ( $[\text{Mn}(\text{H}_2\text{DOTA})]$ ) van jelen az oldatban. A

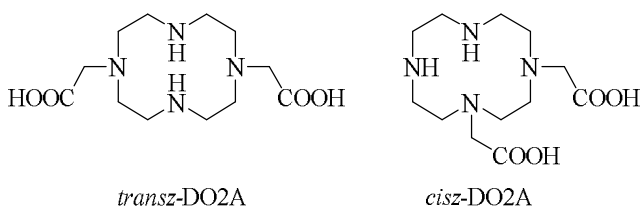
[Mn(H<sub>2</sub>DOTA)]-komplex röntgenkristallográfiás adatai alapján a két *transz* helyzetű karboxilát protonálódik, azaz a koordinációs környezet a fémion körül hasonló ahhoz, mint amit a [Mn(*transz*-DO2A)]-komplekxre DFT számolásokkal igazoltak és a komplexben nem koordinálódik vízmolekula a fémionhoz ( $q = 0$ ).<sup>79,81</sup> Így a kétszeresen protonált [Mn(H<sub>2</sub>DOTA)]- és [Mn(H<sub>2</sub>DOTMA)]-komplekxek esetén azt várnánk, hogy a relaxivitás érték hasonló a [Mn(*transz*-DO2A)]-komplex értékéhez (ahol a  $q = 0$ ). Ezzel szemben az irodalmi, és az általunk kapott relaxivitás értékek (IV.1.3.1 táblázat) sokkal nagyobbak, ami a protonált karboxilátcsoportok hozzájárulásával magyarázható és rámutat a prototóp cserére, mint hasznos eszközre a paramágneses komplexek relaxációs paramétereinek finombeállításához. Egyes foszfonát-származék ligandumok Gd(III)-komplexei esetén (pl. [(Gd(DOTP))<sup>5-</sup>- és [Gd(DOTA-4Amp)]<sup>-</sup>-komplekxek) hasonló relaxivitás növelő hatást tulajdonítottak a prototóp cserének.<sup>117,118</sup>

## IV.2 DO2A-származék ligandumok és Mn(II)-komplexeinek fizikai-kémiai jellemzése

Az előző fejezetben tárgyalt eredmények alapján nyilvánvaló, hogy a megfelelő relaxációs hatás elérését (ami az MRI kontrasztanyagként való alkalmazás egyik kulcskérdése) az oldalláncok számának további csökkentésével (a DO3A ligandumhoz képest) kell/lehet megoldani. Ezt azonban csak úgy lehet megtenni, hogy mindeközben az MRI alkalmazás szempontjából elengedhetetlen, szigorú követelmények (pl. termodinamikai és redoxi stabilitás, inertség stb.) ne sérüljenek jelentősen. Ez rámutat a feladat nehézségére, ami olykor az ellentmondásos követelmények (a ligandumok nagy denticitása és bázikus donoratomok megléte a stabilis komplexek keletkezése érdekében, ami szemben áll a ligandum kisebb denticitásával a

koordinált vízmolekula meglétéért) közötti egyensúly megteremtését várja el a kutatóktól.

A DO3A-tól tovább haladva a DO2A-származékokig jutunk, ami azonban két szerkezeti izomer ligandumot jelent. Ezen ismeretek alapján két darab kétszeresen helyettesített ciklén-származék ligandum, a *transz*-DO2A és *cisz*-DO2A (1,4,7,10-tetraazaciklododekán-1,7- (vagy 1,4) diacetát) (IV.2.1 ábra) vizsgálatát tűztük ki célul és végeztük el.



A *transz*-DO2A<sup>119</sup> és a *cisz*-DO2A<sup>120</sup> ligandumok szintézise az irodalomban már leírt módon történt. A *transz*-DO2A és *cisz*-DO2A ligandumok Mn(II)-komplexeinek az <sup>1</sup>H-, <sup>17</sup>O-NMR relaxometriás vizsgálatát és az elméleti számolásokat már korábban szintén publikálták.<sup>81</sup>

#### IV.2.1 *Cisz- és transz-DO2A ligandumok és Mn(II)-komplexeik egyensúlyi vizsgálata*

A DO2A ligandum két izomer formájának, a *transz*-DO2A és *cisz*-DO2A ligandum Mn(II)-komplexeinek egyensúlyi vizsgálata különösen fontos, mivel ezek a ligandumok hat egyforma donoratommal (4N és 2O) rendelkeznek, de különböző koordinációs környezetet biztosítanak a Mn(II)-ion számára.<sup>81</sup> Mint ismeretes, a DOTA, a DO3A és származékaik Mn(II)-ionnal képződő komplexei hasonló stabilitással rendelkeznek (IV.1.1.1 táblázat), mivel ezen ligandumok és a képződő komplexek szerkezete is

hasonló, valamint a ligandumban található donoratomok száma is meghaladja a Mn(II)-ion koordinációs számát ( $CN = 6 - 7$ ). Azonban a *transz*-DO2A és a *cisz*-DO2A ligandumok csak hat donoratommal rendelkeznek, ami összemérhető a Mn(II)-ion komplexeiben leggyakrabban előforduló koordinációs számmal.<sup>121</sup> Ezek alapján várható, hogy a két izomer esetén kialakuló komplexekben a ligandum eltérő koordinációs módja befolyásolja majd a komplexek stabilitási állandóinak értékeit.

**IV.2.1.1 táblázat:** A vizsgált és a NOTA, DOTA ligandumok protonálódási állandói, valamint a Mn(II)-komplexek protonálódási és stabilitási állandói, ill. pMn értékei (25,0 °C és 0,15 M NaCl)

|                           | <i>cisz</i> -DO2A |                                        | <i>transz</i> -DO2A |                                        | H <sub>3</sub> NOTA <sup>b</sup> | H <sub>4</sub> DOTA <sup>c</sup> |
|---------------------------|-------------------|----------------------------------------|---------------------|----------------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|
| I                         | 0,15 M NaCl       | 0,1 M Me <sub>4</sub> NCl <sup>a</sup> | 0,15 M NaCl         | 0,1 M Me <sub>4</sub> NCl <sup>a</sup> | 0,1 M Me <sub>4</sub> NCl        | 0,1 M KCl                        |
| log $K_1^H$               | 11,44(2)          | 11,07                                  | 11,69(1)            | 11,29                                  | 13,17                            | 11,41                            |
| log $K_2^H$               | 9,51(5)           | 9,76                                   | 9,75(3)             | 9,84                                   | 5,74                             | 9,83                             |
| log $K_3^H$               | 4,14(6)           | 3,84                                   | 3,97(5)             | 3,97                                   | 3,22                             | 4,38                             |
| log $K_4^H$               | 1,55(6)           | 1,75                                   | 2,68(4)             | 2,59                                   | 1,96                             | 4,63                             |
| log $K_5^H$               | –                 | –                                      | –                   | –                                      | –                                | 1,92                             |
| log $K_6^H$               | –                 | –                                      | –                   | –                                      | –                                | 1,58                             |
| $\sum_{i=1}^6 \log K_i^H$ | <b>26,64</b>      | <b>26,42</b>                           | <b>28,09</b>        | <b>27,69</b>                           | <b>24,09</b>                     | <b>33,75</b>                     |
| log $K_{MnL}$             | 15,68(1)          | 16,13                                  | 14,64(1)            | 14,54                                  | 16,30                            | 19,44                            |
| log $K_{MnL}^H$           | 4,15(2)           | <sup>d</sup>                           | 4,40(8)             | 4,25 <sup>d</sup>                      | 2,87                             | 3,96 <sup>d</sup>                |
| pMn                       | <b>7,27</b>       | <b>7,41</b>                            | <b>6,52</b>         | <b>6,60</b>                            | <b>7,75</b>                      | <b>9,02</b>                      |

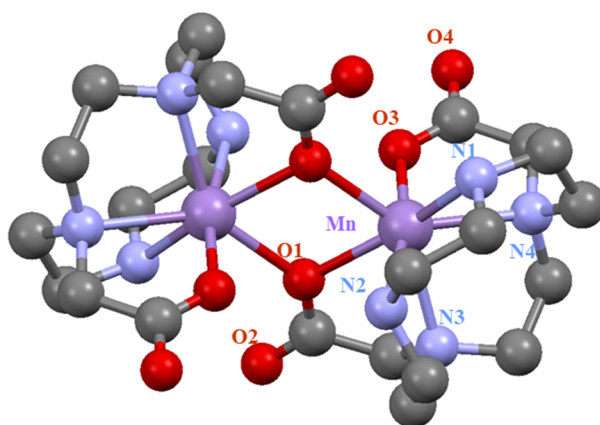
<sup>a</sup> Ref. 122; <sup>b</sup> Ref. 75; <sup>c</sup> Ref. 99, 0,1 M KCl; <sup>d</sup> További egyensúlyi adatok a [Mn(*cisz*-DO2A)]-komplexe: log  $\beta_{MnH2L}$ : 8,31 és [Mn(*transz*-DO2A)]: log  $K_{MnH2L}$ : 4,45, Ref. 122, vagy: log  $K_{MnH2L}$ : 4,01, Ref. 123 és [Mn(DOTA)]<sup>2-</sup>: log  $K_{MnH2L}$ : 3,70, Ref. 99

A ligandumok protonálódási állandóit 0,15 M NaCl ionerősség mellett, 25,0 °C-on határoztuk meg (az állandókat a III.1.1 egyenlettel fejezhetjük ki) pH-potenciometriás technikával. A kapott protonálódási állandókat a IV.2.1.1 táblázatban összegeztem, ahol zárójelben az egyes állandókra kapott standard

deviáció értékeket tüntettem fel. A DOTA és a NOTA ligandum megfelelő adatait összehasonlítási céllal ugyancsak feltüntettem.

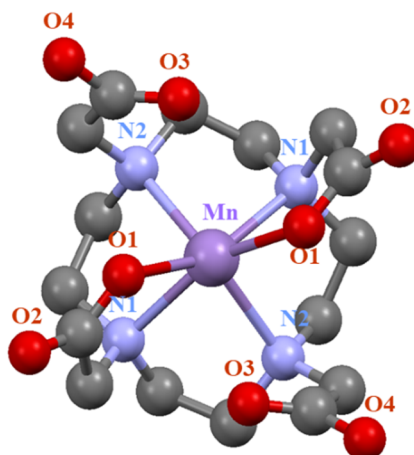
Az egyensúlyi állandók értékeit az 1:1 fém-ligandum arányú titrálási görbék illesztésével nyertük. Mindkét izomer forma esetén  $[\text{Mn}(\text{L})]$  és  $[\text{Mn}(\text{HL})]$  asszociátumok képződésével sikerült legjobban leírunk a titrálási görbéket, melyeket a III.1.3 egyenlet szerint definiáltunk. A *cisz*-DO2A ligandum esetén Bianchi és mtsai. által javasolt<sup>122</sup> vegyes hidroxidokomplex létezését nem sikerült igazolnunk, ami jó összhangban van G. A. Rolla és mtsai. által mért relaxometriás titrálási görbékkel.<sup>81</sup> A IV.2.1.1 táblázatban található adatok irodalmi értékekkel történő összehasonlítása egyértelműen jelzi, hogy a protonálódási állandók függetlenek az ionerősségként használt elektrolit minőségétől (NaCl vagy  $\text{Me}_4\text{NCl}$ ), ami arra utal, hogy a kölcsönhatás a  $\text{Na}^+$ -ion és a vizsgált ligandumok között meglehetősen gyenge (ezt alátámasztja az a tapasztalat is, hogy a DO3A  $\text{Na}^+$ -komplexének a stabilitása is lényegesen kisebb, mint azt a  $[\text{Na}(\text{DOTA})]^{3-}$ -komplex esetében tapasztalták). A DO2A-származékokkal képződő Mn(II)-komplexek stabilitási és protonálódási állandóit, valamint a  $[\text{Mn}(\text{NOTA})]^-$ - és a  $[\text{Mn}(\text{DOTA})]^{2-}$ -komplexek megfelelő állandóit is a IV.2.1.1 táblázatban tüntettem fel. A felsoroltak közül a legnagyobb stabilitási állandóval a  $[\text{Mn}(\text{DOTA})]^{2-}$ -komplex rendelkezik, amely négy nagyságrenddel nagyobb a  $[\text{Mn}(\text{transz-DO2A})]$ - és a  $[\text{Mn}(\text{cisz-DO2A})]$ -komplexekre jellemző értéknél. A  $[\text{Mn}(\text{cisz-DO2A})]$ -komplex stabilitási állandója egy log egységgel adódott nagyobb, mint a *transz*-származék értéke és kis pH-n mind a két komplex esetén protonált részecske képződését is feltételeznünk kellett a titrálási adatok kielégítő leírásához. A protonálódás mindkét komplex esetén valószínűleg az egyik acetát oldallánc karboxilátcsoportján következik be. Összeségében a kapott  $\log K_{\text{MnL}}$  értékek jó egyezést mutatnak az irodalomban található adatokkal, melyet Bianchi és mtsai. közöltek  $\text{Me}_4\text{NCl}$  ionerősség alkalmazása

esetén (IV.2.1.1 táblázat). Amint az a feltüntetett (IV.2.1.1 táblázat) pMn értékek alapján látható, a *cisz*-DO2A komplex látszólagos stabilitása minden körülmény között nagyobbak bizonyul, mint a *transz*-izomer esetén számolt érték. DFT számítások alapján a  $[\text{Mn}(\text{transz-DO2A})]$ - és a  $[\text{Mn}(\text{cis-DO2A})]$ -komplexek koordinációs környezete trigonális hasáb, míg a  $[\text{Mn}(\text{cis-DO2A})(\text{H}_2\text{O})]$ -komplex esetében a vízmolekula fedő pozícióban helyezkedik el, egyszeresen fedett trigonális prizma szerkezetet eredményezve.<sup>81</sup> A *cisz*-származék röntgenszerkezete alapján látható (IV.2.1.1 ábra), hogy szilárd formában a komplex dimer, melyben a fedő pozícióban a szomszédos komplex karboxilát oxigénatomja (O1) helyezkedik el (a komplex szilárd formában nem tartalmaz koordinálódó vízmolekulát).<sup>122</sup>



**IV.2.1.1 ábra:** A *cisz*-DO2A Mn(II)-ionnal képződő komplexének ( $[\text{MnL}]_2 \cdot 2\text{CH}_3\text{OH}$ ) röntgendiffrakciós szerkezete (a hidrogén atomokat a jobb áttekinthetőség miatt nem tüntettük fel)<sup>122</sup>

A  $[\text{Mn}(\text{transz-DO2A})]$ -komplex röntgenszerkezete nem ismert, de a sajátságai és DFT számítások eredményei alapján felételezhetjük, hogy hasonló koordinációs mód valósul meg, mint azt a kétszeresen protonált  $[\text{Mn}(\text{H}_2\text{DOTA})]$ -komplex esetében Wang és Westmoreland 2009-ben tapasztalták (IV.2.1.2 ábra).<sup>79</sup>



**IV.2.1.2 ábra:** A  $[\text{Mn}(\text{H}_2\text{DOTA})]$ -komplex röntgendiffrakciós szerkezete (a hidrogén atomokat a jobb áttekinthetőség kedvéért nem tüntettük fel)<sup>79</sup>

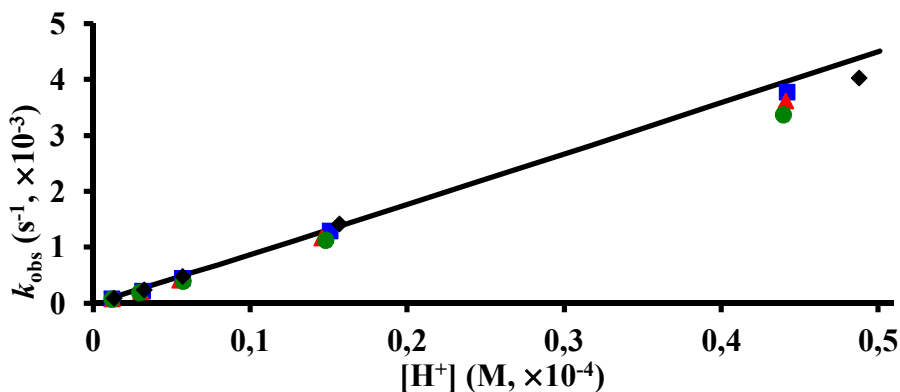
#### **IV.2.2 A $[\text{Mn}(\text{transz-DO2A})]$ - és a $[\text{Mn}(\text{cisz-DO2A})]$ -komplexek disszociációs kinetikai vizsgálata**

A fémkomplexek disszociációs kinetikai viselkedésének *in vitro* tanulmányozása segíthet megérteni a komplexek fiziológias körülmények közötti viselkedését. A nyíltláncú ligandumok közül a *transz*-CDTA ligandum és származékai képeznek viszonylag inert Mn(II)-komplexekeket ( $t_{1/2}[\text{Mn}(\text{CDTA})]^{2-} = 12$  és  $15$  óra).<sup>22, 124</sup>

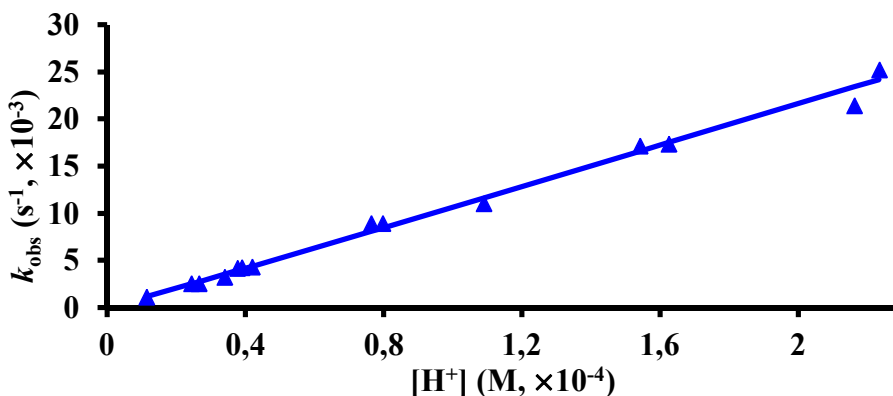
A  $[\text{Mn}(\text{transz-DO2A})]$ - és  $[\text{Mn}(\text{cisz-DO2A})]$ -komplexek kinetikai inertségéről információt fémcseré-reakciók tanulmányozásán keresztül gyűjtöttünk, ahol a kicserélő fémionok Cu(II)- és Zn(II)-ionok voltak. Ennek során a komplexek és a kicserélő fémionok között lejátszódó kicserélődési reakciók sebességét <sup>1</sup>H-NMR relaxometriás és UV-látható spektrofotometriás technikával vizsgáltuk. A pseudo-elsőrendű körülmények biztosítása végett ezeket a fémcseré reakciókat nagy kicserélő fémion koncentráció és  $0,15$  M NaCl ionerősség biztosítása mellett követtük pH =  $3,0 - 6,0$  között. A fémcseré reakció egyszerűsített sémáját a III.2.1 egyenlettel írhatjuk le, míg a pseudo-

elsőrendű körülmények között a disszociáció sebességét a III.2.3 egyenlettel fejezhetjük ki.

A  $[\text{Mn}(\text{transz-DO2A})]$ - és  $[\text{Mn}(\text{cisz-DO2A})]$ -komplexek fémcsere reakciói során kapott  $k_{\text{obs}}$  sebességi állandók  $\text{H}^+$ - és  $\text{Cu(II)}$ -ion koncentrációjától való függését a IV.2.2.1 és a IV.2.2.2 ábrákon láthatjuk. A  $[\text{Mn}(\text{transz-DO2A})]$ -komplex disszociációjára jellemző  $k_{\text{obs}}$  értékek nőnek a  $[\text{H}^+]$  növekedésével, de nem mutatnak függést a kicserélő fémion koncentrációjának változásától. Tehát a fémcsere reakciók a deprotonált komplex spontán disszociációja ( $k_0$ ) és/vagy a proton-asszisztált ( $k_{\text{H}}$ ,  $k_{\text{H}}^{\text{H}}$ ) útvonalak révén mehet végbe (IV.1.2.1 ábra), amely disszociációs reakciókat a szabad ligandum és a kicserélő fémion között lejátszódó pillanatszerű reakció követi.



**IV.2.2.1 ábra:** A  $[\text{Mn}(\text{transz-DO2A})]$ -komplex pszeudo-elsőrendű sebességi állandói a  $\text{Zn(II)}$ - és  $\text{H}^+$ -ion koncentráció függvényében ( $[\text{MnL}] = 2,0 \text{ mM}$ ;  $\blacklozenge$ 10x,  $\blacksquare$ 20x,  $\blacktriangle$ 30x,  $\bullet$ 40x  $\text{Zn(II)}$ -ion felesleg, 0,05 M DMP vagy NEP puffer, 0,15 M NaCl és 25 °C)



**IV.2.2.2 ábra:** A  $[\text{Mn}(\text{cisz-DO2A})]$ -komplex pszeudo-elsőrendű sebességi állandói a  $\text{Cu(II)}$ - és  $\text{H}^+$ -ion koncentráció függvényében ( $[\text{MnL}] = 0,5 \text{ mM}$ ;  $[\text{Cu(II)}] = 8,0 \text{ mM}$ ,  $0,05 \text{ M}$  DMP puffer,  $0,15 \text{ M}$  NaCl és  $25 \text{ }^\circ\text{C}$ )

Figyelembe véve az alkalmazott körülmények között a lehetséges útvonalakat a  $[\text{Mn}(\text{transz-DO2A})]$ - és  $[\text{Mn}(\text{cisz-DO2A})]$ -komplexek fémcsere reakcióinak sebességét a IV.2.2.1 egyenlettel adhatjuk meg, ahol az  $[\text{Mn(HL)}]$  a protonált, míg az  $[\text{Mn(H}_2\text{L)}]$  a kétszerprotonált komplex koncentrációját jelöli:

$$-\frac{[\text{MnL}]_{\text{tot}}}{dt} = k_0[\text{MnL}] + k_{\text{H}}[\text{Mn(HL)}] + k_{\text{H}}^{\text{H}}[\text{Mn(H}_2\text{L)}] \quad (\text{IV. 2.2.1})$$

A komplexfélésegek teljes koncentrációját a  $[\text{MnL}]_{\text{tot}} = [\text{MnL}] + [\text{Mn(HL)}] + [\text{Mn(H}_2\text{L)}]$  egyenlet adja meg. A protonálódási állandók figyelembevételével a következő az illesztések során használt egyenlethez jutunk:

$$k_{\text{obs}} = \frac{k_0 + k_1[\text{H}^+] + k_2[\text{H}^+]^2}{1 + K_{\text{H}}[\text{H}^+] + K_{\text{H}}K_{\text{H}_2}[\text{H}^+]^2} \quad (\text{IV. 2.2.2})$$

ahol, a  $k_0$ ,  $k_1 = k^{\text{H}} \times K_{\text{H}}$  és  $k_2 = k_{\text{H}}^{\text{H}} \times K_{\text{H}} \times K_{\text{H}_2}$  sebességi állandók rendre a  $[\text{Mn}(\text{transz-DO2A})]$ - és  $[\text{Mn}(\text{cisz-DO2A})]$ -komplexek spontán és proton-

asszisztált disszociációjára jellemző sebességi állandókat jelölik. Felhasználva a IV.2.1.1 táblázatban található protonálódási állandókat (rögzítettük a számolások során), a kapott  $k_{\text{obs}}$  értékeket a IV.2.2.2 egyenletre illesztve kiszámoltuk az egyes utakra jellemző sebességi állandók értékeit. Felhasználva ezen adatokat a fiziológiához közeli körülmények közötti disszociációra jellemző felezési időket számoltunk, amelyeket a  $[\text{Mn}(\text{NOTA})]^-$  és  $[\text{Mn}(\text{DOTA})]^{2-}$ -komplexek megfelelő értékeivel együtt a IV.2.2.1 táblázatban tüntettem fel.

**IV.2.2.1 táblázat:** A  $[\text{Mn}(\text{transz-DO2A})]^-$ ,  $[\text{Mn}(\text{cisz-DO2A})]^-$ ,  $[\text{Mn}(\text{NOTA})]^-$  és  $[\text{Mn}(\text{DOTA})]^{2-}$ -komplexek disszociációjára jellemző sebességi állandók, és a felezési idők ( $\text{pH} = 6,0$  és  $7,4$ ,  $T = 25,0^\circ\text{C}$ )

|                                                          | $[\text{Mn}(\text{cisz-DO2A})]$ | $[\text{Mn}(\text{transz-DO2A})]$ | $[\text{Mn}(\text{NOTA})]^{-\text{a}}$ | $[\text{Mn}(\text{DOTA})]^{2-\text{a}}$ |
|----------------------------------------------------------|---------------------------------|-----------------------------------|----------------------------------------|-----------------------------------------|
| <b>I</b>                                                 | <b>0,15 M NaCl</b>              | <b>0,15 M NaCl</b>                | <b>0,10 M KCl</b>                      | <b>0,10 M KCl</b>                       |
| $k_0 \text{ (s}^{-1}\text{)}$                            | -                               | -                                 | $2,6 \times 10^{-6}$                   | $1,8 \times 10^{-7}$                    |
| $k_1 \text{ (M}^{-1}\text{s}^{-1}\text{)}$               | $100 \pm 4$                     | $85 \pm 3$                        | 0,78                                   | 0,04                                    |
| $k_2 \text{ (M}^{-2}\text{s}^{-1}\text{)}$               | $(1,6 \pm 0,1) \times 10^6$     | $(3,0 \pm 0,1) \times 10^6$       | -                                      | $1,6 \times 10^3$                       |
| $k_3 \text{ (M}^{-1}\text{s}^{-1}\text{)}$               | -                               | -                                 | $1,1 \times 10^{-5}$                   | $1,5 \times 10^{-5}$                    |
| $k_{\text{obs}}^{\text{pH}=7,4} \text{ (s}^{-1}\text{)}$ | $4,0 \times 10^{-6}$            | $3,4 \times 10^{-6}$              | $2,6 \times 10^{-6}$                   | $1,8 \times 10^{-7}$                    |
| $t_{1/2}^{\text{pH}=7,4} \text{ (h)}$                    | <b>48,3</b>                     | <b>56,8</b>                       | <b>74</b>                              | <b>1037</b>                             |
| $k_{\text{obs}}^{\text{pH}=6,0} \text{ (s}^{-1}\text{)}$ | $1,0 \times 10^{-4}$            | $8,8 \times 10^{-5}$              | $3,3 \times 10^{-6}$                   | $2,2 \times 10^{-7}$                    |
| $t_{1/2}^{\text{pH}=6,0} \text{ (h)}$                    | <b>1,9</b>                      | <b>2,2</b>                        | <b>58</b>                              | <b>869</b>                              |

<sup>a</sup> Ref. 44, A  $[\text{Mn}(\text{NOTA})]^-$  és  $[\text{Mn}(\text{DOTA})]^{2-}$ -komplexek esetén rendre a következő:  $K_{\text{MnLZn}} = 3,6$  és  $68$

Az illesztések során a  $k_0$  értékre vagy negatív értéket kaptunk vagy a számadatok értéke összemérhető volt azok hibáival. Ez arra enged következtetni, hogy a vizsgálat során alkalmazott körülmények között a komplexek döntően proton-asszisztált úton disszociálnak és spontán disszociációjuk elhanyagolható. Ez a felismerés némiképp váratlan volt, mivel a  $[\text{Mn}(\text{NOTA})]^-$  és  $[\text{Mn}(\text{DOTA})]^{2-}$ -komplexek disszociációja során szerepe

van a spontán disszociációnak is (sőt a  $\text{pH} = 7,4$ -re extrapolált felezési idők számításakor komoly hozzájárulása van az adott útvonalnak). A  $K_{\text{H}_2}$  kétszer protonált komplexre jellemző stabilitási állandó értékét nem sikerült meghatároznunk sem a pH-potenciometriából, sem a kinetika vizsgálatokból származó adatok illesztése során.

