

A K-84291 sz. OTKA pályázat záró beszámolója

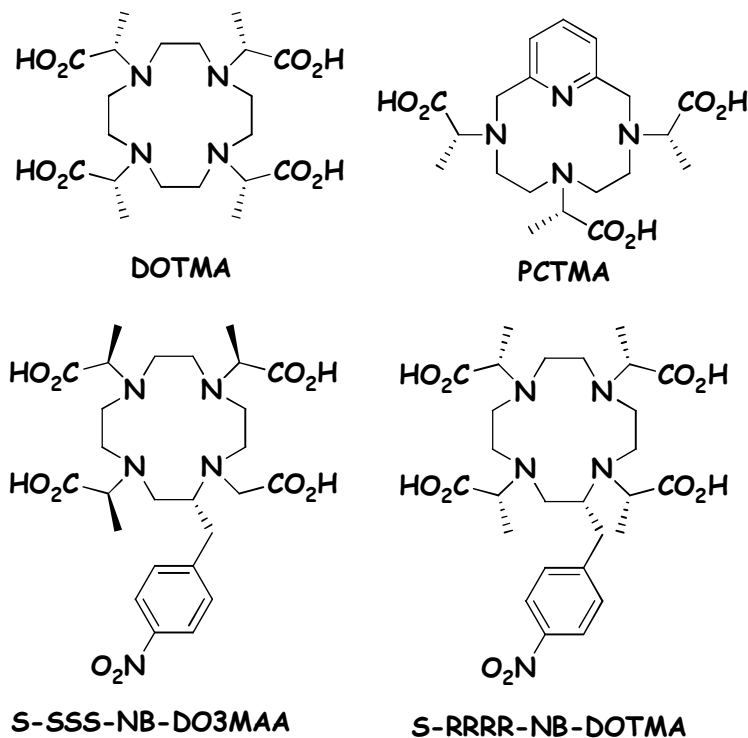
Egy, a Gd-alapú Mágneses Rezonanciás Képképzés (MRI) kontrasztanyagok alkalmazásával összefüggésbe hozott sorozatos megbetegedés (Nefrogén Szisztémás Fibrózis, NSF) a 2000 évek derekán arra hívta fel a figyelmet, hogy a medicinában diagnosztikai céllal használatos komplexek termodinamikai stabilitása és kinetikai inertsége további fejlesztéseket igényel. Ezen problémát szem előtt tartva a K-84291 sz. OTKA pályázat célja a diagnosztikai és terápiás módszerek során alkalmazott fémkomplexek (elsősorban az MRI kontrasztanyagok, radio-farmakonok, stb.) fizikai-kémiai paramétereinek (stabilitás, inertség) a ligandum szerkezetének módosításán keresztül történő finomhangolása volt. Kíváncsiak voltunk egyéb tulajdonságok változásaira is, mindenekelőtt pl. arra, hogy a ligandumok szerkezetében eszközölt változtatások (a komplexképző „gerincének”, ill. oldalláncainak merevítése, és a donorcsoportok bázicitásának módosítása) milyen hatással vannak a képződő paramágneses fémkomplexek (Gd^{3+} - és Mn^{2+} -ionok komplexei) oldószercseréjének sebességére, (ami fontos a relaxitás, a hatékonyság fenntartása miatt), szerkezetére (oldat és szilárd fázisban), stb. A kutatási tervben megfogalmazott célokat részben túltejesítettük (a vállalásainkhoz képest lényegesen több komplexképző kétvegyértékű esszenciális, ill. diagnosztikai szempontból értékes fémionok (Mn^{2+} , $Ln(III)$ - (elsősorban $Eu(III)$ - és $Gd(III)$ -), $Ga(III)$ -, $In(III)$ -, stb. ionok) egyensúlyi rendszereinek részletes vizsgálatának köszönhetően). Ezen vizsgálatok eredményeire alapozva 25 közlemény és egy szabadalom született a pályázat megvalósítása során (89,5 impakt pont), amit két magyar nyelvű összefoglaló közlemény, két könyvfejezet és két konferencia absztrakt egészít ki. Az idei év során a K-84291 sz. OTKA pályázathoz szorosan kapcsolható további négy közlemény beküldését tervezzük az alábbiak szerint: 1. *cis*- és *transz*-DO2A ligandumokkal képződő Mn^{2+} -komplexek egyensúlyi, elektrokémiai és kinetikai sajátosságai; 2. A $[Cu(DOTA)]^{2-}$, $[Cu(DOTMA)]^{2-}$ és $[Cu(DOTAM)]^{2-}$ -komplexek szerkezete és oldategyensúlya; 3. a PCTMA-komplexképző esszenciális fém- és a Gd^{3+} -ionokkal képződő komplexei oldategyensúlya, képződési- és vízcsere kinetikája; 4. DOTMA és PCTMA-komplexképzők Mn^{2+} - és Gd^{3+} -komplexienek disszociációs kinetikai vizsgálataira alapozó dolgozat (a Mn^{2+} -komplexekkel kapcsolatos eredményeink közlésének „késése” szabadalmi okokra vezethető vissza). Másrészt némileg rontja az örömmünket az, hogy a piklén foszfononát-származékaival kapcsolatos terveinket/vizsgálatainkat nem sikerült maradéktalanul befejezni és közzéig elvinni, ami elsősorban a vegyületek nagy mennyiségű és analitikai tisztaságú előállításával kapcsolatos nehézségeink következménye. Ezt némileg tompítják ugyan azon friss irodalmi adatok/eredmények (többnyire a tavalyi év folyamán publikált közlemények, ill. azokat összefoglaló szerkesztői állásfoglalások), miszerint a Gd^{3+} -alapú MRI kontrasztanyagok többszöri alkalmazása egészséges vesefunkcióval rendelkező páciensek esetében is okozhat Gd-maradványt a páciensekben (egyelőre nem tisztázott, hogy ez valójában a disszociált vagy komplexált formában lévő Gd^{3+} felhalmozódása az agyban).^[Kanal, E.; Tweedle, M. F. *Radiology*. 2015, 275(3), 630-634.; b) Karabulut, N. *Diagn. Interv. Radiol.* 2015, 21, 269–270.] A PC2AP komplexképzővel elvégzett

előkísérleteink arra engednek következtetni ugyanis, hogy $[\text{Gd}(\text{PC2AP})]^-$ -komplexre (az irodalomban fellelhető adatokkal összhangban) a $[\text{Gd}(\text{PCTA})]$ -nál kicsivel nagyobb stabilitási állandó jellemző, de a komplex bomláskinetikai paraméterei a $[\text{Gd}(\text{PCTA})]$ -hoz mérten romlanak. Ettől függetlenül a PC2AP és PCTP komplexképzők előállítása, részletes vizsgálata, ill. eredmények közzé tétele továbbra is fontos céljaink között szerepel.

A munka túlnyomó része a Debreceni Egyetem Természettudományi és Technológiai Karának Szervetlen és Analitikai Kémiai Tanszékén készült (vegyületek előállítása és/vagy tisztítása, a komplexek egyensúlyi, ill. képződési- és bomláskinetikai paramétereinek meghatározása, a Gd^{3+} -komplexek relaxometriás jellemzése, dia és paramágneses fémkomplexek multinukleáris NMR spektroszkópiás vizsgálata, néhány esetben a röntgendiffrakciós szerkezetmeghatározás, stb.), de a ligandumok szintézisében, a DFT számolásokban, ill. az ^{17}O -NMR kísérletek elvégzésében és kiértékelésében többször is támaszkodtunk a csoportunk kiterjed nemzetközi kapcsolatrendszerére, a kutatási tervben is részletezett munkacsoportokkal az alábbiak szerint: Prof. A. Dean Sherry (University of Dallas at Dallas, Richardson, TX, USA), Dr. Kovács Zoltán (University of Texas Southwestern Medical Center at Dallas, Dallas, TX, USA); Prof. Dr. Mark Woods (Portland State University és Oregon Health Sciences University, Portland, OR, USA) a DOTMA és a NB-DOTMA ligandumok előállítása, Prof. Dr. Carlos Platas-Iglesias (Universidade da Coruña, A Coruña, Spanyolország) egy, ill. két pikolinátcsoportot tartalmazó nyíltláncú és makrociklusos ligandumok előállítása, a komplexek szerkezetének oldat (NMR) és szilárd fázisban történő feltárása (röntgenkrisztallográfia), ill. DFT számolásokkal való alátámasztása; Prof. Dr. Jakab-Tóth Éva (Centre de Biophysique Moléculaire, Orleans, Franciaország), ill. Prof. Dr. Mauro Botta (Università degli Studi del Piemonte Orientale “A. Avogadro”, Alessandria, Olaszország) pedig egyes ligandumok előállításában, és a Gd^{3+} -komplexek NMRD jellemzésében, ill. vízcseresebességük ^{17}O -NMR módszerrel történő meghatározásában voltak érintettek. Ezen túl, érdemes megemlíteni olyan kollaborációkat, amelyek a pályázat megvalósítása során jöttek létre, és eddig csak közvetett, vagy kisebb jelentőségű eredményeket hoztak. Ezen kollaborációk közül minden kétséget kizáróan legmesszebb Prof. Dr. Raphaël Tripier (Université de Bretagne Occidentale, Brest, Franciaország) professzor által vezetett csoporttal jutottunk (4 db közlemény és egyre intenzívebbé váló kollaboráció), de Prof. Dr. Goran Angelovski (Max Planck Institute for Biological Cybernetics, Tübingen, Németország) és Dr. Christian Vanasschen (Forschungszentrum Jülich Research Center, Köln, Németország) kutatókkal is jött létre együttműködés, amely kapcsolatok eredményeit a közeljövőben lesz lehetőségünk bemutatni.

