

Országos Tudományos Diákköri Konferencia



Az OPMMA ligandum Mn(II)-komplexének koordinációs kémiai vizsgálata

Bakos Dóra

Vegyésszmérnök BSc III. évfolyamos hallgató

Témavezetők

Dr. Bunda Szilvia, tudományos munkatárs

Dr. Kálmán Ferenc Krisztián, egyetemi docens

Debreceni Egyetem

Természettudományi és Technológiai Kar

Fizikai Kémiai Tanszék

Debrecen – 2024

A dolgozatban szereplő rövidítések

CT	komputertomográfia
DFT	sűrűségfüggvény-elmélet
MRI	mágneses rezonanciás képalkotás
NMR	mágneses magrezonancia
NSF	nefrogén szisztémás fibrózis
OI	optikai képalkotás
O-piklén	oxatria- <i>za</i> -biciklopentadeca-trién alapvázú makrociklus
OPMMA	O-piklén-mono-malonát származék
PET	pozitron emissziós tomográfia
q	hidratációs fok, a fémionhoz koordinált vízmolekulák száma
r_{MH}	a fémion–H távolsága
SPECT	egyfoton-emissziós komputertomográfia
T_1 és T_2	longitudinális és transzverzális relaxációs idők
TE	echo késleltetési idő
TR	ismétlési idő
UH	ultrahang
τ_m	a fémionhoz koordinált vízmolekulák átlagos tartózkodási ideje
τ_R	rotációs korrelációs idő
τ_S	a fémion elektron spin relaxációs ideje

TARTALOMJEGYZÉK

1.	Bevezetés és célkitűzés	1
2.	Irodalmi áttekintés	3
2.1.	Fémkomplexek az orvosi diagnosztikában	3
2.2.	A mangán koordinációs kémiája	5
2.3.	MRI kontrasztanyagok napjainkban	5
2.4.	A Mn(II)-ion poliamino-polikarboxilát, -polifoszfínát és -polifoszfónát komplexei	6
2.5.	Paramágneses fémionok relaxivitása	8
3.	Kísérleti rész	10
3.1.	Alkalmazott vizsgálati módszerek és felhasznált anyagok	10
3.2.	Ligandumok szintézise	11
3.3.	pH-potenciometria	12
3.4.	Spektrofotometria	13
3.5.	Relaxometria	14
3.6.	NMR-spektroszkópia	14
4.	Eredmények és értékelésük	16
4.1.	Az OPMMA ligandum előállítása	16
4.2.	Egyensúlyi vizsgálatok	16
4.3.	Kinetikai vizsgálatok	19
4.4.	Relaxációs vizsgálatok	21
5.	Összefoglalás	24
6.	Summary	25
	Köszönetnyilvánítás	26
	Irodalomjegyzék	27
	Függelék	31

1. Bevezetés és célkitűzés

A modern képalkotó technológiák fejlődésével az orvosi diagnosztika és terápia is folyamatosan változik. Az orvosi képalkotás egyik nagy előnye, hogy betekintést nyerhetünk az emberi szervezetbe sebészeti beavatkozás nélkül.

A nem invazív technikák alkalmazásában nagy előrelépést jelentett a mágneses rezonanciás képalkotás (MRI) megjelenése.¹ Ezt a módszert az 1980-as évektől alkalmazzák és elterjedése annak tulajdonítható, hogy nagy a felbontó képessége, így lehetőségünk van pontosabb diagnosztikai kórképek felállítására és az élő szervezetekben lejátszódó biológiai folyamatok vizsgálatára. A mágneses rezonanciás képalkotás során erős mágneses térbe helyezik a beteget, aminek hatására a testében lévő vízmolekulák (hidrogén protonok), gerjesztődése és relaxációja eredményezi a kapott jelet. Az MRI-kép kialakulásának alapja az, hogy az egészséges és a kóros szövetek víztartalma és ezáltal a mérhető relaxációs idő is különböző.

A kontrasztosság növelhető és a vizsgálat ideje lerövidíthető kontrasztanyagok alkalmazásával, mivel lecsökkentik a protonok relaxációs idejét. Kontrasztanyagként a paramágneses fémionok alkalmazhatóak, de csak kelátképző ligandumokkal alkotott komplexeik formájában, mivel önmagukban toxikusak. Ilyen paramágneses fémionok például a Gd(III)-, Mn(II)- és Fe(III)-ionok. Az orvos diagnosztikai gyakorlatban jelenleg főként a Gd(III)-komplexeit alkalmazzák.²

A kontrasztanyagok különböző reakciókban vehetnek részt a szervezetbe való bejutást követően, melyek során a fémion felszabadulhat a komplexből és kifejtheti toxikus hatását.³ A Gd(III)-tartalmú kontrasztanyagok egyértelműen kapcsolatba hozhatók például, a csökkent vesefunkcióval rendelkező betegek esetében fellépő betegséggel, a nefrogén szisztémás fibrózissal (NSF).⁴

Az NSF megjelenésének hatására megnőtt az igény a biztonságosabb, biokompatibilis kontrasztanyagok fejlesztése iránt. Erre a célra megfelelőek lehetnek a Mn(II)-, illetve a Fe(III)-ionok komplexei.

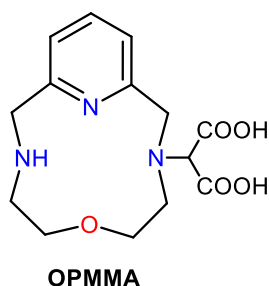
A Mn(II)-ion endogén fémion, bár toxicitása a Gd(III)-ionéval összevethető (0,1-0,3 mmol/kg) mégis nagyobb biztonsággal alkalmazható, hiszen a szervezet rendelkezik a kiürítéséhez szükséges mechanizmusokkal. Mivel nagyobb dózisban alkalmazva sem halmozódik fel a szervezetben biztonságosabban használható.

Az új MRI kontrasztanyagok tervezésekor fontos figyelembe venni tehát a következő tulajdonságokat: termodinamikai, illetve kinetikai stabilitás, fémion szelektivitás, kis toxicitás, szervspecifikusság, illetve a kedvező relaxációs tulajdonságok.

Mivel a Mn(II)-komplexek termodinamikai stabilitása messze alulmúlja az endogén átmenetifém ionokkal (Cu(II); Zn(II); Fe(II) és Fe(III)) kialakuló kelátok stabilitását, ezért egyértelműen a képződő komplexek inertségére kell fektetni a hangsúlyt.

Kutatócsoportom már régóta foglalkozik olyan ligandumok előállításával, melyek kellő stabilitású Mn(II)-komplexeket képeznek. A csoportunk által korábban vizsgált O-piklén (oxatriaza-biciklopentadeka-trién) alapvázat tartalmazó származékok mangán komplexei biztató eredményeket mutattak a hasonló szerkezetű makrociklusok komplexéhez képest.

Mivel a Mn(II)-komplexek kinetikai inertsége növelhető merev szerkezetű ligandumok alkalmazásával, a kutatómunkám célja volt egy új, malonát karral módosított, kellően merev O-piklén származék előállítása, valamint Mn(II)-komplexének koordinációs kémiai vizsgálata (**1. ábra**).



1. ábra Az előállított OPMMA ligandum szerkezete

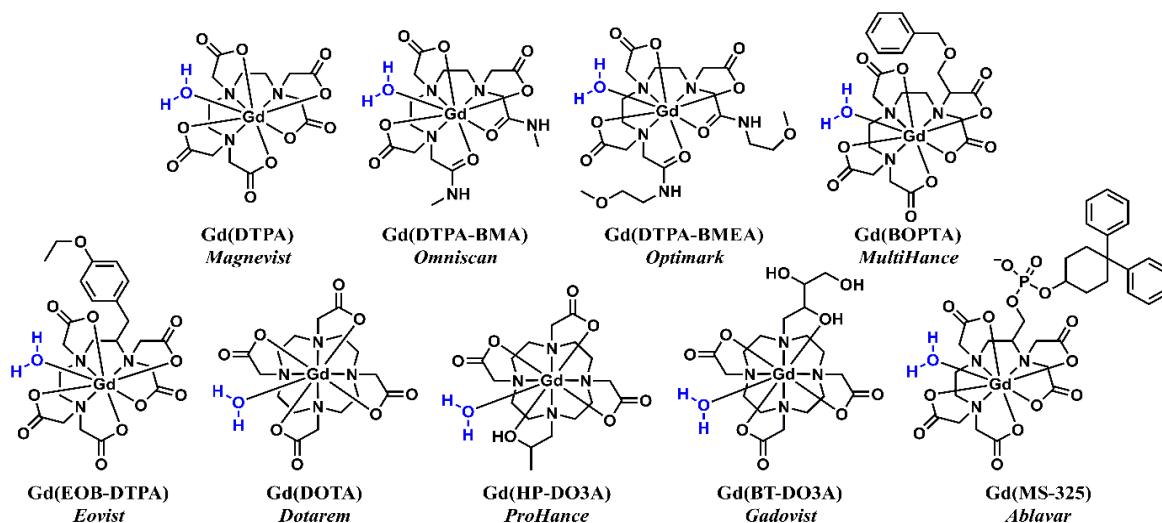
2. Irodalmi áttekintés

2.1. Fémkomplexek az orvosdiagnosztikában

Az orvostudomány évtizedek óta használ fémionokat tartalmazó készítményeket.³ Azonban a tudomány és a technológia fejlődésével számos nem invazív képalkotó eljárást is kifejlesztettek, amelyekkel könnyen juthatunk anatómiai információkhoz az élő szervezetről. Ilyenek például az ultrahang (UH), a komputertomográfia (CT), a mágneses rezonanciás képalkotás (MRI), az optikai képalkotás (OI), a pozitron emissziós tomográfia (PET) és az egyfoton-emissziós komputertomográfia (SPECT).

Egyes képalkotó eljárásokhoz nem szükséges diagnosztikai készítmények alkalmazása, de a gyakorlatban kontrasztanyagok alkalmazásával a képek minősége jelentős mértékben javítható, így biztosítva az egészséges és beteg szövetek megkülönböztethetőségét. A radioaktív sugárzáson alapuló eljárásoknál viszont elengedhetetlen a radioizotópot tartalmazó készítmények alkalmazása. Az orvosi képalkotásban alkalmazott vegyületekben a fémionokat rendszerint szerves ligandumok kötik meg, ezek pedig gyakran bifunkciósak (megkötik a fémiont, valamint targetálhatók).⁵

Az MRI napjaink legnagyobb teljesítőképességű, nem invazív diagnosztikai eljárása. Az eljárást Lauterbur és munkatársai fejlesztették ki, lehetővé téve kétdimenziós kép készítését a szövetekről mágneses tér gradiens alkalmazásával.¹ Vizsgálataik során felfedezték, hogy a szövetek megkülönböztethetősége növelhető paramágneses anyagok alkalmazásával, a bennük lévő vízprotonok eltérő relaxációs tulajdonságai miatt.² Napjainkban az MRI eljárások során főként Gd(III)-komplexeket alkalmaznak, a világon csak kilenc ilyen anyag van forgalomban (2. ábra).



2. ábra A kereskedelmi forgalomban kapható Gd(III)-tartalmú kontrasztanyagok szerkezete

Az egyetlen nem Gd^{3+} -iont tartalmazó kontrasztanyag, ami forgalomba került az a $[Mn(DPDP)]^{4-}$, amit a máj MRI vizsgálatánál alkalmaztak.⁶

Míg a Gd(III)-komplexek alkalmazhatósága a nagy termodinamikai stabilitásukban és az inertségükben rejlik, ezzel szemben a $[Mn(DPDP)]^{4-}$ kinetikai inertsége alacsony, ezáltal könnyebben disszociál és az így felszabaduló Mn^{2+} -ion eredményezi a kontraszt növekedését. Az élő szervezetek rendelkeznek a mangán eltávolításához szükséges mechanizmusokkal, de a nagyobb koncentrációk alkalmazása szintén toxikus lehet (Parkinson-kórhoz hasonló tüneteket okoz).