A  $[\text{Mn}(\text{transz-DO}_2\text{A})]^-$  és  $[\text{Mn}(\text{cisz-DO}_2\text{A})]^-$ -komplexe proton-asszisztált disszociációjára jellemző sebességi állandói ( $k_1$ ) nagyságrendekkel nagyobbak bizonyultak a  $[\text{Mn}(\text{NOTA})]^-$  és a  $[\text{Mn}(\text{DOTA})]^{2-}$ -komplexe megfelelő értékeinél. Ez a proton-asszisztált folyamat nagy valószínűséggel az egyik oldallánc donoratomján történő protonálódással indul, majd egy protontranszfert követően a proton a gyűrű nitrogénre kerül, amely elektrosztatikus taszítást eredményez a gyűrű üregében található Mn(II)-ionnal szemben és az utóbbi felszabadulását eredményezi. A vizsgált komplexek proton-asszisztált disszociációja a  $[\text{Mn}(\text{NOTA})]^-$  és  $[\text{Mn}(\text{DOTA})]^{2-}$ -komplexeiéhez hasonlóan játszódhat egy kétszeresen protonált köztitermék képződésén keresztül, amely folyamat a  $k_2$  másodrendű sebességi állandóval jellemezhető. A vizsgált Mn(II)-komplexekre jellemző  $k_2$  sebességi állandók három nagyságrenddel nagyobbak bizonyultak, mint a  $[\text{Mn}(\text{DOTA})]^{2-}$ -komplex megfelelő állandója, amely gyors protontranszferre utal a második protonált oldallánc és a gyűrű nitrogénatomja között.

Általában a fémion közvetlen támadásával játszódó disszociáció a nyíltláncú Gd(III)- és Mn(II)-komplexe esetén jelentősebb szerephez jut, mint az a makrociklusos komplexek esetén tapasztalható.<sup>22,44,108,125,126</sup> A legtöbb nyíltláncú Mn(II)-komplex esetén a fém-asszisztált disszociáció egy  $[\text{Mn}(\text{L})\text{M}]$  kétmagvú köztitermék képződésén keresztül játszódik le, ahol a Mn(II)-ionhoz koordinálódó donoratomok több egymást követő lépéses (konszekutív) folyamatban átvándorolnak a belépő vagy kicserélő fémionhoz. A makrociklusos  $[\text{Mn}(\text{NOTA})]^-$  és  $[\text{Mn}(\text{DOTA})]^{2-}$ -komplexe disszociációja

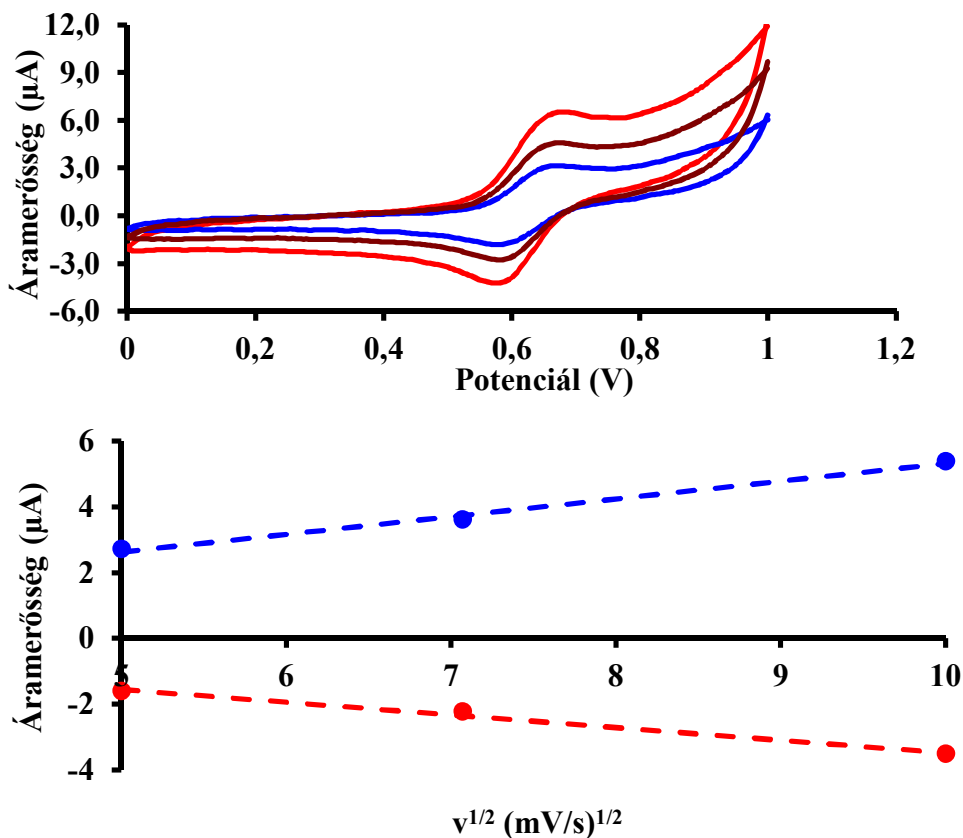
viszont lejátszódhat fém-asszisztált útvonalon is egy kétmagvú (például  $[\text{Mn}(\text{DOTA})\text{Zn}]$ ) köztitermék keletkezése közben. Ez azért lehetséges, mert a NOTA, de leginkább a DOTA rendelkezik olyan oldalláncokkal, amelyek nem, vagy csak gyengén koordinálódnak a  $\text{Mn(II)}$ -ionhoz ( $\text{CN} = 6$  vagy  $7$ ).<sup>44</sup> Mivel azonban a donoratomok lépcsőzetes vándorlása a  $\text{Mn(II)}$ -iontól a kicserélő fémionhoz a DOTA és NOTA ligandum merev szerkezete miatt gátolt, így az adott disszociációs útvonal hozzájárulása a teljes bomlási reakcióhoz viszonylag kismértékű marad. A vizsgált komplexek esetén már számolni sem tudtuk a  $k_3$  fém-asszisztált útvonalra jellemző sebességi állandót, valamint a  $K_M$  kétmagvú köztitermékre jellemző stabilitási állandó értékét, ami egyértelműen a vegyes kétmagvú köztitermék hiányára utal ezekben a rendszerekben.

A komplexek kinetikai inertségét legegyszerűbben az adott körülmények között érvényes, a kapott sebességi és protonálódási és/vagy stabilitási állandók felhasználásával számolt, a disszociációra jellemző felezési idők ( $t_{1/2}$ ) alapján hasonlíthatjuk össze. Ezért a IV.2.2.1 táblázatban feltüntetett komplexek disszociációra jellemző felezési idejét  $\text{pH} = 7,4$ , valamint  $\text{pH} = 6,0$  értéknél is kiszámoltuk, mivel ismert, hogy a vizeletkiválasztó szervrendszer  $\text{pH}$ -értéke jelentősen kisebb ( $\text{pH} = 5,5 - 6,5$ ), mint a vérérszék  $\text{pH}$ -értéke. A disszociációra jellemző felezési idők alapján (IV.2.2.1 táblázatban) a komplexek inertsége a következő sorrendben változik:  $[\text{Mn}(\text{DOTA})]^{2-} > [\text{Mn}(\text{NOTA})]^- > [\text{Mn}(\text{transz-DO2A})] > [\text{Mn}(\text{cisz-DO2A})]$ .

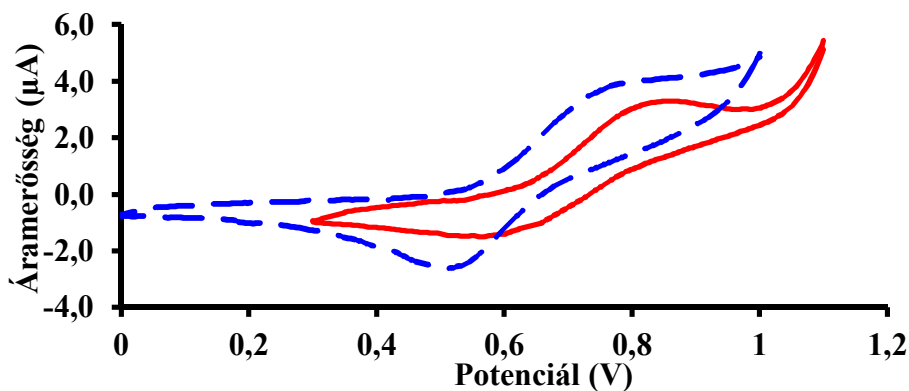
### ***IV.2.3 A [Mn(transz-DO2A)]- és a [Mn(cisz-DO2A)]-komplexek elektrokémiai vizsgálata***

A [Mn(*transz*-DO2A)]- és a [Mn(*cisz*-DO2A)]-komplexek redoxi stabilitását ciklikus voltammetriás módszer segítségével, vizes közegben 0,15 M NaNO<sub>3</sub> ionerősség biztosítása mellett határoztuk meg. A *transz*-származék ilyen jellegű vizsgálatát nagyon hasonló körülmények között (0,1 M KNO<sub>3</sub> ionerősség és arany munkaelektrod alkalmazásával) Bencini és mtsai. már elvégezték,<sup>123</sup> de az ott közölt eredmények nagymértékben eltértek az általunk a [Mn(*cisz*-DO2A)]-komplex vizsgálata során kapott eredményektől. Ezért úgy döntöttünk, hogy elvégezzük a vizsgálatokat a [Mn(*transz*-DO2A)]-kompleksszel is. Meg kell jegyezni, hogy a relaxometriás vizsgálatok is bizonyítják mindkét komplex redoxi stabilitását pH = 7 értéknél, mivel oxigén jelenlétében nem tapasztaltunk jelentős változást a relaxivitás értékben.

A [Mn(*cisz*-DO2A)]-komplex ciklikus voltammogramja (IV.2.3.1 ábra) egy kvázi-reverzibilis folyamatot mutat (a katódos és az anódos csúcáram lineárisan változik a pásztázási sebesség négyzetgyökével, IV.2.3.1 alsó ábra),<sup>127,128</sup> melynek féllepcsőpotenciál-értéke +636 mV Ag/AgCl referencia elektróddal szemben. (Ez +845 mV-nak felel meg a normál-hidrogénelektrodra vonatkoztatva.) A [Mn(*transz*-DO2A)]-komplex esetén szintén kvázi-reverzibilis folyamatot figyeltünk meg (IV.2.3.2 ábra) +705 mV féllepcsőpotenciál-értékkel Ag/AgCl referencia elektróddal szemben (+914 mV vs. NHE).



IV.2.3.1 ábra: A  $[\text{Mn}(\text{cis-DO2A})]$ -komplex ciklikus voltammogramja 25, 50 és 100 mV/s pásztázási sebességnél és 2 mM MnL, pH = 7,0, 0,15 M  $\text{NaNO}_3$  és Pt munkaelektrod mellett mérve (felső ábra); A  $[\text{Mn}(\text{cis-DO2A})]$ -komplex esetén a Mn(II)/Mn(III) pár Cottrel-féle ábrázolása:  $I_c$  (piros) és  $I_a$  (kék) ábrázolása a  $\sqrt{v}$  függvényében, ( $v$  = pásztázási sebesség) (alsó ábra)



IV.2.3.2 ábra: A  $[\text{Mn}(\text{cis-DO2A})]$ - (kék szaggatott vonal) és  $[\text{Mn}(\text{trans-DO2A})]$ - (piros folyamatos vonal) komplexek ciklikus voltammogramja 100 mV/s pásztázási sebességnél és 2 mM MnL, pH = 7,0, 0,15 M  $\text{NaNO}_3$ , valamint szén munkaelektrod mellett mérve

A  $[\text{Mn}(\text{transz-DO2A})]$ -komplexre jellemző, a  $[\text{Mn}(\text{cisz-DO2A})]$ -komplex megfelelő értékénél valamelyest nagyobb, oxidációs potenciálból arra következtethetünk, hogy a mangán kettes oxidációs állapota a  $[\text{Mn}(\text{transz-DO2A})]$ -komplex esetén némileg stabilabb, mint azt a *cisz*-származéknál tapasztaltuk. Ez valószínűleg a két komplex szerkezete között lévő kis különbségnek tudható be, amely különbséget DFT számolásokkal alá is támasztottak.<sup>81</sup>

A Mn(II)/Mn(III), valamint a Cu(I)/Cu(II) redoxi rendszerek esetén már ismert, hogy a térszerkezet és a különböző oxidációs állapotú fémionok komplexeire jellemző redoxi stabilitások kapcsolatban állnak egymással. A két vizsgált komplex esetén a központi fémion körüli koordinációs környezet trigonális prizmaként írható le. A  $[\text{Mn}(\text{cisz-DO2A})]$ -komplex esetén a két sík egymáshoz képest  $4,9^\circ$  (az ideális érték  $0^\circ$  lenne) „csavarodik” el. Ugyanez ez a szög a  $[\text{Mn}(\text{transz-DO2A})]$ -komplexre nagyobbak adódott ( $11,2^\circ$ ).<sup>129–131</sup> Ezáltal a koordinációs poliéder valamivel nagyobb torzulást mutat a trigonális prizmatól az oktaéderes (ideális érték  $60^\circ$ ) elrendeződés felé<sup>81</sup>. A kapott féllépcsőpotenciál-értékek mindkét vizsgált komplex esetén nagyobbak adódtak, mint azt a  $[\text{Mn}(\text{EDTA})]^{2-}$ - ( $633$  és  $570$  mV vs. SCE)<sup>132,133</sup> vagy a  $[\text{Mn}(\text{NOTA})]^-$ -komplexek ( $740$  mV vs. NHE)<sup>134</sup> megfelelő értékei vagy a molekuláris dioxid redukciójának potenciál értéke ( $820$  mV vs. NHE pH =  $7,0$ -nál). Ez azt jelenti, hogy mind a két komplex stabil az oxidációval szemben vizes oldatban, pH =  $7,0$  érték körül. Így a relaxivitás érték csökkenése, melyet a Mn(II)-komplex ( $d^5$ ) Mn(III)-( $d^4$ ) komplexszé történő alakulása (ill. további oxidációs folyamatok) eredményezne, a vizsgált komplexeknél nem várható vizes közegben.

### IV.3 A *transz*-1,2-diamino-ciklohexán-tetraecetsav (*transz*-CDTA) származék ligandumok és Mn(II)-komplexeik fizikai-kémiai jellemzése

Ebben a fejezetben nyíltláncú *transz*-CDTA ligandum *bisz*-amid származékainak előállítását, ill. egyensúlyi, kinetikai és relaxometriás jellemzését mutatjuk be. Kutatócsoportunk korábbi eredményei alapján körvonalazódott, hogy a potenciális ligandum jelölte(ke)t a Mn(II)-komplexálására a *transz*-1,2-diamino-ciklohexán alapvázra érdemes „építeni”, mivel ezen vegyületcsalád esetében az acetát-származék Mn(II)-komplexének az inertsége is kielégítő. Ezen túl, a disszociáció sebességét a fémionok lassítják „zsákutca-komplex” képződése mellett.

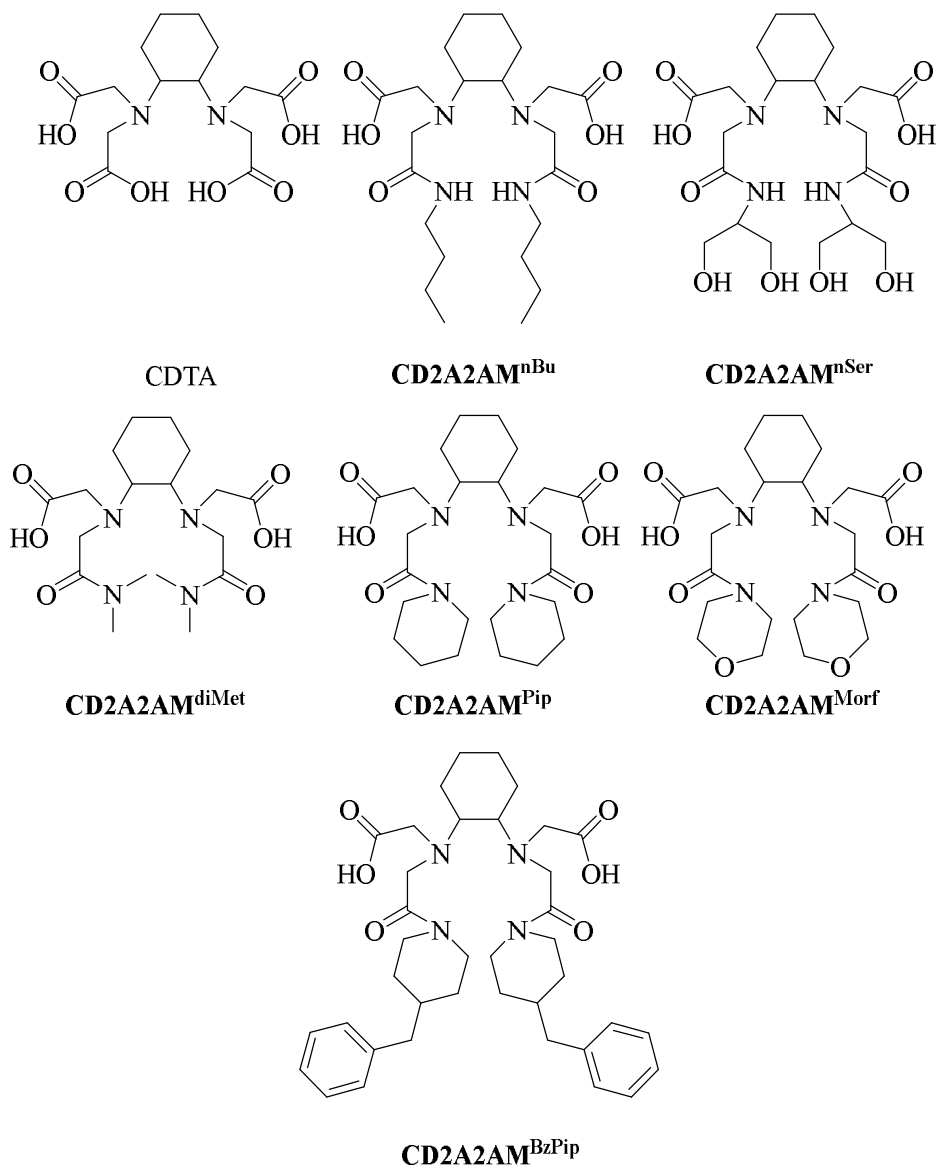
Az irodalomban a Gd(III)-komplexei esetére már ismert több „trükk” a komplexek kinetikai inertségének a javítására anélkül, hogy az a többi fizikai-kémiai paraméter nagymértékű romlását eredményezné.

Jászberényi és mtsai. 2005-ben DTPA-származék ligandumok Gd(III)-komplexei esetében azt tapasztalták, hogy a DTPA ligandum két acetátcsoportjának *bisz*-butilamincsoporttal történő helyettesítése a keletkező Gd(III)-komplex inertségének a javulását eredményezi (20,5 órától 260 órára növekszik a disszociációra jellemző felezési idő). Az adatokból kitűnik, hogy ez a formális oldallánc csere több mint egy nagyságrenddel javította a képződő komplex inertségét, ami elsősorban a kelát savkatalizált disszociációjára jellemző sebességi állandó csökkenésének tulajdonítható.<sup>110</sup>

Továbbá, Aime és mtsai. DOTA-tetraamidok esetében azt tapasztalták, hogy az amidoldalláncok minősége (primer, szekunder vagy tercier) befolyásolja a képződő Gd(III)-komplexei inertségét és az a primer-<szekunder-< tercier-amidok irányában növekszik. A DOTAM (primer tetraamid), DTMA (szekunder tetraamid) és DOTTA (tercier tetraamid) ligandumok Gd(III)-komplexei esetére 2,5 M HNO<sub>3</sub>-ban 25 °C-on számolt

felezési idők ennek megfelelően  $t_{1/2\text{DOTA}} = 4,5$ ,  $t_{1/2\text{DOTAM}} = 68$ ,  $t_{1/2\text{DTMA}} = 155$  és  $t_{1/2\text{DOTTA}} = 384$  órának adódtak.<sup>111</sup>

Ezen közvetlen irodalmi előzmények alapján megterveztünk és előállítottunk hat CDTA-*bisz*-amid származékot (IV.3.1 ábra, a vizsgált ligandumok nevei félkövérrel szedve) és vizsgáltuk a legfontosabb esszenciális fémionkkal képződő komplexeik oldategyensúlyát, a Mn(II)-komplex kinetikai és relaxometriás sajátságait. A vizsgálattal egyrészt arra kerestük a választ, hogy a Gd(III)-komplexek esetében tapasztalt javulás elérhető-e a Mn(II)-komplexek esetében is, ill. kíváncsiak voltunk arra, hogy az amidcsoportok jelenléte hogyan befolyásolja a képződő Mn(II)-komplexek fizikai-kémiai paramétereit. A CD2A2AM<sup>BzPip</sup> komplexképző előállításától a relaxációs paraméterek javulását vártuk a ligandumban megtalálható aromáscsoportok és a vérérszérumban megtalálható humán szérum albumin hidrofób kötőhelyeinek kölcsönhatása révén.

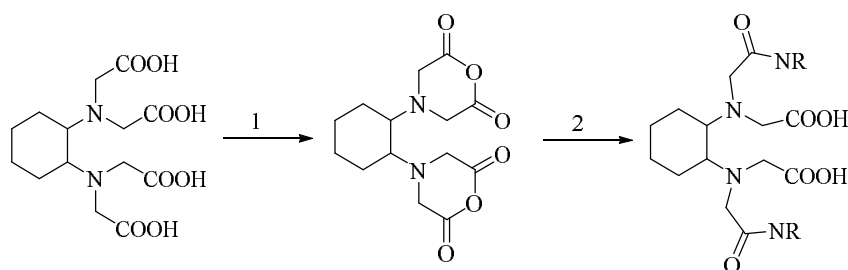


**IV.3.1 ábra:** A *trans*-CDTA és a vizsgált szekunder és tercier *trans*-CDTA-bisz-amid származék ligandumok szerkezeti képlete

#### IV.3.1 A *trans*-CDTA-bisz-amid származék ligandumok előállítása

Mind a hat CDTA-bisz-amid származék ligandum előállítása során hasonló módon jártunk el. A reakció első lépésében irodalmi adatok alapján

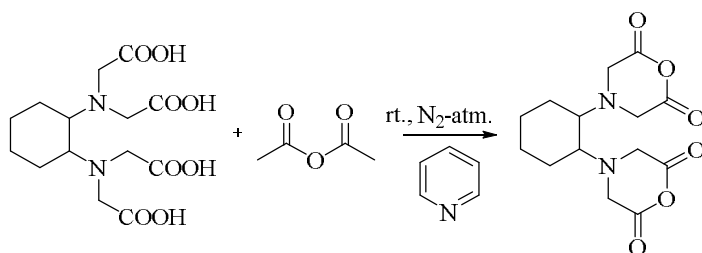
előállítottuk a *transz*-CDTA ligandum dianhidridjét,<sup>135</sup> amit a következő lépésben a megfelelő amin-származékkal (NHR: butilamin, szerinol<sup>136</sup> vagy NR<sub>2</sub>: piperidin, dimetilamin<sup>137</sup>, morfolin<sup>137</sup> és 4-benzilpiperidin) reagáltattunk és így megkaptuk a kívánt *transz*-CDTA-*bisz*-amid-származék ligandumokat. A szintézis a IV.3.1.1 ábrán feltüntetett séma alapján történt.