A kutatásaink során kapott eredményeink az alábbiak szerint foglalhatók össze (ezeket igyekeztünk tematikailag csoportokba gyűjteni és együtt tárgyalni a jelentés terjedelmének csökkentése és a jobb átláthatóság érdekében):

1. Az oldalláncok alfa-szénatomján metilcsoportokat tartalmazó makrociklusos ligandumok (DOTMA, ill. bifunkciós származékai (*S*-SSS-NB-DO3MAA és *S*-RRRR-NB-DOTMA), és a PCTMA) komplexképző sajátságai ([2] és [5] közlemények):



1. ábra. Az acetát oldalláncok alfa-szénatomján metilcsoportokat tartalmazó makrociklusos komplexképzők.

Az oktaedentát DOTA ligandumot a diagnosztikai és terápiás alkalmazások „arany standard”-jaként emlegetik a komplexei kiemelkedően nagy stabilitása és inertsége miatt, de a szerkezetileg analóg, az acetát oldalláncok alfa-szénatomján metilcsoportokat tartalmazó DOTMA komplexek fizikai-kémiai paramétereit korábban alig vizsgálták. A kutatási munkatervben foglaltak alapján a pályázat első szakaszában DOTMA ligandum és származékai egyes endogén (Ca^{2+} -, Mg^{2+} -, Cu^{2+} - ill. Zn^{2+} -) és Ln^{3+} -ionokkal képződő komplexei egyensúlyi és kinetikai (képződés-, bomlási-, ill. oldószercseré) jellemzését végeztük el. Ezen túl, a szabad ligandum, a kétszeresen protonált Cu^{2+} -komplex, ill. a Gd^{3+} -ionnal képződő kelát szerkezetét sikerült szilárd fázisban röntgendiffrakciós módszerrel meghatározni. Az eredményeink azt mutatják, hogy 1. a ligandum donoratomjainak a bázicitása alig különbözik a szerkezetileg analóg DOTA esetében tapasztalt értékektől, de a **4. protonálódásra jellemző lépcsőzetes állandó nagyobbak adódik** az összes vizsgált ionerősség mellett (0,15 M NaCl, 1,0 M KCl, ill. 1,0 M Me₄NCl), **mint a $\log K_3^H$, amit a ligandum protonálódás hatására bekövetkező konformáció-váltásával értelmeztünk.** 2. a **komplexei stabilitása** a Cu^{2+} -ion kivételével **az összes vizsgált fémion** (K^+ , Na^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Mn^{2+} , Zn^{2+} , Ce^{3+} , Eu^{3+} , Gd^{3+} és Yb^{3+}) **esetében kisebbnek adódik, mint azt a megfelelő DOTA komplexek esetében tapasztalták,** ami a komplexképző metilcsoportjai szterikus hatásának tudható be. A Cu^{2+} -ion esetében több független módszer segítségével

(közvetlen, ill. ligandumkompetíciós UV-látható spektrofotometria és ESR spektroszkópia) **igazoltuk, hogy az irodalomban** más makrociklusos ligandum (pl. DOTA, HP-DO3A, DOTAM, stb.) esetére **publikált stabilitási állandók korrekcióra szorulnak**, ami azt is jelenti, hogy Cu^{2+} -ion esetében is DOTMA-komplex rendelkezik kisebb stabilitással. A $[\text{Cu}(\text{DOTAM})]^{2+}$ - és a $[\text{CuH}_2(\text{DOTMA})]$ -komplexek szerkezetét sikerült röntgendiffrakciós módszerrel meghatározni. Az előzőnél **tetragonális piramisos geometria valósul meg**, amelyben a Cu^{2+} -iont a makrociklus nitrogénatomjai és egy kloridion koordinálja. A $[\text{Cu}(\text{H}_2\text{DOTMA})]$ **kétszeresen protonált komplex** esetében az egyik proton a makrociklus nitrogénatomját, a másik pedig egy karboxilátcsoportot protonál, ami a Cu^{2+} -ionra nézve olyan **síknégyzeteshez közeli geometriát** eredményez, amelyben a makrociklus konformációja eltér a megszokott [3333] konformációtól. Ezzel szemben a $\text{Cu}_2\text{DOTA}\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ - és a H_2CuDOTA -komplexek $[\text{Cu}(\text{DOTA})]^{2-}$ -egységeiben a fémiont koordináló donoratomboknak oktaéderez az elrendeződése.^[Riesen, A.; Zehnder, M.; Kaden, T. A. *Helv. Chim. Acta* **1986**, *69*, 2074-2080 és Riesen, A.; Zehnder, M.; Kaden, T. A. *Helv. Chim. Acta* **1986**, *69*, 2067-2073]

3. A ritkaföldfém(III)ionok esetében az oldatban előforduló négyzetes antiprizmás (NAP), ill. a torzult négyzetes antiprizmás (TNAP) izomerek közül **a túlnyomóan a TNAP izomert találtuk** (oldatban és $[\text{Gd}(\text{DOTMA})]^-$ -komplex esetében szilárd fázisban is), ami nagyobb $\text{Gd}-\text{H}_2\text{O}$ kötéstávolsággal és közel egy nagyságrenddel nagyobb vízcseresebességgel rendelkezik, **tehát a kontrasztanyagkutatás szempontjából értékesebb izomer.** 4. A vizsgált $[\text{Ln}(\text{DOTMA})]^-$ -komplexek képződése a DOTA-komplexek esetében leírtakhoz hasonlóan több egymást követő lépésben megy végbe, de több mint **két nagyságrenddel lassabban.** 5. Az $[\text{Ln}(\text{DOTMA})]^-$ -komplexek **savkatalizált disszociációja** a megfelelő $[\text{Ln}(\text{DOTA})]^-$ -komplexekhez mérten **30-400-szor lassabban játszódik le** (a savkatalizált disszociációra jellemző sebességi állandó (k_1) a $[\text{Ce}(\text{DOTMA})]^-$ -komplexnél $1,8 \pm 0,2 \times 10^{-6} \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$, míg a $[\text{Ce}(\text{DOTA})]^-$ -nál $k_1 = 8,0 \times 10^{-4} \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$, ill. Gd^{3+} -komplexek esetében $k_1 = 2,3 \pm 0,2 \times 10^{-7} \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ ($[\text{Gd}(\text{DOTMA})]^-$) vs. $k_1 = 8,4 \times 10^{-6} \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ ($[\text{Gd}(\text{DOTA})]^-$) vagy $k_1 = 1,4 \times 10^{-5} \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ ($[\text{Eu}(\text{DOTA})]^-$)). **Összegezve, a DOTMA ligandummal képződő Ln^{3+} -komplexek stabilitása kisebb és lassabban is képződnek, mint a megfelelő DOTA komplexek, amit ellensúlyoz a $[\text{Ln}(\text{DOTMA})]^-$ -komplexek inertségében tapasztalt jelentős javulás, ill. a Gd^{3+} -kelát $[\text{Gd}(\text{DOTA})]^-$ -kompleksszel megegyező relaxivitása.**