A kontrasztanyagoknak szigorú követelményeknek kell eleget tenniük, ilyen a jó vízoldhatóság, a nagy kinetikai inertség, a nagy termodinamikai stabilitás, a minimális dózis melletti maximális kontrasztnövelés, kis ozmotikus koncentráció és toxicitás, fontos még a relaxivitás (r_1) is, ami a paramágneses anyag 1 mM-os oldata által eredményezett relaxációs sebesség ($1/T_1$) növekedése a diamágneses közegben mérthez képest.⁷

A kontrasztanyagok fejlesztésének legújabb irányvonala szervspecifikus, illetve az úgynevezett intelligens kontrasztanyagok kutatása. A szervspecifikus kontrasztanyagok alkalmazása jelentősen csökkentené a vizsgálat során bevitt dózist, mivel a jelenleg alkalmazott kontrasztanyagokkal szemben ezen komplexek adott típusú szövetben vagy egy adott szervben dúsulnak. Az intelligens kontrasztanyagok pedig betekintést nyújthatnak a szövetek hőmérsékletének,^{8,9} az oxigén parciális nyomásának,¹⁰ a bennük lévő enzimek aktivitásának,¹¹ a pH-jának,¹² az egyes fémionok (pl.: $Cu(II)$, $Zn(II)$, $Ca(II)$, $Fe(III)$),^{13,14} valamint a szervezetben található kisméretű anionok koncentrációjának alakulására.¹⁵

Fontos kutatási és fejlesztési irányzat még a bevezetésben már említett NSF és hasonló betegségek kiküszöbölésének érdekében előállított biokompatibilis kontrasztanyagok, amelyek olyan fémionokat tartalmaznak, amik nem fejtenek ki káros hatást a szervezetre, alapból is jelen vannak az élő szervezetben, vagy a szervezet már rendelkezik a fémion eltávolításához szükséges mechanizmusokkal.

2.2. A mangán koordinációs kémiája

A mangán a harmadik leggyakoribb átmenetifém, egyetlen természetes izotópja létezik. Vegyületeiben +2-től +7-ig terjedő oxidációs számmal van jelen és ezek általában színesek. A legstabilabb oxidációs állapota a +2-es.

A mangán egy endogén fémion, esszenciális nyomelem. Mn(II) formában 10-20 mg-os mennyiségben megtalálható a felnőtt emberi szervezetben, ahol a lejátszódó biológiai folyamatok kofaktora. A szervezetünkben nem egyenletes az eloszlása, nagyságrendekkel több van jelen a központi idegrendszerben. Legfontosabb biológiai funkciója a fotoszintézisben játszott szerepe.

A Mn(II)-ion nem koordináló ligandumokkal alkotott sóinak tömény vizes oldata, a megjelenő $[\text{Mn}(\text{H}_2\text{O})_6]^{2+}$ aquakomplex miatt halványrózsaszín színű. A $[\text{Mn}(\text{H}_2\text{O})_6]^{2+}$ egyike a nagy spinszámú oktaéderes Mn(II)-komplexeknek, amelyek mágneses momentuma gyakorlatilag megegyezik a csak-spin értékkel (5,92 BM), a nagy spinszámú d^5 elektronkonfigurációval rendelkezik és $d-d$ elektronátmenetei tiltottak. A hard-soft sav-bázis elmélet alapján a Mn(II) a hard karakterű fémionok közé tartozik, azaz kis méretű, nagy töltésű és kis polarizálhatóságú. Lewis-sav karakterű, ezért nagy affinitást mutat az (ugyancsak hard) oxigénatom felé, valamint képes nitrogén donoratomot tartalmazó ligandumokkal is stabil komplexet kialakítani.

A Mn(II)-komplexek kisebb termodinamikai stabilitásúak, mint a 3d átmenetifémek komplexei, mivel a nagy spinszámú Mn(II)-ion esetében a kristálytér stabilizációs energia értéke zérus, továbbá kinetikai inertségük is kicsi.¹⁶

2.3. MRI kontrasztanyagok napjainkban

Ahogy már említettem, a gyakorlatban jelenleg csak Gd(III)-komplexeket alkalmaznak MRI kontrasztanyagként. Elmondható, hogy a Gd(III)-komplexek kinetikai sajátosságai elsősorban a koordináló ligandum tulajdonságaitól függenek.

Általánosan a makrociklusos kelátok (mint például a $\text{Gd}(\text{DOTA})^-$, valamint $\text{Gd}(\text{HP-DO3A})$) stabilitása nagyobb, mint a nyíltláncúaké (például a $\text{Gd}(\text{DTPA})^{2-}$, illetve $\text{Gd}(\text{DTPA-BMA})$). Ez azzal is magyarázható, hogy általánosan a lantanoidák komplexképző hajlama kicsi, így stabilis komplexeket csak többfogú ligandumokkal képeznek.

A komplexek képződési idejükben is különböznek. Míg a nyíltláncú, többfunkciós ligandumok esetében pillanatszerűnek mondható a komplexképződés,¹⁷ a makrociklusos ligandumok komplexképződése sokkal hosszabb időbe, akár hónapokba is telhet a pH-tól függően.¹⁸

Az első Gd(III)-at tartalmazó kontrasztanyag a kisebb kinetikai inertséggel rendelkező Gd(DTPA)²⁻ volt.^{19,20} Ezt követte a már jóval nagyobb kinetikai inertségű Gd(DOTA)⁻.²¹

A kereskedelmi forgalomba, az injekálás során fellépő fájdalom elkerülése végett olyan kontrasztanyagok is kerültek, amelyek töltés nélküliek, például a Gd(HPDO3A), Gd(DO3A-B), Gd(DTPA-BMA), valamint a Gd(DTPA-BMEA).^{22,23}

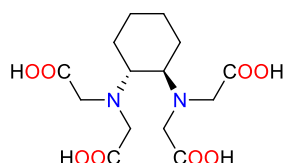
Az elmúlt évek során nagy lett az érdeklődés az úgynevezett biokompatibilis kontrasztanyagok iránt. A Mn(II)-komplexek megfelelő alternatívát nyújtanának a jelenleg alkalmazott Gd(III)-komplexek helyettesítésére. A kutatások során vizsgálják a már alkalmazott ligandumok Mn(II)-komplexeit,^{24,25} valamint új ligandumok fejlesztése is folyik.²⁶

Az irodalmi adatok alapján a Mn(II)-ion nyíltláncú és makrociklusos ligandumokkal alkotott komplexei termodinamikai stabilitása közel azonosak.²⁷ A makrociklusos ligandumokkal és azok származékaival alkotott komplexek kinetikai inertsége megfelelően nagy a gyakorlati alkalmazhatósághoz, viszont ezen komplexek vízprotonokra gyakorolt hatása kicsi, mivel a komplexek belső koordinációs szférájából sok esetben hiányzik a fémionokhoz közvetlenül koordináló vízmolekula.²⁸

A nyíltláncú ligandumokkal alkotott komplexek esetében pont az ellenkezőt tapasztaljuk: jó relaxációs tulajdonságokkal rendelkeznek, de rendkívül alacsony a kinetikai inertségük, ami alkalmatlanná teszi őket az MRI vizsgálatok során történő alkalmazásra.¹²

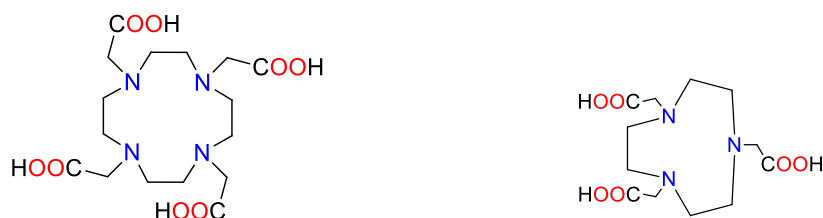
2.4. A Mn(II)-ion poliamino-polikarboxilát, -polifoszfinát és -polifoszfónát komplexei

Az eddig vizsgált nyíltláncú ligandumokkal kialakuló Mn(II)-komplexek közül a [transz-(CDTA)]²⁻-komplex (**3. ábra**) kinetikai inertsége a legnagyobb, felezési ideje pedig ~ 3 perc (pH=5, 10⁻⁵M kicserélő fémionkoncentráció mellett). A többi nyíltláncú Mn(II)-komplexhez viszonyított, nagyobb kinetikai inertség azzal magyarázható, hogy a ligandum két iminodiacetát-csoportját összekötő etilén híd egy ciklohexán gyűrűvel van helyettesítve, ami jelentősen merevíti a ligandum szerkezetét, ezáltal a kialakuló Mn(II)-komplexét is. A komplex belső szférájában található egy vízmolekula, így megfelelő a relaxivitása MRI vizsgálatokban történő alkalmazáshoz. Továbbá, fiziológiás pH-n (pH= 7,4) már körülbelül 12 óras felezési idővel disszociál.²⁹



3. ábra H₄CDTA ligandum szerkezete

A vizsgált makrociklusos Mn(II)-komplexeket közül ki kell emelnünk kettőt: a Mn(NOTA)⁻-t és a Mn(DOTA)-t (**4. ábra**). A két komplex fiziológiás körülmények között számított disszociációs felezési ideje összehasonlítása alapján az a következtetés vonható le, hogy a [Mn(NOTA)]⁻-komplex inertebb, mint Gd(III)-at tartalmazó társa, a [Gd(NOTA)]³⁺. A nagymértékű stabilitás azzal magyarázható, hogy a kisméretű fémion kiválóan illeszkedik a ligandum koordinációs kalitkájába.³¹

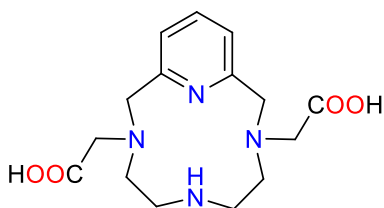


4. ábra H₄DOTA és a H₃NOTA ligandumok szerkezete

A DOTA⁴⁻-ligandum mondhatni „univerzális kelátképző”, mivel termodinamikailag és kinetikailag stabil fémkomplexeket hoz létre két- és háromértékű fémionokkal. A [Gd(DOTA)]⁻ rendkívüli kinetikai inertséggel rendelkezik és sokkal stabilabb, mint a [Mn(DOTA)]²⁻ (**4. ábra**).

Mind a [Mn(NOTA)]⁻, mind a [Mn(DOTA)]²⁻-komplexek belső szférájából hiányzik a koordinált vízmolekula, így a relaxivitásuk nem megfelelő MRI kontrasztanyagként való felhasználáshoz.²⁴

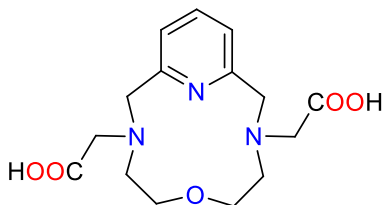
A piklén származékok szintén megfelelően merev ligandumoknak ígérkeztek a mangán komplexek kinetikai inertségének növeléséhez, ezek alapvegyülete (H₂(3,9)-PC2A) (**5. ábra**). A H₂(3,9)-PC2A önmagában is stabil komplexet képez Mn(II)-vel, de kis kinetikai inertsége miatt nem alkalmazható kontrasztanyagként.