**IV.3.1.1 ábra:** A *transz*-CDTA-*bisz*-amid származékok előállításának általános sémája; 1. piridin, ecetsav-anhidrid, szobahőmérséklet, N<sub>2</sub>-atmoszféra és 18 óra; 2. 4 ekv. NHR vagy NR<sub>2</sub>, DMF, 60 °C, N<sub>2</sub>-atmoszféra és 18 óra

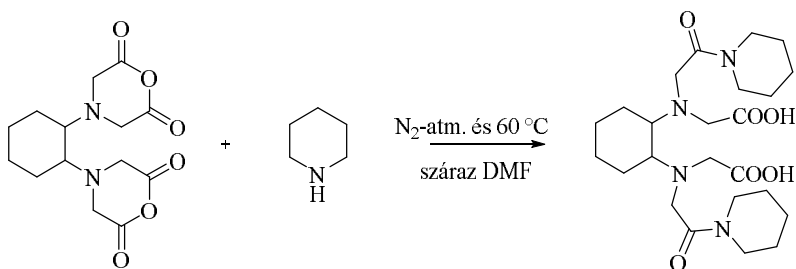
Az egyes ligandumok előállítása azonos módon történt, így csak a CDTA-dianhidrid és a CD2A2AM<sup>Pip</sup> ligandum esetén ismertetem részletesen a szintézis menetét (IV.3.1.2 és IV.3.1.3 ábrák), míg az egyes ligandumokra vonatkozó jellemzéseket (NMR és MS) a függelékben összegeztem (IX.1 fejezet).

***transz*-CDTA-dianhidrid:** N<sub>2</sub>-atmoszféra alatt 12,00 g (0,0347 mol) *transz*-CDTA-t 10,92 g (0,138 mol) piridinnel és 66,0 cm<sup>3</sup> (71,28 g, 0,700 mol) ecetsav-anhidriddel elegyítettük. Ezt követően 18 órán keresztül szobahőmérsékleten kevertettük. A reakcióelegyet 300 cm<sup>3</sup> dietil-éterbe csepegtettük, majd a kiváló sárgás színű csapadékot zsugorított üvegszűrőn szűrtük és vákuumban tömegállandóságig szárítottuk. Kitermelés 3,52 g (34%).<sup>138</sup>



**IV.3.1.2 ábra:** A *trans*-CDTA-dianhidrid előállításának sémája

**CD2A2AM<sup>Pip</sup>:** 0,264 g (0,851 mmol, 1 ekv.) CDTA-dianhidridet és 0,29 g, (0,00341 mol, 4 ekv.) piperidint 15 cm<sup>3</sup> vízmentes DMF-ben összekevertünk, majd a reakcióelegyet N<sub>2</sub>-atmoszféra alatt 18 órán keresztül 60 °C-on kevertettük. A reakcióelegyet csökkentett nyomáson bepároltuk és a kapott barnás olajból a terméket HPLC technikával nyertük ki (kolonna: Luna 10μ-Prep C18(2) 100A (250×21,20 mm; 10 μm)). Eluensként ACN:H<sub>2</sub>O/TFA-t (TFA: trifluor-ecetsav) alkalmaztunk (a TFA-t csak a víz tartalmazta 0,005 M koncentrációban). Kitermelés 0,19 g (47 %)



**IV.3.1.3 ábra:** A CD2A2AM<sup>Pip</sup> ligandum előállításának sémája

### IV.3.2 *transz-CDTA-bisz-amid származék ligandumok és Mn(II)-ionnal alkotott komplexeik egyensúlyi és relaxációs tulajdonságainak tanulmányozása*

Vizsgálatainkat a IV.3.1 ábrán látható amid-származék ligandumok protonálódási állandóinak meghatározásával kezdtük. A vizsgált és az összehasonlítás céljából feltüntetett ligandumokra jellemző protonálódási állandókat, továbbá a Mn(II)-komplexeire jellemző protonálódási és stabilitási állandókat a IV.3.2.1 táblázatban tüntettem fel.

**IV.3.2.1 táblázat:** A CDTA és a vizsgált szekunder és tercier CDTA-bisz-amid származék ligandumok protonálódási és Mn(II)-ionnal képződő komplexeinek protonálódási és stabilitási állandói ( $I = 0,15$  M NaCl és  $25,0$  °C)

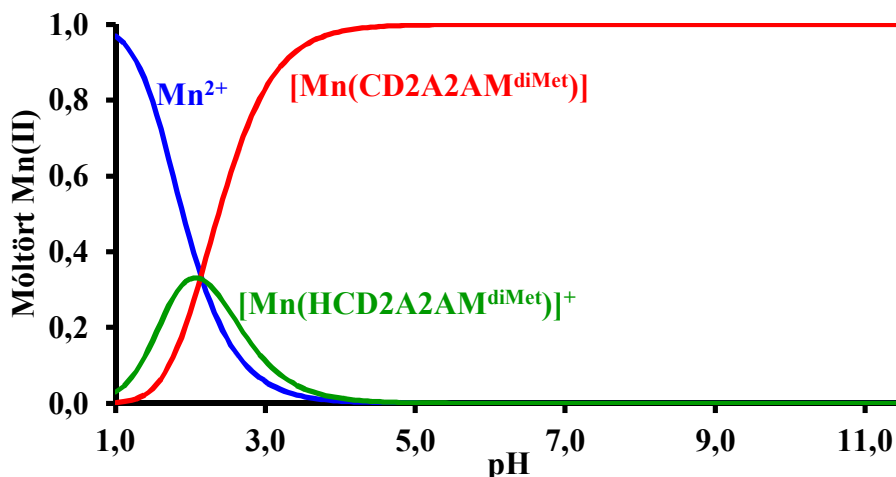
|                                            | $\log K_1^H$                                                                                                | $\log K_2^H$ | $\log K_3^H$      | $\sum_{i=1}^2 \log K_i^H$ | $\log K_{MnL}$ | $\log K_{MnL}^H$    | pMn         |
|--------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------|-------------------|---------------------------|----------------|---------------------|-------------|
| CDTA <sup>a</sup>                          | 9,36                                                                                                        | 5,95         | 3,62 <sup>d</sup> | <b>15,31</b>              | 14,32          | 2,90 <sup>d</sup>   | <b>8,68</b> |
| <b>CD2A2AM<sup>nBu</sup> <sup>b</sup></b>  | 8,55                                                                                                        | 4,40         | 1,98              | <b>12,95</b>              | 11,24          | 2,53                | <b>7,54</b> |
| <b>CD2A2AM<sup>nSer</sup> <sup>c</sup></b> | 9,08(1)                                                                                                     | 3,74(1)      | 1,26(1)           | <b>12,82</b>              | 10,81(1)       | 1,5(1) <sup>e</sup> | <b>7,08</b> |
| <b>CD2A2AM<sup>diMet</sup></b>             | 8,73(1)                                                                                                     | 4,81(1)      | 2,05(2)           | <b>13,54</b>              | 12,69(1)       | 2,14(1)             | <b>8,16</b> |
| <b>CD2A2AM<sup>Pip</sup></b>               | 8,82(3)                                                                                                     | 4,99(4)      | 2,05(4)           | <b>13,81</b>              | 13,14(1)       | 1,89(1)             | <b>8,35</b> |
| <b>CD2A2AM<sup>Morf</sup></b>              | 8,49(2)                                                                                                     | 4,93(3)      | 2,17(3)           | <b>13,41</b>              | 12,60(1)       | 1,98(2)             | <b>8,23</b> |
| <b>CD2A2AM<sup>BzPip</sup></b>             | A látszólagos stabilitási állandó értéke összemérhető a CD2A2AM <sup>Pip</sup> ligandum megfelelő értékével |              |                   |                           |                |                     |             |

<sup>a</sup> Ref. 22; <sup>b</sup> Bothár Richárd „A [Mn(CDTA-BBA)]-komplex egyensúlyi, kinetikai és relaxációs sajátosságainak vizsgálata”, Szakdolgozat, Debreceni Egyetem, Debrecen, 2014.; <sup>c</sup> Kelemen Dóra „Mn(II)-alapú MRI kontrasztanyagok előállítása és kémiai jellemzése”, Szakdolgozat, Debreceni Egyetem, Debrecen, 2017; <sup>d</sup>  $\log K_4^H = 2,57$ ,  $\log K_5^H = 1,49$  és  $\log K_{MnHL}^H = 1,89$ ; <sup>e</sup>  $\log K_{MnL}^{OH} = 12,17(2)$

A vizsgált *bisz-amid* származékok protonálódási állandóit összehasonlítva a CDTA ligandum értékeivel az látható, hogy az acetátcsoportok amidcsoportra történő cseréje a ligandumok nitrogén donoratomjai (nem oldalláncban lévő) bázicitásának ( $\sum_{i=1}^2 \log K_i^H$ ) jelentős csökkenését eredményezi, de a protonálódási állandók számának csökkenését

is megfigyeltük. Az első két protonálódási folyamatot jellemző állandó a két amin-nitrogénatomhoz rendelhető (mindkettő elmarad az alapvegyületben mérhető értékektől), míg a harmadik minden bizonnyal egy acetátcsoport protonálódását jellemző állandó.

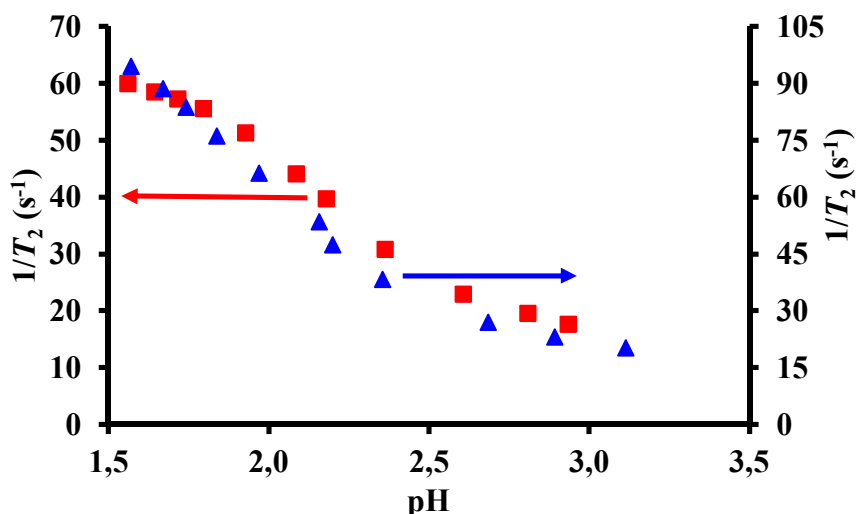
A protonálódási állandók ismeretében meghatároztuk a képződő Mn(II)-komplexek protonálódási és stabilitási állandóit. Az ML részecske mellett minden esetben egy protonált komplexet (MHL) is feltételezve sikerült leírni a kapott pH-potenciometriás titrálási görbéket, kivéve a  $[\text{Mn}(\text{CD2A2AM}^{\text{nSer}})]$ -komplex titrálása során kapott adatokat, ahol egy, a központi fémionhoz koordinálódó vízmolekula deprotonálódási állandóját ( $\log K_{\text{MnL}}^{\text{OH}} = 12,17(2)$ ) is meg tudtuk határozni. A kapott stabilitási állandókat a IV.3.2.1 táblázatban tüntettem fel. Ahogy az a bázicitás értékek alapján várható volt, a *bisz*-amid származékok stabilitási állandói kisebbek, mint a  $[\text{Mn}(\text{CDTA})]^{2-}$ -komplex megfelelő értéke. Azonban a komplexek  $\text{pMn}$  értékei (IV.3.2.1 táblázat,  $\text{pH} = 7,4$ ,  $c_{\text{Mn}} = c_{\text{L}} = 1 \times 10^{-5} \text{ M}$ )<sup>88</sup> alapján láthatjuk, hogy az előállított ligandumok, de különösen a tercier amid-származékok közel olyan jó mangánkötő ágensnek bizonyulnak, mint maga a CDTA komplexképző. Az 1:1 fém:ligandum aránynál 2 mM-os ligandum és fém koncentráció alkalmazásával számított koncentráció eloszlási görbe alapján megállapítható, hogy a komplexképződés már  $\text{pH} = 5$  körül teljes (pl. a  $[\text{Mn}(\text{CD2A2AM}^{\text{diMet}})]$ -komplex esetén, IV.3.2.1 ábra), ami mindegyik ligandum esetében teljesül.



IV.3.2.1 ábra: A  $[\text{Mn}(\text{CD2A2AM}^{\text{diMet}})]$ -komplex koncentráció eloszlási diagramja ( $c_{\text{Mn}} = c_{\text{L}} = 0,002 \text{ M}$ )

A  $\text{CD2A2AM}^{\text{BzPip}}$  ligandum protonálódási állandóit nem tudtuk meghatározni, mivel  $\text{pH} < 6$  esetén csapadék van jelen a rendszerben (koncentrációfüggő, hogy milyen pH-értéken válik ki a csapadék), ebből következően a komplex stabilitási állandójának a becsléséhez is egy másik megközelítést alkalmaztunk. Mivel  $[\text{Mn}(\text{CD2A2AM}^{\text{Pip}})]$ -komplex stabilitási állandója már ismert és a két komplexképző ( $\text{CD2A2AM}^{\text{Pip}}$ , ill.  $\text{CD2A2AM}^{\text{BzPip}}$ ) nagyon hasonló szerkezettel rendelkezik ezért feltételezhető, hogy  $[\text{Mn}(\text{CD2A2AM}^{\text{BzPip}})]$ -komplex (látszólagos) stabilitási állandójának a becslését a  $[\text{Mn}(\text{CD2A2AM}^{\text{Pip}})]$ - és a  $[\text{Mn}(\text{CD2A2AM}^{\text{BzPip}})]$ -komplex relaxivitás – pH profiljának összehasonlításával is elvégezhetjük. Mind a két esetben különmintákat állítottunk össze állandó ligandum és fémion koncentrációk alkalmazása mellett, míg a savkoncentráció  $0,28 - 0,80 \text{ mM}$  tartományban változott. Az egyensúly beállítását követően (két nap elteltével)  $^1\text{H}$ -NMR relaxometriás technikával lemértük a komplexek relaxivitás értékét, valamint megmértük a minták egyensúlyi pH-értékét. A IV.3.2.2 ábrán láthatók a két rendszerben kapott  $r_{2p}$  relaxivitás értékek a pH-függvényében (mivel a  $T_2$  időskálán lényegesen nagyobb a változás). A kapott adatok

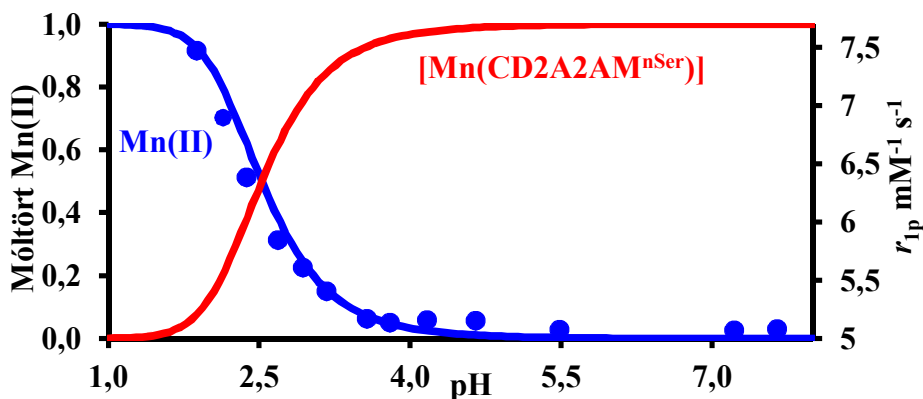
elemzésével láthatjuk, hogy a két komplex látszólagos stabilitási állandó értéke közel azonosnak tekinthető, mivel a két görbe gyakorlatilag fedi egymást (figyelembe véve, hogy a relaxivitás mérésnek akár 5%-os hibája is lehet).



**IV.3.2.2 ábra:** A  $[\text{Mn}(\text{CD2A2AM}^{\text{BzPip}})]$ -komplex (■, 1,01 mM, 1,41 T, 25,0 °C) látszólagos stabilitási állandójának becslése a  $[\text{Mn}(\text{CD2A2AM}^{\text{Pip}})]$ -komplex (▲, 1,40 mM, 1,41 T, 25,0 °C) azonos körülmények között felvett relaxivitás-pH függése alapján

A komplexek relaxitásának a pH-függését több esetben felvettük, ami egyrészt lehetőséget ad a komplexképződés pH-tartományának a becslésére/visszaigazolására, ill. így a komplexek relaxitását is meg tudtuk határozni pH = 7,4-nél. A  $\text{Mn}(\text{CD2A2AM}^{\text{nSer}})]$ -komplexre mért pH-profil a IV.3.2.3 ábrán látható. Az ábra alapján elmondható, hogy a pH-potenciometriás titrálási adatokkal a relaxometriás eredmények jó egyezést mutatnak. A komplexképződés pH = 1,9 értéknél kezdődik el és pH = 5,0 körül fejeződik be. A felvett pH-profil alapján megállapítottuk a komplexek relaxitását is (25 °C-on, 0,49 T), amit a komplex HSA és/vagy szeronorm oldatokban mért relaxitás adataival együtt a IV.3.2.2 táblázatban tüntettem fel. Összehasonlításképpen az EDTA és a CDTA ligandumok Mn(II)-

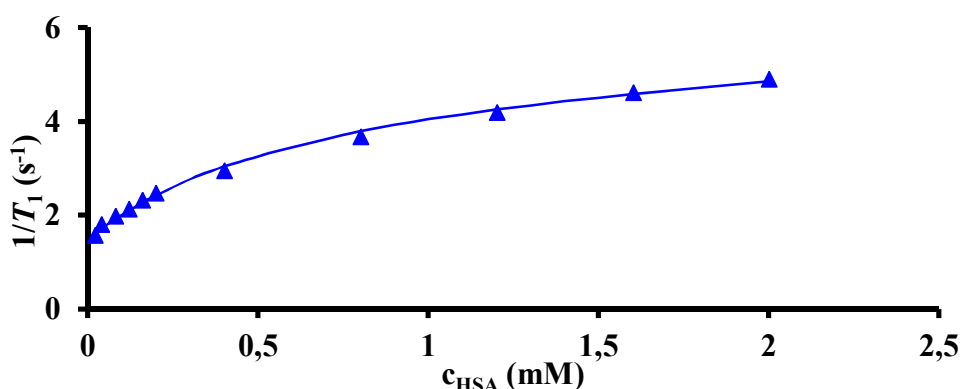
komplexeinek azonos körülmények között meghatározott relaxivitás értékeit is feltüntettem a IV.3.2.2 táblázatban.



**IV.3.2.3 ábra:** A  $[\text{Mn}(\text{CD2A2AM}^{\text{nSer}})]$ -komplex koncentráció eloszlási görbéje ( $c_{\text{L}} = c_{\text{Mn(II)}} = 2,00 \text{ mM}$ ), valamint a relaxivitás pH függése ( $c_{\text{MnL}} = 1,0 \text{ mM}$ ,  $25 \text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $0,49 \text{ T}$ ). A folytonos vonal jelöli a különböző részecskék koncentráció eloszlási görbéit, míg a kék pontok (●) a különböző pH-n mért relaxivitás értékeket mutatják

A tanulmányozott CDTA-*bisz*-amid típusú komplexek relaxivitásai a korábban már vizsgált  $[\text{Mn}(\text{CDTA})]^{2-}$ -komplex relaxitásához képest lényegesen nagyobbak. Ezért elmondható, hogy az acetátcsoportok amidcsoporra történő cseréje a relaxivitás értékeket kedvező irányba befolyásolta. A  $[\text{Mn}(\text{CDTA})]^{2-}$ -komplex esetén az irodalomban már bizonyították, hogy a komplex belső koordinációs szférájában található egy vízmolekula ( $q = 1$ ).<sup>57</sup> Az általunk vizsgált komplexek relaxitása a  $[\text{Mn}(\text{CDTA})]^{2-}$ -komplex relaxitásától ( $r_{1p} = 3,62 \text{ mM}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ) nagyobb értékek, (IV.3.2.2 táblázat), így a vizes oldatban mért relaxivitás értékek alapján arra következtethetünk, hogy a komplexek belső koordinációs szférájában mindegyik Mn(II)-komplex esetében található a fémcentrumhoz koordinálódó vízmolekula. A szeronorm oldatban a relaxivitás érték a komplexek részleges disszociációja eredményeként nő (IV.3.3 fejezet, IV.3.3.10 ábra), így ezekben az esetekben a nulla időpontra ( $t = 0$ ) extrapolált relaxivitás értéket helyeztük

el a táblázatban. A táblázat adatainak a tanulmányozásával láthatjuk, hogy a tisztán vizes közegben mért relaxivitások kisebbek, mint a HSA-ban vagy szeronormban mért értékek, ami a fehérje - komplex kölcsönhatás egyértelmű eredménye. A  $[\text{Mn}(\text{CD2A2AM}^{\text{BzPip}})]$ -komplex esetén HSA oldatban (0,8 mM HSA koncentráció) mért relaxitás értékek kiugróan nagyok, következésképpen ebben az esetben nagyon erős fehérje-komplex kölcsönhatás várható ( $\log K_{\text{aff}} = 3,4(1)$ ) (IV.3.2.4 ábra).



**IV.3.2.4 ábra:** A  $[\text{Mn}(\text{CD2A2AM}^{\text{BzPip}})]$ -komplex és a HSA közötti kölcsönhatás erősségének meghatározása ( $c_{\text{MnL}} = 0,199 \text{ mM}$ ,  $\text{pH} = 7,4$ ,  $c_{\text{HSA}} = 0,02 - 2,0 \text{ mM}$ ,  $0,49 \text{ T}$ ,  $T = 25 \text{ }^\circ\text{C}$ ). (A ▲-gel a mért pontokat jelöltük a folytonos vonal pedig ezen pontok illesztése során kapott értékeket.)

**IV.3.2.2 táblázat:** Az EDTA, CDTA és a vizsgált szekunder és tercier CDTA-bisz-amid származék ligandumok Mn(II)-ionnal képződő komplexeinek relaxivitás értékei (25,0 °C és 0,49 T térerőn, pH = 7,4)

|                                       | $r_{1p}$<br>(mM <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> ) | $r_{1p}$ HSA <sup>d</sup><br>(mM <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> ) | $r_{1p}$ szeronorm<br>(mM <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> ) |
|---------------------------------------|-------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------|
| EDTA <sup>a</sup>                     | 3,20                                            | -                                                                | gyors disszociáció                                        |
| CDTA                                  | 3,62 <sup>a</sup>                               | -                                                                | 5,78; 5,52 <sup>a</sup>                                   |
| CD2A2AM <sup>nBu</sup>                | 4,64                                            | 6,55                                                             | -                                                         |
| CD2A2AM <sup>nSer</sup> <sup>b</sup>  | 4,75                                            | 6,11<br>4,70 <sup>d</sup>                                        | 6,93<br>5,61 <sup>d</sup>                                 |
| CD2A2AM <sup>diMet</sup> <sup>e</sup> | 3,72                                            | 4,33                                                             | -                                                         |
| CD2A2AM <sup>Pip</sup><br>1. izomer   | 4,43                                            | 5,63                                                             | 6,15 <sup>c</sup>                                         |
| CD2A2AM <sup>Pip</sup><br>3. izomer   |                                                 |                                                                  | 6,38 <sup>c</sup>                                         |
| CD2A2AM <sup>Morf</sup> <sup>e</sup>  | 4,62                                            | 6,08                                                             | -                                                         |
| CD2A2AM <sup>BzPip</sup>              | 5,56                                            | 19,44                                                            | -                                                         |

<sup>a</sup> Ref. 22; <sup>b</sup> Kelemen Dóra „Mn(II)-alapú MRI kontrasztanyagok előállítása és kémiai jellemzése”, Szakdolgozat, Debreceni Egyetem, Debrecen, 2017.; <sup>c</sup> 37 °C-on mért adat; <sup>d</sup>  $c_{HSA}$  = 0,8 mM; <sup>e</sup> 1,41 T

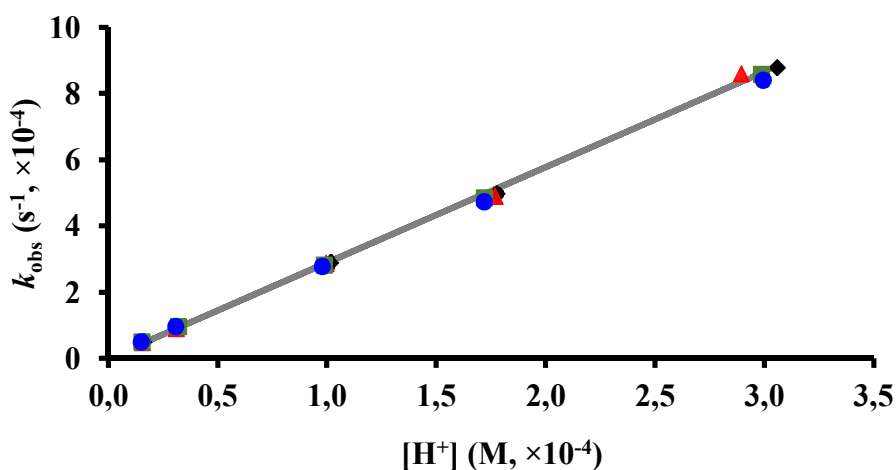
#### IV.3.3 A transz-CDTA-bisz-amid származék ligandumok Mn(II)-ionnal alkotott komplexeinek kinetikai vizsgálata

A Mn(II)-alapú KA-ok irodalmában nem sok olyan nyíltláncú komplex található, melyek megközelítik az alkalmazhatósághoz szükséges inertséget. Az irodalmi bevezetőben (IV.3 fejezetben) már említett PyC3A és PhDTA ligandumok Mn(II)-komplexei ezek közé tartoznak.

A IV.3.1 ábrán feltüntetett ligandumok Mn(II)-komplexeinek inertségét fémcsere reakciók segítségével tanulmányoztuk. Kicsérélő fémionként Cu(II)-iont alkalmaztunk nagy feleslegben (10-40-szeres felesleg) a pszeudo-elsőrendű körülmények biztosítása végett. A kicserélődési folyamatokat UV-látható spektrofotometriás technikával követtük 300 nm

hullámhosszon. A lejátszódó reakció általános alakban a III.2.1 egyenlettel adható meg.

A vizsgált CDTA-*bisz*-amid származék komplexek közül a  $[\text{Mn}(\text{CD}_2\text{A}_2\text{AM}^{\text{Morf}})]$ -komplex Cu(II) kicserélő fémionnal lejátszódó reakcióját tüntettem fel a IV.3.3.1 ábrán. A pszeudo-elsőrendű sebességi állandó ( $k_{\text{obs}}$ ) értékeket a  $[\text{H}^+]$  függvényében ábrázoltuk a különböző kicserélő fémion koncentrációk esetében. Amint az a IV.3.3.1 ábrán is látható, a disszociáció sebessége nem függ a kicserélő fémion koncentrációjától, de arányos a minta  $\text{H}^+$ -ion koncentrációjával.