A bifunkciós *S*-SSS-NB-DO3MAA és *S*-RRRR-NB-DOTMA komplexképzők az Ln^{3+} -ionokkal oldatban különböző izomereket képeznek: **az *S*-SSS-NB-DO3MAA komplexképzővel kizáróan a TNAP izomer képződött**, míg **az *S*-RRRR-NB-DOTMA** esetében a **NAP izomer** oldatbeli megjelenésével kell számolni (tehát a két izomer között fennálló dinamikai egyensúly megszüntethető). Ezek alapján lehetőségünk nyílt két nagyon hasonló szerkezetű ligandumra nézve az egyes NAP és TNAP izomer komplexek stabilitását, képződési-, és bomlás-kinetikai paramétereik meghatározására egyazon fémion esetére (ezen izomereket a DOTA komplexei esetében NMR spektroszkópiásan tudták detektálni, de az egymásba alakulásuk sebessége miatt fizikai-kémiai paramétereiket nem lehetett külön-külön meghatározni). A tisztán tudományos eredményeken túl, **ez egy eddig nem elérhető új**

„eszközt” szolgáltató a Ln^{3+} -komplexek stabilitásának/képződési- és bomláskinetikai paramétereinek a hangolására is. Ezt a sikert némiképp árnyalja az a tapasztalatunk, hogy a makrociklushoz kötött *para*-nitrobenzil-csoportnak köszönhetően a **komplekképződés során regioizomerek is képződtek** (amit korábban is tapasztaltak, de racémizációval értelmeztek), amely izomer komplexek HPLC technikával történő elválasztását teszi indokolttá.

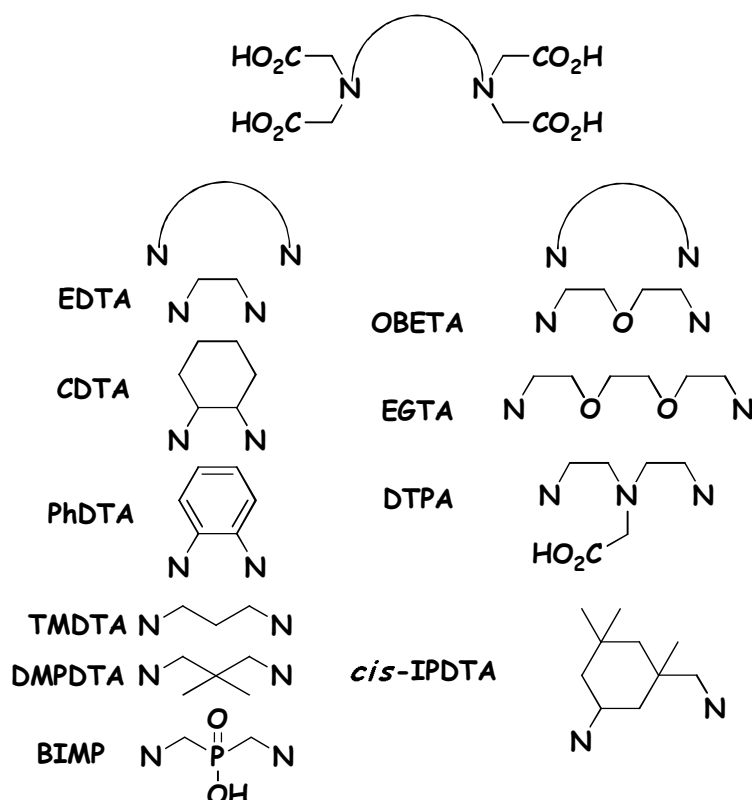
A PCTMA ligandumot a piklén és az L-tejsav-metil-észterének triflátja közötti reakcióban keletkező észter szappanosítását követően kaptuk (az analitikai munkához a komplekképzőt preparatív HPLC technikával tisztítottuk). A **PCTMA ligandum** pH-potenciometriás módszerrel 0,15 M NaCl ionerősségben mért **protonálódási állandói nagyobbak**, mint a PCTA anyaligandum azonos ionerősség mellett meghatározott állandói, ami a PCTMA nagyobb összbázicitását eredményezi ($\log \beta_{015}=25,77$ (PCTMA) vs. 21,32 (PCTA)). Ez a bázicitás növekedés az alfa-szénatomokon lévő metilcsoportok elektronküldő hatásának az eredménye. A **PCTMA ligandum Mg^{2+} -, Ca^{2+} -, Mn^{2+} -, Zn^{2+} - és Cu^{2+} -ionokkal képződő komplexei oldategyensúlyát mononukleáris komplexekkel tudtuk leírni**, a Mg^{2+} -ion esetében tisztán ML, a Ca^{2+} -ionnál ML és MHL, míg a további fémionok esetében MH_2L komplexek képződésével is számolni kell, de vegyes hidroxido-komplexek képződését egyik rendszer esetében sem tudtunk kimutatni (a Cu^{2+} -ion esetében UV-látható, a Mn^{2+} -ion esetében relaxometriás eredmények alapján). A Mg^{2+} és Ca^{2+} ionok esetében a megfelelő PCTA komplexeknél valamivel kisebb stabilitású komplexek képződtek, a Zn^{2+} - és Mn^{2+} -ionok esetében összemérhető ($\log K_{[\text{Mn}(\text{PCTMA})]}=18,08(4)$ vs. $\log K_{[\text{Mn}(\text{PCTA})]}=18,48$ és $\log K_{[\text{Zn}(\text{PCTMA})]}=20,05(5)$ vs. $\log K_{[\text{Zn}(\text{PCTA})]}=20,48$). A **Cu^{2+} -ion esetében több nagyságrenddel stabilabb** komplex képződését tapasztaltuk, amit csak UV-látható spektrofotometriás módszerrel sikerült meghatároznunk ($\log K_{[\text{Cu}(\text{PCTMA})]}=23,93(0,09)$ vs. $\log K_{[\text{Cu}(\text{PCTA})]}=18,79$). A **Gd^{3+} -ionnal** végzett relaxometriás kísérleteink alapján **$\log K_{[\text{GdL}]}=21,1(2)$ adódott**, ami 0,6 log K egységgel nagyobb, mint a $[\text{Gd}(\text{PCTA})]$ -komplekre jellemző állandó. A **$[\text{Gd}(\text{PCTMA})]$ relaxivitását $8,51 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ értéknek** találtuk (25 °C-on és 20 MHz-en), ami közel **a duplája a $[\text{Gd}(\text{DOTA})]^-$ -komplex relaxitásának** (a klinikai gyakorlatban a legjobbnak vélt kontrasztanyag), ill. nagyobb az összes forgalomban lévő tradicionális Gd^{3+} -alapú ágens relaxitás értékénél. **Ez az érték szérumban $8,15 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ értékre csökken**, ami a komplex és a szérum komponenseinek a kölcsönhatására utal. A vizsgált bioligandumok közül a laktációval tapasztaltuk a legstabilabb vegyeskomplex képződést. A $[\text{Gd}(\text{PCTMA})]$ -komplex nagy relaxitása a központi fémionhoz két vízmolekula (amit lumineszcenciás módszerrel támasztottunk alá) szimultán koordinációjának, ill. azok gyors cseréjének (amit ^{17}O -NMR módszerrel igazoltunk) az eredménye. A $[\text{Gd}(\text{PCTMA})]$ -komplex kinetikai inertségéről a komplex savkatalizált disszociációjának vizsgálatával gyűjtöttünk információt. A **savkatalizált disszociációra jellemző sebességi állandót (k_1)** 0,1-2,0 M savkoncentráció tartományban mért adatok felhasználásával határoztuk meg, ami **$k_1=1,10\pm0,07\times10^{-5} \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ sebességi állandót** eredményezett. Ez az állandó **gyakorlatilag megegyezik DOTA ligandum Eu^{3+} - ($k_1=1,4\times10^{-5} \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$) és Gd^{3+} -komplexeire ($k_1=8,4\times10^{-6}$**