5. ábra A (H₂(3,9)-PC2A) ligandum szerkezete

A piklén és származékai egyedi protonálódási szekvenciával rendelkeznek: első lépésben a piridingyűrűvel *transz*-helyzetben lévő nitrogénatom protonálódik, a másodikban pedig az egyik *cisz*-helyzetű nitrogénatom, amivel párhuzamosan az első proton átlép a második *cisz*-helyzetű nitrogénatomra, a jobb töltéseloszlás érdekében.³²

Az általam előállított és vizsgált ligandumhoz legközelebb álló piklén származék, a 2022-ben Dr. Csupász Tibor és munkatársai által előállított ($H_2(3,9-OPC2A)$) (**6. ábra**), amelyben a piklén amincsoportját ($-NH-$) egy éterkötésű oxigén atommal ($-O-$) helyettesítve kapjuk meg az O-piklént. Az így kapott ligandum kevésbé bázisos, mint az alap piklén, mivel a piklén legbázisosabb nitrogénje nem protonálható oxigénre cserélődött.



6. ábra A $H_2(3,9-OPC2A)$ ligandum szerkezete

A Mn(II)-vel képzett komplexének inertsége (ha a k_0 értékét figyelmen kívül hagyjuk) sokkal nagyobb, mint a hasonló szerkezetű ligandumoké, ami a ligandum merevségével magyarázható. A $[Mn(3,9-OPC2A)]$ rendelkezik egy központi fémionhoz kötött vízmolekulával, ami elengedhetetlen a kontrasztanyagként való alkalmazáshoz. A $[Mn(3,9-PC2A)]$ és $[Mn(3,9-OPC2A)]$ relaxivitása közel azonos.⁵

2.5. Paramágneses fémionok relaxivitása

Az MRI vizsgálatok alapja az egészséges és beteg szövetek eltérő víztartalma és a vízprotonok eltérő relaxációs ideje (T_1 és T_2). A vizsgálatok során spin-echo impulzus szekvenciát alkalmaznak. A kapott jel intenzitását a következő egyenlettel írhatjuk le:

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

ahol, $N(H)$ a protonspinek sűrűsége térfogategységben, T_1 és T_2 a spinek longitudinális és transzverzális relaxációs ideje, TE az echo késleltetési idő és TR az ismétlési idő.

A jelintenzitás növekedését a T_1 relaxációs idő csökkenése, a jelintenzitás csökkenését pedig a T_2 relaxációs idő csökkenése eredményezi.

A kontrasztanyagokat két csoportba sorolhatjuk a protonok relaxációs idejére gyakorolt hatásuk alapján: T_1 -kontrasztanyagok és T_2 -kontrasztanyagok. A paramágneses fémionok a T_1 kontrasztanyagok csoportjába tartoznak.

A vízprotonok paramágneses fémionok jelenlétében mért relaxációsebességét ($1/T_{1obs}$, longitudinális relaxáció) a következő egyenlettel adhatjuk meg:

$$\frac{1}{T_{1obs}} = \frac{1}{T_{1d}} + \frac{1}{T_{1p}} = \frac{1}{T_{1d}} + r_1[M^{n+}] \quad (2)$$

ahol, $1/T_{1d}$ a komplex diamágneses, $1/T_{1p}$ a komplex paramágneses hozzájárulása, az r_{1p} pedig a komplex relaxivitása.⁷

A paramágneses fémionok relaxivitása megadható a fémion belső (r_{1p}^{is}) és külső (r_{1p}^{os}) koordinációs szférájában lévő vízmolekulák és a második koordinációs szféra (r_{1p}^{2nd}) vízprotonok relaxáció sebességének összegeként:³³

$$r_{1p}^m = r_{1p}^{is} + r_{1p}^{os} + r_{1p}^{2nd} \quad (3)$$

A fémion belső koordinációs szférájában lévő vízmolekulák száma (q) döntő fontosságú a relaxitás kialakulásában, mivel a fémion a belső szférájában koordinált vízmolekula protonjaival kialakított dipoláris kölcsönhatáson keresztül fejti ki a hatását. Az is igaz azonban, hogy a nagyobb q értékeknél a komplexek termodinamikai stabilitása és inertsége is jelentősen csökkenhet, valamint kis ligandumokkal (CO_3^{2-} , PO_4^{3-} , citrát stb.) is képződhetnek vegyes komplexek. A relaxitásra továbbá hatással van a komplex rotációs korrelációs ideje (τ_R), a fémion elektron spin relaxációs ideje (τ_S) és a fémionhoz koordinált vízmolekulák átlagos tartózkodási ideje (τ_m) ($1/\tau_m = k_{ex}$, vízcseresebesség), valamint a fémion–H távolsága (r_{MH}).³⁴

3. Kísérleti rész

3.1. Alkalmazott vizsgálati módszerek és felhasznált anyagok

Az általunk végzett kísérletek során nagy tisztaságú vegyszereket, reagenseket és oldószereket alkalmaztunk. A szintézisekhez használt vegyszereket a Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA) valamint a Tokyo Chemical Industry cégektől rendeltük.

Az analitikai és preparatív HPLC mérések során alkalmazott oldószereket a VWR HiPerSolv CHROMANORM®-tól szereztük be.

Az O-piklén makrociklus előállításához szükséges mikrohullámú roncsolásokat CEM Microwave Synthesis System (Discover-S #908860) típusú műszerrel hajtottuk végre. A reakciók követésére és a termékek tisztaságának ellenőrzésre Waters 996 PDA detektorral működő Waters Alliance 2690 analitikai HPLC készüléket alkalmaztunk. Az általunk használt kolonna 3 mikronos Phenomenex C18(2) 150×4,6 mm volt. A folyamat során gradiens elúciót, 1mL/perc áramlási sebességet alkalmaztunk.

A tisztítási műveleteket preparatív HPLC-n, YL9110S Quaternary Pump, YL9101S Vacuum Degasse, YL9120 UV/Vis Detector egységekből álló nagynyomású folyadékkromatográfiás műszeren végeztük. A használt oszlop Phenomenex Luna 5 µm C18(2) 100 Å 250×21.2 mm (S/No. H18-268346) volt.

A nagyfelbontású tömegspektrumok felvételét Szabó Dávid Ruben végezte, egy maXis II UHR ESI-QTOF MS Bruker műszerrel, a Debreceni Egyetem Szervetlen és Analitikai Kémia Tanszékének Műszerelemzési Laboratóriumában.

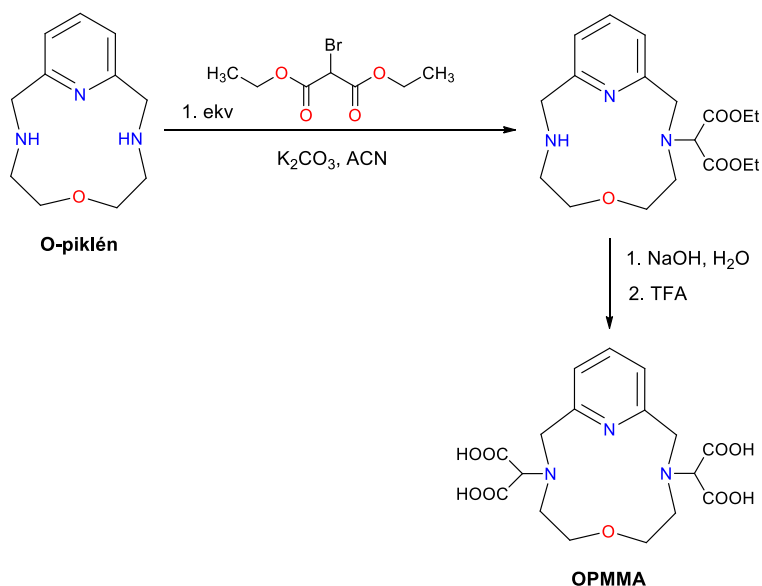
Az NMR mérések során alkalmazott ¹⁷O-tel dúsított vizet (10%) és a 99,9%-os tisztaságú denaturált oldószereket (CDCl₃, D₂O, Acetonitril-d₃) a Fluorochem Ltd és a Cambridge Isotope Laboratories Inc cégektől rendeltük be. Az NMR spektroszkópiás méréseket Bruker Avance II 500 MHz-es, Bruker Avance I 400 MHz-es, valamint Bruker DRX 360 MHz-es spektrométerekkel végeztük.

3.2. Ligandumok szintézise

Az OPMMA típusú ligandumok szintézisének alapjául az O-piklén makrociklus szolgált, melynek előállítását az irodalomban megtalálható recept szerint végeztük.⁵

A makrociklus előállítását követően az O-piklén (100 mg, 0,48 mmol) és dietil-bromomalonát alkilezését (165 μ l, 0,97 mmol) végeztük el (7. ábra). A malonát oldalláncot folyamatosan kis részletekben csepegtettük a makrociklus erősen lúgos oldatához (335 mg, 2,43 mmol K_2CO_3). Az oldallánc hozzáadása után analitikai HPLC-vel követtük az alkilezés mértékét, majd a keletkezett termékeket preparatív HPLC-vel elválasztottuk egymástól.

Ezt követően a megtisztított OPMMA-dietil-észteren lévő észter védőcsoportokat lúgos közegben (5 ekv. NaOH) eltávolítottuk (7. ábra). A reakció teljes lejátszódását analitikai HPLC-vel követtük, valamint tömegspektrometriásan is ellenőriztük. Ezután a reakcióelegy pH-ját trifluorecetsavval beállítottuk majd preparatív HPLC-vel ismét megtisztítottuk.



7. ábra Az OPMMA-dietil-észter és az OPMMA ligandumok előállítása

Az előállított és tisztított (legalább >95%) ligandumok teljes szerkezeti jellemzését 1H - és ^{13}C -NMR, ESI-MS és analitikai HPLC mérések segítségével valósítottuk meg (Függelék: F1. és F2. ábra).

OPMMA-dietil-észter:

Kitermelés: 140 mg, 0,38 mmol, 80 %.

ESI-MS (m/z, pozitív mód): $[M^+H]^+$ számított: 366,2024; $[M^+H]^+$ mért: 366,2023.

1H -NMR (500 MHz, ACN- d_3) δ (ppm): 7,90 (1H, *t*, $J_1=7,6$ Hz, $J_2=7,6$ Hz, aromás), 7,37 (2H, *t*, $J_1=9,1$ Hz, $J_2=9,1$ Hz, aromás), 4,88 (1H, *s*, -CH-), 4,52 (2H, *s*, -CH₂-), 4,44 (2H, *s*, -CH₂-), 4,16 (4H, *m*, -CH₂-), 3,40 (2H, *m*, -CH₂-), 3,31 (4H, *d*, $J_1=7,8$ Hz, -CH₂-), 3,18 (2H, *m*, -CH₂-), 1,17 (6H, *t*, $J=7,1$ Hz, -CH₃).

^{13}C -NMR (125 MHz, ACN- d_3) δ (ppm): 167,5 (2 $\times$ 1C, C=O), 157,3 (1 $\times$ 1C, aromás), 151,2 (1 $\times$ 1C, aromás), 140,6 (1 $\times$ 1C, aromás), 122,4 (2 $\times$ 1C, aromás), 70,8 (1 $\times$ 1C, -CH-), 67,7 (1 $\times$ 1C, -CH₂-), 66,1 (1 $\times$ 1C, -CH₂-), 63,0 (2 $\times$ 1C, -CH₂-), 58,0 (1 $\times$ 1C, -CH₂-), 57,7 (1 $\times$ 1C, -CH₂-), 50,6 (1 $\times$ 1C, -CH₂-), 48,1 (1 $\times$ 1C, -CH₂-), 14,1 (2 $\times$ 1C, -CH₃).

OPMMA:

Kitermelés: 68 mg, 0,22 mmol, 58 %.

ESI-MS (m/z, pozitív mód): $[M+Na]^+$ számított: 332,1217; $[M+Na]^+$ mért: 332,1216.

1H -NMR (500 MHz, D₂O) δ (ppm): 7,82 (1H, *t*, $J_1=7,4$ Hz, $J_2=7,6$ Hz, aromás), 7,32 (2H, *t*, $J_1=6,6$ Hz, $J_2=6,9$ Hz, aromás), 4,30 (2H, *s*, -CH₂-), 4,20 (1H, *s*, -CH-), 4,15 (2H, *s*, -CH₂-), 3,21 (2H, *s*, -CH₂-), 3,10 (4H, *s*, -CH₂-), 2,93 (2H, *s*, -CH₂-).