**IV.3.3.1 ábra:** A  $[\text{Mn}(\text{CD}_2\text{A}_2\text{AM}^{\text{Morf}})]$ -komplex disszociációjára jellemző sebességi állandók ( $k_{\text{obs}}$ ) a  $\text{H}^+$ -ion koncentráció függvényében. A különböző színek a Cu(II)-ion koncentrációkat jelölik:  $[\text{MnL}] = 0,25 \text{ mM}$ ;  $\blacklozenge$  10x,  $\blacktriangle$  20x,  $\blacksquare$  30x,  $\bullet$  40x Cu(II)-ion felesleg, 0,05 M DMP puffer, 0,15 M NaCl és 25,0 °C

A Mn(II)-komplexek a IV.1.2 fejezetben bemutatott útvonalakon disszociálnak, de ezek közül az itt említett *bisz*-amid származékok esetén csak a  $k_1$  proton-asszisztált útvonalnak van jelentős hozzájárulása a komplex bomlásához. A kapott  $k_{\text{obs}}$  értékeket a IV.3.3.1 általános alakban felírt egyenlettel illesztve a IV.3.3.1 táblázatban feltüntetett sebességi és stabilitási állandókhoz jutottunk. Ebben a táblázatban összehasonlításként feltüntettem

az EDTA és a CDTA ligandumok Mn(II)-ionnal képződő komplexeire jellemző sebességi állandókat is.

$$k_{\text{obs}} = \frac{k_0 + k_1[\text{H}^+] + k_3[\text{M}']}{1 + K_{\text{M}}[\text{M}']} \quad (\text{V.3.3.1})$$

Ahol a  $k_1 = k_{\text{H}} \cdot K_{\text{I}}^{\text{H}}$ ,  $k_3 = k_{\text{M}} \cdot K_{\text{M}}$ , az  $[\text{M}']$  a kicserélő fémion koncentrációját jelöli.

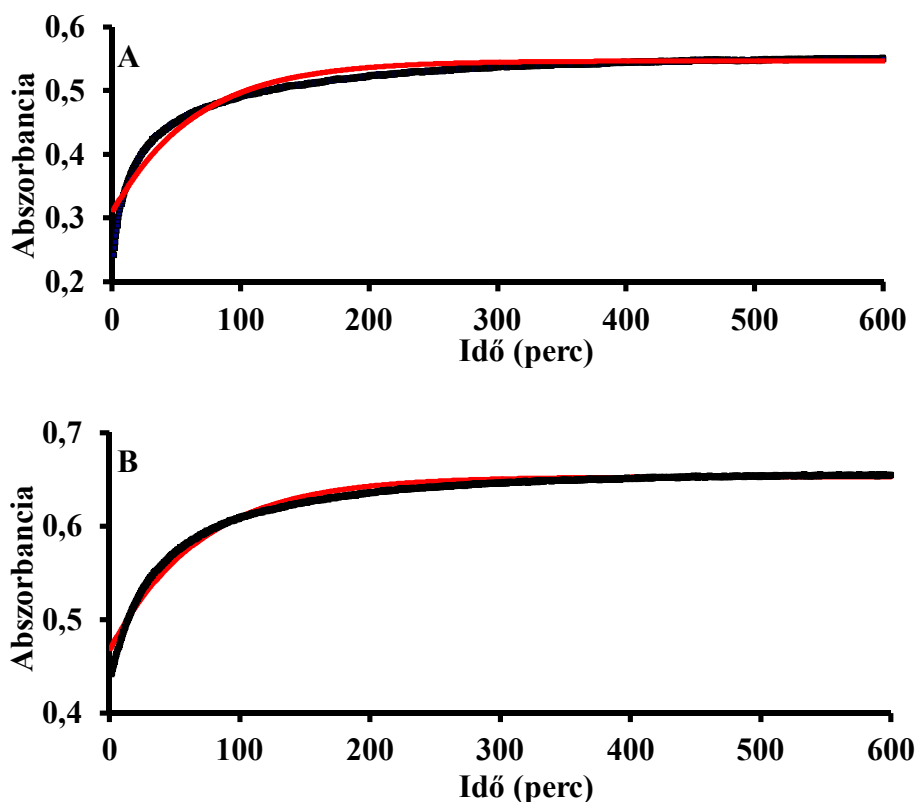
**IV.3.3.1 táblázat:** Az EDTA, CDTA és a vizsgált CDTA-bisz-amid származékok Mn(II)-komplexeinek disszociációjára jellemző sebességi és stabilitási állandói, valamint a disszociációra jellemző felezési idők ( $t_{1/2} = \ln 2/k_{\text{obs}}$ , pH = 7,4 és  $c_{\text{Cu(II)}} = 1 \times 10^{-5}$  M,  $T = 25,0$  °C)

|                                                         | $k_1$ (M <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> ) | $k_2$ (M <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup> ) | $k_3$ (M <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> ) | $K_{\text{M}}$ (M <sup>-1</sup> ) | $t_{1/2}$ (óra) <sup>c</sup> |
|---------------------------------------------------------|------------------------------------------|------------------------------------------|------------------------------------------|-----------------------------------|------------------------------|
| [Mn(EDTA)] <sup>2-</sup> <sup>a</sup>                   | 5,2×10 <sup>4</sup>                      | 2,3×10 <sup>8</sup>                      | 45                                       | -                                 | <b>0,076</b>                 |
| [Mn( <i>transz</i> -CDTA)] <sup>2-</sup> <sup>a,b</sup> | 4,0×10 <sup>2</sup>                      | -                                        | -                                        | 79                                | <b>12</b>                    |
| [Mn(CD2A2AM <sup>n</sup> Bu)]                           | 85                                       | -                                        | -                                        | -                                 | <b>57</b>                    |
| [Mn(CD2A2AM <sup>n</sup> Ser)]                          | 36±1                                     | -                                        | -                                        | -                                 | <b>136</b>                   |
| [Mn(CD2A2AM <sup>di</sup> Met)]                         | 7±0,2                                    | -                                        | -                                        | 8±3                               | <b>690</b>                   |
| [Mn(CD2A2AM <sup>Pip</sup> )]<br>1. izomer              | 17±1                                     | -                                        | -                                        | 62±23                             | <b>285</b>                   |
| [Mn(CD2A2AM <sup>Pip</sup> )]<br>3. izomer              | 9,0±0,4                                  | -                                        | -                                        | 39±10                             | <b>541</b>                   |
| [Mn(CD2A2AM <sup>Morf</sup> )]                          | 2,9±0,1                                  | -                                        | (6±1)×10 <sup>-4</sup>                   | 5±2                               | <b>1674</b>                  |
| [Mn(CD2A2AM <sup>BzPyp</sup> )]                         | 8,3±0,7                                  | -                                        | -                                        | -                                 | <b>582</b>                   |

<sup>a</sup> 22; <sup>b</sup> 139, a [Mn(CDTA)]<sup>2-</sup>-komplex esetén  $k_1 = 3,2 \times 10^2$  M<sup>-1</sup>s<sup>-1</sup> és a  $t_{1/2} = 15$  óra; <sup>c</sup> pH = 7,4 és  $1 \times 10^{-5}$  M Cu(II) koncentráció mellett számolva

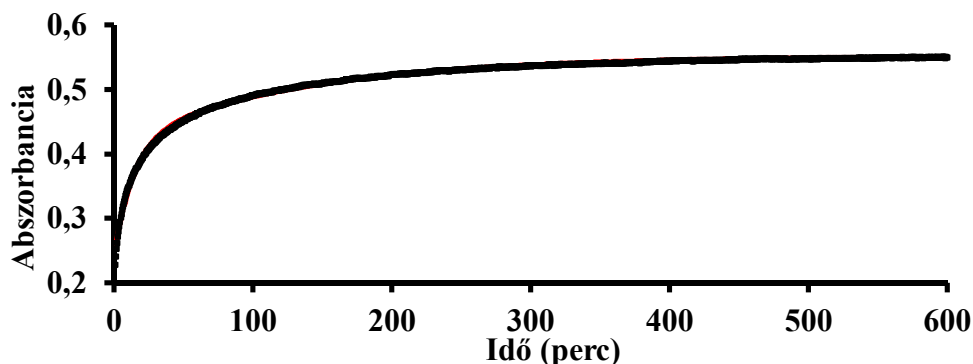
Több komplex esetében a Cu(II) kicserélő fémion alkalmazásával felvett kinetikai görbék illesztése során azt tapasztaltuk, hogy az egy exponenciális burkológörbe nem illeszkedik tökéletesen a mért pontokra (IV.3.3.2 A ábra). Annak érdekében, hogy kizárjuk azt, hogy ez az effektus a kicserélő fémionhoz rendelhető a disszociációs reakciót EuCl<sub>3</sub>-al is

megismételtük, amit tízszeres feleslegben alkalmaztunk. Amint az a IV.3.3.2 B ábrán látható, ebben az esetben is rossz illeszkedést tapasztaltuk.



**IV.3.3.2 ábra:** A: A  $[\text{Mn}(\text{CD2A2AMPip})]$ -komplex és  $\text{Cu(II)}$ -ion között lejátszódó cserereakció Abszorbancia értékei az idő függvényében ( $\text{pH} = 4,84$ , DMP puffer,  $c_{\text{MnL}} = 0,3 \text{ mM}$ ,  $c_{\text{Cu(II)}} = 3,0 \text{ mM}$ ,  $I = 0,15 \text{ M NaCl}$ ,  $300 \text{ nm}$ ); B: A  $[\text{Mn}(\text{CD2A2AMPip})]$ -komplex és  $\text{Eu(III)}$ -ion között lejátszódó cserereakció Abszorbancia értékei az idő függvényében ( $\text{pH} = 4,7$ , DMP puffer,  $c_{\text{MnL}} = 2,0 \text{ mM}$ ,  $c_{\text{Eu(III)}} = 20,0 \text{ mM}$ ,  $I = 0,15 \text{ M NaCl}$ ,  $260 \text{ nm}$ ) A piros vonal az egy exponenciális függvénnyel történő illesztést mutatja.

A  $\text{Cu(II)}$  cserereakciók során kapott kinetikai görbékét két exponenciális függvénnyel is illesztettük (IV.3.3.3 ábra) és ez a függvény (amint az alábbi ábrán is látható) sokkal jobban leírja a mért adatok illesztését.



**IV.3.3.3 ábra:** A  $[\text{Mn}(\text{CD}2\text{A}2\text{AM}^{\text{Pip}})]$ -komplex és  $\text{Cu}(\text{II})$ -ion között lejátszódó cserereakció Abszorbania értékei az idő függvényében ( $\text{pH} = 4,84$ , DMP puffer,  $c_{\text{MnL}} = 0,3 \text{ mM}$ ,  $c_{\text{Cu}(\text{II})} = 3,0 \text{ mM}$ ,  $I = 0,15 \text{ M NaCl}$ ,  $300 \text{ nm}$ ); A piros vonal a két exponenciális függvénnyel történő illesztést mutatja.

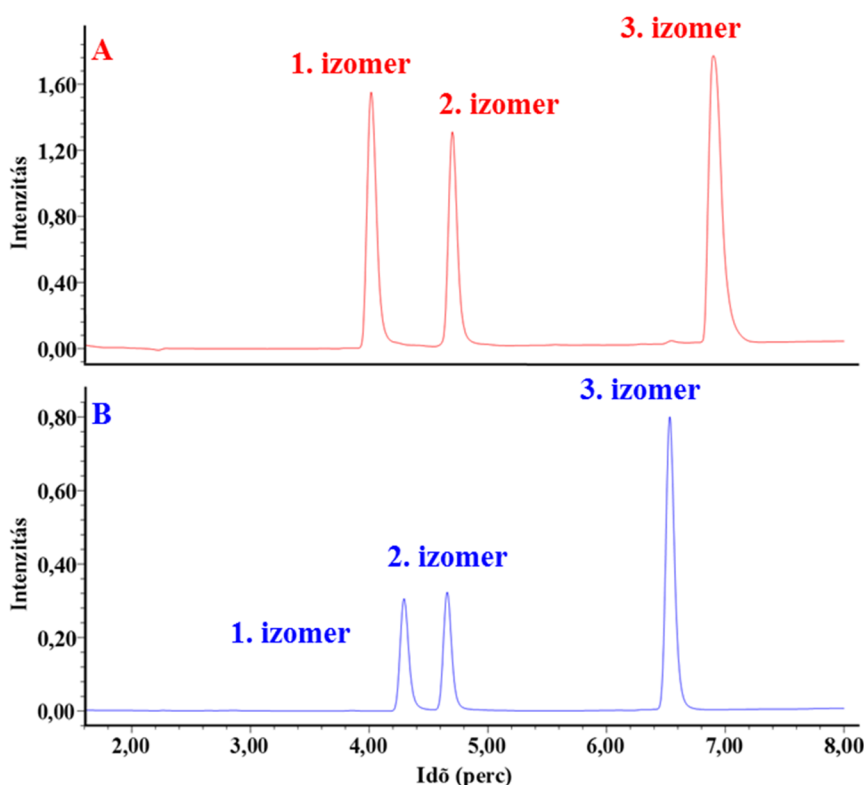
A  $\text{pH} = 4,84$  értéken elvégzett  $\text{Cu}(\text{II})$  cserereakció esetén (10-szeres  $\text{Cu}(\text{II})$ -ion felesleg a  $\text{Mn}(\text{II})$ -komplexhez képest) az egy és két exponenciális függvénnyel való illesztésből kapott  $k_{\text{obs}}$  értékekből számolt felezési időket a IV.3.3.2 táblázatban foglaltam és hasonlítottam össze. Az egy exponenciális függvénnyel való illesztésből  $44,3$  perces felezési időt ( $\text{pH} = 4,84$ ,  $T = 25 \text{ }^\circ\text{C}$ ) kaptunk. Míg a két exponenciális függvénnyel való közelítéssel egy lassabb és egy gyorsabb folyamatra vonatkozó  $k_{\text{obs}}$  értéket tudtunk számolni és a belőlük számolt felezési idők átlaga jó egyezést mutat az előzőleg említett értékkel ( $t_{1/2} = 48,4$  vs.  $44,3$  perc,  $\text{pH} = 4,84$ ,  $T = 25,0 \text{ }^\circ\text{C}$ ). Ebből arra következtethetünk, hogy a 2. izomer hozzájárulása a felezési időhöz nagyon kicsi.

**IV.3.3.2 táblázat:** A  $[\text{Mn}(\text{CD}2\text{A}2\text{AM}^{\text{Pip}})]$ -komplex és  $\text{Cu}(\text{II})$ -ion között  $\text{pH} = 4,84$  értéken lejátszódó csere reakció egy, illetve két exponenciális görbével történő illesztésének adatai ( $I = 0,15 \text{ M NaCl}$ ,  $\text{pH} = 4,84$  és  $25 \text{ }^\circ\text{C}$ )

|                      | keverék | 1. izomer | 3. izomer |
|----------------------|---------|-----------|-----------|
| $k_{\text{obs}}$     | 0,01563 | 0,07735   | 0,00788   |
| $t_{1/2}^{\text{a}}$ | 44,3    | 9,0       | 87,9      |
| $t_{1/2}$ átlag      |         | 48,4      |           |

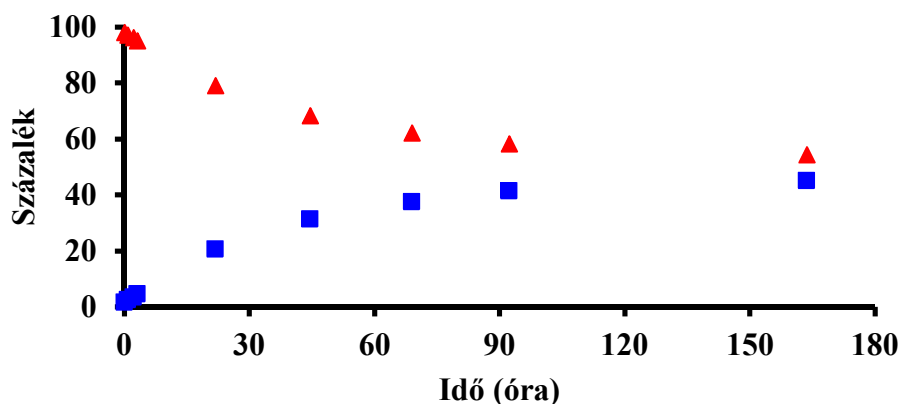
<sup>a</sup>  $\ln 2/k_{\text{obs}}$  képlet alapján számolva

A  $[\text{Mn}(\text{CD2A2AM}^{\text{Pip}})]$ -komplex HPLC-s vizsgálata (Luna C18(2), fordított fázisú kolonna és acetitril:víz elegy, mint eluens) során három csúcsot különítettünk el egymástól (IV.3.3.4 A ábra,) és az egyes csúcsok tömegspektrometriás elemzése alapján kiderült, hogy izomerek képződésével kell számolni, mivel a különböző csúcsokhoz azonos molekulatömeg rendelhető. Majd ezt követően preparatív HPLC technikával választottuk el egymástól a szerkezeti izomereket. A módszerkidolgozási és a preparatív HPLC technikával történő elválasztást a megfelelő  $\text{Zn(II)}$ -komplex esetén is elvégeztük és ebben az esetben is három csúcsot azonosítottunk (IV.3.3.4 B ábra) és választottunk el.



**IV.3.3.4 ábra:** A  $[\text{Mn}(\text{CD2A2AM}^{\text{Pip}})]$ - (A) és  $[\text{Zn}(\text{CD2A2AM}^{\text{Pip}})]$ - (B) komplex oldatban jelenlévő izomereinek analitikai HPLC technikával történő elválasztása azonos körülmények között (Luna C18(2), 5  $\mu\text{m}$ , fordított fázisú kolonna, gradiens elúció és acetitril:víz elegy, mint eluens)

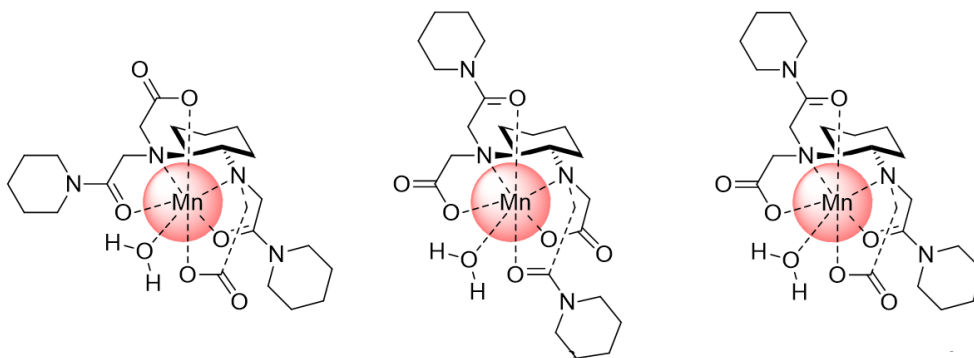
A Mn(II)-komplexekre a kinetikai inertség vizsgálatához, míg a Zn(II)-komplexekre (diamágnéses) a nagyfelbontású  $^1\text{H}$ -NMR vizsgálatokhoz volt szükségünk. Azokat a frakciókat, amelyben a mangán- és a cinkkomplexek voltak, az elúciót követően azonnal  $-80\text{ }^\circ\text{C}$ -on fagyasztottuk, majd liofilizáltuk, mivel oldat formában ezen izomerek egymásba alakulnak (ami ismét izomerkeveréket eredményez). Ennek mintegy bizonyítékként megvizsgáltuk az egyes izomerek átalakulásának sebességét  $45\text{ }^\circ\text{C}$ -on analitikai HPLC-s technika segítségével. Az egyes izomerekből kiindulva egy héten keresztül követtük a HPLC kromatogramban bekövetkező változást és azt tapasztaltuk, hogy egy hét elteltével körülbelül 50:50 %-on állt be az egyensúly a szerkezeti izomerek között (IV.3.3.5. ábra).



**IV.3.3.5 ábra:** A  $[\text{Mn}(\text{CD}_2\text{A}_2\text{AM}^{\text{Pip}})]$ -komplex 3. izomerje mennyiségének (II.3.3.4 ábra A) változása az idő függvényében ( $45\text{ }^\circ\text{C}$ , Luna C18(2)  $5\text{ }\mu\text{m}$  kolonna, Víz:Acetonitril eluens). A piros jelek ( $\blacktriangle$ ) a 3. izomer, míg a kék jelek ( $\blacksquare$ ) az 1. izomer százalékos arányát jelölik a HPLC mintában

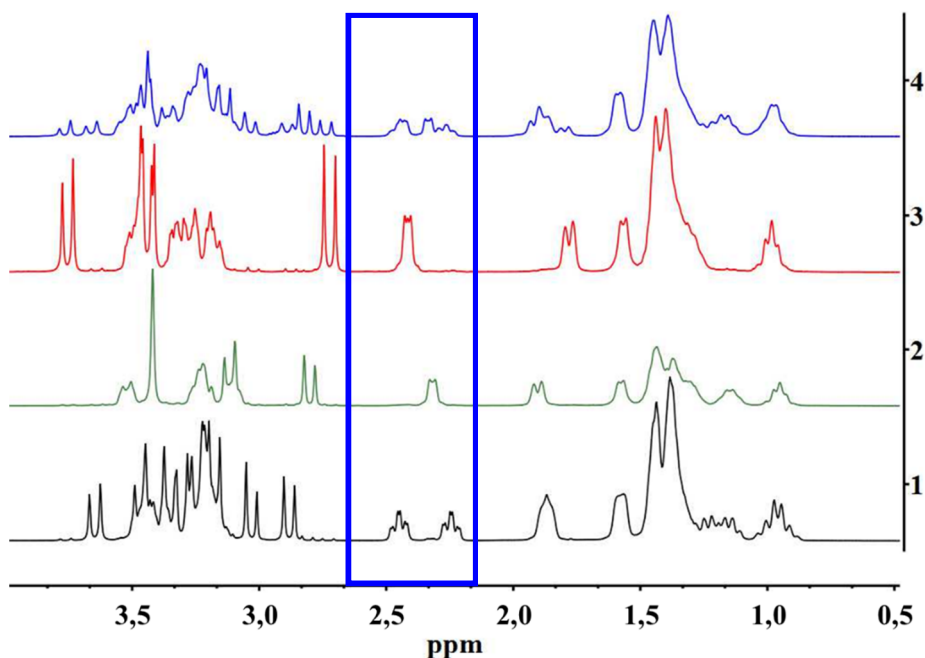
A IV.3.3.5 ábra alapján látható, hogy a 3. izomer  $45\text{ }^\circ\text{C}$ -on egy nap elteltével már több, mint húsz százalékból átalakul az 1. izomer formába. Ha tehát kifejezetten az egyik izomer inertségére vagy relaxivitására vagyunk kíváncsiak, akkor figyelembe kell vennünk a kísérlet tervezése során ezt a tényezőt is.

A IV.3.3.1 táblázatban a  $[\text{Mn}(\text{CD2A2AM}^{\text{Pip}})]$ -komplex esetében csak két izomer (IV.3.3.4 ábra A 1. és 3. izomer) vizsgáltát tüntettük fel részletesen. Ennek az az oka, hogy a második izomer csak kis mennyiségben van jelen az izomerelegyen (80 mg izomer elegy elválasztása során mindössze 3 - 4 mg ilyen komplexet izoláltunk). A szerkezeti izomerek feltételezett szerkezeteit a IV.3.3.6. ábrán adtam meg.



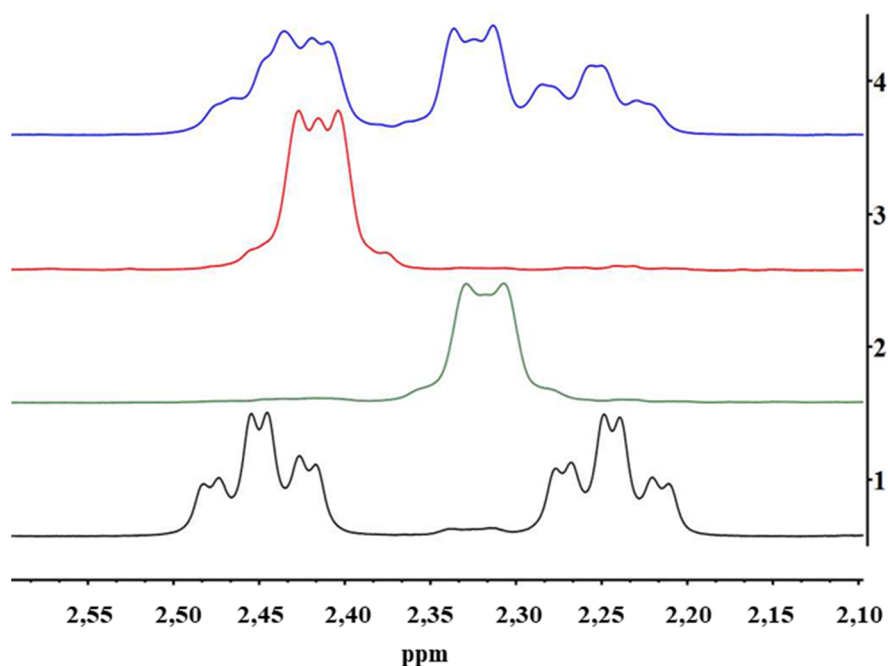
**IV.3.3.6 ábra:** A szerkezeti izomerek feltételezett szerkezetei

A  $\text{Zn(II)}$ -komplex esetében próbáltunk szerkezeti információt gyűjteni  $^1\text{H-NMR}$  spektroszkópiás technikával. Ezért spektrumot vettünk fel az izomerelegről ( $\text{Zn(II)}$ -komplex), amit az elválasztott  $\text{Zn(II)}$ -komplexek  $^1\text{H-NMR}$  spektrumaival hasonlítottunk össze. Mivel a komplexek átalakulnak egyik izomer formából a másikba, ezért az NMR méréseket 278 K hőmérsékleten végeztük el. A  $\text{Zn(II)}$ -komplexekről készült NMR spektrumok egyértelműen bizonyítják, hogy a komplex előállítását követő bonyolult spektrumot a három különböző izomer spektrumának kombinációjával „elő lehet állítani” (IV.3.3.7 ábra).