$\text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$) publikált adatokkal és több mint **egy nagyságrenddel kisebb a PCTA ligandum Eu^{3+} -komplexe esetében tapasztalt értéknél** ($k_1=5,1\times 10^{-4} \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$). Hasonló következtetésre jutottunk a Mn^{2+} -komplex vizsgálatok is, bár ebben az esetben a sebességi állandó értékében tapasztalt csökkenés kisebb mértékű, **mindössze kétszeres**. A **$[\text{Gd}(\text{PCTMA})]$ -kompleksszel** végzett képződéskinetikai vizsgálataink ugyanakkor rámutattak a PCTMA ligandum egy kevésbé előnyös tulajdonságára is, mivel a komplex **képződési sebességének a csökkenését tapasztaltuk**. Az eredményeink alapján a $[\text{Gd}(\text{PCTMA})]$ -komplex ($k_{\text{OH}}=2,2\pm 0,1\times 10^7 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$, ahol a k_{OH} a protonált köztitermék OH^- -ion által katalizált átalakulásának a sebességi állandója) az $[\text{Eu}(\text{DOTA})]^-$ -keláttal összemérhető sebességgel képződik ($k_{\text{OH}}=7,6\times 10^6$, ill. $k_{\text{OH}}=1,1\times 10^7 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ különböző irodalmak alapján), ami egy nagyságrenddel kisebb sebességet jelent mint azt a $[\text{Eu}(\text{PCTA})]$ -komplex esetében tapasztaltuk ($k_{\text{OH}}=1,7\times 10^8 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$). **Ezek alapján a PCTMA komplexképző jól „ötvözi” DOTMA és PCTA ligandumok tulajdonságait, és a $[\text{Gd}(\text{PCTMA})]$ -komplex a fizikai-kémiai jellemzői alapján képes felvenni a versenyt a $[\text{Gd}(\text{DOTA})]^-$ -alapú Dotarem MRI kontrasztanyaggal.**

2. Nyíltáncú EDTA-származékok szerkezetének hatása a képződő Ln^{3+} -komplexek oldategyensúlyára és inertségére ([1, 6, 7, 10, 11, 18, 21, és 28] közlemények):

A pályázat futamideje alatt **nagyszámú EDTA származékot vizsgáltunk** (ezek egy része a kereskedelmi forgalomban is kapható komplexképző, de néhányat mi magunk is előállítottunk), amelyekben az EDTA két IMDA-csoportját összekötő etilénhidat formálisan különböző, akár donoratomot is tartalmazó „egységgel” (pl. foszfinátcsoportot (BIMP), metilhidrazin-csoportokat tartalmazó piridinegységgel (HYD), éteres oxigént (OBETA), geminális helyzetű metilcsoportokat (DMPDTA), *cisz*-izoforon-diamint (*cisz*-IPDTA)) helyettesítünk. Ezáltal rálátást nyertünk az említett csoportok, és a képződő komplexek fizikai-kémiai sajátságai közötti összefüggésekre. Az ilyen információk rendkívül hasznosak új makrociklusos komplexképzők előállításakor. Az egyensúlyi vizsgálatok eredményei alapján **a vizsgált fémionok esetében a képződő komplexek stabilitása csökkent** amennyiben az IMDA-csoportokat összekötő egység nem tartalmazott koordinálódó donoratomot és ezzel párhuzamosan nőtt a komplexképző ligandum kétmagvú komplexek képződésére való hajlama is (DMPDTA és *cisz*-IPDTA). Az *cisz*-izoforonszármazék esetében ez a csökkenés még számottevőbb, ami arra utal, hogy az IMDA-csoportok közötti **összekötőelem előrendezettsége és „hossza” nagymértékben befolyásolja képződő komplexek stabilitását**. A láncban donoratomot tartalmazó komplexképzők esetében a foszfinátcsoport IMDA-csoportok közé történő „illesztése” a BIMP komplexek esetében nem javítja a ligandum komplexképző sajátságait (pl. már az Ln^{3+} -ionok komplexeinél a megfelelő $[\text{Ln}(\text{EDTA})]^-$ -komplextől kisebb stabilitás a jellemző, és megjelennek a kis stabilitású ($\log K=3,0-3,5$) kétmagvú komplexek is). Az $[\text{Ln}(\text{BIMP})]^{2-}$ -komplex savkatalizált bomlására jellemző sebességi állandó kisebb, ugyanakkor a fémion közvetlen támadásával lejátszódó reakcióra jellemző sebességi együttható nagyobb, mint azt a megfelelő $[\text{Ln}(\text{EDTA})]^-$

komplex esetében tapasztalták, de **összességében a Cu^{2+} -ionnal lejátszódó cserereakciók nagyon gyorsan játszódhatnak le**, és a „stopped-flow” technikával követhetők. A koordinálódó éteres oxigénatomnak köszönhetően az OBETA ligandummal képződő Ln^{3+} -komplexek **stabilitása és inertsége is javul** a megfelelő $[\text{Ln}(\text{EDTA})]^-$ -komplexekhez mérten. Amennyiben **merev metilhidrazin-csoportokat** tartalmazó piridin egységet (HYD) „ékeltünk” a két IMDA-csoport közé, már a kereskedelmi forgalomban lévő és leggyakrabban alkalmazott MRI kontrasztanyagra, a $[\text{Gd}(\text{DTPA})]^{2-}$ -komplexre jellemző bomláskinetikai adatokhoz hasonló sebességi állandókat kaptunk. **A fiziológiai körülménynek mellett ($\text{pH}=7,4$, $c_{\text{Cu}^{2+}}=1 \mu\text{M}$) számított felezési idő ebben az esetben még nagyobb is adódott ($t_{1/2}=5298$ óra), mint a $[\text{Gd}(\text{DTPA})]^{2-}$ -komplexre jellemző érték ($t_{1/2}=202$ óra).** Ez felettébb meglepő, mivel a HYD ligandumban egy donoratómmal kevesebb koordinálja a központi fémiont, ami rámutat a komplexképző merev szerkezetének a képződő kelát kinetikai inertségére gyakorolt hatására, ill. annak fontosságára. Lumineszcenciás mérésekkel igazoltuk, hogy **a $[\text{Gd}(\text{HYD})]^-$ -komplexben a központi fémionhoz két vízmolekula is koordinálódik**, amely ^{17}O -NMR spektroszkópiás módszerrel kapott adataink szerint gyorsan cserélődik az oldószer vízmolekulákkal ($k_{\text{ex}}^{298}=7,8 \times 10^6 \text{ s}^{-1}$). A két koordinált vízmolekulának köszönhetően **a $[\text{Gd}(\text{HYD})]^-$ -komplex relaxivitása nagyobb**, mint azt a kereskedelmi forgalomban kapható, a belső koordinációs szférában egy vízmolekulát tartalmazó komplexek esetében találták ($r_{1p}=7,7 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ 20 MHz-en, és 25 °C-on vs. 4,5-4,8 $\text{mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ a kis molekulatömegű $[\text{Gd}(\text{DTPA})]^{2-}$ - és $[\text{Gd}(\text{DOTA})]^-$ -komplexre és származékaikra jellemzően). Ezen túl, **a $[\text{Gd}(\text{HYD})]^-$ -komplex nem képez stabil vegyeskomplexekeket** a legfontosabb bioligandumokkal (citrát-, foszfát-, karbonát-, stb.) fiziológiai pH-n, így összességében (stabilitás/inertség/vízcsere sebesség/relaxivitas viszonylatában) **jobban teljesít**, mint a kereskedelmi forgalomban kapható $[\text{Gd}(\text{DTPA})]^{2-}$ -nyíltláncú kontrasztanyag.