^{13}C -NMR (125 MHz, D₂O) δ (ppm): 174,1 (2 $\times$ 1C, C=O), 157,0 (2 $\times$ 1C, aromás), 138,6 (1 $\times$ 1C, aromás), 121,4 (1 $\times$ 1C, aromás), 120,9 (1 $\times$ 1C, aromás), 76,5 (1 $\times$ 1C, -CH-), 67,7 (1 $\times$ 1C, -CH₂-), 66,3 (1 $\times$ 1C, -CH₂-), 58,2 (1 $\times$ 1C, -CH₂-), 54,6 (1 $\times$ 1C, -CH₂-), 52,0 (1 $\times$ 1C, -CH₂-), 47,6 (1 $\times$ 1C, -CH₂-).

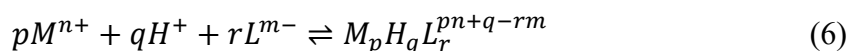
3.3. pH-potenciometria

A komplexek és a különböző bázicitású donoratomokat tartalmazó ligandumok egyensúlyi és komplexképző sajátságainak vizsgálatára, valamint a protonálódási folyamatok tanulmányozására alkalmazható legpontosabb technika a pH-potenciometria. Az oldat H^+ -koncentrációját a különböző protonáltsági fokú ligandumok és a fémionok kölcsönhatása szabja meg. A stabilitási állandók meghatározásához szükséges az őket alkotó ligandumok protonálódási állandóinak ismerete. Ezeket a következőképp definiálhatjuk:



$$K_i^H = \frac{[H_i L]}{[H^+][H_{i-1} L]}, \quad i = 1, 2, \dots \quad (5)$$

A különböző komplexek általános képződési folyamatait és stabilitási szorzatait a következőképpen definiáljuk:



$$\beta_{pqr} = \frac{[M_pH_qL_r^{pn+q-rm}]}{[M^{n+}]^p[H^+]^q[L^{m-}]^r} \quad (7)$$

Az általunk vizsgált rendszerben 1:1 fém: ligandum arányú komplex. A képződő részecskék stabilitási és protonálódási állandóit a következő összefüggésekkel kapjuk meg, amikben az egyszerűség kedvéért a fém és a ligandum töltésének jelölésétől eltekintünk:

$$K_{ML} = \frac{[ML]}{[M][L]} \quad (8)$$

$$K_{MnH-1L} = \frac{[MnL]}{[Mn(OH)][H^+]} \quad (9)$$

A pH-potenciometriát a $2 < \text{pH} < 12$ tartományban alkalmazhatjuk, de bizonyos esetekben, ahol a komplex képződése vagy a ligandum protonálódási folyamatai azt megkövetelik alkalmazhatunk kicsivel nagyobb pH-tartományt ($1,7 < \text{pH} < 12,5$) is. Itt viszont számolni kell az állandók nagyobb hibájával.

PSEQUAD számítógépes program segítségével határoztuk meg a titrálások során kapott adatokból a protonálódási és stabilitási állandókat.³⁵

3.4. Spektrofotometria

Az OPMMA kinetikai vizsgálataihoz UV-látható spektrofotometriát is alkalmaztunk. Az UV és a látható tartományba eső fény kellő energiával rendelkezik ahhoz, hogy gerjesszék a molekulák rezgési és forgási állapotait, valamint a molekulában lévő kötő és nemkötő elektronjait.

A komplexképződés hatására, valamint a komplex fém- vagy ligandumcsere reakciói során a fémion fényelnyelése változik. A szabad fémion mellett, a szabad ligandumnak is lehet fényelnyelése. Célszerű olyan hullámhossz tartományt kiválasztani, ahol csak egy részecskének, például a kialakuló komplexnek legyen abszorbanciája.

A méréseinkhez pszeudo-elsőrendű feltételeket (állandó ionerősséget, hőmérsékletet és pH-t, valamint legalább tízszeres kicserélő fémion koncentrációt) alkalmaztunk. A vizsgálatokat több különböző pH-n is elvégeztük. Kicserélő fémion fölöslege mellett a disszociáció sebességét a következő egyenlettel számolhatjuk:

$$-\frac{d[MnL]_t}{dt} = k_{obs}[MnL]_{tot} \quad (10)$$

ahol a k_{obs} a pszeudo-elsőrendű sebességi állandó. A tot alsóindex a komplex teljes koncentrációját jelöli. Spektrofotometriás módszer esetén k_{obs} értékét az abszorbancia t időpillanatban (A_t) történő mérésével határozzuk meg a következő összefüggés alapján:

$$A_t = (A_r - A_v)e^{(-k_{\text{obs}}t)} + A_v \quad (11)$$

ahol A_r a reaktánsok és A_v a végtermékek abszorbanciája.

Egyes esetekben a komplexképződés vagy disszociáció olyan gyorsan megy végbe, hogy azt UV-látható spektrofotometriát alkalmazva nem tudjuk követni. Ilyenkor stopped-flow technikát alkalmazunk, ami alkalmas gyorsan lejártszódó reakciók vizsgálatára. A módszer használata során, két vagy több reagenst nagy sebességgel, azonos időpillanatban befecskendezzük a fényútban elhelyezett küvetába. Ezután az áramlást hirtelen megállítjuk és a bekövetkező abszorbancia változást detektáljuk.

3.5. Relaxometria

Komplexxképződés folyamán a fémion belső szférájában található vízmolekulák száma csökkeni kezd, ami növekedést eredményez a vízprotonok relaxációs idejében, azaz a relaxáció sebessége csökkeni fog. Pontosan az ellenkezője történik disszociációs reakciók esetén. Az egyensúlyi modell igazolása céljából vizsgáltuk a Mn(II)-iont és OPMMA ligandumot 1:1 arányban ($c=1$ mM) tartalmazó oldat relaxivitásának változását a pH-függvényében (**7. ábra**). A vizsgálatot 25 °C-on, 60 MHz térerősségen a T_2 relaxációs idők mérésével valósítottuk meg. Mindemellett meghatároztuk a Mn(II)-komplex relaxitás értékeit is ($r_{1,2}$) 20 és 60 MHz-en 25 és 37 °C-on. A kísérletekben 10%-os ligandum felesleget alkalmaztunk a 100%-os komplexképződés biztosítására.

3.6. NMR spektroszkópia (^1H -NMR, ^{13}C -NMR, ^{17}O -NMR)

Az NMR spektroszkópia az elektromágneses sugárzások abszorpciójának mérésén alapul, az atommagok körüli mágneses terek megfigyelésére szolgál. Vegyületek azonosítása mellett részletes információkat ad a molekulák szerkezetéről, dinamikájáról, reakcióállapotáról, és kémiai környezetéről.

A OPMMA ligandum tisztaságának ellenőrzésére általánosan az ^1H -NMR-t és a ^{13}C -NMR-t alkalmaztuk, amely technikák segítségével meghatározható a protonok és a szénatomok száma. A paramágneses fémkomplexek relaxivitását számos paraméter befolyásolja, amelyek közül az egyik a komplexek belső koordinációs szférájában, a fémionhoz közvetlenül kötődő vízmolekula cseresebessége (k_{ex}^{298}). A k_{ex} értékének meghatározására alkalmas technika az ^{17}O -NMR, ahol a komplexek relaxáció sebesség növelő hatása H_2^{17}O jelenlétében NMR

módszerrel tanulmányozható. A fémion hatással van ^{17}O mag relaxációs idejére és kémiai eltolódására is. A Mn(II)-komplexet tartalmazó oldatokban különböző hőmérsékleten mért ^{17}O longitudinális és transzverzális relaxációs sebességekből ($1/T_1$, $1/T_2$), valamint a ^1H jelek kémiai eltolódásából ($\Delta\omega$) számíthatók komplexet jellemző kinetikai és aktiválási paraméterek.

A mért relaxációsebességekből és jeleltolódásából, valamint a komplexet nem tartalmazó, diamágneses minta azonos értékeiből a Swift-Connick elmélet³⁶ alapján lehet kiszámítani a redukált relaxációsebességeket ($1/T_{1r}$, $1/T_{2r}$) és kémiai eltolódást ($\Delta\omega_r$). Referenciaként általában ^{17}O -ban dúsított HClO_4 -oldatot használnak ($\text{pH}=3,0$). A redukált relaxációsebesség és kémiai eltolódás a következő egyenletekkel adható meg:

$$\frac{1}{T_{2r}} = \frac{1}{P_m} \left[\frac{1}{T_2} - \frac{1}{T_{2A}} \right] = \frac{1}{\tau_m} \frac{T_{2m}^{-2} + \tau_m^{-1} T_{2m}^{-1} + \Delta\omega_m^2}{(\tau_m^{-1} + T_{2m}^{-1})^2 + \Delta\omega_m^2} \quad (12)$$

$$\Delta\omega_m = \frac{g_L \mu_B S(S+1) B A_0}{3k_B T \hbar} \quad (13)$$

ahol a $1/T_{2m}$ a belső szférás vízmolekula transzverzális relaxációsebessége, $\Delta\omega_m$ a kémiai eltolódás különbség, P_m a belsőszférás vízmolekula(ák) móltörtje és τ_m a koordinált vízmolekula átlagos élettartama. $\Delta\omega_m$ értékét a hiperfinom csatolási állandó, $A_0/\hbar$, befolyásolja (B: térerő, S: elektron spin, g_L : izotóp Landé g-faktor és μ_B Bohr magneton).

A ^{17}O mag transzverzális relaxációsebességét ($1/T_{2m}$) a skaláris hozzájárulás ($1/T_{2sc}$) határozza meg, ahol az $1/\tau_{s1}$ a vízcseresebesség ($k_{ex}=1/\tau_m$) és az elektron-spin relaxációsebesség ($1/T_{1e}$) összege:

$$\frac{1}{T_{2m}} \cong \frac{1}{T_{2sc}} = \frac{S(S+1)}{3} \left(\frac{A_0}{\hbar} \right)^2 \tau_s \quad \frac{1}{\tau_s} = \frac{1}{\tau_m} + \frac{1}{T_{1e}} \quad (14)$$

A k_{ex} hőmérsékletfüggése az Eyring egyenlettel adható meg:

$$\frac{1}{\tau_m} = k_{ex} = \frac{k_B T}{h} \exp \left\{ \frac{\Delta S^\ddagger}{R} - \frac{\Delta H^\ddagger}{RT} \right\} = \frac{k_{ex}^{298} T}{298.15} \exp \left\{ \frac{\Delta H^\ddagger}{R} \left(\frac{1}{298.15} - \frac{1}{T} \right) \right\} \quad (15)$$

ahol $\Delta S^\ddagger$ és $\Delta H^\ddagger$ a cserefolyamat aktiválási entrópiája és entalpiája, valamint a k_{ex}^{298} , a vízcseresebesség 298,15 K hőmérsékleten. Az illesztés során az $1/T_{1e}$ értékére exponenciális hőmérséklet függést feltételeztünk:

$$\frac{1}{T_{1e}} = \frac{1}{T_{1e}^{298}} \exp \left\{ \frac{E_p}{R} \left(\frac{1}{T} - \frac{1}{298.15} \right) \right\} \quad (16)$$

A számítások során a q értékét 1-re rögzítettük a ligandumban jelenlevő donoratomok számára és a komplex relaxivitására alapozva.

A vizsgált komplex oldat 6 mM-os volt, amelynek H_2^{17}O tartalmát 1%-ra dúsítottuk.

4. Eredmények és értékelésük

4.1. Az OPMMA ligandum előállítása

O-piklén és dietil-bromomalonát reakciójával alkilezést végeztük és az így kapott terméket preparatív HPLC-vel megtisztítottuk. Az elválasztott terméken található védőcsoportokat pedig lúgos közegben eltávolítottuk (**7. ábra**).