**IV.3.3.7 ábra:** A  $[\text{Zn}(\text{CD}_2\text{A}_2\text{AMPip})]$ -komplex izomerjeinek, valamint a keverék elegyének  $^1\text{H}$ -NMR spektrumai (400 MHz, 278 K). 1. A 3. izomer  $^1\text{H}$ -NMR spektruma, 2. a 2. izomer  $^1\text{H}$ -NMR spektruma, 3. az 1. izomer  $^1\text{H}$ -NMR spektruma, 4. az izomerelegy  $^1\text{H}$ -NMR spektruma

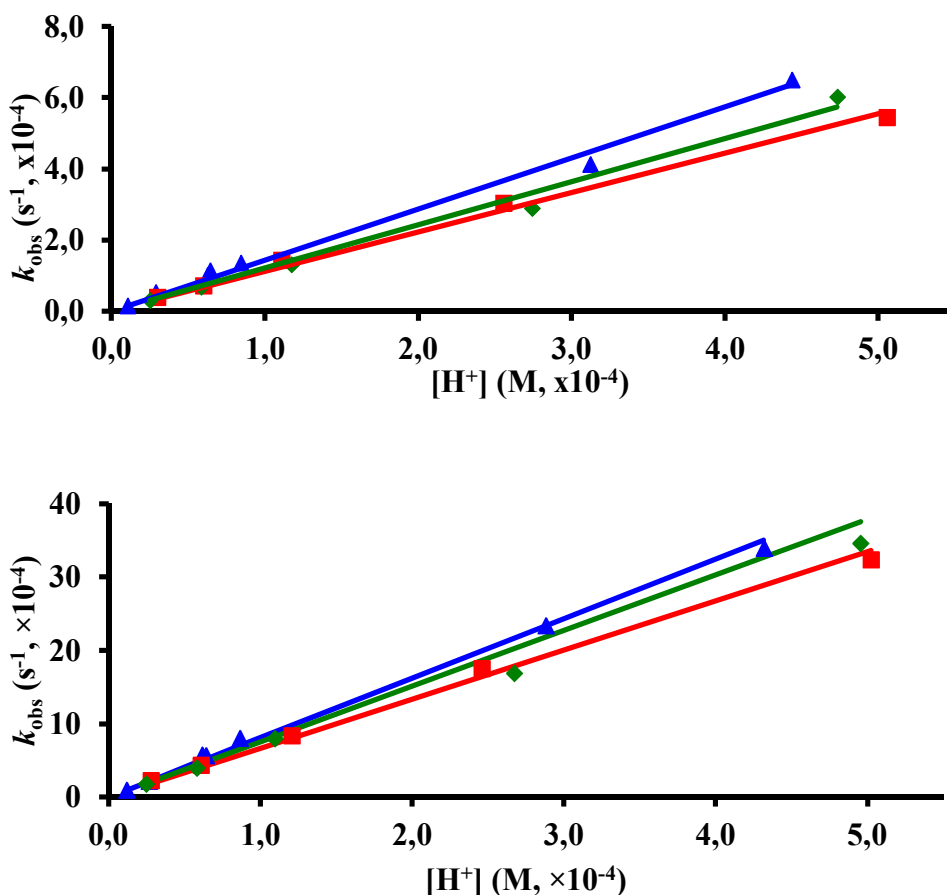
Ha a IV.3.3.7 ábrán a kék keretben szereplő jeleket nézzük, melyek a ciklohexáncsoport –CH protonok jeleihez rendelhetők, akkor jól látható, hogy minden NMR spektrum eltérő, azaz különböző izomerekhez rendelhetők és a három spektrum (1. 2. és 3.) összegzésével a keverékről felvett spektrumot (4.) nyerjük vissza. A jobb átláthatóság kedvéért ez a tartomány (2,1 – 2,6 ppm) kinagyítva a IV.3.3.8 ábrán látható.



**IV.3.3.8 ábra:** A  $[\text{Zn}(\text{CD}_2\text{A}_2\text{AMPip})]$ -komplex izomerjeinek, valamint a keverék  $^1\text{H}$ -NMR spektrumai a 2,1 - 2,6 ppm tartományban (400 MHz, 278 K). 1. a 3. izomer  $^1\text{H}$ -NMR spektruma, 2. a 2. izomer  $^1\text{H}$ -NMR spektruma, 3. a 1. izomer  $^1\text{H}$ -NMR spektruma, 4. a keverék  $^1\text{H}$ -NMR spektruma

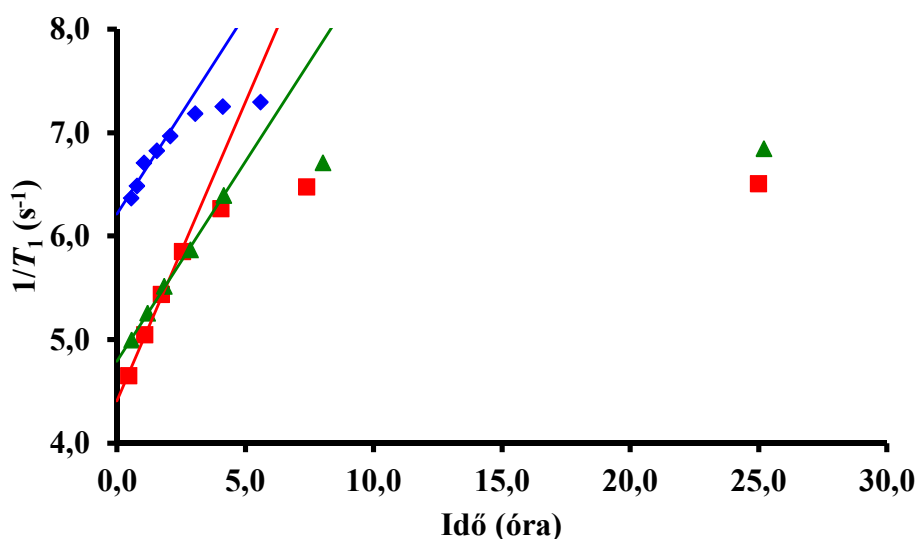
Az elválasztást követően a  $[\text{Mn}(\text{CD}_2\text{A}_2\text{AMPip})]$ -komplex keverékből izolált izomerek kinetikai vizsgálatát is el tudtuk végezni, mivel kíváncsiak voltunk arra, hogy az egyes izomerek milyen mértékben járulnak hozzá a komplex disszociációjához. Két izomer kinetikai vizsgálatát végeztük el. Ez a két izomer a IV.3.3.4 ábra „A” kromatogramján látható 1. és 3. frakcióhoz rendelhető. Amint az a IV.3.3.1 táblázatban is megfigyelhető az egyes izomerek inertsége lényegesen eltér egymástól és valószínűleg a IV.3.3.2 ábrán tapasztalható két exponenciális görbével leírható viselkedés ahhoz rendelhető, hogy az izomerek azonos úton (proton-asszisztált úton,  $k_1$ ), de eltérő sebességgel disszociálnak. Az alkalmazott kicserélő fémion koncentrációja szintén hatással van a disszociáció sebességére, a Cu(II)-koncentráció növekedésével a disszociáció sebessége csökken, azáltal,

hogy egy vegyes kétmagvú közttermékben halmozódik fel a Mn(II)-komplex, melynek disszociációja nagyon lassú („zsákutca-komplex”). A legtöbb esetben (kivétel a CD2A2AM<sup>Morf</sup> ligandum Mn(II)-komplexe) csak a közttermék ( $K_M$ ) stabilitási állandóját sikerült illeszteni. A IV.3.3.9 ábrán a [Mn(CD2A2AM<sup>Pip</sup>)]-komplex 1. és 3. izomerjének pszeudo-elsőrendű sebességi állandóit láthatjuk a  $H^+$ - és a Cu(II)-ion koncentrációjának függvényében.



**IV.3.3.9 ábra:** A [Mn(CD2A2AM<sup>Pip</sup>)]-komplex 1. (felső) és 3. (alsó) izomerjének disszociációs sebessége ( $k_{obs}$ ) a  $H^+$ - és a Cu(II)-ion koncentráció függvényében. A színek a különböző Cu(II)-ion koncentrációkat jelölik: [MnL] = 0,25 mM; ▲10x, ◆20x, ■40x, Cu(II)-ion felesleg, 0,05 M DMP puffer, 0,15 M NaCl és 25,0 °C, 300 nm

Az élő szervezet minél pontosabb modellezése szempontjából a  $[\text{Mn}(\text{CD2A2AM}^{\text{Pip}})]$ -komplex esetén a keverék, továbbá az 1. és 3. izomer disszociációjának sebességét szeronorm oldatban (Seronorm Trace Elements Serum L-1-et használtunk)  $37,0^\circ\text{C}$ -on is megvizsgáltuk. A méréseket  $37^\circ\text{C}$ -on és  $0,49\text{ T}$  térerőn hajtottuk végre. A IV.3.3.10 ábrán láthatók a mérési eredményeink a keverékre és az 1. és a 3. izomerre vonatkozóan. Az izomer keverék és a két elválasztott izomer relaxivitása az idő függvényében nő, mivel a komplex disszociációja során felszabaduló  $\text{Mn(II)}$ -ion kölcsönhatásba lép a szeronorm oldat komponenseivel (fehérjék, bioligandumok, stb.), melynek eredményeként nagy relaxitású részecskék keletkeznek ( $r_{\text{lp}}^{\text{Mn2+szeronorm}} = 57,66\text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ ,  $37^\circ\text{C}$ -on és  $0,49\text{ T}$  térerőn).



**IV.3.3.10 ábra:** A  $[\text{Mn}(\text{CD2A2AM}^{\text{Pip}})]$ -komplex izomerelegyének, továbbá az 1. és 3. izomer inertségének vizsgálata szeronorm oldatban  $37,0^\circ\text{C}$ -on és  $0,49\text{ T}$  térerőn. A kék  $\blacklozenge$  a keverék elegy ( $c_{\text{MnL}} = 0,996\text{ mM}$ ), a piros  $\blacksquare$  az 1. izomer ( $c_{\text{MnL}} = 0,715\text{ mM}$ ), míg a zöld  $\blacktriangle$  a 3. izomer ( $c_{\text{MnL}} = 0,751\text{ mM}$ ) relaxitását mutatja az idő függvényében

A mérési adatok felhasználásával a szeronormban történő disszociációra jellemző, a kezdeti sebességek módszerével meghatározott

sebességi állandók értékét és a számolt felezési időket a  $[\text{Mn}(\text{CD2A2AM}^{\text{Pip}})]$  és a  $[\text{Mn}(\text{CD2A2AM}^{\text{nSer}})]$  (csak a keverékre van adatunk) komplexek esetén a IV.3.3.3 táblázatban adtuk meg, valamint összehasonlítási alapul feltüntettem a Cu(II) cserereakciókból számolt ( $\text{pH} = 7,4$ ,  $25,0^\circ\text{C}$ ) felezési időket is.

A szeronorm oldatban történő méréseknél a felezési idők számításához a mért görbék kezdeti, egyenessel illeszthető szakaszát használtam fel (IV.3.3.2 egyenlet, kezdeti sebességek módszere), míg az (*in vivo*) disszociációs értékek (%Mn) becsléséhez a IV.3.3.3 egyenletet alkalmaztuk.

$$k_d = \frac{\Delta r_{1\text{obs}}}{\Delta t} \times \frac{1}{r_{1\text{p}}^{\text{Mn}^{2+}\text{szeronorm}}} \times \frac{1}{[\text{MnL}]_t} \quad \text{IV. 3.3.2}$$

$$r_{1\text{obs}} = r_{1\text{p}}^{\text{MnL}}[\text{MnL}] + r_{1\text{p}}^{\text{Mn}^{2+}\text{szeronorm}}[\text{Mn}^{2+} - \text{szeronorm}] \\ + r_1^{\text{szeronorm}}[\text{szeronorm}] + r_1^{\text{H}_2\text{O}}$$

IV.3.3.3

ahol az  $r_{1\text{p}}^{\text{MnL}}$  a mangán(II)komplex relaxivitása,  $r_{1\text{p}}^{\text{Mn}^{2+}\text{szeronorm}}$  a mangán(II)-ion és a szeronorm oldatban lévő fehérjékkel kialakuló addukt relaxivitása, valamint az  $r_1^{\text{H}_2\text{O}}$  a víz relaxitás értéke. A számolások során felhasználtuk az előzőleg független mérésből meghatározott  $r_{1\text{p}}^{\text{Mn}^{2+}\text{szeronorm}}$  értéket.

A IV.3.3.3 táblázatban található adatok azt mutatják, hogy a szeronormban mért disszociációra jellemző felezési idők nagymértékben csökkennek a tisztán vizes közegben mért és  $\text{pH} = 7,4$ -re interpolált értékhez képest. Ez valószínűleg a vészérumban jelen lévő fémionok, bioligandumok és egyéb szérumkomponensek disszociáció sebességet befolyásoló (főleg gyorsító) hatásának köszönhető. Az egyes szérumkomponensek disszociációs sebességet befolyásoló hatásának felderítésére jelenleg is folynak vizsgálatok kutatócsoportunkban.

**IV.3.3.3 táblázat:** A szeronorm oldatban történő disszociációra jellemző felezési idők, valamint (*in vivo*) disszociációs értékek (%Mn)  $T = 37\text{ °C}$ -on és a Cu(II)-csere reakciókból számolt felezési idők (pH = 7,4-re extrapolált érték és  $T = 25\text{ °C}$ )

|                                                   | $k_d/c$ | pH   | %Mn  | $t_{1/2}$ (óra)<br>szeronorm | $t_{1/2}$ (óra)<br>Cu(II)<br>csere <sup>a</sup> |
|---------------------------------------------------|---------|------|------|------------------------------|-------------------------------------------------|
| [Mn(CD2A2AM <sup>Pip</sup> )]<br>keverék, 37 °C   | 0,0112  | 7,18 | 3,6  | 62                           | -                                               |
| [Mn(CD2A2AM <sup>Pip</sup> )]<br>1. izomer, 37 °C | 0,0151  | 7,14 | 5,7  | 46                           | 285                                             |
| [Mn(CD2A2AM <sup>Pip</sup> )]<br>3. izomer, 37 °C | 0,0097  | 7,14 | 5,4  | 71                           | 541                                             |
| [Mn(CD2A2AM <sup>nSer</sup> )]<br>keverék, 25 °C  | 0,0488  | 7,47 | 10,1 | 14                           | 136                                             |
| [Mn(CD2A2AM <sup>nSer</sup> )]<br>keverék, 37 °C  | 0,1106  | 7,53 | 20,3 | 6                            | -                                               |

<sup>a</sup> pH = 7,4-re extrapolált érték és  $T = 25\text{ °C}$ ;

## VI. Összefoglalás

Doktori munkám során nyíltláncú (*transz*-CDTA-*bisz*-amid), valamint makrociklusos (háromszorosan helyettesített tetrazaciklododekán származékok, ill. *cisz*- és *transz*-DO2A) aminopolikarboxilát ligandumok Mn(II)-ionnal képződő komplexeinek az oldategyensúlyi, elektrokémiai, disszociációs kinetikai, ill. relaxometriás vizsgálatát végeztük el. A munka elsődleges célja a ligandumok szerkezete és a képződő Mn(II)-komplexek legalapvetőbb kémiai sajátosságai között fennálló összefüggések felderítése volt. Az ilyen jellegű információk közvetlenül új ligandumok céltudatos tervezésére használhatók fel, majd távlatilag a jelenleg tömegesen alkalmazott Gd(III)-ion alapú MRI kontrasztanyagok Mn(II)-alapú ágensekkel való helyettesítésére. Azon ligandumok Mn(II)-kelátjai lehetnek megfelelő jelöltek, melyek nagy termodinamikai és redoxi stabilitással, kinetikai inertséggel és relaxivitással rendelkeznek ahhoz, hogy hatékonyan és biztonságosan alkalmazhatók legyenek az orvosi diagnosztikában.

A háromszorosan helyettesített 12-tagú makrociklusos (7-fogú, 4 gyűrű és három kar donoratomot tartalmazó) ligandumok (PCTA, PC3AM<sup>H</sup>, PC3AM<sup>Gly</sup>, PC3AM<sup>Pip</sup>, DO3A, DO3P, DO3AM<sup>H</sup> és ODO3A) vizsgálatai azt mutatták, hogy ezek Mn(II)-komplexei nem jó relaxációs ágensek, mivel a paramágneses fémionhoz koordinálódó vízmolekula hiánya miatt a relaxáció-sebességet növelő hatásuk kicsi. Az egyensúlyi adatok szerint a DOTA egy acetátcsoportjának az „eltávolítása” alig csökkenti a Mn(II)-komplexek stabilitását, mivel az oldalláncok egy része vagy nem is, vagy csak gyengén koordinálódik a központi Mn(II)-ionhoz. Az acetátcsoportok foszfónátcsoportra történő cseréje (VI.1 táblázat) ugyan a stabilitási állandó növekedését idézte elő (DO3P), de a keletkező Mn(II)-komplex látszólagos stabilitása valójában csökken (a

foszfonátcsoportokat tartalmazó ligandumok összbázicitásának jelentős növekedése miatt). A foszfonát-származék ligandumok pMn értékei messze elmaradnak az acetát vagy amid oldallánccal rendelkező analógaik megfelelő értékeitől.

**VI.1 táblázat:** A vizsgált ligandumok bázicitása és a Mn(II)-komplexek stabilitási állandói, és pMn értékei, ill a komplexek proton-asszisztált disszociációjára jellemző sebességi állandói ( $k_1$ ), valamint a relaxivitásuk (0,49 T térrő, 25,0 °C) összehasonlítása (0,15 M NaCl, 25,0 °C)

|                            | $\log K_{ML}$                      | $\sum_{i=1}^2 \log K_i^H$ | pMn <sup>b</sup> | $k_1$ (M <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> )                                             | $t_{1/2}$ (óra)<br>pH=7,4<br>$c_M = 10^{-5}$<br>M | $r_{1p}$<br>(mM <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> ) |
|----------------------------|------------------------------------|---------------------------|------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------|-------------------------------------------------|
| <b>DO3A</b>                | 16,55(4)                           | 19,00                     | 8,66             | 0,45±0,03                                                                            | 1,1×10 <sup>4</sup>                               | 1,18-1,31;<br>1,30 <sup>e</sup>                 |
| <b>DO3AM<sup>H</sup></b>   | 11,69(2)                           | 15,68                     | 7,32             | 0,94±0,02                                                                            | 5,2×10 <sup>3</sup>                               | 1,33                                            |
| <b>DO3P</b>                | 17,45(2)                           | 23,92                     | 6,43             | (2,4±0,2)×10 <sup>5</sup>                                                            | 3×10 <sup>-3</sup>                                | 2,23 <sup>f</sup>                               |
| <b>ODO3A</b>               | 13,88(1)                           | 16,32                     | 8,57             | 27±2                                                                                 | 1,8×10 <sup>2</sup>                               | 1,40                                            |
| <b>PCTA</b>                | 16,83(1);<br>16,64(7) <sup>a</sup> | 16,70                     | 9,74             | (8,2±0,7)×10 <sup>-2</sup> <sup>a</sup><br>(1,09±0,01)×10 <sup>-1</sup> <sup>c</sup> | 5,9×10 <sup>4</sup>                               | 1,50                                            |
| <b>PC3AM<sup>H</sup></b>   | 11,94(3);<br>11,78(8) <sup>a</sup> | 12,86                     | 7,77             | (1,07±0,01)×10 <sup>-2</sup>                                                         | 4,5×10 <sup>5</sup>                               | 1,27                                            |
| <b>PC3AM<sup>Gly</sup></b> | 13,20(1)                           | 13,40                     | 8,37             | (1,64±0,02)×10 <sup>-2</sup> <sup>d</sup>                                            | 3,5×10 <sup>2</sup> s;<br>0,1 M HCl               | 1,44                                            |
| <b>PC3AM<sup>Pip</sup></b> | 14,05(2)                           | 14,51                     | 8,86             | (4,64±0,04)×10 <sup>-3</sup>                                                         | 1,0×10 <sup>6</sup>                               | 1,28                                            |

<sup>a</sup> <sup>1</sup>H-relaxometria; <sup>b</sup> A pMn értéket pH = 7,4,  $c_M = c_L = 10^{-5}$  M koncentráció mellett számoltuk, Ref. 88; <sup>c</sup> stopped-flow technika nagyon savas közegben (0,1 – 1,2 M [H<sup>+</sup>]), ahol a  $k_1$  a proton-asszisztált disszociációra jellemző sebességi állandója az [Mn(HL)]-komplexnek; <sup>d</sup> az [Mn(H<sub>3</sub>L)]-komplex proton-asszisztált disszociációra jellemző sebességi állandó; <sup>e</sup> Ref. 81; <sup>f</sup> 8,5 – 9,3 pH tartományban meghatározva, ahol főleg az [Mn(DO3P)]<sup>4-</sup> összetételű komplex van jelen;

A legjobb látszólagos stabilitással (a legnagyobb pMn-nel) a merev „vázú” és előrerendezett PCTA ligandum Mn(II)-kelátja rendelkezik. Ebből az következik, hogy **a foszfonátcsoportok oldalláncként való alkalmazása kerülendő a további ligandumok tervezésekor, míg a makrociklus piridingyűrűvel történő merevítése jó hatással van a ligandum**

**Mn(II)-kötő képességére. A stabilitás kis mértékben csökken, amennyiben az acetátcsoportokat amidcsoportokra cseréljük**, de ez a csökkenés némileg „visszaszorítható” az amid nitrogén szubsztituáltsági fokának megfelelő megválasztásával. **A komplexek látszólagos stabilitási állandója primer < szekunder < tercier sorrendben változik.**

Elvégeztük a Mn(II)-komplexek disszociációjának részletes kinetikai vizsgálatát. A  $k_1$  proton-asszisztált disszociációra jellemző sebességi állandók (vagy a vérplazma pH = 7,4 értékénél a komplexek disszociációjára jellemző felezési idők) azt mutatják (VI.1 táblázat), hogy a 12-tagú makrociklusos ligandumok **Mn(II)-komplexeinek disszociációs kinetikai viselkedése, inertsége is nagymértékben függ egyrészt a makrociklus merevségétől, másrészt a makrociklusban lévő donoratomok, valamint az oldalláncban található donoratomok kémiai minőségétől.** A makrociklusban található amincsoport éteres oxigénatomra történő cseréje (ODO3A ligandum) a  $k_1$  érték 50-szeres növekedését idézi elő, míg ugyanezen amincsoportnak piridingyűrűbe való „kényszerítése” (PCTA ligandum) az ötödére csökkenti az adott sebességi állandót a  $[\text{Mn}(\text{DO3A})]^-$ -komplex megfelelő értékéhez képest. Az oldalláncokban lévő donoratomok minősége is jelentősen befolyásolja a keletkező kelátok inertségét, mivel az amidoldalláncot tartalmazó ligandumok Mn(II)-komplexei inertebbek, mint az acetát-származékok. A Gd(III)-komplexeknek azt a tulajdonságát, hogy a komplexek inertsége nő a primer  $\rightarrow$  a szekunder  $\rightarrow$  tercier amid sorrendben, a Mn(II)-komplexek esetében is sikerült alátámasztani. **A tercier-amid oldallánccal rendelkező PC3AM<sup>Pip</sup> ligandum Mn(II)-komplexe bizonyult a leginertebbnek a vizsgált komplexek közül.** Ezek alapján a tercier amidcsoportok hasznos „építőkövek” lehetnek a Mn(II)-ion komplexálására alkalmas ligandumok tervezése során. A látszólagos stabilitási állandó (pMn) és a proton-asszisztált disszociációs útvonal állandójának negatív logaritmusa ( $-\log k_1$ ) között talált

lineáris összefüggés alapján az várható, hogy a nagy pMn értékkel rendelkező komplexek nagyobb inertséggel is rendelkeznek (IV.1.2.4 ábra).

Az oldalláncok számának további csökkentése (a fémionhoz koordinálódó vízmolekula megjelenése érdekében) a diacetát-származékoknál két szerkezeti DO2A izomert eredményez. Ezen dolgozat keretein belül a *cisz*- és a *transz*-DO2A ligandum és Mn(II)-komplexeik részletes egyensúlyi, kinetikai és elektrokémiai vizsgálatát végeztük el. A DO2A-származék ligandumok protonálódási állandói és a Mn(II)-ionnal képződő komplexeik stabilitási állandói gyakorlatilag függetlenek az alkalmazott ionerősségtől, mivel a 0,15 M NaCl-ra mért adataink jó egyezést mutatnak a korábban 0,1 M Me<sub>4</sub>NCl ionerősségben mért irodalmi értékekkel. A pMn értékek alapján **a *cisz*-származék stabilabb komplexet képez a Mn(II)-ionnal, mint a *transz*-DO2A.**

A vizsgált DO2A-származékok Mn(II)-komplexei esetében a fémcseré reakciók során a komplexek disszociációja csak savkatalizált úton játszódott le. (A spontán disszociációra jellemző sebességi állandók ( $k_0$ ) értékére vagy negatív értéket kaptunk vagy az érték összemérhető volt az állandó hibájával. Ez azt mutatja, hogy a vizsgált körülmények között a komplexek spontán disszociációja elhanyagolható.) Ez a felismerés váratlan, mivel a [Mn(DOTA)]<sup>2-</sup>-komplex esetében a spontán disszociációnak van szerepe a kelát bomlása során. A proton-asszisztált disszociációra jellemző sebességi állandó ( $k_1$ ) értéke két-három nagyságrenddel nagyobb, mint azt a [Mn(NOTA)]<sup>-</sup>- és a [Mn(DOTA)]<sup>2-</sup>-komplexeik esetében mérték. A bomlási felezési idők alapján is egyértelműen látszik, hogy az oldalláncok számának csökkentésével a komplexek labilitása nő és a két vizsgált izomer **közül a *transz*-származék rendelkezik jobb disszociációkinetikai paraméterekkel**, bár összességében a két izomer komplex közötti különbség nem számottevő.