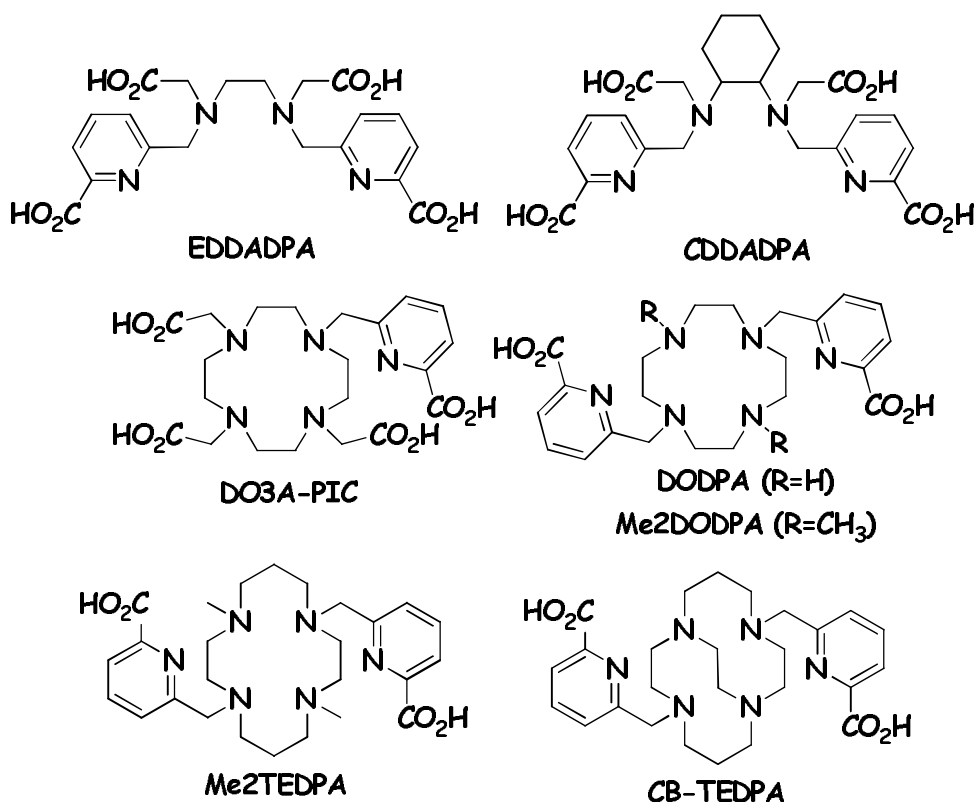


2 ábra. A vizsgált nyíltáncú komplexképzők szerkezete.

3. Nyíltáncú és makrociklusos egy, ill. két pikolinátcsoportot tartalmazó ligandumok vizsgálata: a labilis komplexektől a rendkívüli inertséggel bíró komplexekig ([4, 14, 17, 20, 23, 30, és 32] közlemények):

Nyíltáncú (etilén-diamin és *transz*-1,2-ciklohexán-diamin) és makrociklusos (1,4,7,10-teraazaciklododekán és 1,4,8,11-teraazaciklotetradekán) aminok oldalláncaiban egy, ill. két pikolinátcsoportot tartalmazó ligandumok (EDDADPA és CDDADPA, DO3A-PIC, DODPA, Me₂DODPA, Me₂TEDPA és CB-TEDPA), egyensúlyi, kinetikai vizsgálatait az EDDADPA komplexképzőre, az irodalomban 10 éve publikált közlemények jelentették a kiindulópontot. A vegyülettel foglalkozó irodalmak elemzése alapján megállapítható volt, hogy a etilén-diaminhoz kapcsolt két pikolinátcsoport eredményesen használható antennaként az Eu³⁺- és a Tb³⁺-ionok lumineszcenciájának érzékenyítésére. Ezen túl, a Gd³⁺-komplex relaxivitása a kereskedelmi forgalomban kapható kontrasztanyagokra jellemző értékekkel megegyező vagy azokat kismértékben meg is haladta. A Ca²⁺- és Gd³⁺-ionokra meghatározott stabilitási állandók alapján ugyanakkor az EDDADPA komplexképző kikerült a kutatók látószögéből és részletes egyensúlyi, szerkezeti, ill. a Ln³⁺-komplexek kinetikai viselkedését feltáró kutatásokat nem végeztek a komplexképzővel. A ligandum újbóli előállítását elsősorban a bomláskinetikai adatok hiánya inspirálta, de a Ca²⁺- és Gd³⁺-komplexekre ismert stabilitási állandók a DTPA komplexképző azonos fémionokkal képződő komplexei stabilitásának összehasonlítása is „gyanúkelő” volt. A komplexek stabilitásának meghatározása rendhagyó volt, mivel a Ca²⁺ és Mg²⁺-ionok egyensúlyi rendszerein túl, minden további fémion esetében kompetíciós módszert kellett kidolgoznunk (különböző ligandumok (pl. ciklén, TTHA), és

fémionokra (Gd^{3+} -ionok) alapozva a Zn^{2+} , Cu^{2+} - és Ln^{3+} -komplexek stabilitási állandóinak meghatározásához. Az irodalmi adatokkal ellentétben azt tapasztaltuk, hogy a **H₄EDDADPA ligandum nagy stabilitású komplexeket képez az Ln^{3+} -ionokkal**. A La^{3+} -, Gd^{3+} - és Lu^{3+} -ionok komplexei esetére relaxometriás módszerrel meghatározott állandók $\log K_{\text{LaL}}=20,13(7)$, $\log K_{\text{GdL}}=20,23(4)$ és $\log K_{\text{LuL}}=20,49(5)$ ($25\text{ }^{\circ}\text{C}$ és $I=0,15\text{ M NaCl}$) adódtak, míg a Zn^{2+} és Cu^{2+} -ionok esetében, $\log K_{\text{ZnL}}=18,91(3)$ és $\log K_{\text{CuL}}=22,08(2)$ értékeket kaptunk. UV-látható, $^1\text{H-NMR}$ spektroszkópiás és DFT számolások segítségével alátámasztottuk, hogy a **Zn^{2+} - és Cu^{2+} -komplexek esetében a komplexképző hexadentát** ligandumként koordinálódik a fémionokhoz és az acetát oldalláncok nem vesznek részt a koordinációban. Az Ln^{3+} -komplexek esetében a ligandum okta dentát komplexképzőként viselkedik és a fémion belső koordinációs szférájában egy koordinált vízmolekula is található. Amint azt a fentebb bemutatott állandók értékei mutatják az **Ln^{3+} -ionok esetében a komplexek stabilitási állandói alig változnak a fémion ionméretének függvényben**. Ennek a furcsa tapasztalatnak a magyarázatát DFT módszerrel történt számolások adták meg. Ezen vizsgálataink alapján megállapítottuk, hogy az $[\text{Ln}(\text{EDDADPA})]^-$ -komplexek esetében a központi fémion és a nitrogén atomok közötti kölcsönhatás erőssége csökken a kisebb méretű fémionok felé haladva, amit a növekvő elektrosztatikus kölcsönhatás nem képes felülni az Ln^{3+} -ionok növekvő hidratációs energiái miatt (ami a ritkaföldfém sorozaton belül a növekvő kötési energiák és az ionok hidratációs szabadenergiái eredőjének a függvénye). A $[\text{Gd}(\text{EDDADPA})]^-$ -komplex esetében Cu^{2+} -ionnal lejátszódó fémioncsere reakciókat is vizsgáltuk, amellyel a komplex kinetikai viselkedését mértük fel. Nagy pH és fémion koncentráció tartományban kapott adatokból kiszámítottuk az egyes reakció utakra (savkatalizált, fémion közvetlen támadásával lejátszódó disszociáció, stb.) jellemző sebességi állandókat, amelyeket az EDTA és DTPA komplexképzők Gd^{3+} -komplexeire publikált adatokkal hasonlítottunk össze. A **$[\text{Gd}(\text{EDDADPA})]^-$ -komplex savkatalizált disszociációra jellemző sebességi állandó ($k_1=11,8\pm2,4\text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$) a $[\text{Gd}(\text{EDTA})]^-$ - ($k_1=87\text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$) és a $[\text{Gd}(\text{DTPA})]^{2-}$ -komplexekre jellemző állandói ($k_1=0,58\text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$) közzé esik**, de a fémion közvetlen támadásával lejátszódó bomlás az EDTA és DTPA komplexek esetében tapasztaltaknál gyorsabban játszódik le (a nagy pH-n $\text{Cu}(\text{OH})^+$ -részecske katalitikus hatása is megnyilvánult). A komplexek kinetikai inertségét gyakran fiziológias körülményekre ($\text{pH}=7,4$, $c_{\text{Cu}^{2+}}=1\text{ }\mu\text{M}$) vonatkoztatott felezési idők kiszámításával hasonlítják össze, amely a $[\text{Gd}(\text{EDDADPA})]^-$ -komplex esetére $t_{1/2}=0,15$ órának adódik, így az adott kelát nem javasolható in vivo vizsgálatokra.



3 ábra. A vizsgált egy és két pikolináts csoportot tartalmazó komplexképzők szerkezete.