A megtisztított vegyületek szerkezeti jellemzését ^1H - és ^{13}C -NMR, ESI-MS, analitikai HPLC-s mérésekkel valósítottuk meg.

4.2. Egyensúlyi vizsgálatok

A Mn(II)-ionnal kialakuló komplexek stabilitási állandója mindig kisebb, mint az azonos ligandummal képződő Zn(II)- vagy Cu(II)-komplexeké, amit a Mn(II)-kelátoknál hiányzó kristálytér stabilizációs energia okoz.

Ebből kifolyólag a Mn(II)-komplexek esetében, még akkor is, ha alkalmazásuk biztonságosabb, mint a Gd(III)-komplexeké, az inertségre helyeződik a hangsúly. Ettől függetlenül, a Mn(II)-kelátok stabilitási állandójának meghatározása fontos, hiszen így tudjuk megmondani, hogy az alkalmazás körülményei között a komplex képződik-e 100%-ban vagy sem.

Az egyensúlyi viszonyok részletes tanulmányozását mindig a ligandum protonálódási állandóinak meghatározásával kezdjük, egyrészt azért, mert az alkalmazott pH-potenciometriás módszerrel így a ligandum koncentrációja is meghatározható, másrészt a komplexek egyensúlyi állandójának számításához a bázicitás ismerete elengedhetetlen.

Így tehát, első lépésként az OPMMA ligandum protonálódási állandóit határoztuk meg, majd azok ismeretében a kialakuló Mn(II)-komplex stabilitási állandójának meghatározására végeztünk méréseket és számítottuk azt a PSEQUAD program segítségével.³⁵

A kapott pK ($\log K$) értékeket, valamint az összehasonlítási alapul szolgáló O-piklén és 3,9-OPC2A ligandumok pK értékeit, valamint a Mn(II)-komplexek stabilitási állandóit az **1. táblázat** tartalmazza.

A kialakuló komplexek stabilitását elsősorban a ligandum bázicitása ($\Sigma \log K_i^H$), továbbá a donoratomok minősége és elhelyezkedése határozza meg. A ligandum bázicitásának ismerete ezért információt nyújthat annak fémkötő képességéről, lehetőséget biztosítva a képződő fémkomplexek stabilitási állandóinak becslésére.

1. táblázat: Az OPMMA, az 3,9-OPC2A és az O-piklén ligandumok és komplexeik egyensúlyi paramétereit (25 °C, 0,15 M NaCl)

	OPMMA	3,9-OPC2A^a	O-piklén
logK₁	9,17(5)	7,73	9,17(4)
logK₂	8,19(5)	7,66	7,79(4)
logK₃	3,26(7)	2,13	
logK₄	1,29(9)	–	
ΣlogK₂^{H b}	17,36	15,39	16,96
logK_{MnL}	10,07(5)	13,03	–
logK_{MnHL}	–	2,40	–
logK_{MnH-1L}	11,00(6)	–	–
pMn	6,27	8,69	–

^a, Ref ⁵, ^b, logK₁ + logK₂; ^c, pH=7,4; c_L=c_M=0,01 mmol/dm³

Ugyanakkor makrociklusos komplexek esetében a leginkább célravezető módszer, ha a makrociklusban található donoratomok protonálódási állandóit (ΣlogK₂^H) összegezzük és hasonlítjuk össze, hiszen ezek gyakorolják a legnagyobb hatást az úgynevezett belsősférás (in cage) komplex kialakulására, amikor a fémion már a makrociklus és a kar(ok) donoratomjai által kialakított koordinációs kalitkában helyezkedik el.

A bázicitás értékeit összevetve elmondható, hogy a legnagyobb bázicitással az OPMMA ligandum rendelkezik, amely érték csak kicsivel nagyobb a karokkal nem rendelkező O-piklén alapvázénál, majd ezt követi két nagyságrendnyi különbséggel az 3,9-OPC2A ligandum bázicitása. Az OPMMA és O-piklén ligandumok első protonálódási állandója megegyezik, míg az 3,9-OPC2A ligandumé több mint egy nagyságrenddel kisebb. Ez arra enged következtetni, hogy ez a protonálódási folyamat egy szabad, nem szubsztituált N-donoratomhoz rendelhető.

A logK₂ értékek hasonlóak mind a három ligandum esetében és különbségük kevesebb, mint egy nagyságrend. A nitrogének szubsztituáltságától függetlenül, a második proton belépése a makrociklusos gyűrűre mindenképpen elektrosztatikus taszítást idéz elő a protonok között, ami magyarázat lehet a hasonló értékekre. Továbbá az oldalláncok és a makrociklus donoratomjai között lehetőség van H-kötések kialakulására is, amelyek erőssége nagyban függ a ligandum szerkezetétől.

Bár az OPMMA ligandum protonálódási szekvenciáját nem vizsgáltuk, ugyanakkor eltérően a PCTA származékoktól, ahol a protonálódási folyamat a piridin egységgel szemben elhelyezkedő, úgynevezett *transz*-N-en kezdődik, itt erre nincs lehetőség a N – O csere miatt, tehát a protonálódási folyamatok mindenképpen a *cisz*-N-eken játszódnak le.³²

Mivel az OPMMA ligandum $\Sigma \log K_2^H$ értéke két nagyságrenddel nagyobb, mint az 3,9-OPC2A ligandumé, azt várnánk, hogy a kialakuló Mn(II)-komplex stabilitási állandó értéke is nagyobb lesz, hiszen az amino-polikarboxilát típusú vegyületek esetében általában minél nagyobb a bázicitás, annál nagyobb a stabilitási állandó értéke is. Ugyanakkor, ahogy az az **1. táblázatban** is látható az [Mn(OPMMA)] stabilitása 3 nagyságrenddel kisebb az [Mn(3,9-OPC2A)]-komplex stabilitásánál, ami egyértelműen a szerkezetbeli különbséggel magyarázható azonos donoratom szám mellett.

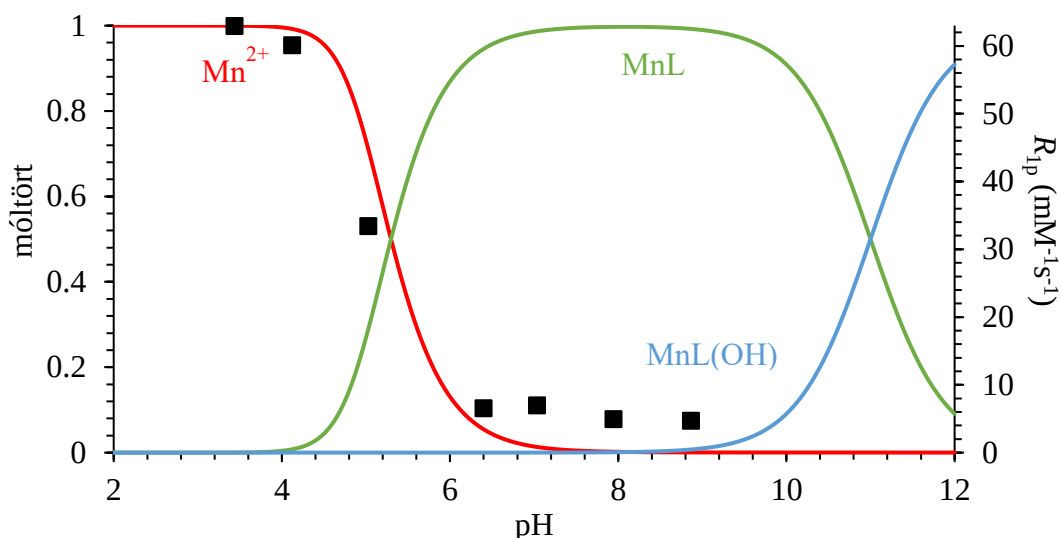
Úgy tűnik, hogy az OPMMA ligandum esetében a H^+ -ionok eredményesebben versengenek a donoratomokért a fémionnal. Az [Mn(OPMMA)]-komplex esetében megfigyeltük a koordinálódó vízmolekula deprotonálódását is, amelynek pK-értéke is az **1. táblázatban** látható.

A Mn(II)-komplexek stabilitásának jobb összehasonlítása érdekében kiszámítottuk a komplexek úgynevezett pMn-értékeit ($pMn = -\log[Mn(II)]_{szabad}$, pH=7,4, c = 0,01 mM) is, amely érték egyfajta látszólagos stabilitásnak is tekinthető, de mindenképpen alkalmas a komplexek stabilitásának összevetésére. Ha megnézzük a pMn-értékeket azt látjuk, hogy míg a [Mn(3,9-OPC2A)] esetében a komplexképződés gyakorlatilag 100%-os az adott körülmények között, addig az [Mn(OPMMA)]-komplex oldatában körülbelül 5% Mn(II) komplexátlan marad.

Ez az eredmény nemcsak azért fontos, hogy információt nyerjünk a részecskeeloszlásról, de azért is, hiszen a további vizsgálatok esetében úgy kell kialakítani a kísérleti körülményeket (például ligandum felesleg alkalmazása), hogy a szabad Mn(II) ne zavarja a méréseket.

Az eredmények igazolására úgynevezett pH-relaxivitás titrálást is végeztünk, amelyet az eloszlási diagrammal együtt a **8. ábrán** mutatunk be.

Az a **8. ábrán** jól látható, hogy a rendszer relaxivitása folyamatosan csökken, a komplexképződés előrehaladásával, és ez a folyamat folytatódik a hidroxó-komplex kialakulásával is. A titrált minta esetében hosszabb állást követően 12-es pH-n a Mn(II) oxidációját, barna csapadék megjelenését figyeltük meg az oldatban.



8. ábra A $[Mn(OPMMA)]$ -komplexre számolt koncentráció-eloszlási görbe és a pH-függvényében mért relaxivitás értékek (R_{1p}) 1mM Mn(II) koncentrációra vonatkoztatva ($[Mn(II)]:[L]=1:1$)

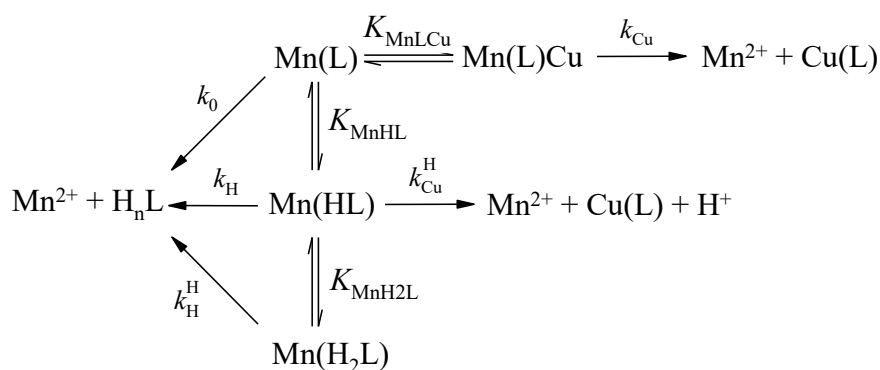
4.3. Kinetikai vizsgálatok

Ahogy azt már korábban említettük a Mn(II)-komplexek esetében fontosabb az inertség nagysága, mint maga a termodinamikai stabilitás (így tartva egyben a komplexet, míg az a szervezetben tartózkodik). Az is igaz, hogy a Gd(III)-komplexekkel ellentétben a Mn(II)-ion komplexeinél kisebb inertség is elegendő lehet azok *in vivo* felhasználásához, a mangán biogén jellegének köszönhetően.

Mn(II)-komplexek inertségének vizsgálatára elfogadott a P. Caravan és munkatársai által kifejlesztett módszer,³⁷ ahol T_2 relaxációs idő mérésével követjük egy 1 mM-os koncentrációjú komplex oldatban az ágens disszociációját, pH = 6-os értéken, 37 °C-on és 25 mM Zn(II) kicserélő fémion jelenlétében.