A  $[\text{Mn}(\text{cisz-DO}_2\text{A})]$ - és a  $[\text{Mn}(\text{transz-DO}_2\text{A})]$ -komplexek redoxi stabilitásáról ciklikus voltammetria segítségével gyűjtöttünk információt. A Mn(II)-komplexekre egy kvázi-reverzibilis folyamatot detektáltunk, a féllépcsőpotenciál (Ag/AgCl referencia elektródra vonatkoztatott) értéke +636 mV ( $[\text{Mn}(\text{cisz-DO}_2\text{A})]$ ) és +705 mV ( $[\text{Mn}(\text{transz-DO}_2\text{A})]$ ). Az utóbbi nagyobb oxidációs potenciál értékéből arra következtethetünk, hogy a +2-es oxidációs állapot a  $[\text{Mn}(\text{transz-DO}_2\text{A})]$ -komplex esetén némileg stabilabb, mint a *cisz*-származéknál. A kapott féllépcsőpotenciál értékek egyértelműen azt mutatják, hogy **mindkét komplex ellenáll az oxidációnak (levegőn) pH = 7 értéken.**

A dolgozat harmadik részeként **hat darab nyíltláncú *transz*-CDTA származék ligandum előállítását, Mn(II)-ionnal képződő komplexeik egyensúlyi, kinetikai és relaxációs sajátosságait mutattuk be.** A vegyületek előállítását irodalmi, ill. a háromszorosan helyettesített ciklododekán-származékok vizsgálata során kapott saját eredmények inspirálták. A *bisz*-amid származék ligandumok Mn(II)-ionnal képződő komplexeinek a stabilitási állandója kisebb, mint a  $[\text{Mn}(\text{CDTA})]^{2-}$ -komplex megfelelő értéke, de a pH = 7,4 számított pMn értékek alapján az újonnan előállított ligandumok Mn(II)-ion kötő képessége nem romlott számottevően ( $\text{pMn}_{\text{transz-CDTA}} = 8,68$  és a *bisz*-amidok pMn értéke 7,08 – 8,35 között változik). A Mn(II)-komplexekre jellemző relaxivitás értékek meghaladják a  $[\text{Mn}(\text{CDTA})]^{2-}$ -komplex relaxitás értékét. Ez azt jelenti, hogy **két acetátcsoport amidra történő cseréje pozitív irányba befolyásolja a Mn(II)-komplexek relaxitását.** A komplexek relaxitása 0,49 T térerőnél meghaladja a kereskedelmi forgalomban lévő Gd(III)-alapú **ágensek megfelelő értékeit is.** A relaxitás értékeket humán szérum albumin (HSA) jelenlétében és szeronorm oldatban is meghatároztuk. HSA jelenlétében vagy a szeronorm oldatban mért értékek nagyobbak, mint a tisztán

vizes oldatokban mért adatok, ami egyértelmű jele a fehérje-komplex kölcsönhatásnak. A  $[\text{Mn}(\text{CD2A2AM}^{\text{BzPip}})]$ -komplex esetén 0,8 mM HSA jelenléte mellett mért relaxivitás érték kiugróan nagy ( $r_{1p} = 19,44 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ ), ami a fehérje és a komplex erős kölcsönhatásának az eredménye ( $\log K_{\text{add}} = 3,4(1)$ ).

A *transz*-CDTA-*bisz*-amid származékok Mn(II)-komplexeinek kinetikai inertségét is vizsgáltuk a kelátok Cu(II)-ionnal lejátszódó fémcseré reakcióinak tanulmányozásával. **Két acetát oldallánc amidra történő cseréjével, a vártak megfelelően javult a Mn(II)-komplexek inertsége a  $[\text{Mn}(\text{CDTA})]^{2-}$  „anyavegyületéhez” képest ( $t_{1/2} = 57 - 1674$  óra vs. 12 óra).** A kinetikai görbék (Abs. – idő) illesztését ugyanakkor csak két exponenciális függvénnyel tudtuk elvégezni, amit az oldatban megjelenő szerkezeti izomerek eltérő inertségével értelmeztünk.

A  $[\text{Mn}(\text{CD2A2AM}^{\text{Pip}})]$ - és a  $[\text{Zn}(\text{CD2A2AM}^{\text{Pip}})]$ -komplexek HPLC vizsgálata során három csúcs megjelenését tapasztaltuk. Az izomereket preparatív HPLC technikával elválasztottuk, majd a frakciókat NMR, MS, ill.  $^1\text{H}$ -relaxometriásan jellemeztük. Az elválasztott Mn(II) izomerkomplexek kinetikai inertségét külön-külön is vizsgáltuk: a három izomer közül kettő inertsége lényegesen eltér egymástól. Szeronorm oldatban a disszociáció gyorsabban játszódik le, mint azt a Cu(II) cserereakciók alapján várnánk, a vészérum egyes komponensei katalizálhatják a disszociációt. (A részletek feltárása jelenleg folyamatban van).

Összességében elmondható, hogy az általunk előállított és megvizsgált *transz*-CDTA-*bisz*-amid származék ligandumok Mn(II)-komplexei fizikai-kémiai paramétereik alapján felveszik a versenyt egyes kereskedelmi forgalomban lévő Gd(III)-alapú MRI kontrasztanyagokkal, mind hatékonyság (relaxivitás), mind a biztonságos alkalmazást szolgáló stabilitás és inertség tekintetében.

## VII. Summary

My doctoral thesis summarizes the study of the equilibrium, electrochemical, dissociation kinetic and relaxometric properties of Mn(II) complexes with open-chained (*trans*-CDTA bisamide) as well as macrocyclic (trisubstituted tetraazacyclododecane derivatives, as well as *cis*- and *trans*-DO2A) aminopolycarboxylate ligands. The main goal of our investigations was to explore the relationship between ligands structure and the basic physico-chemical properties of the Mn(II) complexes. Such kind of information may primary be valuable for the design of new ligands with tailored properties, targeting at the replacement of Gd(III)-based MRI contrast agents, dominating the clinical routine nowadays, by safer Mn(II)-based agents. Those Mn(II) based complexes could be suitable which possess high thermodynamic and redox stability, inertness as well as high relaxivity for the efficient and safe *in vivo* applications in the medical diagnostics.

Based on our results obtained for the Mn(II) complexes formed with trisubstituted 12-membered (7 dentate, 4 ring and 3 arm donor atom) macrocyclic ligands (PCTA, PC3AM<sup>H</sup>, PC3AM<sup>Gly</sup>, PC3AM<sup>Pip</sup>, DO3A, DO3P, DO3AM<sup>H</sup> and ODO3A), we have concluded that, these complexes are not very efficient relaxation agents, because their low enhancing effect on relaxation rate due to the lack of the water molecule being directly coordinated to the paramagnetic metal ion. Based on the equilibrium data we can state that the “elimination” of one of the acetate group from DOTA ligand hardly effects the stability constants of the complexes, because one or some of these side arms are not or just slightly coordinated to the central Mn(II) ion. However, the replacement of the acetate groups with phosphonate moieties increases the stability constant (Table VII.1) of the complexes (DO3P), although the

conditional stability constant decreases (due to the significantly increased overall basicity of the phosphonate containing ligands). The  $pMn$  values of complexes formed with phosphonate derivative ligands are much smaller than the corresponding value of ligands having acetate or amide metal binding pendants. The manganese complex of PCTA ligand, which possess rigid “skeleton” and preorganized structure, has the highest conditional stability constant (i.e. the highest  $pMn$ ). This finding bring us to the conclusion, that the phosphonate groups as pendant arms are not suitable for further ligand design, while rigidifying the backbone of the macrocycle by incorporation one of its N-atoms into a pyridine ring has a positive effect on the manganese binding ability. This ability slightly reduced when the acetate groups are replaced with amide metal binding units, but this decrease can be somewhat compensated by using properly selected (substitution) amide nitrogen pendants. The conditional stability constants follow the order as primary < secondary < tertiary amide pendants. Detailed dissociation kinetic study of Mn(II)-complexes was also performed to access information concerning their inertness. The rate constants of the proton-assisted pathway ( $k_1$ , Table VII.1) (or the half-life of the dissociation extrapolated to  $pH = 7.4$ ) indicate that, the dissociation kinetic behavior (inertness) of the Mn(II) complexes strongly depends on the rigidity of the 12-membered macrocycle and the nature of the donor atoms present in the macrocycle as well as on the nature of the side arms. The replacement of the secondary amine in the macrocycle by etheric oxygen atom (ODO3A ligand) resulted in 50 fold increase in the  $k_1$  value of the Mn(II) complex, while incorporation of a secondary amine moiety into a pyridine ring (PCTA ligand) has a beneficial effect on the kinetic parameters as evidenced by the 5-fold decrease in the  $k_1$  value as compared to the corresponding value of  $[Mn(DO3A)]^-$  complex.

**Table VII.1:** Comparison of basicity of the investigated ligands, the stability and protonation constants, pMn values, rate constants of proton-assisted pathway ( $k_1$ ) as well as the relaxivity (0.49 T field strength) of the formed complexes (0.15 M NaCl, 25.0 °C)

|                            | $\log K_{ML}$                      | $\sum_{i=1}^2 \log K_i^H$ | pMn <sup>b</sup> | $k_1$ (M <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> )                                             | $t_{1/2}$ (hour)<br>pH=7.4<br>$c_M = 10^{-5}$<br>M | $r_{1p}$<br>(mM <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> ) |
|----------------------------|------------------------------------|---------------------------|------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------|-------------------------------------------------|
| <b>DO3A</b>                | 16.55(4)                           | 19.00                     | 8.66             | 0.45±0.03                                                                            | 1.1×10 <sup>4</sup>                                | 1.18-1.31;<br>1.30 <sup>e</sup>                 |
| <b>DO3AM<sup>H</sup></b>   | 11.69(2)                           | 15.68                     | 7.32             | 0.94±0.02                                                                            | 5.2×10 <sup>3</sup>                                | 1.33                                            |
| <b>DO3P</b>                | 17.45(2)                           | 23.92                     | 6.43             | (2.4±0.2)×10 <sup>5</sup>                                                            | 3×10 <sup>-3</sup>                                 | 2.23 f                                          |
| <b>ODO3A</b>               | 13.88(1)                           | 16.32                     | 8.57             | 27±2                                                                                 | 1.8×10 <sup>2</sup>                                | 1.40                                            |
| <b>PCTA</b>                | 16.83(1);<br>16.64(7) <sup>a</sup> | 16.70                     | 9.74             | (8.2±0.7)×10 <sup>-2</sup> <sup>a</sup><br>(1.09±0.01)×10 <sup>-1</sup> <sup>c</sup> | 5.9×10 <sup>4</sup>                                | 1.50                                            |
| <b>PC3AM<sup>H</sup></b>   | 11.94(3);<br>11.78(8) <sup>a</sup> | 12.86                     | 7.77             | (1.07±0.01)×10 <sup>-2</sup>                                                         | 4.5×10 <sup>5</sup>                                | 1.27                                            |
| <b>PC3AM<sup>Gly</sup></b> | 13.20(1)                           | 13.40                     | 8.37             | (1.64±0.02)×10 <sup>-2</sup> <sup>d</sup>                                            | 3.5×10 <sup>2</sup> s;<br>0.1 M HCl                | 1.44                                            |
| <b>PC3AM<sup>Pip</sup></b> | 14.05(2)                           | 14.51                     | 8.86             | (4.64±0.04)×10 <sup>-3</sup>                                                         | 1.0×10 <sup>6</sup>                                | 1.28                                            |

<sup>a</sup> <sup>1</sup>H-relaxometry; <sup>b</sup> The pMn value was calculated at pH = 7.4,  $c_M = c_L = 10^{-5}$  M Ref. 88; <sup>c</sup> stopped-flow in highly acidic condition (0.1 – 1.2 M [H<sup>+</sup>]) where the  $k_1$  is the proton-assisted dissociation of the [Mn(HL)] complex; <sup>d</sup> the  $k_1$  is the proton-assisted dissociation of the [Mn(H<sub>3</sub>L)] complex; <sup>e</sup> Ref. 81; <sup>f</sup> determined in the pH range of 8.5–9.3 where mainly the [Mn(DO3P)]<sup>4-</sup> complex exists in solution.

The inertness of the complexes is also influenced by the nature of the pendant arms, since the Mn(II) complexes of ligands containing amide side chains are more inert than the corresponding acetate derivatives. Such behavior of the Gd(III) complexes that, the inertness of the complexes grows in the primary, secondary and tertiary amide order, has also been found for the Mn(II) complexes. The [Mn(PC3AM<sup>Pip</sup>)] complex containing tertiary amide side chains has the highest kinetic inertness among the investigated complexes. One can conclude that, these tertiary amide groups might be useful “building blocks” for ligands tailored for efficient and strong Mn(II) complexation. Based on the linear relationship between the conditional stability constants

(pMn) and the negative logarithm of the proton-assisted dissociation pathway, we may conclude that complexes having high pMn value could also have high kinetic inertness (Figure 1.2.4).

Further reducing the number of side chains (in order to have a water molecule coordinated to the metal ion) resulted in two structural DO2A isomer derivatives (4 ring + 2 sidearm donor atoms). In this work we studied the equilibrium, kinetic and electrochemical properties in detail of the *cis*- and *trans*-DO2A derivatives. The protonation of the ligand and the protonation as well as the stability constants of the Mn(II) complexes are in fact independent from the used ionic strength, because our data at 0.15 M NaCl are in good agreement with data measured earlier in 0.1 M Me<sub>4</sub>NCl. As the pMn values show the *cis*-DO2A derivative has higher stability than the *trans*-derivative.

The investigated Mn(II) complexes of DO2A derivatives dissociate only via acid-catalyzed pathway during the transmetallation reactions. (The spontaneous dissociation is negligible, because the fitting procedure gives either negative value for  $k_0$  or small positive value with high standard deviation comparable with the value itself.) This finding is unexpected since the spontaneous dissociation pathway has a noticeable contribution to the decomplexation of the [Mn(DOTA)]<sup>2-</sup> complex. The proton-assisted dechelation of the investigated [Mn(DO2A)] derivatives occurs two-three orders of magnitude faster than that of [Mn(NOTA)]<sup>-</sup> and [Mn(DOTA)]<sup>2-</sup> complexes. It is clear, based on the half-life of the dissociation, that the lability of the complexes increases by reducing the number of side chains. The *trans*-DO2A has higher inertness compared to the *cis*-isomer, although the difference between the two isomers is not significant.

The redox stability of the [Mn(*cis*-DO2A)] and [Mn(*trans*-DO2A)] complexes has been studied by using cyclic voltammetry. The cyclic voltammograms indicate a quasireversible systems with a half-wave potential

of +636 mV ( $[\text{Mn}(\text{cis-DO2A})]$ ) and +705 mV ( $[\text{Mn}(\text{trans-DO2A})]$ ) versus Ag/AgCl. The slightly higher oxidation potential for  $[\text{Mn}(\text{trans-DO2A})]$  can be explained in terms of the +2 oxidation state of manganese being more stable in this complex. The half-wave potentials indicate clearly that both complexes are resistant against oxidation in aqueous solution by air near pH = 7.0.

In the third part of my thesis the synthesis of six open-chain *trans*-CDTA derivatives ligands and equilibrium, kinetic and relaxometric properties of their Mn(II) complexes have been discussed. Synthesis of the ligands was inspired by literature data and our results collected during the investigation of the trisubstituted cyclododecane derivatives. Stability constants of the Mn(II) complexes of the bis(amide) derivatives are smaller than the corresponding value of the  $[\text{Mn}(\text{CDTA})]^{2-}$ . However, based on the calculated pMn value at pH = 7,4 for the complexes of the new ligands, their manganese(II) binding ability is not affected significantly ( $\text{pMn}_{\text{trans-CDTA}} = 8.68$  and the pMn values of the bis(amides) lie in the range of 7.08 – 8.35). The relaxivity of the Mn(II) complexes of the new bis(amide) derivatives are higher than the relaxivity of the  $[\text{Mn}(\text{CDTA})]^{2-}$  complex. It means that the replacement of two acetate groups by amide moieties influences positively the relaxation properties of their Mn(II) complexes. Notably, the relaxivity of the complexes at 0.49 T are higher than those of the commercially available Gd(III) based MRI contrast agents. Relaxivity values have also been measured in the presence of human serum albumin (HSA) and seronorm in solution. The relaxivity of the complexes in the presence of HSA and seronorm is higher compared to the relaxivity measured in pure aqueous solution, clearly indicating protein-complex interaction. Relaxivity of the  $[\text{Mn}(\text{CD2A2AM}^{\text{BzPip}})]$  complex in the presence of 0.8 mM HSA is extremely high ( $r_{1p} = 19.44 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ ), due to the strong interaction between the protein and the complex ( $\log K_{\text{add}} = 3.4(1)$ ).

We studied the kinetic inertness of the Mn(II) complexes of *trans*-CDTA bis(amide) ligands with Cu(II) induced transmetallation reactions. As expected based on the literature data, the replacement of two acetate pendant arms by amides resulted in a notable increase in the inertness of the Mn(II) complexes as compared to the parent  $[\text{Mn}(\text{CDTA})]^{2-}$  complex ( $t_{1/2} = 57 - 1674$  hour vs. 12 hour). At the same time, fitting of the primary kinetic data (Abs. - time) could be done with bi-exponential function, which was explained by the presence of structural isomers in the solution having different inertness.

During the HPLC investigation of the  $[\text{Mn}(\text{CD2A2AM}^{\text{Pip}})]$  and  $[\text{Zn}(\text{CD2A2AM}^{\text{Pip}})]$  complexes three peaks (corresponding to three isomeric complexes) were observed and these isomers were separated by preparative HPLC technique as well as characterized by using NMR, MS and  $^1\text{H}$ -relaxometry. Inertness of two out of three isomers were studied independently, and the isomers were found to behave differently. Dissociation kinetic studies performed in seronorm solution indicated that, the dissociation of the Mn(II) complexes occurs faster than expected based on the results of Cu(II) exchange reaction. Relying on these data, we might conclude that some individual components of the seronorm solution (bioligands, metal ions proteins etc.) catalyze the dissociation of the complex. (This phenomenon is under study.)

Altogether, based on the favorable physico-chemical parameters of our newly designed and synthesized Mn(II) complexes of CDTA bis(amide) derivatives (stability/inertness/relaxivity), these Mn(II)-based MRI CA candidates can be considered as alternatives to Gd(III) based MRI CAs available currently on the market in terms of effectiveness (relaxivity) and safety (stability and inertness).

## VIII. Irodalomjegyzék

- (1) Jacques, V.; Desreux, J. F. New Classes of MRI Contrast Agents. In *Contrast Agents I*; Krause, W., Ed.; de Meijere, A., Kessler, H., Ley, S. V., Thiem, J., Vögtle, F., Houk, K. N., Lehn, J.-M., Schreiber, S. L., Trost, B. M., Yamamoto, H., Series Eds.; Springer Berlin Heidelberg: Berlin, Heidelberg, **2002**; Vol. 221, pp 123–164. [https://doi.org/10.1007/3-540-45733-X\\_5](https://doi.org/10.1007/3-540-45733-X_5).
- (2) Shawn E. Cowper. Nephrogenic Fibrosing Dermopathy: The First 6 Years: *Curr. Opin. Rheumatol.* **2003**, 15 (6), 785–790. <https://doi.org/10.1097/00002281-200311000-00017>.
- (3) Grobner, T. Gadolinium – a Specific Trigger for the Development of Nephrogenic Fibrosing Dermopathy and Nephrogenic Systemic Fibrosis? *Nephrol. Dial. Transplant.* **2006**, 21 (4), 1104–1108. <https://doi.org/10.1093/ndt/gfk062>.
- (4) Errante, Y.; Cirimele, V.; Mallio, C. A.; Di Lazzaro, V.; Zobel, B. B.; Quattrocchi, C. C. Progressive Increase of T1 Signal Intensity of the Dentate Nucleus on Unenhanced Magnetic Resonance Images Is Associated With Cumulative Doses of Intravenously Administered Gadodiamide in Patients With Normal Renal Function, Suggesting Dechelation: *Invest. Radiol.* **2014**, 49 (10), 685–690. <https://doi.org/10.1097/RLI.0000000000000072>.
- (5) Karabulut, N. Gadolinium Deposition in the Brain: Another Concern Regarding Gadolinium-Based Contrast Agents. *Diagn. Interv. Radiol.* **2015**, 21 (4), 269–270. <https://doi.org/10.5152/dir.2015.001>.
- (6) Robert, P.; Lehericy, S.; Grand, S.; Violas, X.; Fretellier, N.; Idée, J.-M.; Ballet, S.; Corot, C. T1-Weighted Hypersignal in the Deep Cerebellar Nuclei After Repeated Administrations of Gadolinium-Based Contrast Agents in Healthy Rats: Difference Between Linear and Macrocyclic Agents. *Invest. Radiol.* **2015**, 50 (8), 473–480. <https://doi.org/10.1097/RLI.0000000000000181>.
- (7) *The Chemistry of Contrast Agents in Medical Magnetic Resonance Imaging*, Second edition.; Helm, L., Merbach, A. E., Tóth, É., Eds.; John Wiley & Sons Inc: Hoboken, NJ, **2013**.
- (8) Pan, D.; Schmieder, A. H.; Wickline, S. A.; Lanza, G. M. Manganese-Based MRI Contrast Agents: Past, Present, and Future. *Tetrahedron* **2011**, 67 (44), 8431–8444. <https://doi.org/10.1016/j.tet.2011.07.076>.
- (9) Röntgen, W. C. ON A NEW KIND OF RAYS. *Science* **1896**, 3 (59), 227–231. <https://doi.org/10.1126/science.3.59.227>.
- (10) Weinmann, H.; Brasch, R.; Press, W.; Wesbey, G. Characteristics of Gadolinium-DTPA Complex: A Potential NMR Contrast Agent. *Am. J. Roentgenol.* **1984**, 142 (3), 619–624. <https://doi.org/10.2214/ajr.142.3.619>.
- (11) Desreux, J. F.; Barthélemy, P. P. Highly Stable Lanthanide Macrocyclic Complexes: In Search of New Contrast Agents for NMR Imaging. *Int. J. Rad. Appl. Instrum. B* **1988**, 15 (1), 9–15. [https://doi.org/10.1016/0883-2897\(88\)90153-5](https://doi.org/10.1016/0883-2897(88)90153-5).
- (12) Rocklage, S. M.; Cacheris, W. P.; Quay, S. C.; Hahn, F. E.; Raymond, K. N. Manganese(II) N,N'-Dipyridoxylethylenediamine-N,N'-Diacetate 5,5'-Bis(Phosphate). Synthesis and Characterization of a Paramagnetic Chelate for Magnetic Resonance Imaging Enhancement. *Inorg. Chem.* **1989**, 28 (3), 477–485. <https://doi.org/10.1021/ic00302a019>.
- (13) Pomeroy, O. H.; Wendland, M.; Wagner, S.; Derugin, N.; Holt, W. W.; Rocklage, S. M.; Quay, S.; Higgins, C. B. Magnetic Resonance Imaging of Acute Myocardial Ischemia Using a Manganese Chelate, Mn-DPDP. *Invest. Radiol.* **1989**, 24 (7), 531–536.

- (14) Olanow, C. W. Manganese-Induced Parkinsonism and Parkinson's Disease. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **2004**, *1012* (1), 209–223. <https://doi.org/10.1196/annals.1306.018>.
- (15) Bowman, A. B.; Kwakye, G. F.; Herrero Hernández, E.; Aschner, M. Role of Manganese in Neurodegenerative Diseases. *J. Trace Elem. Med. Biol.* **2011**, *25* (4), 191–203. <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2011.08.144>.
- (16) Idée, J.-M.; Port, M.; Raynal, I.; Schaefer, M.; Le Greneur, S.; Corot, C. Clinical and Biological Consequences of Transmetallation Induced by Contrast Agents for Magnetic Resonance Imaging: A Review. *Fundam. Clin. Pharmacol.* **2006**, *20* (6), 563–576. <https://doi.org/10.1111/j.1472-8206.2006.00447.x>.
- (17) Brücher, E. Kinetic Stabilities of Gadolinium(III) Chelates Used as MRI Contrast Agents. In *Contrast Agents I*; Krause, W., Ed.; de Meijere, A., Kessler, H., Ley, S. V., Thiem, J., Vögtle, F., Houk, K. N., Lehn, J.-M., Schreiber, S. L., Trost, B. M., Yamamoto, H., Series Eds.; Springer Berlin Heidelberg: Berlin, Heidelberg, 2002; Vol. 221, pp 103–122. [https://doi.org/10.1007/3-540-45733-X\\_4](https://doi.org/10.1007/3-540-45733-X_4).
- (18) Morrow, J. R.; Tóth, É. Next-Generation Magnetic Resonance Imaging Contrast Agents. *Inorg. Chem.* **2017**, *56* (11), 6029–6034. <https://doi.org/10.1021/acs.inorgchem.7b01277>.
- (19) Drahoš, B.; Lukeš, I.; Tóth, É. Manganese(II) Complexes as Potential Contrast Agents for MRI. *Eur. J. Inorg. Chem.* **2012**, *2012* (12), 1975–1986. <https://doi.org/10.1002/ejic.201101336>.
- (20) Dorazio, S. J.; Morrow, J. R. The Development of Iron(II) Complexes as ParaCEST MRI Contrast Agents. *Eur. J. Inorg. Chem.* **2012**, *2012* (12), 2006–2014. <https://doi.org/10.1002/ejic.201101169>.
- (21) Dorazio, S. J.; Tsitovich, P. B.; Sifers, K. E.; Sperryak, J. A.; Morrow, J. R. Iron(II) PARACEST MRI Contrast Agents. *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133* (36), 14154–14156. <https://doi.org/10.1021/ja204297z>.
- (22) Kálmán, F. K.; Tircsó, G. Kinetic Inertness of the Mn<sup>2+</sup> Complexes Formed with AAZTA and Some Open-Chain EDTA Derivatives. *Inorg. Chem.* **2012**, *51* (19), 10065–10067. <https://doi.org/10.1021/ic300832e>.
- (23) Hubin, T. J.; McCormick, J. M.; Collinson, S. R.; Buchalova, M.; Perkins, C. M.; Alcock, N. W.; Kahol, P. K.; Raghunathan, A.; Busch, D. H. New Iron(II) and Manganese(II) Complexes of Two Ultra-Rigid, Cross-Bridged Tetraazamacrocycles for Catalysis and Biomimicry. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122* (11), 2512–2522. <https://doi.org/10.1021/ja990366f>.
- (24) Lauterbur, P. C. Image Formation by Induced Local Interactions: Examples Employing Nuclear Magnetic Resonance. *Nature* **1973**, *242* (5394), 190–191. <https://doi.org/10.1038/242190a0>.
- (25) W.Y. Ussov; M.L. Beljanin; O. Y. Borodin; A. A. Churin; A. I. Bezlepkín; V. D. Filimonov. *Medical Visualization (in Russian)* **2009**, *5*, 121.
- (26) W. Y. Ussov; A. A. Bogunetsky; V. E. Babokin; M. L. Belyanin; S. G. Goltsov;; V. D. Filimonov. Use of High-Relaxivity Paramagnetic Complex Mn-DCTA as Contrast Agent for Simultaneous MR-Coronarography and Contrast-Enhanced MRI of the Heart. European Society of Radiology, Poszter **2014**.
- (27) Mamourian, A. C.; Burnett, K. R.; Goldstein, E. J.; Wolf, G. L.; Kressel, H. Y.; Baum, S. Proton Relaxation Enhancement in Tissue Due to Ingested Manganese Chloride: Time Course and Dose Response in the Rat. *Physiol. Chem. Phys. Med. NMR* **1984**, *16* (2), 123–128.
- (28) Kang, Y. S.; Gore, J. C.; Armitage, I. M. Studies of Factors Affecting the Design of NMR Contrast Agents: Manganese in Blood as a Model System. *Magn. Reson. Med.* **1984**, *1* (3), 396–409. <https://doi.org/10.1002/mrm.1910010310>.