Az EDDADPA ligandum Ln^{3+} -komplexei esetében tapasztalt kinetikai sajátságok javulását a komplexképző alapvázának a módosításától vártuk. Irodalmi példák alapján a flexibilis etilén-diamin „híd” *transz*-1,2-ciklohexán-diaminra történő cseréjétől a képződő komplexek inertségének a javulása várható, ami a CDDADPA komplexképző ligandum megtervezését és előállítását eredményezte. A vegyület előállítását követően vizsgáltuk az esszenciális kétvegyértékű és néhány Ln^{3+} -ion komplexei oldategyensúlyát, meghatároztuk a $[\text{Gd}(\text{CDDADPA})]^-$ -komplex disszociáció kinetikai paramétereit és vízcseré sebességét. Az eredményeink alapján megállapítható, hogy **a CDDADPA ligandum komplexei stabilitása kis mértékben meghaladja a megfelelő EDDADPA komplexekre meghatározott értékeket** ($\log K_{\text{GdL}}=20,68$ vs. $20,23$ a $[\text{Gd}(\text{EDDADPA})]^-$ -komplekre), míg a többi MRI kontrasztanyagoknál fontos paraméter (koordinált vízmolekulák száma és az azzal összefüggésben lévő relaxivitás értéke) negatív irányban nem változott. A $[\text{Gd}(\text{CDDADPA})]^-$ -komplex kinetikai inertségéről a komplex Cu^{2+} -ionokkal lejátszódó cserereakcióinak vizsgálataival gyűjtöttünk információt. A eredményeink azt mutatták, hogy a komplex disszociációja a $[\text{Gd}(\text{EDDADPA})]^-$ -kelát esetében tapasztalt mechanizmus szerint játszódik le, de a sebesség annál több nagyságrenddel kisebb. **A fiziológiai körülményekre** ($\text{pH}=7,4$, $c_{\text{Cu}^{2+}}=1 \mu\text{M}$) **extrapolált felezési idő $t_{1/2}=1,49 \times 10^5$ órának adódott, ami az összes nyíltláncú kereskedelmi forgalomban lévő Gd^{3+} -alapú kontrasztanyag esetében tapasztalt értékektől 2-3 nagyságrenddel nagyobb.** A számolásaink eredményeként kapott felezési idő

megközelíti néhány makrociklusos Gd^{3+} -komplexre publikált felezési idő értékét (pl. $[\text{Gd}(\text{DO3A})]$), amely alapján kitűnő MRI kontrasztanyag-jelöltnek tekinthető.

A komplexképző alapvázában eszközölt változtatások a képződő komplexek sajátságaiban megnyilvánuló különbségek egy másik kézzelfogható példáját makrociklusos komplexképzők esetére is vizsgáltuk. Erre a célra előállítottunk két 1,4,8,11-terazaciklotetradekán dipikolinátot (Me_2TEDPA és CB-TEDPA) amely komplexképzők egy és ugyanazon makrociklus flexibilisebb, ill. egy etilén keresztkötésnek köszönhetően merev származékainak tekinthetők. **Ln^{3+} -komplexekre vonatkozó egyensúlyi adatokat** ezen komplexképzőkre egyenlőre **nem sikerült meghatározni**, aminek az az oka, hogy a Me_2TEDPA komplexei vizes közegben semleges pH-körül termodinamikailag nem stabilak és belőlük a fémion még pH=7,0 körül is hidrolizál. Ezzel szemben a keresztkötött 1,4,7,10-tetraaza-biciklo[5.5.2]tetradekán makrociklusos dipikolinát **Ln^{3+} -komplexeit csoportunkban sikerült első ízben előállítani** mikrohullámú reaktorban nagy hőmérsékleten (140-150 °C-on n-butanolban), hosszú reakcióidőket (40 óra) alkalmazva. **Az $[\text{Ln}(\text{CB-TEDPA})]^+$ -komplexek** rendkívüli inertséggel bírnak, mivel a vizsgálataink alapján **2 M sósav-oldatban közel fél év során a bomlás mértéke elhanyagolhatóan kicsi** (nem haladta meg az 1%-ot), **de a Cu^{2+} -ion** nagy feleslegének (pH=4,6), **bioligandumok** (a $\text{H}_2\text{PO}_4^-/\text{HPO}_4^{2-}$ ionoknak 250-szeres feleslege pH=7,4-nél), ill. nagy stabilitású komplexeket képző **multidentát ligandumok** (a TTHA ligandum 250-szeres feleslege mellett pH=5,0-nél) **jelenléte sem képes detektálható bomlást eredményezni**. Ezen adataink alapján az $[\text{Ln}(\text{CB-TEDPA})]^+$ -komplexek bomlás nélkül alkalmazhatók lehetnek in vivo körülmények között is, de a fémionhoz koordinált vízmolekula hiányában (gyenge relaxációs hatás) csak olyan alkalmazások jöhetnek számításba, ahol a koordinált oldószer molekulák megléte nem elvárás vagy kifejezetten hátrányos (pl. lumineszcens próbák).

Hasonló következtetésekre jutottunk a DO3A-PIC komplexképző kétvegyértékű és Ln^{3+} -ionokkal képződő komplexei vizsgálata során is: a képződő komplexek stabilitása meghaladta az DO3A ligandum Ln^{3+} -komplexei esetében tapasztalt állandókat, ami a pikolinátcsoport koordinációjára utal. **A komplexképződést**, a DO3A- és DOTA-komplexek esetében már tankönyvi példaként ismert **lassú reakciók jellemezték**. A Gd^{3+} -komplex savkatalizált disszociációjára jellemző sebességi állandók pedig a megfelelő DO3A- és DOTA-komplexek sebességi állandói közé estek. A vizsgált **kétvegyértékű fémionok** esetében DFT módszerrel végzett számolásaink eredményei alapján **a pikolinátcsoport koordinációját csak a nagyobb méretű Ca^{2+} -, ill. Pb^{2+} -ionok esetében sikerült alátámasztani**, a Mg^{2+} -, Zn^{2+} -, Cu^{2+} -, Cd^{2+} -ionok esetében az oldalláncok közül csak az acetát karok koordinálódnak.

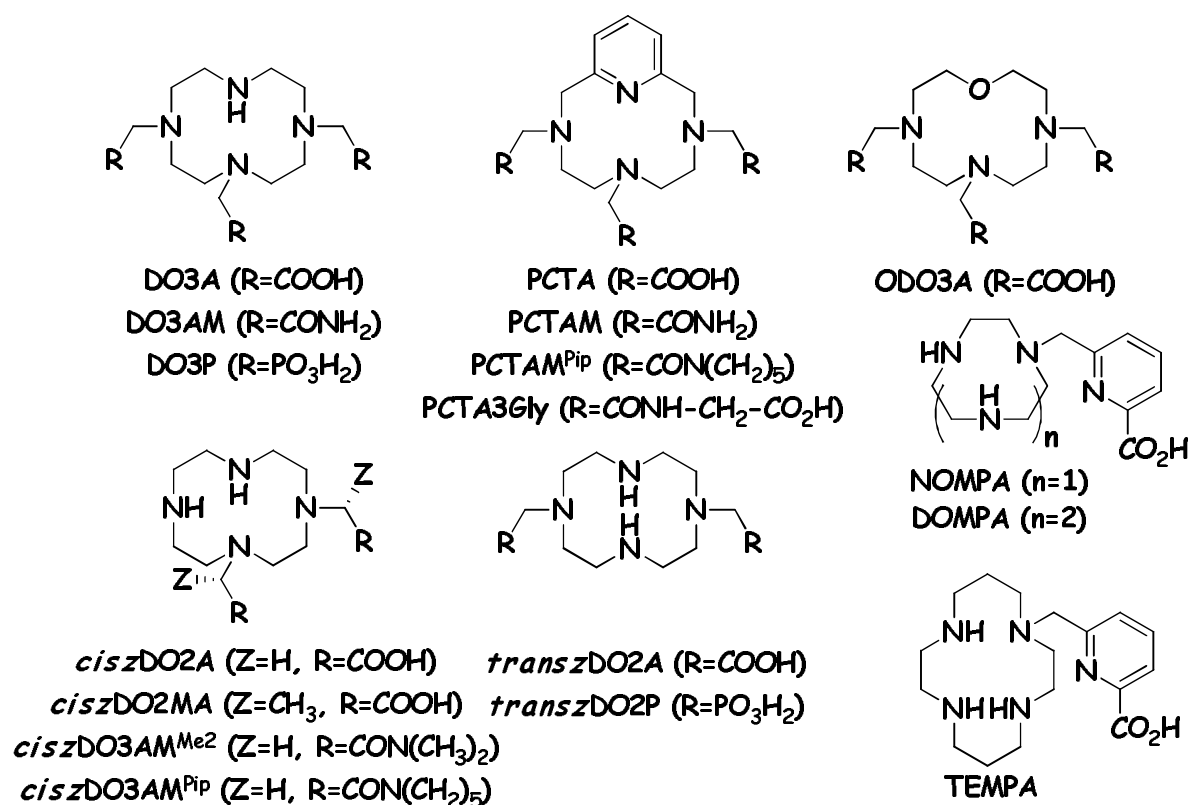
4. A paramágneses Mn^{2+} -fémion komplexálásra alkalmas ligandumok keresése: nyíltláncú és makrociklusos példák ([9, 15, 19, 20, 24, 28, 29] közlemények és [31] szabadalom):