Mi is megpróbálkoztunk ezzel a módszerrel, de a komplex disszociációja túl gyorsnak bizonyult a konvencionális technikákhoz. Az inertség jellemzésére ezért stopped-flow módszert alkalmaztunk, ahol a kicserélő fémion Cu(II) volt nagy feleslegben ($\times 25$). A reakciót a képződő Cu(II)-komplex abszorbanciájának mérésével követtük, különböző pH-értékeknél, a pH 3,9–5,0 tartományban.

A Cu(II)-ionnal lejátszódó reakciók esetében a H^+ -ion koncentráció növekedésével telítési görbét kaptunk, amely egy protonált köztiterméken keresztül lejátszódó reakciútart feltételez. A következő ábrán egy általános sémát mutatunk be a Mn(II)-komplexek disszociációját jellemző reakcióutakkal (**9. ábra**).



9. ábra Lehetséges reakció utak a Mn(II)-komplexek disszociációjában

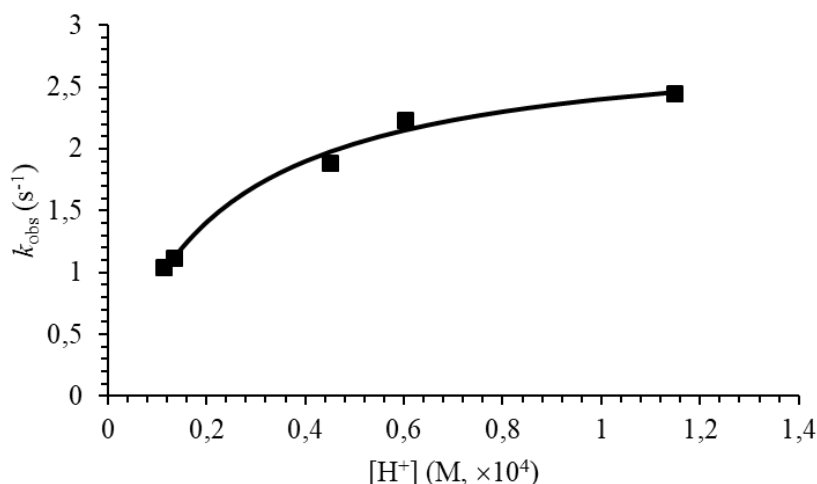
A k_0 , k_H , k_H^H , k_{Cu} és k_{Cu}^H sebességi állandók a komplex spontán, proton-katalizált, fém-katalizált és proton-fém-katalizált (amikor a kicserélő fémion a protonált komplexen támad) reakcióútjait jelölik. A K_{MnHL} , $K_{\text{MnH}_2\text{L}}$ and K_{MnLCu} a protonált és kétmagvú köztitermék komplexek stabilitási állandói.

Figyelembe véve az egyes reakcióutakat és a képződő köztitermékek stabilitási állandóit, a pszeudo-elsőrendű sebességi állandó a következőképpen adható meg:

$$k_{\text{obs}} = \frac{k_0 + k_1[\text{H}^+] + k_2[\text{H}^+]^2 + k_3[\text{Mn}^{n+}] + k_4[\text{Cu}^{2+}][\text{H}^+]}{1 + K_{\text{MnHL}}[\text{H}^+] + K_{\text{MnHL}}K_{\text{MnH}_2\text{L}}[\text{H}^+]^2 + K_{\text{MnLCu}}[\text{Cu}^{2+}]} \quad (17)$$

, ahol $k_1 = k_H \times K_{\text{MnHL}}$, $k_2 = k_H^H \times K_{\text{MnHL}} \times K_{\text{MnH}_2\text{L}}$, $k_3 = k_{\text{MCu}} \times K_{\text{MnLCu}}$, $k_4 = k_{\text{Cu}}^H \times K_{\text{MnHL}}$, $K_{\text{MnHL}} = [\text{Mn}(\text{HL})]/[\text{Mn}(\text{L})][\text{H}^+]$, $K_{\text{MnH}_2\text{L}} = [\text{Mn}(\text{H}_2\text{L})]/[\text{Mn}(\text{HL})][\text{H}^+]$, $K_{\text{MnLCu}} = [\text{Mn}(\text{L})\text{MCu}]/[\text{Mn}(\text{L})][\text{Cu}(\text{II})]$

A kapott primer (idő-abszorbancia) adatokból kiszámítottuk az egyes pH-kon lejátszódó reakciók pszeudo-elsőrendű állandóit (k_{obs} , **10. ábra**) a Scientist® (Micromath) program alkalmazásával.



10. ábra A [Mn(OPMMA)-komplex disszociációjának k_{obs} értékei a H^+ -koncentráció függvényében ($\times 25 \text{ Cu(II)}$ -felesleg, 25°C , $0,15 \text{ M NaCl}$)

Korábbi tapasztalatok alapján²⁸, azt mondhatjuk, hogy a makrociklusos fémkomplexek disszociációjában a kicserélő fémion támadásával lejátszódó reakcióutaknak többnyire nincs szerepe, így azt külön nem is vizsgáltuk. Az illesztések során az egyenletet tovább tudtuk egyszerűsíteni, mivel sem spontán disszociációt, sem négyzetesen H^+ -ion függést nem találtunk, így az általános egyenlet a 18. egyenletre egyszerűsödött.

$$k_{obs} = \frac{k_1[H^+]}{1 + K_{MnHL}[H^+]} \quad (18)$$

A kapott k_{obs} értékeket az 18. egyenletre illesztve kaptuk a protonkatalizált reakcióutat jellemző sebességi állandót, $k_1 = 1,4(1) \times 10^5 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$, és a köztitermék protonálódási állandóját, $\log K^H = 4,7(1)$. Ezeket az adatokat felhasználva kiszámítottuk a reakció felezési idejét ($t_{1/2} = \ln 2 / k_{obs}$) 7,4-es pH-ra, ami mindössze 2,12 percnak adódott, ami nagyságrendekkel kisebb, mint a $[\text{Mn}(3,9\text{-OPC2A})]$ -komplexre kapott 21,9 órás érték.⁶ Ez egyben azt is jelenti, hogy a $[\text{Mn}(\text{OPMMA})]$ -komplex nem alkalmas *in vivo* felhasználásra, hiszen már a vizsgálat ideje alatt teljesen disszociálhat.

4.4. Relaxációs vizsgálatok

Az MRI kontrasztanyagok egyik fontos tulajdonsága azok relaxivitása ($r_{1,2p} \text{ (mM}^{-1}\text{s}^{-1})$), azaz a relaxáció sebességét növelő hatásuk. A kontrasztanyagnak szánt komplexeknél azért fontos a nagy relaxitás, hogy az esetleges későbbi alkalmazás során minél kisebb dózis mellett, minél jobb kontrasztnövelő hatást érjünk el.

Ezért vizsgáltuk az OPMMA ligandum Mn(II)-komplexének relaxációs tulajdonságait is, melyet a komplex relaxitásának mérésével valósítottunk meg. Különböző térerőkön (20 és 60 MHz), valamint különböző hőmérsékleteken (25 és 37 °C) vizsgáltuk a komplex relaxáció növelő hatását. A mérés során kapott adatokat a **2. táblázat** tartalmazza.

2. táblázat: A vizsgált OPMMA és az OPC2A ligandumok Mn(II)-komplexeinek relaxitás értékei (0,15 M NaCl, pH=7,4)

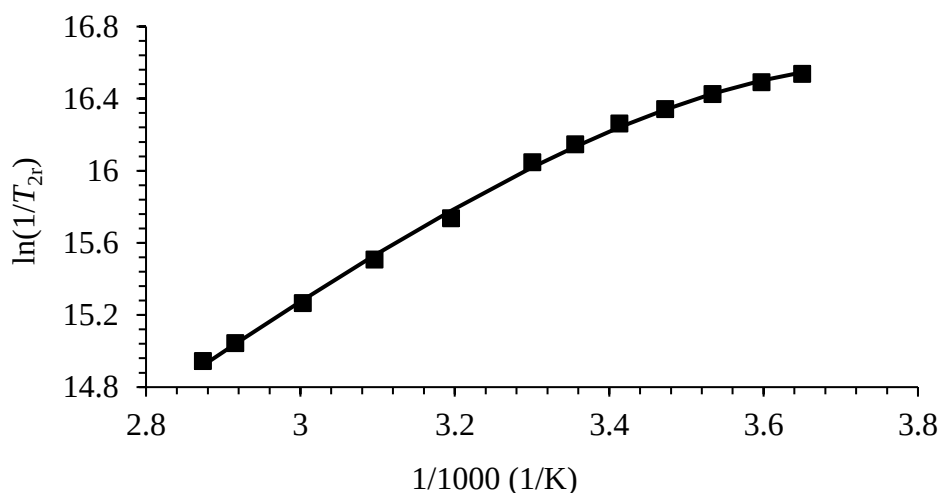
	(mM ⁻¹ s ⁻¹)	[Mn(OPMMA)] (25/37 °C)	[Mn(OPC2A)] ^a (25/37 °C)
20 MHz	r_{1p}	3,48/2,84	3,13/2,54
	r_{2p}	5,85/4,70	5,15/4,17
60 MHz	r_{1p}	2,91/2,19	2,72/2,06
	r_{2p}	8,06/5,27	9,90/7,37

^a, Ref.⁵

A mért adatok alapján elmondható, hogy a $[\text{Mn}(\text{OPMMA})]$ -komplex relaxivitásának értékei valamivel nagyobbak a $[\text{Mn}(\text{OPC2A})]$ értékeinél, bár a különbség nem nevezhető jelentősnek, ami a koordinációban résztvevő donoratomok azonos minőségével és a komplexek hasonló szerkezetével magyarázható.

A relaxitás értékek alapján elmondhatjuk, hogy a komplexek belső koordinációs szférájában található legalább egy vízmolekula, ami közvetlenül a fémionhoz koordinálódik, valamint a hőmérséklet emelésével csökkenő relaxitásból az is látszik, hogy a molekula rotációja sebességének (τ_r) meghatározó szerepe van a komplex relaxitásának kialakításában, hiszen a lassuló rotáció jelentősebb relaxitás növekedést idézne elő.¹¹

A paramágneses fémkomplexek relaxitását számos fizikai-kémiai paraméter befolyásolja, amelyek közül az egyik legfontosabb a belsőszférás vízmolekula cseresebessége. Éppen ezért ^{17}O -NMR-es vizsgálatokat végeztünk, hogy meghatározzuk a cseresebesség mértékét (**11. ábra**).



11. ábra A $[\text{Mn}(\text{OPMMA})]$ -komplex redukált ^{17}O transzverzális relaxáció sebességének hőmérsékletfüggése. A folytonos vonal a mért értékek illesztését mutatja.

Az eredmények azt mutatják, hogy az $\ln(1/T_{2r})$ értékek a gyors csere tartományába esnek. Az illesztés során kapott állandókat a **3. táblázatban** tüntettük fel a Mn(II) ion OPC2A ligandummal alkotott komplexére vonatkozóakkal egyetemben.

A 0 és 75 °C között gyűjtött mérési adatokból megállapítható, hogy magasabb hőmérsékleten már egyértelműen a vízcseresebesség dominál (75 °C-on 93%-os hozzájárulás) az elektronspin relaxációval szemben, így annak meghatározása kis hibával lehetséges.

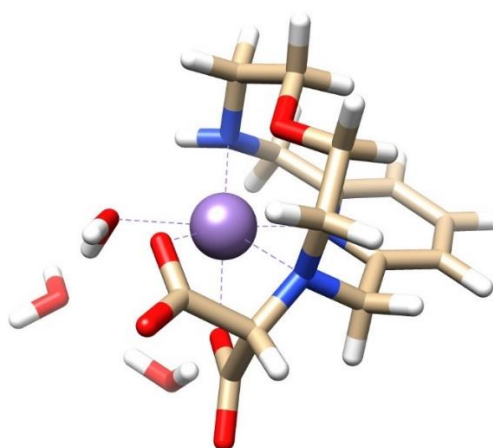
3. táblázat: A $[Mn(OPMMA)]$ - és $[Mn(OPC2A)]$ -komplexek ^{17}O -NMR méréseinek illesztése során kapott paraméterek.