- (29) Yu. Ussov, V.; I. Bezlepkín, A.; Yu. Borodin, O.; L. Belyanin, M.; Filimonov, V. Experimental evaluation of Mn(II)-trans-1,2-diaminocyclohexane-N,N,N',N'-tetraacetate as paramagnetic contrast agent for enhancement of cerebral meningiomas in dogs. *Бюллетень сибирской медицины* **2015**, *13* (3), 63–69. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2014-3-63-69>.
- (30) W. Y. Ussov; M. L. Belyanin; O. Y. Borodin; A. A. Churin; T. V. Dubskaya; V. D. Filimonov. Manganese-DCTA Complex as Highly-Stable Paramagnetic Contrast Agent for MRI Studies. *European Society of Radiology Poszter* **2010**.
- (31) Cacace, A. T.; Brozoski, T.; Berkowitz, B.; Bauer, C.; Odintsov, B.; Bergkvist, M.; Castracane, J.; Zhang, J.; Holt, A. G. Manganese Enhanced Magnetic Resonance Imaging (MEMRI): A Powerful New Imaging Method to Study Tinnitus. *Hear. Res.* **2014**, *311*, 49–62. <https://doi.org/10.1016/j.heares.2014.02.003>.
- (32) Koretsky, A. P.; Silva, A. C. Manganese-Enhanced Magnetic Resonance Imaging (MEMRI). *NMR Biomed.* **2004**, *17* (8), 527–531. <https://doi.org/10.1002/nbm.940>.
- (33) Silva, A. C.; Lee, J. H.; Aoki, I.; Koretsky, A. P. Manganese-Enhanced Magnetic Resonance Imaging (MEMRI): Methodological and Practical Considerations. *NMR Biomed.* **2004**, *17* (8), 532–543. <https://doi.org/10.1002/nbm.945>.
- (34) Small, W. C.; Macchi, D. D.; Parker, J. R.; Bernardino, M. E. Multisite Study of the Safety and Efficacy of LumenHance, a New Gastrointestinal Contrast Agent for MRI of the Abdomen and Pelvis. *Acad. Radiol.* **1998**, *5*, S147–S150. [https://doi.org/10.1016/S1076-6332\(98\)80087-1](https://doi.org/10.1016/S1076-6332(98)80087-1).
- (35) Cady, C.; Crabtree, R.; Brudvig, G. Functional Models for the Oxygen-Evolving Complex of Photosystem II. *Coord. Chem. Rev.* **2008**, *252* (3–4), 444–455. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2007.06.002>.
- (36) Edwards, R. A.; Whittaker, M. M.; Whittaker, J. W.; Baker, E. N.; Jameson, G. B. Removing a Hydrogen Bond in the Dimer Interface of *Escherichia Coli* Manganese Superoxide Dismutase Alters Structure and Reactivity. *Biochemistry (Mosc.)* **2001**, *40* (15), 4622–4632. <https://doi.org/10.1021/bi002403h>.
- (37) Pomp, C.; Drücke, S.; Küppers, H.-J.; Wieghardt, K. Synthese von [LRe(CO)<sub>3</sub>]<sup>+</sup>-Komplexen Mit Makrocyclischen Liganden Die Kristallstrukturen von 1,4,7-Triazacyclononan-Tricarbonylrhenium(I)-Thiocyanat Und 1,4,7-Trithiacyclononan-Tricarbonylrhenium(I)-Bromid-Hemihydrat / Synthesis of [LRe(CO)<sub>3</sub>]<sup>+</sup> Complexes with Macrocyclic Ligands The Crystal Structures of 1,4,7-Triazacyclononan-Tricarbonyl-Rhenium(I) Thiocyanate and of 1,4,7-Trithiacyclononan-Tricarbonyl-Rhenium(I) Bromide Hemihydrate. *Z. Für Naturforschung B* **1988**, *43* (3), 299–305. <https://doi.org/10.1515/znb-1988-0311>.
- (38) Baker, R. J.; Edwards, P. G.; Gracia-Mora, J.; Ingold, F.; Abdul Malik, K. M. Manganese and Rhenium Triphosphorus Macrocyclic Complexes and Reactions with Alkenes. *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* **2002**, No. 21, 3985–3992. <https://doi.org/10.1039/b205754a>.
- (39) Blake, A. J.; Schröder, M. Chemistry of Thioether Macrocyclic Complexes. In *Advances in Inorganic Chemistry*; Elsevier, **1990**; Vol. 35, pp 1–80. [https://doi.org/10.1016/S0898-8838\(08\)60160-9](https://doi.org/10.1016/S0898-8838(08)60160-9).
- (40) Elias, H.; Schmidt, G.; Kueppers, H. J.; Saher, M.; Wieghardt, K.; Nuber, B.; Weiss, J. Synthesis and Reactivity of Tricarbonyl(1,4,7-Trithiacyclononane)Manganese(1+): Kinetics and Mechanism of Its Formation and the Crystal Structure of [LMn(CO)<sub>3</sub>]<sub>3</sub>(PF<sub>6</sub>)<sub>2</sub>Br·2H<sub>2</sub>O (L = 1,4,7-Trithiacyclononane). *Inorg. Chem.* **1989**, *28* (15), 3021–3024. <https://doi.org/10.1021/ic00314a030>.

- (41) Greenwood, N. N.; Earnshaw, A.; Brücher Ernő. *Az elemek kémiája: [felsőoktatási tankönyv]*; Nemzeti Tankönyvkiadó: Budapest, 2004.
- (42) Feichtinger, D.; Plattner, D. A. Direct Proof for O=Mn<sup>v</sup>(Salen) Complexes. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1997**, *36* (16), 1718–1719. <https://doi.org/10.1002/anie.199717181>.
- (43) Grapperhaus, C. A.; Bill, E.; Weyhermüller, T.; Neese, F.; Wieghardt, K. Molecular and Electronic Structure of [Mn<sup>v</sup>N(Cyclam-acetato)]PF<sub>6</sub>. A Combined Experimental and DFT Study. *Inorg. Chem.* **2001**, *40* (17), 4191–4198. <https://doi.org/10.1021/ic001370r>.
- (44) Drahoš, B.; Kubiček, V.; Bonnet, C. S.; Hermann, P.; Lukeš, I.; Tóth, É. Dissociation Kinetics of Mn<sup>2+</sup> Complexes of NOTA and DOTA. *Dalton Trans.* **2011**, *40* (9), 1945. <https://doi.org/10.1039/c0dt01328e>.
- (45) Bach-Gansmo, T. Ferrimagnetic Susceptibility Contrast Agents. *Acta Radiol. Suppl.* **1993**, *387*, 1–30.
- (46) Reimer, P.; Tombach, B. Hepatic MRI with SPIO: Detection and Characterization of Focal Liver Lesions. *Eur. Radiol.* **1998**, *8* (7), 1198–1204. <https://doi.org/10.1007/s003300050535>.
- (47) Grubnic, S.; Padhani, A. R.; Revell, P. B.; Husband, J. E. Comparative Efficacy of and Sequence Choice for Two Oral Contrast Agents Used during MR Imaging. *Am. J. Roentgenol.* **1999**, *173* (1), 173–178. <https://doi.org/10.2214/ajr.173.1.10397122>.
- (48) Wang, Y.-X. J.; Hussain, S. M.; Krestin, G. P. Superparamagnetic Iron Oxide Contrast Agents: Physicochemical Characteristics and Applications in MR Imaging. *Eur. Radiol.* **2001**, *11* (11), 2319–2331. <https://doi.org/10.1007/s003300100908>.
- (49) Lauffer, R. B. Paramagnetic Metal Complexes as Water Proton Relaxation Agents for NMR Imaging: Theory and Design. *Chem. Rev.* **1987**, *87* (5), 901–927. <https://doi.org/10.1021/cr00081a003>.
- (50) Swift, T. J.; Connick, R. E. NMR-Relaxation Mechanisms of O<sup>17</sup> in Aqueous Solutions of Paramagnetic Cations and the Lifetime of Water Molecules in the First Coordination Sphere. *J. Chem. Phys.* **1962**, *37* (2), 307–320. <https://doi.org/10.1063/1.1701321>.
- (51) Hwang, L.-P.; Freed, J. H. Dynamic Effects of Pair Correlation Functions on Spin Relaxation by Translational Diffusion in Liquids. *J. Chem. Phys.* **1975**, *63* (9), 4017. <https://doi.org/10.1063/1.431841>.
- (52) Freed, J. H. Dynamic Effects of Pair Correlation Functions on Spin Relaxation by Translational Diffusion in Liquids. II. Finite Jumps and Independent T<sub>1</sub> Processes. *J. Chem. Phys.* **1978**, *68* (9), 4034–4037. <https://doi.org/10.1063/1.436302>.
- (53) Botta, M. Second Coordination Sphere Water Molecules and Relaxivity of Gadolinium(III) Complexes: Implications for MRI Contrast Agents. *Eur. J. Inorg. Chem.* **2000**, *2000* (3), 399–407. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1099-0682\(200003\)2000:3<399::AID-EJIC399>3.0.CO;2-B](https://doi.org/10.1002/(SICI)1099-0682(200003)2000:3<399::AID-EJIC399>3.0.CO;2-B).
- (54) Bau, M.; Dulski, P. Anthropogenic Origin of Positive Gadolinium Anomalies in River Waters. *Earth Planet. Sci. Lett.* **1996**, *143* (1–4), 245–255. [https://doi.org/10.1016/0012-821X\(96\)00127-6](https://doi.org/10.1016/0012-821X(96)00127-6).
- (55) Zetter, M. S.; Grant, M. W.; Wood, E. J.; Dodgen, H. W.; Hunt, J. P. Water-Exchange Studies on Manganese(II) Nitrilotriacetate and Ethylenediaminetetraacetate Complexes by Oxygen-17 Nuclear Magnetic Resonance. *Inorg. Chem.* **1972**, *11* (11), 2701–2706. <https://doi.org/10.1021/ic50117a026>.
- (56) Liu, G.; Dodgen, H. W.; Hunt, J. P. Water-Exchange Studies on Aqueous Manganese(II)- and Cobalt(II)-o-Phenylenediaminetetraacetate Complexes. *Inorg. Chem.* **1977**, *16* (10), 2652–2653. <https://doi.org/10.1021/ic50176a049>.

- (57) Maigut, J.; Meier, R.; Zahl, A.; van Eldik, R. Effect of Chelate Dynamics on Water Exchange Reactions of Paramagnetic Aminopolycarboxylate Complexes. *Inorg. Chem.* **2008**, *47* (13), 5702–5719. <https://doi.org/10.1021/ic702421z>.
- (58) Maigut, J.; Meier, R.; Zahl, A.; Eldik, R. van. Triggering Water Exchange Mechanisms via Chelate Architecture. Shielding of Transition Metal Centers by Aminopolycarboxylate Spectator Ligands. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130* (44), 14556–14569. <https://doi.org/10.1021/ja802842q>.
- (59) Aime, S.; Anelli, P.; Botta, M.; Brocchetta, M.; Canton, S.; Fedeli, F.; Gianolio, E.; Terreno, E. Relaxometric Evaluation of Novel Manganese(II) Complexes for Application as Contrast Agents in Magnetic Resonance Imaging. *JBIC J. Biol. Inorg. Chem.* **2002**, *7* (1–2), 58–67. <https://doi.org/10.1007/s007750100265>.
- (60) Troughton, J. S.; Greenfield, M. T.; Greenwood, J. M.; Dumas, S.; Wiethoff, A. J.; Wang, J.; Spiller, M.; McMurphy, T. J.; Caravan, P. Synthesis and Evaluation of a High Relaxivity Manganese(II)-Based MRI Contrast Agent. *Inorg. Chem.* **2004**, *43* (20), 6313–6323. <https://doi.org/10.1021/ic049559g>.
- (61) Zhang, Q.; Gorden, J. D.; Beyers, R. J.; Goldsmith, C. R. Manganese(II)-Containing MRI Contrast Agent Employing a Neutral and Non-Macrocyclic Ligand. *Inorg. Chem.* **2011**, *50* (19), 9365–9373. <https://doi.org/10.1021/ic2009495>.
- (62) Pota, K.; Garda, Z.; Kálmán, F. K.; Barriada, J. L.; Esteban-Gómez, D.; Platas-Iglesias, C.; Tóth, I.; Brücher, E.; Tircsó, G. Taking the next Step toward Inert Mn<sup>2+</sup> Complexes of Open-Chain Ligands: The Case of the Rigid PhDTA Ligand. *New J. Chem.* **2018**, *42* (10), 8001–8011. <https://doi.org/10.1039/C8NJ00121A>.
- (63) Gale, E. M.; Atanasova, I. P.; Blasi, F.; Ay, I.; Caravan, P. A Manganese Alternative to Gadolinium for MRI Contrast. *J. Am. Chem. Soc.* **2015**, *137* (49), 15548–15557. <https://doi.org/10.1021/jacs.5b10748>.
- (64) Vanasschen, C.; Molnár, E.; Tircsó, G.; Kálmán, F. K.; Tóth, É.; Brandt, M.; Coenen, H. H.; Neumaier, B. Novel CDTA-Based, Bifunctional Chelators for Stable and Inert Mn<sup>II</sup> Complexation: Synthesis and Physicochemical Characterization. *Inorg. Chem.* **2017**, *56* (14), 7746–7760. <https://doi.org/10.1021/acs.inorgchem.7b00460>.
- (65) Molnár, E.; Váradi, B.; Garda, Z.; Botár, R.; Kálmán, F. K.; Tóth, É.; Platas-Iglesias, C.; Tóth, I.; Brücher, E.; Tircsó, G. Remarkable Differences and Similarities between the Isomeric Mn(II)-*Cis*- and *Trans*-1,2-Diaminocyclohexane- N , N , N ' , N ' -Tetraacetate Complexes. *Inorganica Chim. Acta* **2018**, *472*, 254–263. <https://doi.org/10.1016/j.ica.2017.07.071>.
- (66) Ying-Chun, L.; Jing, Z.; Quan, L.; Shu-Lan, M.; Miao-Qiong, X.; Wen-Xiang, Z. Structural Characterization and Relaxivity Study of a New Paramagnetic Mn(II) Complex of DTPA-BpABA. *Chin. J. Chem.* **2005**, *23* (8), 1012–1016. <https://doi.org/10.1002/cjoc.200591012>.
- (67) Laine, S.; Bonnet, C. S.; Kálmán, F. K.; Garda, Z.; Pallier, A.; Caillé, F.; Suzenet, F.; Tircsó, G.; Tóth, É. Mn<sup>2+</sup> Complexes of Open-Chain Ligands with a Pyridine Backbone: Less Donor Atoms Lead to Higher Kinetic Inertness. *New J. Chem.* **2018**, *42* (10), 8012–8020. <https://doi.org/10.1039/C8NJ00648B>.
- (68) Phukan, B.; Patel, A. B.; Mukherjee, C. A Water-Soluble and Water-Coordinated Mn(II) Complex: Synthesis, Characterization and Phantom MRI Image Study. *Dalton Trans.* **2015**, *44* (29), 12990–12994. <https://doi.org/10.1039/C5DT01781E>.
- (69) Khannam, M.; Weyhermüller, T.; Goswami, U.; Mukherjee, C. A Highly Stable L - Alanine-Based Mono(Aquated) Mn(II) Complex as a T<sub>1</sub>-Weighted MRI Contrast Agent. *Dalton Trans.* **2017**, *46* (31), 10426–10432. <https://doi.org/10.1039/C7DT02282D>.

- (70) Forgács, A.; Regueiro-Figueroa, M.; Barriada, J. L.; Esteban-Gómez, D.; de Blas, A.; Rodríguez-Blas, T.; Botta, M.; Platas-Iglesias, C. Mono-, Bi-, and Trinuclear Bis-Hydrated Mn<sup>2+</sup> Complexes as Potential MRI Contrast Agents. *Inorg. Chem.* **2015**, *54* (19), 9576–9587. <https://doi.org/10.1021/acs.inorgchem.5b01677>.
- (71) Michael W. Is Mn-PyC3A a Viable Alternative to Gadolinium-Based Contrast Agents? *Radiology Business* **2017**.
- (72) Geraldes, C. F. G. C.; Sherry, A. D.; Brown, R. D.; Koenig, S. H. Magnetic Field Dependence of Solvent Proton Relaxation Rates Induced by Gd<sup>3+</sup> and Mn<sup>2+</sup> Complexes of Various Polyaza Macrocyclic Ligands: Implications for NMR Imaging. *Magn. Reson. Med.* **1986**, *3* (2), 242–250. <https://doi.org/10.1002/mrm.1910030207>.
- (73) Tan, M.; Ye, Z.; Jeong, E.-K.; Wu, X.; Parker, D. L.; Lu, Z.-R. Synthesis and Evaluation of Nanoglobular Macrocyclic Mn(II) Chelate Conjugates as Non-Gadolinium(III) MRI Contrast Agents. *Bioconjug. Chem.* **2011**, *22* (5), 931–937. <https://doi.org/10.1021/bc100573t>.
- (74) Balogh, E.; He, Z.; Hsieh, W.; Liu, S.; Tóth, É. Dinuclear Complexes Formed with the Triazacyclononane Derivative ENOTA<sup>4-</sup>: High-Pressure <sup>17</sup>O NMR Evidence of an Associative Water Exchange on [Mn<sup>II</sup><sub>2</sub>(ENOTA)(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>]. *Inorg. Chem.* **2007**, *46* (1), 238–250. <https://doi.org/10.1021/ic0616582>.
- (75) Drahoš, B.; Pniok, M.; Havlíčková, J.; Kotek, J.; Císařová, I.; Hermann, P.; Lukeš, I.; Tóth, É. Mn<sup>2+</sup> Complexes of 1-Oxa-4,7-Diazacyclononane Based Ligands with Acetic, Phosphonic and Phosphinic Acid Pendant Arms: Stability and Relaxation Studies. *Dalton Trans.* **2011**, *40* (39), 10131. <https://doi.org/10.1039/c1dt10543d>.
- (76) Lázár, I.; Király, R.; Takács, Z. Synthesis, Potentiometric and <sup>1</sup>H NMR Study of Protonation and Complex Formation of 1,4,7-Triazacyclononane-1,4-Diacetate. *J. Coord. Chem.* **2000**, *51* (2), 293–304. <https://doi.org/10.1080/00958970008055135>.
- (77) de Sá, A.; Bonnet, C. S.; Geraldes, C. F. G. C.; Tóth, É.; Ferreira, P. M. T.; André, J. P. Thermodynamic Stability and Relaxation Studies of Small, Triaza-Macrocyclic Mn(II) Chelates. *Dalton Trans.* **2013**, *42* (13), 4522. <https://doi.org/10.1039/c2dt32496b>.
- (78) Molnár, E.; Camus, N.; Patinec, V.; Rolla, G. A.; Botta, M.; Tircsó, G.; Kálmán, F. K.; Fodor, T.; Tripiér, R.; Platas-Iglesias, C. Picolinate-Containing Macrocyclic Mn<sup>2+</sup> Complexes as Potential MRI Contrast Agents. *Inorg. Chem.* **2014**, *53* (10), 5136–5149. <https://doi.org/10.1021/ic500231z>.
- (79) Wang, S.; Westmoreland, T. D. Correlation of Relaxivity with Coordination Number in Six-, Seven-, and Eight-Coordinate Mn(II) Complexes of Pendant-Arm Cyclen Derivatives. *Inorg. Chem.* **2009**, *48* (2), 719–727. <https://doi.org/10.1021/ic8003068>.
- (80) Amorim, M. T.; Delgado, R.; da Silva, J. J.; Cândida, M.; Vaz, T. A.; Vilhena, M. F. Metal Complexes of 1-Oxa-4,7,10-Triazacyclododecane-N,N',N''-Triacetic Acid. *Talanta* **1988**, *35* (9), 741–745.
- (81) Rolla, G. A.; Platas-Iglesias, C.; Botta, M.; Tei, L.; Helm, L. <sup>1</sup>H and <sup>17</sup>O NMR Relaxometric and Computational Study on Macrocyclic Mn(II) Complexes. *Inorg. Chem.* **2013**, *52* (6), 3268–3279. <https://doi.org/10.1021/ic302785m>.
- (82) Drahoš, B.; Kotek, J.; Císařová, I.; Hermann, P.; Helm, L.; Lukeš, I.; Tóth, É. Mn<sup>2+</sup> Complexes with 12-Membered Pyridine Based Macrocycles Bearing Carboxylate or Phosphonate Pendant Arm: Crystallographic, Thermodynamic, Kinetic, Redox, and <sup>1</sup>H/<sup>17</sup>O Relaxation Studies. *Inorg. Chem.* **2011**, *50* (24), 12785–12801. <https://doi.org/10.1021/ic201935r>.
- (83) Forgács, A.; Tei, L.; Baranyai, Z.; Tóth, I.; Zékány, L.; Botta, M. A Bisamide Derivative of [Mn(1,4-DO2A)] - Solution Thermodynamic, Kinetic, and NMR

- Relaxometric Studies. *Eur. J. Inorg. Chem.* **2016**, 2016 (8), 1165–1174. <https://doi.org/10.1002/ejic.201501415>.
- (84) Jackels, S. C.; Durham, M. M.; Newton, J. E.; Henninger, T. C. Aqueous Proton NMR Relaxation Enhancement by Manganese(II) Macrocyclic Complexes: Structure-Relaxivity Relationships. *Inorg. Chem.* **1992**, 31 (2), 234–239. <https://doi.org/10.1021/ic00028a021>.
- (85) Wagnon, B. K.; Jackels, S. C. Synthesis, Characterization, and Aqueous Proton Relaxation Enhancement of a Manganese(II) Heptaaza Macrocyclic Complex Having Pendant Arms. *Inorg. Chem.* **1989**, 28 (10), 1923–1927. <https://doi.org/10.1021/ic00309a030>.
- (86) Newton, J. E.; Jackels, S. C. Synthesis and Characterization of the Mn(II) Complex of [15]AneN<sub>5</sub>. *J. Coord. Chem.* **1988**, 19 (1–3), 265–277. <https://doi.org/10.1080/00958972.1988.9728160>.
- (87) Dees, A.; Zahl, A.; Puchta, R.; van Eikema Hommes, N. J. R.; Heinemann, F. W.; Ivanović-Burmazović, I. Water Exchange on Seven-Coordinate Mn(II) Complexes with Macrocyclic Pentadentate Ligands: Insight in the Mechanism of Mn(II) SOD Mimetics. *Inorg. Chem.* **2007**, 46 (7), 2459–2470. <https://doi.org/10.1021/ic061852o>.
- (88) Drahoš, B.; Kotek, J.; Hermann, P.; Lukeš, I.; Tóth, É. Mn<sup>2+</sup> Complexes with Pyridine-Containing 15-Membered Macrocycles: Thermodynamic, Kinetic, Crystallographic, and <sup>1</sup>H/ <sup>17</sup>O Relaxation Studies. *Inorg. Chem.* **2010**, 49 (7), 3224–3238. <https://doi.org/10.1021/ic9020756>.
- (89) Baranyai, Z.; Uggeri, F.; Giovenzana, G. B.; Bényei, A.; Brücher, E.; Aime, S. Equilibrium and Kinetic Properties of the Lanthanoids(III) and Various Divalent Metal Complexes of the Heptadentate Ligand AAZTA. *Chem. - Eur. J.* **2009**, 15 (7), 1696–1705. <https://doi.org/10.1002/chem.200801803>.
- (90) Baranyai, Z.; Uggeri, F.; Maiocchi, A.; Giovenzana, G. B.; Cavallotti, C.; Takács, A.; Tóth, I.; Bányai, I.; Bényei, A.; Brucher, E.; et al. Equilibrium, Kinetic and Structural Studies of AAZTA Complexes with Ga<sup>3+</sup>, In<sup>3+</sup> and Cu<sup>2+</sup>. *Eur. J. Inorg. Chem.* **2013**, 2013 (1), 147–162. <https://doi.org/10.1002/ejic.201201108>.
- (91) Nagy, G.; Szikra, D.; Trencsényi, G.; Fekete, A.; Garai, I.; Giani, A. M.; Negri, R.; Masciocchi, N.; Maiocchi, A.; Uggeri, F.; et al. AAZTA: An Ideal Chelating Agent for the Development of <sup>44</sup>Sc PET Imaging Agents. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2017**, 56 (8), 2118–2122. <https://doi.org/10.1002/anie.201611207>.
- (92) Tei, L.; Gugliotta, G.; Fekete, M.; Kálmán, F. K.; Botta, M. Mn(II) Complexes of Novel Hexadentate AAZTA-like Chelators: A Solution Thermodynamics and Relaxometric Study. *Dalton Trans.* **2011**, 40 (9), 2025. <https://doi.org/10.1039/c0dt01114b>.
- (93) Phukan, B.; Mukherjee, C.; Goswami, U.; Sarmah, A.; Mukherjee, S.; Sahoo, S. K.; Moi, S. C. A New Bis(Aquated) High Relaxivity Mn(II) Complex as an Alternative to Gd(III)-Based MRI Contrast Agent. *Inorg. Chem.* **2018**, 57 (5), 2631–2638. <https://doi.org/10.1021/acs.inorgchem.7b03039>.
- (94) Martell, A. E.; Smith, R. M. *Critical Stability Constants*; Springer US: Boston, MA, 1982. <https://doi.org/10.1007/978-1-4615-6761-5>.
- (95) Irving, H. M.; Miles, M. G.; Pettit, L. D. A Study of Some Problems in Determining the Stoichiometric Proton Dissociation Constants of Complexes by Potentiometric Titrations Using a Glass Electrode. *Anal. Chim. Acta* **1967**, 38, 475–488. [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(01\)80616-4](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(01)80616-4).
- (96) Zékány L., Nagypál I. In “Computational Method for Determination of Formation Constants” Ed. Legett D J, Plenum, New York. **1985**, 291.