Az Gd^{3+} -toxikus hatása (NSF kialakulása a 2000 évek elején), ill. a gadolínium felhalmozódásával kapcsolatos újonnan (2015) publikált tanulmányok eredményeként egyre intenzívebb kutatások indultak el olyan MRI kontrasztanyagok megkeresésére/kifejlesztésére amelyek esszenciális fémionokra épülnek (Fe^{2+}/Fe^{3+} , Mn^{2+} , stb.). Mivel az ilyen ágensek nagy koncentrációban történő alkalmazásakor is felléphetnek toxikus hatások (a nagy mennyiségű Mn^{2+} -ion Parkinson-kórhoz hasonló neurodegeneratív megbetegedést okozhat (Manganizmus)) ezért a Mn^{2+} -alapú kontrasztanyag-jelöltekkel szemben is (ahogy az a Gd^{3+} -alapú ágensek esetében jól ismert), komoly követelményeket támasztanak (úgy mint termodinamikai és redox stabilitás, inertség, koordinált vízmolekula jelenléte és nagy relaxációs hatás, stb.). A $[Mn(DOTA)]^{2-}$ -komplex stabilitása és kinetikai paraméterei alapján kiváló jelölt lenne, de a fémionhoz koordinált vízmolekula hiánya miatt nem rendelkezik megfelelő relaxációs hatással. A $[Mn(EDTA)]^{2-}$ -komplex ezzel szemben jó relaxációs hatással bír amihez viszont kis inertség párosul, ezért a fentebb feltüntetett kritériumokat kielégítő, a Mn^{2+} -ion komplexálásra alkalmas komplexképző(k) megkeresése a nyíltláncú és makrociklusos ligandumok körében egyaránt előrelépést hozhat. Munkánk során nagyszámú, a kereskedelmi forgalomban is kapható EDTA-származék ligandum Mn^{2+} -komplexének a disszociációs kinetikáját vizsgáltunk meg (amely kutatással a nyíltláncú ligandumok körében kerestük azon ligandumo(ka)t amely(ek) inert Mn^{2+} -komplexe(k)et képeznek). Másrészt a vonatkozó irodalmak áttekintését követően a vizsgálatainkat makrociklusos komplexképzőkre is kiterjesztettük mert 1. kíváncsiak voltunk, hogy melyik makrociklusra (9-aneN₃, 12-aneN₄ és 14-aneN₄) érdemes építeni a további fejlesztéseinket, ill. 2. a DOTA ligandum oldalláncainak számát (pl. DO3A, *cisz*DO2A és *transz*DO2A), és mivoltát (DO3AM, DO3P, stb.), ill. a makrociklusban található donoratomokat (ODO3A, PCTA, stb.) is változtatva kerestük a megfelelő ligandumot.

Nyíltláncú (pl. EDTA, CDTA, BIMP, OBETA, stb. 2. ábra) és ciklusos (AAZTA, 5. ábra) ligandumok Mn^{2+} -komplexei kinetikai viselkedéséről a Cu^{2+} -ionnal lejátszódó cserereakcióik tanulmányozásával gyűjtöttünk információt. Ezen vizsgálatok eredményei alapján megállapítottuk, hogy a vizsgált nyíltláncú komplexképzők közül **egyedül a *transz*-ciklohexán-diamin-tetraecetsav (*transz*CDTA) képez inert komplexet a Mn^{2+} -ionnal** (fiziológiás körülményre számított felezési idő $t_{1/2} = 12$ órának adódott). Erre az információra, ill. a Gd^{3+} -komplexe(k)ek esetére fellelhető, elsősorban amid típusú ligandumokra publikált adatokra alapozva új *transz*CDTA-bisz(amid) származékokat állítottunk elő, és vizsgáltuk a Mn^{2+} -komplexeik egyensúlyi és kinetikai viselkedését, ill. meghatároztuk a komplexek relaxivitását. Az amidcsoportok természetének megválasztásával (primer/szekunder/tercier) a képződő Mn^{2+} -komplexe(k)ek kinetikai inertsége tovább hangolható, így elsősorban *transz*CDTA-bisz(piperidin)-amidjait állítottuk elő. **Az előállított komplexképzők Mn^{2+} -komplexei olyan jól teljesítettek** (a makrociklusos $[Mn(DOTA)]^{2-}$ -kompleksszel összemérhető disszociációs felezési idő, a kereskedelmi forgalomban lévő $[Gd(DTPA)]^{2-}$ - és $[Gd(DOTA)]^{2-}$ -komplexe(k)ekkel összemérhető relaxivitas, stb.), **hogy ezekből szabadalmi bejelentés születhetett és ipari partner érdeklődését is felkeltette** (Bracco Imaging Spa).

A makrociklus üregméretének a Mn^{2+} -komplexek fizikai-kémiai paramétereire és szerkezetére gyakorolt hatásáról a 9-ane N_3 , 12-ane N_4 és 14-ane N_4 makrociklusok monopikolinát-származékainak vizsgálatával (NOMPA, DOMPA és TEMPA) gyűjtöttünk információt. A Mn^{2+} -komplexek stabilitási állandói alapján **a Mn^{2+} -ion komplexálására a DOMPA ligandum a legalkalmasabb.** A relaxometriás méréseink ugyanakkor azt mutatták, hogy **csak a NOMPA komplex tartalmaz** a belső koordinációs szférájában az oldószerrel gyorsan cserélő **koordinált vízmolekulát**, amit a komplexek röntgenszerkezetei is alátámasztottak. A Cu^{2+} -ionnal lejátszódó fémioncsere reakciók vizsgálatai alapján megállapítottuk, hogy **a $[Mn(DOMPA)]^+$ - és a $[Mn(NOMPA)]^+$ -komplexek bomláskinetikája nem függ a kicserélő fémion koncentrációjától és a disszociáció **spontán, ill. savkatalizált úton játszódik le** a korábban vizsgált Mn^{2+} -komplexek esetében tapasztaltaktól **nagyságrendekkel gyorsabban.** A két komplex közül **a $[Mn(DOMPA)]^+$ -komplex az inertebb,** tehát a további fejlesztéseket is ezzel a makrociklussal érdemes végezni.**

A háromszorosan helyettesített 1,4,7,10-tetraazaciklododekán származékok Mn^{2+} -komplexei relaxometriás vizsgálatai alapján megállapítottuk, hogy ezen komplexek belső koordinációs szférájában nem található vízmolekula, tehát a donoratomok számát tovább kell csökkenteni. Ez a *cisz*- és *transz*DO2A származékok vizsgálatát eredményezte, viszont mivel a DO3A és származékai kellő mennyiségben álltak rendelkezésünkre, indokoltnak látszott a Mn^{2+} -komplexeik részletes egyensúlyi és kinetikai vizsgálatát elvégezni (amely további ligandumok tervezéséhez nyújthat segítséget). Ezen vizsgálatok eredményeit összefoglalva megállapítottuk, hogy **1. a karboxilátcsoportok foszfonátcsoportokra történő cseréje a Mn^{2+} -komplex stabilitási állandójának a növekedését eredményezi,** de ha figyelembe vesszük a ligandumok bázicitását is (pl. látszólagos stabilitási állandó, vagy pM-érték) akkor kiderül, hogy **a foszfonátcsoport egyensúlyi szempontból sem előnyös. A $[Mn(DO3P)]^-$ -komplex Cu^{2+} -ionnal lejátszódó disszociációja viszont rendkívül gyorsan,** a nyítláncú ligandumok esetében tapasztalt sebességgel játszódik le, amely **kizárja ezt az oldalláncot** a további fejlesztések során **alkalmazandó „építőelemek” köréből.** **2. a makrociklus piridincsoportot által történő merevítése minden szempontból előnyös.** 3. oldalláncban az acetátcsoportok amidokra történő cseréje növeli a Mn^{2+} -komplexek kinetikai inertségét, miközben megfelelően nagy marad a termodinamikai stabilitás. Ezek alapján **az amid funkciós csoport hasznos „építőelem”.**



4 ábra. A Mn²⁺-ion komplexálására alkalmazott makrociklusos ligandumok.