Paraméter	$[Mn(OPMMA)]$	$[Mn(OPC2A)]^b$
$k_{ex}^{298} / 10^7 \text{ s}^{-1}$	$22,0 \pm 0,1$	5,3
$\Delta H^\ddagger / \text{kJ mol}^{-1}$	$23,1 \pm 0,1$	28,5
$A_0/h (10^6 \text{ rad/s}^2)^a$	33	33
$1/T_{1e}^{298} (10^7 \text{ s}^{-1})$	$8,1 \pm 0,6$	–
q^a	1	1

^a rögzítve a számolás során; ^b Ref: ⁵

Ahogy az a **3. táblázat** adataiból is látszik a $[Mn(OPMMA)]$ -komplexre kapott k_{ex} körülbelül négyszerese az $[Mn(OPC2A)]$ -ra meghatározott értéknek, ami figyelembe véve a két komplex szerkezetbeli különbségét, a $[Mn(OPMMA)]$ -komplex aszimmetrikus szerkezetéből adódó szterikus zsúfoltságot (amely gyorsítja a koordinált vízmolekula cseréjét), elképzelhetőnek tűnik. Mn(II)-komplexek esetében a gyorsabb vízcseré általában kisebb relaxivitás értékeket eredményez, így a két komplexre kapott nagyon hasonló relaxivitás értékek alapján további vizsgálatokat tervezünk (NMRD), annak kiderítésére, hogy azok rotációs-korrelációs ideje mennyire tér el egymástól.

Habár a relaxivitás értékek alapján egyértelmű, hogy a $[Mn(OPMMA)]$ -komplex belső koordinációs szférájában található vízmolekula, ennek megerősítésére DFT számításokat is végeztünk együttműködésben Dr. Lihi Norbert egyetemi docenssel. A számított szerkezetet a **12. ábrán** mutatjuk be, ahol jól látszik a koordinált vízmolekula jelenléte, amit a kapott Mn-O távolság 2,35 Å értéke is megerősít.



12. ábra Az $[Mn(OPMMA)]$ -komplex DFT optimált szerkezete (aug-cc-pVTZ (Mn), def2-TZVP (H,O,N,C), PCM oldószermodell).

5. Összefoglalás

A kutatásom során előállítottam egy merev szerkezetű O-piklén származékot, az OPMMA-t, valamint elvégeztem a Mn(II)-komplexének egyensúlyi, kinetikai és relaxációs vizsgálatait.

Az egyensúlyi vizsgálatokat a ligandum protonálódási állandóinak meghatározásával kezdtük, majd azok ismeretében a kialakuló Mn(II)-komplex stabilitási állandóját is meghatároztuk. Az OPMMA ligandum bázicitása ($\Sigma \log K_2^H$) csak kicsivel nagyobb az O-piklén alapvázénál, és két nagyságrenddel nagyobb, mint az 3,9-OPC2A ligandumé. Az OPMMA és O-piklén ligandumok első protonálódási állandója megegyezik, míg az 3,9-OPC2A ligandumé több mint egy nagyságrenddel kisebb. A $\log K_2$ értékek hasonlóak mind a három ligandum esetében és különbségük kevesebb, mint egy nagyságrend. Az [Mn(OPMMA)] stabilitása 3 nagyságrenddel kisebb az [Mn(3,9-OPC2A)]-komplex stabilitásánál, ami azonos donoratom szám mellett a szerkezetbeli különbséggel magyarázható. Az OPMMA ligandum esetében a H^+ -ionok eredményesebben versengenek a donoratomokért a fémionnal. Az [Mn(OPMMA)]-komplex esetében megfigyeltük a koordinálódó vízmolekula deprotonálódását is.

A kinetikai vizsgálatok során a reakciók gyorsasága miatt stopped-flow módszert alkalmaztunk. A kapott adatokat felhasználva kiszámítottuk a reakció felezési idejét ($t_{1/2} = \ln 2 / k_{obs}$) 7,4-es pH-ra, ami mindössze 2,12 percnél adódott, ami sajnos nagyságrendekkel kisebb, mint a [Mn(3,9-OPC2A)]-komplexre kapott 21,9 órás érték. Ebből az következik, hogy a [Mn(OPMMA)]-komplex nem alkalmas *in vivo* felhasználásra, hiszen már a vizsgálat ideje alatt teljesen disszociálhat.

Továbbá vizsgáltuk az OPMMA ligandum Mn(II)-komplexének relaxációs tulajdonságait is. A [Mn(OPMMA)]-komplex relaxivitásának értékei valamivel nagyobbak a [Mn(OPC2A)] értékeinél, bár a különbség nem nevezhető jelentősnek. A relaxitás értékek alapján elmondhatjuk, hogy a komplexek belső koordinációs szférájában található legalább egy vízmolekula, ami közvetlenül a fémionhoz koordinálódik, ennek megerősítésére DFT számításokat is végeztünk. Valamint a hőmérséklet emelésével csökkenő relaxivitásból az is látszik, hogy a molekula rotációja sebességének (τ_r) meghatározó szerepe van a komplex relaxivitásának kialakításában. ^{17}O -NMR-es vizsgálatokat végeztünk, hogy meghatározzuk a vízcsera sebesség mértékét. A [Mn(OPMMA)]-komplexre kapott k_{ex} körülbelül négyszerese az [Mn(OPC2A)]-ra meghatározott értéknek, ami figyelembe véve a két komplex szerkezetbeli különbségét, a [Mn(OPMMA)]-komplex aszimmetrikus szerkezetéből adódó sztérikus zsúfoltságot, elképzelhetőnek tűnik.

6. Summary

During my research, I have synthesized a rigid O-pylen derivative ligand, the OPMMA, and studied the equilibrium, kinetic, and relaxation properties of its Mn(II) complex.

Our investigation was started with the equilibrium studies by determining the protonation constants of the ligand, and the stability constant of the Mn(II) complex. The basicity of the OPMMA ligand ($\Sigma \log K_2^H$) is slightly higher than that of O-pylen, and two orders of magnitude higher than that was found for the 3,9-OPC2A. The first protonation constants of OPMMA and O-pylen ligands are identical, while that of 3,9-OPC2A ligand is more than an order of magnitude smaller. The $\log K_2$ values are similar for the ligands, the difference is less than one order of magnitude. Surprisingly, the value of the stability constant of [Mn(OPMMA)] is lower than that of [Mn(3,9-OPC2A)] complex, in spite of the higher basicity, which phenomenon can be explained by the structural differences. At higher pH values, the deprotonation of the coordinated water molecule was also observed.

Because of the fast decomplexation reactions taking place between the [Mn(OPMMA)] chelate and the Cu(II) ion, the kinetic reactions were monitored by stopped-flow method. Using the obtained kinetic parameters, the half-life of the reaction ($t_{1/2} = \ln 2 / k_{\text{obs}}$) was calculated for physiological pH (7.4) and found to be only 2.12 minutes, which orders of magnitude smaller than the 21.9 hours for [Mn(3,9-OPC2A)] complex. This indicates that the [Mn(OPMMA)] complex is unsuitable for *in vivo* use, as it could completely dissociate even during the examination.

Furthermore, the relaxation features of the [Mn(OPMMA)] were also studied by using ^1H relaxometry and ^{17}O NMR technique. The relaxivity values of [Mn(OPMMA)] complex are slightly higher than those of [Mn(OPC2A)], though the difference cannot be considered significant. Based on the relaxivity values determined for the complex, it can be stated that there is at least one water molecule in the inner coordination sphere, directly bound to the metal ion, which assumption was supported by DFT calculations. Additionally, the decrease in relaxivity with increasing temperature indicates that the relaxivity is mostly governed by the rotation of the complex. ^{17}O -NMR studies were performed to determine the rate of water exchange, revealing that the k_{ex} for [Mn(OPMMA)] complex is approximately four times higher than that of [Mn(OPC2A)].

Finally, we can conclude that, the thermodynamic and relaxation properties of the [Mn(OPMMA)] complex are good enough for the medical applications, but unfortunately its inertness is too low for the *in vivo* use.

Köszönetnyilvánítás

Ezúton szeretném kifejezni köszönetemet témavezetőimnek, Dr. Bunda Szilvia tudományos munkatársnak és Dr. Kálmán Ferenc Krisztián egyetemi docensnek, akik biztosították a lehetőséget, hogy a TDK dolgozatomat a Fizikai Kémiai Tanszéken írhasam. Köszönöm szakmai iránymutatásukat, segítségüket és türelmüket.

Köszönettel tartozom Dr. Lihi Norbert egyetemi docensnek az együttműködéséért a DFT számításokban, Dr. Garda Zoltán egyetemi adjunktusnak a ^{17}O -NMR mérésekhez való hozzájárulásáért, valamint Dr. Csupász Tibor egyetemi tanársegédnek az O-piklén makrociklus előállításában nyújtott segítségéért.

Továbbá köszönettel tartozom a Fizikai Kémiai Tanszék munkatársainak, valamint kutatócsoportunk minden tagjának.

Köszönettel tartozom még Kun Emesének, Szaniszló Zsófiának és Czuna Szandinak, a türelmükért, segítségükért és a laboratóriumban a kellemes légkörért.

Hálával tartozom szüleimnek, akik támogattak és lehetővé tették, hogy idáig eljussak!

Irodalomjegyzék

1. P. C. Lauterbur, D. M. Kramer, W. V. House, C.-N. Chen, Zeugmatographic high resolution nuclear magnetic resonance spectroscopy. Images of chemical inhomogeneity within macroscopic objects, *Journal of the American Chemical Society*, 1975, 97(23), 6866–6868. doi:10.1021/ja00856a046
2. M. H. Mendonça-Dias, E. Gaggelli, P. C. Lauterbur, Paramagnetic contrast agents in nuclear magnetic resonance medical imaging. *Seminars in Nuclear Medicine*, 1983, 13(4), 364–376. doi:10.1016/s0001-2998(83)80048-8
3. J.-M. Idée, M. Port, I. Raynal, M. Schaefer, S. Le Greneur, C. Corot, Clinical and biological consequences of transmetallation induced by contrast agents for magnetic resonance imaging: a review, *Fundamental and Clinical Pharmacology*, 2006, 20(6), 563–576. doi:10.1111/j.1472-8206.2006.00447.x
4. P. Marckmann, L. Skov, K. Rossen, A. Dupont, M. B. Damholt, G. J. Heaf, H. S. Thomsen, Nephrogenic Systemic Fibrosis: Suspected Causative Role of Gadodiamide Used for Contrast-Enhanced Magnetic Resonance Imaging, *Journal of the American Society of Nephrology*, 2006, 17(9), 2359–2362. doi:10.1681/asn.2006060601
5. T. Csupász, D. Szücs, F. K. Kálmán, O. Hollóczki, A. Fekete, D. Szikra, É. Tóth, I. Tóth and G. Tircsó, A New Oxygen Containing Pycen-Type Ligand as a Manganese (II) Binder for MRI and ⁵²Mn PET Applications: Equilibrium, Kinetic, Relaxometric, Structural and Radiochemical Studies, *Molecules*, 2022, 27(02), 371. doi:10.3390/molecules27020371
6. J. S. Troughton, M. T. Greenfield, J. M. Greenwood, S. Dumas, A. J. Wiethoff, J. Wang, P. Caravan, Synthesis and Evaluation of a High Relaxivity Manganese(II)-Based MRI Contrast Agent, *Inorganic Chemistry*, 2004, 43(20), 6313–6323. doi:10.1021/ic049559g
7. A. S. Merbach, L. Helm, E. Toth, The chemistry of contrast agents in medical magnetic resonance imaging, *John Wiley & Sons*, 2013. doi:10.1002/9781118503652
8. S. L. Fossheim, K. A. Il'yasov, J. Hennig, A. Bjørnerud, Thermosensitive paramagnetic liposomes for temperature control during MR imaging-guided hyperthermia: In vitro feasibility studies, *Academic Radiology*, 2000, 7(12), 1107–1115. doi:10.1016/s1076-6332(00)80064-1