- (97) Mabbott, G. A. An Introduction to Cyclic Voltammetry. *J. Chem. Educ.* **1983**, 60 (9), 697. <https://doi.org/10.1021/ed060p697>.
- (98) Sajó I. *Komplexometria*; Műszaki Kiadó: Budapest, **1973**.
- (99) Takács, A.; Napolitano, R.; Purgel, M.; Bényei, A. C.; Zékány, L.; Brücher, E.; Tóth, I.; Baranyai, Z.; Aime, S. Solution Structures, Stabilities, Kinetics, and Dynamics of DO3A and DO3A–Sulphonamide Complexes. *Inorg. Chem.* **2014**, 53 (6), 2858–2872. <https://doi.org/10.1021/ic4025958>.
- (100) Aime, S.; Botta, M.; Garda, Z.; Kucera, B. E.; Tircso, G.; Young, V. G.; Woods, M. Properties, Solution State Behavior, and Crystal Structures of Chelates of DOTMA. *Inorg. Chem.* **2011**, 50 (17), 7955–7965. <https://doi.org/10.1021/ic2012827>.
- (101) Desreux, J. F.; Merciny, E.; Loncin, M. F. Nuclear Magnetic Resonance and Potentiometric Studies of the Protonation Scheme of Two Tetraaza Tetraacetic Macrocycles. *Inorg. Chem.* **1981**, 20 (4), 987–991. <https://doi.org/10.1021/ic50218a008>.
- (102) Aime, S.; Botta, M.; Geninatti Crich, S.; Giovenzana, G. B.; Jommi, G.; Pagliarin, R.; Sisti, M. Synthesis and NMR Studies of Three Pyridine-Containing Triaza Macrocyclic Triacetate Ligands and Their Complexes with Lanthanide Ions. *Inorg. Chem.* **1997**, 36 (14), 2992–3000. <https://doi.org/10.1021/ic960794b>.
- (103) Martell, A. E., Calvin, M. Chemistry of Metal Chelate Compounds. Prentice Hall: New York. **1952**.
- (104) Choppin, G. R. Thermodynamics of Lanthanide–Organic Ligand Complexes. *J. Common Met.* **1985**, 112 (1–2), 193–205. [https://doi.org/10.1016/0022-5088\(85\)90024-4](https://doi.org/10.1016/0022-5088(85)90024-4).
- (105) Kumar, K.; Tweedle, M. F.; Malley, M. F.; Gougoutas, J. Z. Synthesis, Stability, and Crystal Structure Studies of Some  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ , and  $\text{Zn}^{2+}$  Complexes of Macrocyclic Polyamino Carboxylates. *Inorg. Chem.* **1995**, 34 (26), 6472–6480. <https://doi.org/10.1021/ic00130a012>.
- (106) Huskens, J.; Torres, D. A.; Kovacs, Z.; André, J. P.; Geraldès, C. F. G. C.; Sherry, A. D. Alkaline Earth Metal and Lanthanide(III) Complexes of Ligands Based upon 1,4,7,10-Tetraazacyclododecane-1,7-Bis(Acetic Acid). *Inorg. Chem.* **1997**, 36 (7), 1495–1503. <https://doi.org/10.1021/ic961131x>.
- (107) Lukeš, I.; Kotek, J.; Vojtišek, P.; Hermann, P. Complexes of Tetraazacycles Bearing Methylphosphinic/Phosphonic Acid Pendant Arms with Copper(II), Zinc(II) and Lanthanides(III). A Comparison with Their Acetic Acid Analogues. *Coord. Chem. Rev.* **2001**, 216–217, 287–312. [https://doi.org/10.1016/S0010-8545\(01\)00336-8](https://doi.org/10.1016/S0010-8545(01)00336-8).
- (108) Brücher, E.; Tircsó, G.; Baranyai, Z.; Kovács, Z.; Sherry, A. D. Stability and Toxicity of Contrast Agents. In *The Chemistry of Contrast Agents in Medical Magnetic Resonance Imaging*; Merbach, A., Helm, L., Tóth, É., Eds.; John Wiley & Sons, Ltd: Chichester, UK, 2013; pp 157–208. <https://doi.org/10.1002/9781118503652.ch4>.
- (109) Kálmán, F. K.; Baranyai, Z.; Tóth, I.; Bánya, I.; Király, R.; Brücher, E.; Aime, S.; Sun, X.; Sherry, A. D.; Kovács, Z. Synthesis, Potentiometric, Kinetic, and NMR Studies of 1,4,7,10-Tetraazacyclododecane-1,7-Bis(Acetic Acid)-4,10-Bis(Methylenephosphonic Acid) (DO2A2P) and Its Complexes with Ca(II), Cu(II), Zn(II) and Lanthanide(III) Ions. *Inorg. Chem.* **2008**, 47 (9), 3851–3862. <https://doi.org/10.1021/ic7024704>.
- (110) Jászberényi, Z.; Tóth, É.; Kálai, T.; Király, R.; Burai, L.; Brücher, E.; Merbach, A. E.; Hideg, K. Synthesis and Complexation Properties of DTPA-N,N"-Bis[Bis(n-Butyl)]-N'-Methyl-Tris(Amide). Kinetic Stability and Water Exchange of Its  $\text{Gd}^{3+}$  Complex. *Dalton Trans* **2005**, No. 4, 694–701. <https://doi.org/10.1039/B417272H>.

- (111) Aime, S.; Barge, A.; Bruce, J. I.; Botta, M.; Howard, J. A. K.; Moloney, J. M.; Parker, D.; de Sousa, A. S.; Woods, M. NMR, Relaxometric, and Structural Studies of the Hydration and Exchange Dynamics of Cationic Lanthanide Complexes of Macrocyclic Tetraamide Ligands. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121* (24), 5762–5771. <https://doi.org/10.1021/ja990225d>.
- (112) Pasha, A.; Tircsó, G.; Benyó, E. T.; Brücher, E.; Sherry, A. D. Synthesis and Characterization of DOTA-(Amide)<sub>4</sub> Derivatives: Equilibrium and Kinetic Behavior of Their Lanthanide(III) Complexes. *Eur. J. Inorg. Chem.* **2007**, *2007* (27), 4340–4349. <https://doi.org/10.1002/ejic.200700354>.
- (113) Garda, Z.; Forgács, A.; Do, Q. N.; Kálmán, F. K.; Timári, S.; Baranyai, Z.; Tei, L.; Tóth, I.; Kovács, Z.; Tircsó, G. Physico-Chemical Properties of MnII Complexes Formed with *Cis*- and *Trans*-DO2A: Thermodynamic, Electrochemical and Kinetic Studies. *J. Inorg. Biochem.* **2016**, *163*, 206–213. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2016.07.018>.
- (114) Forgács, A.; Pujales-Paradela, R.; Regueiro-Figueroa, M.; Valencia, L.; Esteban-Gómez, D.; Botta, M.; Platas-Iglesias, C. Developing the Family of Picolinate Ligands for Mn<sup>2+</sup> Complexation. *Dalton Trans.* **2017**, *46* (5), 1546–1558. <https://doi.org/10.1039/C6DT04442E>.
- (115) Wen, J.; Geng, Z.; Yin, Y.; Wang, Z. A Mononuclear Mn<sup>2+</sup> Complex Based on a Novel Tris-(Ethyl Acetate) Pendant-Armed Tetraazamacrocyclic: Effect of Pyridine on Self-Assembly and Weak Interactions. *Inorg. Chem. Commun.* **2012**, *21*, 16–20. <https://doi.org/10.1016/j.inoche.2012.03.042>.
- (116) Aime, S.; Botta, M.; Terreno, E.; Anelli, P. L.; Uggeri, F. Gd(DOTP)<sub>5</sub>- Outer-Sphere Relaxation Enhancement Promoted by Nitrogen Bases. *Magn. Reson. Med.* **1993**, *30* (5), 583–591. <https://doi.org/10.1002/mrm.1910300509>.
- (117) Avecilla, F.; Peters, J. A.; Gerald, C. F. G. C. X-Ray Crystal Structure of a Sodium Salt of [Gd(DOTP)]<sup>5-</sup>: Implications for Its Second-Sphere Relaxivity and The <sup>23</sup>Na NMR Hyperfine Shift Effects of [Tm(DOTP)]<sup>5-</sup>. *Eur. J. Inorg. Chem.* **2003**, *2003* (23), 4179–4186. <https://doi.org/10.1002/ejic.200300312>.
- (118) Kálmán, F. K.; Woods, M.; Caravan, P.; Jurek, P.; Spiller, M.; Tircsó, G.; Király, R.; Brücher, E.; Sherry, A. D. Potentiometric and Relaxometric Properties of a Gadolinium-Based MRI Contrast Agent for Sensing Tissue PH. *Inorg. Chem.* **2007**, *46* (13), 5260–5270. <https://doi.org/10.1021/ic0702926>.
- (119) Cong L.; Wing-Tak W. A Simple, Regioselective Synthesis of 1,4-Bis(Tert-Butoxycarbonylmethyl)- Tetraazacyclododecane. *J. Org. Chem.* **2003**, *68* (7), 2956–2959.
- (120) Kovacs, Z.; Sherry, A. D. A General Synthesis of 1,7-Disubstituted 1,4,7,10-Tetraazacyclododecanes. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1995**, No. 2, 185. <https://doi.org/10.1039/c39950000185>.
- (121) Regueiro-Figueroa, M.; Lima, L. M. P.; Blanco, V.; Esteban-Gómez, D.; de Blas, A.; Rodríguez-Blas, T.; Delgado, R.; Platas-Iglesias, C. Reasons behind the Relative Abundances of Heptacoordinate Complexes along the Late First-Row Transition Metal Series. *Inorg. Chem.* **2014**, *53* (24), 12859–12869. <https://doi.org/10.1021/ic501869y>.
- (122) Bianchi, A.; Calabi, L.; Giorgi, C.; Losi, P.; Mariani, P.; Palano, D.; Paoli, P.; Rossi, P.; Valtancoli, B. Thermodynamic and Structural Aspects of Manganese(II) Complexes with Polyaminopolycarboxylic Ligands Based upon 1,4,7,10-Tetraazacyclododecane (Cyclen). Crystal Structure of Dimeric [MnL]<sub>2</sub>·2CH<sub>3</sub>OH Containing the New Ligand 1,4,7,10-Tetraazacyclododecane-1,4-Diacetate. *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* **2001**, No. 6, 917–922. <https://doi.org/10.1039/b009242h>.

- (123) Failli, P.; Bani, D.; Bencini, A.; Cantore, M.; Di Cesare Mannelli, L.; Ghelardini, C.; Giorgi, C.; Innocenti, M.; Rugi, F.; Spepi, A.; et al. A Novel Manganese Complex Effective as Superoxide Anion Scavenger and Therapeutic Agent against Cell and Tissue Oxidative Injury. *J. Med. Chem.* **2009**, 52 (22), 7273–7283. <https://doi.org/10.1021/jm901298x>.
- (124) Margerum, D. W.; Menardi, P. J.; Janes, D. L. Multidentate Ligand Kinetics. X. Exchange Reactions of Metal(II)-Cyclohexylenediaminetetraacetate Complexes. *Inorg. Chem.* **1967**, 6 (2), 283–289. <https://doi.org/10.1021/ic50048a020>.
- (125) Riley, D. P.; Henke, S. L.; Lennon, P. J.; Weiss, R. H.; Neumann, W. L.; Rivers, W. J.; Aston, K. W.; Sample, K. R.; Rahman, H.; Ling, C.-S.; et al. Synthesis, Characterization, and Stability of Manganese(II) C-Substituted 1,4,7,10,13-Pentaazacyclopentadecane Complexes Exhibiting Superoxide Dismutase Activity. *Inorg. Chem.* **1996**, 35 (18), 5213–5231. <https://doi.org/10.1021/ic960262v>.
- (126) Riley, D. P.; Henke, S. L.; Lennon, P. J.; Aston, K. Computer-Aided Design (CAD) of Synzymes: Use of Molecular Mechanics (MM) for the Rational Design of Superoxide Dismutase Mimics. *Inorg. Chem.* **1999**, 38 (8), 1908–1917. <https://doi.org/10.1021/ic981319b>.
- (127) Csire, G.; Demjén, J.; Timári, S.; Várnagy, K. Electrochemical and SOD Activity Studies of Copper(II) Complexes of Bis(Imidazol-2-Yl) Derivatives. *Polyhedron* **2013**, 61, 202–212. <https://doi.org/10.1016/j.poly.2013.05.053>.
- (128) Zhou, F.; Millhauser, G. L. The Rich Electrochemistry and Redox Reactions of the Copper Sites in the Cellular Prion Protein. *Coord. Chem. Rev.* **2012**, 256 (19–20), 2285–2296. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2012.04.035>.
- (129) Drew, M. G. B.; Harding, C. J.; McKee, V.; Morgan, G. G.; Nelson, J. Geometric Control of Manganese Redox State. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1995**, No. 10, 1035. <https://doi.org/10.1039/c39950001035>.
- (130) Durot, S.; Policar, C.; Cisnetti, F.; Lambert, F.; Renault, J.-P.; Pelosi, G.; Blain, G.; Korri-Youssoufi, H.; Mahy, J.-P. Series of Mn Complexes Based OnN-Centered Ligands and Superoxide - Reactivity in an Anhydrous Medium and SOD-Like Activity in an Aqueous Medium Correlated to MnII/MnIII Redox Potentials. *Eur. J. Inorg. Chem.* **2005**, 2005 (17), 3513–3523. <https://doi.org/10.1002/ejic.200400835>.
- (131) Garcia, L.; Cisnetti, F.; Gillet, N.; Guillot, R.; Aumont-Nicaise, M.; Piquemal, J.-P.; Desmadril, M.; Lambert, F.; Policar, C. Entasis through Hook-and-Loop Fastening in a Glycoligand with Cumulative Weak Forces Stabilizing Cu<sup>I</sup>. *J. Am. Chem. Soc.* **2015**, 137 (3), 1141–1146. <https://doi.org/10.1021/ja510259p>.
- (132) Loving, G. S.; Mukherjee, S.; Caravan, P. Redox-Activated Manganese-Based MR Contrast Agent. *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, 135 (12), 4620–4623. <https://doi.org/10.1021/ja312610j>.
- (133) Tanaka, N.; Shirakashi, T.; Ogino, H. The Oxidation-Reduction Potential of the System of Mn(II)EDTA-Mn(III)EDTA Complexes and the Stability Constant of Mn(III)EDTA Complex. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1965**, 38 (9), 1515–1517. <https://doi.org/10.1246/bcsj.38.1515>.
- (134) Fukuda, Y.; Hirota, M.; Kon-no, M.; Nakao, A.; Umezawa, K. New Chromotropic Behavior of Manganese Complexes with 1,4,7-Triazacyclononane-N,N',N''-Tricarboxylates. *Inorganica Chim. Acta* **2002**, 339, 322–326. [https://doi.org/10.1016/S0020-1693\(02\)00953-2](https://doi.org/10.1016/S0020-1693(02)00953-2).
- (135) Naka, K.; Tanaka, Y.; Yamasaki, K.; Ohki, A.; Chujo, Y.; Maeda, S. Synthesis of Soluble Complexan Polymers in Organic Solvents for Using as a Polymer–Chelate Precursor to YBa<sub>2</sub> Cu<sub>3</sub> O<sub>7-x</sub> Thin Films. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **2001**, 74 (3), 571–577. <https://doi.org/10.1246/bcsj.74.571>.

- (136) Heinz G.; Franz-Josef R.; Hanns-Joachim W. Complexing Agents, Complexes and Complex Salts. EP0130934A1, **1985**.
- (137) Heinz G.; Bernd R.; Hanns-Joachim W.; Wolfgang M.; Ulrich S. Complexes Amides. EP0263059A2, **1988**.
- (138) Baranyai Z.; Garda Z.; Kálmán F. K.; Krusper L.; Tircsó Gy.; Tóth I. New Substituted Ethylene-Diamine-Tetraacetic-Acid-Bis(Amide) Derivatives and Use Thereof as Ligand Containing Mn (II) of MRI Contrast Agent. WO2016135523A1, **2016**.
- (139) Margerum, D. W.; Pausch, J. B.; Nyssen, G. A.; Smith, G. F. Differential Kinetic Analysis of the Metallic Elements. *Anal. Chem.* **1969**, *41* (2), 233–238. <https://doi.org/10.1021/ac60271a008>.



## IX. Függelék

### IX.1 A CDTA-bisz-amid származék ligandumok jellemzése (NMR és MS)

#### CDTA-dianhidrid:

**<sup>1</sup>H-NMR [360 MHz, DMSO]:** δ 1,10 (4H, m, (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)gyűrű), 1,62 (4H, t, (CHCH<sub>2</sub>) gyűrű), 2,72 (2H, m, (CHCH)gyűrű), 3,72 (8H, q, (NCH<sub>2</sub>)

**<sup>13</sup>C-NMR [100 MHz, DMSO]:** δ 24,1 (2C CH<sub>2</sub> gyűrű); 26,7(2C CH<sub>2</sub> gyűrű); 48,4 (2C CH); 60,76 (4C NCH<sub>2</sub>); 165,7 (4C COOH)

#### CD2A2AM<sup>nBu</sup>:

**<sup>1</sup>H NMR [360 MHz, D<sub>2</sub>O, pD = 12,5]:** δ 0,87 (6H, t, CH<sub>3</sub>), 1,09 (4H, széles, CH<sub>2</sub> butil), 1,30 (4H, m, CH<sub>2</sub> butil), 1,47 (4H, m, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub> gyűrű), 1,66 (2H, széles, CHCH<sub>2</sub> gyűrű), 1,94 (2H, széles, CHCH<sub>2</sub> gyűrű), 2,43 (2H, széles, CH gyűrű), 3,0 - 3,4 (12H, m, 8H NCH<sub>2</sub>CO, 4H CONHCH<sub>2</sub>)

**<sup>13</sup>C NMR [100 MHz, D<sub>2</sub>O, pD = 12,5]:** δ 16,8 (2C CH<sub>3</sub>); 22,3 (2C CH<sub>2</sub>); 28,94 (2C CH<sub>2</sub> gyűrű); 30,5 (2C CH<sub>2</sub> gyűrű); 34,3 (2C CH<sub>2</sub>); 42,6 (2C CH<sub>2</sub>); 58,8 (2C NCH<sub>2</sub>COOH); 59,3 (2C NCH<sub>2</sub>CO); 65,2 (2C CH); 178,7 (2C CONH); 184,0 (2C COOH);

**MS (ESI) m/z** 457,29(M+H)<sup>+</sup>; 479,28(M+Na)<sup>+</sup>; 495,25(M+K)<sup>+</sup>

#### CD2A2AM<sup>Pip</sup>:

**<sup>1</sup>H-NMR [360 MHz, D<sub>2</sub>O, pD = 12,5]:** δ 0,8-1,8 (20H, m, 4CH<sub>2</sub>gyűrű, 6CH<sub>2</sub>piperidin), 2,3 (2H, m, (CHCH)gyűrű), 2,7-3,9 (16H, m, 8H NCH<sub>2</sub>, 8H NCH<sub>2</sub>piperidin)

**<sup>13</sup>C-NMR [100 MHz, D<sub>2</sub>O, pD = 12,5]:** δ 27,5 (2C CH<sub>2</sub> gyűrű), 28,9 (6C CH<sub>2</sub> piperidin), 29,2 (2C CH<sub>2</sub> gyűrű), 29,7 (4C CH<sub>2</sub> piperidin), 47,2 (2C

CH<sub>2</sub>COOH), 49,8 (2C CH<sub>2</sub>CON), 64,5 (2C CH), 174,8 (2C CONH), 183,5 (2C COOH)

**MS (ESI) m/z:** 481,30 (M+H)<sup>+</sup>; 503,31 (M+Na)<sup>+</sup>

**CD2A2AM<sup>Morf</sup>:**

**<sup>1</sup>H-NMR [360 MHz, D<sub>2</sub>O]:** δ 1,14–1,5 (4H, m, 2CH<sub>2</sub>gyűrű), 1,9 (2H, m, CH<sub>2</sub>gyűrű), 2,2 (2H, m, CH<sub>2</sub>gyűrű), 3,2 (2H, m, (CHCH)gyűrű), 3,5 (4H, m, 2CH<sub>2</sub>-C(O)OH), 3,5–3,85 (16H, m, 8H NCH<sub>2</sub>morfolin, 8H OCH<sub>2</sub>morfolin), 3,9–4,1 (4H, m, 2CH<sub>2</sub>-C(O)N)

**MS (ESI) m/z:** 485,23 (M+H)<sup>+</sup>; 507,22 (M+Na)<sup>+</sup>

**CD2A2AM<sup>diMet</sup>:**

**<sup>1</sup>H-NMR [360 MHz, D<sub>2</sub>O]:** δ 1,2–1,5 (4H, m, 2CH<sub>2</sub>gyűrű), 1,8 (2H, m, CH<sub>2</sub>gyűrű), 2,2 (2H, m, CH<sub>2</sub>gyűrű), 2,9 (12H, d, 4CH<sub>3</sub>), 3,2 (2H, m, (CHCH)gyűrű), 3,8 (4H, s, 2CH<sub>2</sub>-C(O)OH), 3,85–4,0 (4H, m, 2CH<sub>2</sub>-C(O)N)

**MS (ESI) m/z:** 401,23 (M+H)<sup>+</sup>; 423,24 (M+Na)<sup>+</sup>

**CD2A2AM<sup>nSer</sup>:**

**<sup>1</sup>H-NMR [360 MHz, D<sub>2</sub>O]:** δ 1,1–1,45 (4H, m, 2CH<sub>2</sub>gyűrű), 1,75 (2H, m, CH<sub>2</sub>gyűrű), 2,1 (2H, m, CH<sub>2</sub>gyűrű), 3,1 (2H, m, (CHCH)gyűrű), 3,3–4,2 (18H, m, 2CH<sub>2</sub>-C(O)N, 2CH<sub>2</sub>-C(O)OH, 2CH<sub>2</sub>szerinol, 4CH<sub>2</sub>szerinol)

**MS (ESI) m/z:** 493,23 (M+H)<sup>+</sup>; 515,24 (M+Na)<sup>+</sup>

**CD2A2AM<sup>BzPip</sup>:**

**<sup>1</sup>H-NMR [360 MHz, D<sub>2</sub>O, CH<sub>3</sub>CN]:** δ 1,1–1,9 (16H, m, 4CH<sub>2</sub>gyűrű, 4CH<sub>2</sub>piperidin), 2,15 (2H, m, CHCH), 2,5–2,7 (6H, m, 2CH<sub>2</sub>benzil, 2CHpiperidin), 3,4–4,5 (16H, m, 8H NCH<sub>2</sub>, 8H NCH<sub>2</sub>piperidin), 7,1–7,4 (10H, m, CHaromás)

**$^{13}\text{C}$  NMR [100 MHz,  $\text{CH}_3\text{CN}$ ]:**  $\delta$  27,5 (2C  $\text{CH}_2$  gyűrű), 28,0 (2C  $\text{CH}$ piperidin), 35,0 (2C  $\text{CH}_2$ gyűrű), 39,0 (4C,  $\text{CH}_2$ piperidin), 41,5 (2C,  $\text{CH}_2$ benzil), 46,1 (4C,  $\text{CH}_2$ piperidin), 47,5 (2C,  $\text{NCH}_2\text{CON}$ ), 48,5 (2C,  $\text{NCH}_2\text{COOH}$ ), 66,5 (2C,  $\text{CH}$ gyűrű) 129,6 (2C,  $\text{CHaromás}$ ), 132,0 (4C,  $\text{CHaromás}$ ); 132,8 (4C,  $\text{CHaromás}$ ), 144,2 (2C,  $\text{Caromás}$ ), 164,2 (2C,  $\text{CON}$ ), 173,0 (2C,  $\text{COOH}$ );

**MS (ESI) m/z:** 661,40 ( $\text{M}+\text{H}$ )<sup>+</sup>; 683,38 ( $\text{M}+\text{Na}$ )<sup>+</sup>; 705,36 ( $\text{M}+\text{K}$ )<sup>+</sup>