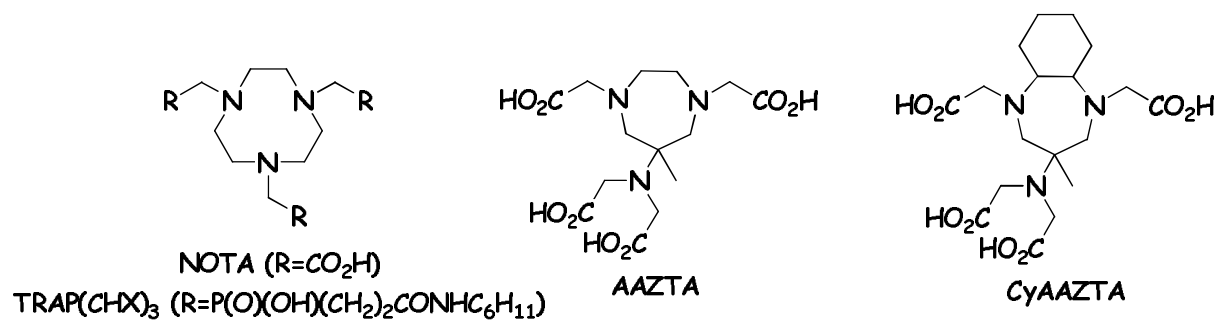
A kétszeresen helyettesített 1,4,7,10-tetraazaciklododekán származék, a *trans*DO2A, a *cis*DO2A ligandumok Mn²⁺-ionnal képződő komplexeinek egyensúlyi, redoxi, kinetikai és a relaxációs tulajdonságainak a vizsgálatán keresztül gyűjtöttünk információt. Az eredményeink alapján az **acetát oldalláncok helyzete** gyakorlatilag **nincs hatással** két izomer Mn²⁺-komplexének **stabilitására, és kinetikai inertségére**, de koordinált vízmolekula csak a *cis*-helyettesített származéknál található (amely redoxi szempontból is stabilabb), így a további fejlesztések alapját is ebben a ligandumban láttuk. **Ezen információkat** az előzőekben bemutatott szisztematikus vizsgálatok eredményeivel „összefésülve” az oldallánc alfa szénatomján metilcsoportot tartalmazó *cis*DO2MA, ill. az amidszármazék *cis*DO2AM^{Me2}, és *cis*DO2AMPip ligandumok megtervezését, előállítását és vizsgálatát eredményezte. A *cis*DO2MA ligandummal kapott eredményeinket a [Mn(*cis*DO2A)]-komplekre jellemző adatokkal összehasonlítva a *cis*DO2MA komplex nagyobb termodinamikai, de kisebb redoxi stabilitását tapasztaltuk. A [Mn(*cis*DO2MA)]-komplex savkatalizált disszociációjára jellemző **sebességi állandó 1/6-a a *cis*DO2A esetében tapasztalt állandónak**, ami jó összhangban van a DOTA → DOTMA és a PCTA → PCTMA ligandumok Gd³⁺-komplexei viszonylatában kapott eredményeinkkel. Az **acetátcsoportok amidcsoportra történő cseréje ugyanakkor a stabilitási állandó csökkenését** (log K_{MnL} =12,64(5)), de a relaxitás és a **kinetikai inertség további javulását** eredményezi (a savkatalizált bomlásra jellemző sebességi állandók értéke 8,7 M⁻¹s⁻¹ és 7,58 M⁻¹s⁻¹ vs. 99,0 M⁻¹s⁻¹ a [Mn(*cis*DO2A)]-komplekre mért állandó).

5. A nukleáris medicina területén hasznosuló komplexek vizsgálata ([8, 12, 13, 22, 25, 26 és 27] közlemények):

Cu^{2+} , Ga^{3+} , In^{3+} és újabban Sr^{3+} -ionok gyors komplexálásra alkalmas ligandumok előállításával és vizsgálatai során kapott eredményeink az alábbiak szerint foglalhatók össze:

1. Az **AZZTA** komplexképző (5. ábra) **stabil komplexet képez a Cu^{2+} -** ($\log K_{[\text{CuL}]}=22,27(2)$), **a Ga^{3+} -** ($\log K_{[\text{GaL}]}=22,36(2)$) **és az In^{3+} -ionokkal** ($\log K_{[\text{InL}]}=29,86(5)$). A **Ga^{3+} -komplex transzferrin, ill. Cu^{2+} -ionok hatására lejátszódó disszociációs reakcióira jellemző sebességi állandók segítségével számított felezési idők ($t_{1/2}=21\text{-}24$ óra 7,4-es pH-n) a Ga^{3+} -radioizotóp felezési idejével való ($t_{1/2}=67,7$ perc) összehasonlítása alapján megállapítható, hogy az **AZZTA ligandum** hasznos a ^{68}Ga PET izotóp (gyors) megkötésére és in vivo alkalmazására is. A komplex stabilitásának és inertségének a javításának érdekében előállítottuk és vizsgáltuk a merev *transz*-1,2-ciklohexán-diamin alapra épülő komplexképzőt (5. ábra). A **CyAAZTA ligandum** érdekes módon **nem előnyös a Ga^{3+} -ion komplexálása szempontjából** (a komplexképző bázicitása, ill. a Ga^{3+} -komplex stabilitása megegyezik az AAZTA ligandum esetében kapott állandókkal), mivel gyorsabban disszociál ($t_{1/2}=8,5$ óra 7,4-es pH-n), ami egyrészt a merev szerkezet, ill. a fiziológiás pH-n képződő vegyeskomplex ($[\text{GaL}(\text{OH})]^-$) kisebb inertségéből ered. A **Cu^{2+} -ion** komplexálására három foszfinátcsoportot tartalmazó triazaciklononán származékokat (pl. $\text{TRAP}(\text{CHX})_3$) is kipróbáltunk, amelyek a $[\text{Cu}(\text{NOTA})]^-$ -komplexnél 3-5 log egységgel kisebb stabilitású komplexeket képeznek.**

Nem kovalensen kötött halogén radioizotópok hordozókként újabban fémkomplexet is alkalmaznak. Az $[\text{Al}(\text{NOTA})]$ -komplex az első ilyen céllal vizsgált kelát, amely fluorid ligandum formájában ^{18}F -izotóp megkötésére képes stabil vegyeskomplex képződés mellett. Az $[\text{Al}(\text{NOTA})]$ -komplex stabilitását különmintás pH-potenciometriás, ^1H - és ^{27}Al -NMR technikák kombinációjával határoztuk meg ($\log K_{[\text{AlL}]}=17,9(1)$) és vizsgáltuk a kelát vegyeskomplex képző hajlamát is. Az $[\text{Al}(\text{NOTA})\text{F}]^-$ -komplexet vizes közegben csak kis, de **50%-os alkoholos közegben 100%-os konverzióval** tudtunk előállítani. A komplex savkatalizált úton **nagyon lassan bomlik**, de a OH^- -ion katalizált disszociációja is kellően **lassú** ahhoz, hogy a komplexet in vivo alkalmazzák. Ezzel szemben a $[\text{Tl}(\text{DOTA})]^-$ -komplex esetében (ami ugyancsak kirívó kinetikai inertséggel bír) **nem sikerült vegyeskomplexet előállítani** a diagnosztikai és terápiás izotópokkal egyaránt rendelkező jodidionnal. A $[\text{Tl}(\text{DOTA})]^-$ -komplex az Gd^{3+} -kompleksszel összemérhető inertséggel rendelkezik, így a komplexből in vivo körülmények között viszonylag rövid idő alatt tapasztalt Tl-felszabadulás a fémion redukciójának lehet a következménye.



5. ábra. A NOTA, TRAP(CHX)₃, AAZTA és CyAAZTA ligandumok szerkezete.