9. S. Aime, M. Botta, M. Fasano, E. Terreno, P. Kinchesh, L. Calabi, L. Paleari, A new ytterbium chelate as contrast agent in chemical shift imaging and temperature sensitive probe for MR spectroscopy, *Magnetic Resonance in Medicine*, 1996, 35(5), 648–651. doi:10.1002/mrm.1910350504
10. L. Burai, É.Tóth, S. Seibig, R. Scopelliti, A. E. Merbach, Solution and Solid-State Characterization of EuII Chelates: A Possible Route Towards Redox Responsive MRI Contrast Agents, *Chemistry - A European Journal*, 2000, 6(20), 3761–3770. doi:10.1002/1521-3765(20001016)6:20<3761::aid-chem3761>3.0.co;2-6
11. M. Rudin, Target watching with a beady eye, *Nature Biotechnology*, 2000, 18(4), 383–383. doi:10.1038/74432
12. J. Hall, R. Häner, S. Aime, M. Botta, S. Faulkner, D. Parker, A. S. de Sousa, Relaxometric and luminescence behaviour of triaqua-hexaazamacrocyclic complexes, the gadolinium complex displaying a high relaxivity with a pronounced pH dependence, *New Journal of Chemistry*, 1998, 22(6), 627–631. doi:10.1039/a709264d
13. E. L. Que, C. J. Chang, Responsive magnetic resonance imaging contrast agents as chemical sensors for metals in biology and medicine, *Chemical Society Reviews*, 2010, 39(1), 51–60. doi:10.1039/b914348n
14. W. Li, G. Parigi, M. Fragai, C. Luchinat, T. J. Meade, Mechanistic Studies of a Calcium-Dependent MRI Contrast Agent, *Inorganic Chemistry*, 2002, 41(15), 4018–4024. doi:10.1021/ic0200390
15. M. Querol, A. Bogdanov, Amplification strategies in MR imaging: Activation and accumulation of sensing contrast agents (SCAs), *Journal of Magnetic Resonance Imaging*, 2006, 24(5), 971–982. doi:10.1002/jmri.20724
16. F. K. Kálmán, G. Tircsó, Kinetic Inertness of the Mn^{2+} Complexes Formed with AAZTA and Some Open-Chain EDTA Derivatives. *Inorganic Chemistry*, 2012, 51(19), 10065–10067. doi:10.1021/ic300832e
17. G. A. Nyssen, D. W. Margerum, Multidentate ligand kinetics. XIV. Formation and dissociation kinetics of rare earth-cyclohexylenediaminetetraacetate complexes, *Inorganic Chemistry*, 1970, 9(8), 1814–1820. doi:10.1021/ic50090a007
18. E. Tóth, E. Brücher, I. Lázár, I. Tóth, Kinetics of Formation and Dissociation of Lanthanide(III)-DOTA Complexes, *Inorganic Chemistry*, 1994, 33(18), 4070–4076. doi:10.1021/ic00096a036

19. H. Gries, H. Miklautz, Some physicochemical properties of the gadolinium-DTPA complex, a contrast agent for MRI. *Physiological Chemistry and Physics and Medical NMR*, 1984, 16, 105-112. PMID: 6505040
20. H. J. Weinmann, R. C. Brasch, W. R. Press, G. E. Wesbey, Characteristics of gadolinium-DTPA complex: a potential NMR contrast agent, *American journal of roentgenology*, 1984, 142, 619-624.
21. J. F. Desreux, P. P. Barthélemy, Highly stable lanthanide macrocyclic complexes: in search of new contrast agents for NMR imaging, *International Journal of Radiation Applications and Instrumentation. Part B. Nuclear Medicine and Biology*, 1988, 15, 9–15. doi:10.1016/0883-2897(88)90153-5
22. F. Shikata, H. Tokumitsu, H. Ichikawa, Y. Fukumori, In vitro cellular accumulation of gadolinium incorporated into chitosan nanoparticles designed for neutron-capture therapy of cancer, *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 2002, 53(1), 57–63. doi:10.1016/s0939-6411(01)00198-9
23. K. Kumar, C. A. Chang, M. F. Tweedle, Equilibrium and kinetic studies of lanthanide complexes of macrocyclic polyamino carboxylates. *Inorganic Chemistry*, 1993, 32(5), 587–593. doi:10.1021/ic00057a017
24. B. Drahoš, V. Kubiček, C. S. Bonnet, P. Hermann, I. Lukeš, É. Tóth, Dissociation kinetics of Mn^{2+} complexes of NOTA and DOTA, *Dalton Transactions*, 2011, 40(9), 1945. doi:10.1039/c0dt01328e
25. B. Drahoš, J. Kotek, P. Hermann, I. Lukeš, E. Tóth, Mn^{2+} Complexes with Pyridine-Containing 15-Membered Macrocycles: Thermodynamic, Kinetic, Crystallographic, and $^1H/^{17}O$ Relaxation Studies, *Inorganic Chemistry*, 2010, 49(7), 3224–3238. doi:10.1021/ic9020756
26. F. K. Kálmán, S. Geninatti-Crich, S. Aime, Reduction/Dissolution of a β - $MnOOH$ Nanophase in the Ferritin Cavity To Yield a Highly Sensitive, Biologically Compatible Magnetic Resonance Imaging Agent, *Angewandte Chemie*, 2010, 122(3), 622–625. doi:10.1002/ange.200904731
27. R. J. Motekaitis, B. E. Rogers, D. E. Reichert, A. E. Martell, M. J. Welch, Stability and Structure of Activated Macrocycles. Ligands with Biological Applications, *Inorganic Chemistry*, 1996, 35(13), 3821–3827. doi:10.1021/ic960067g
28. Z. Garda, E. Molnár, F. K. Kálmán, R. Botár, V. Nagy, Z. Baranyai, G. Tircsó, Effect of the Nature of Donor Atoms on the Thermodynamic, Kinetic and Relaxation Properties of

Mn(II) Complexes Formed With Some Trisubstituted 12-Membered Macrocyclic Ligands, *Frontiers in Chemistry*, 2018, 6, doi:10.3389/fchem.2018.00232

29. D. W. Margerum, G. R. Cayley, D. C. Weatherburn, and G. K. Pagenkopf, Kinetics and Mechanisms of Complex Formation and Ligand Exchange, *Coordination Chemistry*, V. 2, 1978.

30. B. Drahoš, I. Lukeš, É. Tóth, Manganese(II) Complexes as Potential Contrast Agents for MRI. *European Journal of Inorganic Chemistry*, 2012, 12, 1975–1986. doi:10.1002/ejic.201101336

31. I. M. Prata, Gallium-68: a new trend in PET radiopharmacy. *Current radiopharmaceuticals*, 2012, 5(2), pp.142-149. doi:10.2174/1874471011205020142

32. S. Aime, M. Botta, S. G. Crich, G. B. Giovenzana, G. Jommi, R. Pagliarin, M. Sisti, Synthesis and NMR Studies of Three Pyridine-Containing Triaza Macrocyclic Triacetate Ligands and Their Complexes with Lanthanide Ions, *Inorganic Chemistry*, 1997, 36, 2992–3000. doi:10.1021/ic960794b

33. S. Aime, M. Botta, S. G. Crich, G. B. Giovenzana, R. Pagliarin, M. Piccinini, E. Terreno, Towards MRI contrast agents of improved efficacy. NMR relaxometric investigations of the binding interaction to HSA of a novel heptadentate macrocyclic triphosphonate Gd(III)-complex. *JBIC Journal of Biological Inorganic Chemistry*, 1997, 2(4), 470–479. doi:10.1007/s007750050158

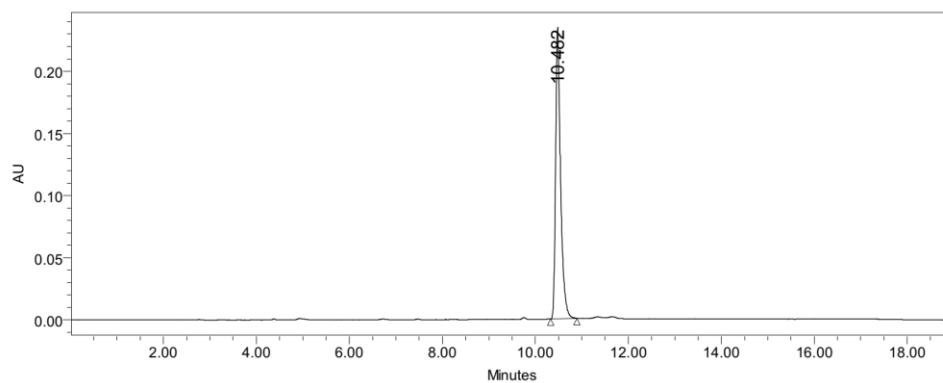
34. M. Botta, Second Coordination Sphere Water Molecules and Relaxivity of Gadolinium(III) Complexes: Implications for MRI Contrast Agents, *European Journal of Inorganic Chemistry*, 2000, 3, 399–407. doi:10.1002/(sici)1099-0682(200003)2000:3<399::aid-ejic399>3.0.co;2-b

35. L. Zekany, I. Nagypal, PSEQUAD, *Computational Methods for the Determination of Formation Constants*, 1985, 291–353 doi:10.1007/978-1-4684-4934-1_8

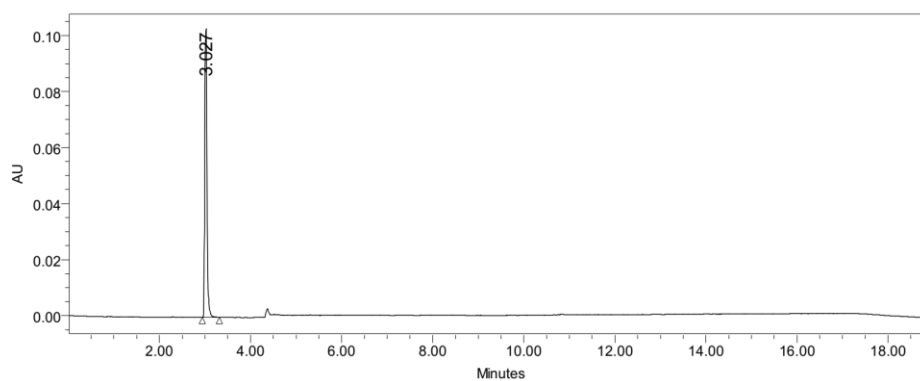
36. T. J. Swift, R. E. Connick, NMR-Relaxation Mechanisms of O17 in Aqueous Solutions of Paramagnetic Cations and the Lifetime of Water Molecules in the First Coordination Sphere. *The Journal of Chemical Physics*, 1962, 37(2), 307–320. doi:10.1063/1.1701321

37. E. M. Gale, I. P. Atanasova, F. Blasi, I. Ay, P. Caravan, A Manganese Alternative to Gadolinium for MRI Contrast. *Journal of the American Chemical Society*, 2015, 137(49), 15548–15557. doi:10.1021/jacs.5b10748

Függelék



F1. ábra Az OPMMA-dietil-észter tisztítás után kapott analitikai HPLC-s kromatogram
($t_R = 10,482$ perc)



F2. ábra Az OPMMA tisztítása után kapott analitikai HPLC-s kromatogram
($t_R = 3,027$ perc)