

**Dr. Baranyai Zsolt „Az orvosi képzésben használt ritkaföldfém(III) és gallium(III)-triaz- és -tetraaza-polikarboxilát komplexek oldategyensúlyi és kinetikai sajátságai és szerkezete” című MTA doktori értekezésének Dr. Kaizer József opponensi bírálatában feltett kérdéseire és megjegyzéseire adott válaszok**

Mindenekelőtt köszönöm a bírálónak MTA doktori értekezésem alapos és gyors véleményezését.

*Az észrevételekre és kérdésekre adott válaszok:*

1 és 2) Jelenleg számos Mn(II)-komplex klinikai vizsgálata van folyamatban. Közülük a [Mn(PyC3A)]<sup>-</sup> (RVP-001) klinikai egyes fázisának befejezésére 2022 augusztusában került sor. A jelenleg futó klinikai vizsgálatok közül a legérdekesebb a májvizsgálatokra javasolt szájon át szedhető MnCl<sub>2</sub> × 4 H<sub>2</sub>O (Orviglance), amelynek klinikai hármas fázisú vizsgálatai 2023 februárjában fejeződtek be.<sup>1</sup> Az MRI vizsgálatokra javasolt Mn(II) alapú kontrasztanyagok alkalmazása 0,1 mmol/kg testsúly dózisban történik, így az intravénásan bejuttatott Mn(II) mennyisége lényegesen meghaladja a vérszérum Mn(II) koncentrációját (0,9 - 2,2 μM). Ennek megfelelően a Mn(II)-komplex kismértékű disszociációja a szervezet számára már nehezen tolerálható mennyiségű Mn(II)-ion szabaddá válását eredményezheti, aminek hosszú távú akkumulációja akár „manganizmus” kialakulásához vezethet.<sup>2</sup> Ezzel szemben a humán szervezetben 3,5 – 4,0 g vas található, amely jelentős része a szérum vas transzport fehérjékhez koordináltan kering a véráramban (pl. transferrin). Mivel a szérum vas transzport fehérjék vas kötő képességének csak 25 - 30% telített, így jelentős vas felesleg megkötésére és szállítására van lehetőség. Sőt a Fe(III)-ion élő szervezetben történő akkumulációjának kezelésére számos szájon át szedhető készítmény ismert (pl. DFO, DFP, DFX), amelyek a szervezetben esetlegesen szabaddá váló és felhalmozódó Fe(III)-ion eltávolítására is alkalmasak.<sup>3</sup> Ezek alapján a nagy spinszámú Fe(III)-komplexek MRI kontrasztanyagkénti alkalmazása lényegesen nagyobb biztonsággal történhet, mint a Mn(II)-komplexeké.

<sup>1</sup> Val M. Runge, J. T. Heverhagen, *Invest. Radiol.* **2023**, DOI: 10.1097/RLI.0000000000001037

<sup>2</sup> M. G. Cersosimo, W. C. Koller, *NeuroToxicology*, **2006**, *27*, 340–346

<sup>3</sup> S. Entezari, S. M. Hagi, N. Norouzkhani, B. Sahebazar, F. Vosoughian, D. Akbarzadeh, M. Islampanah, N. Naghsh, M. Abbasalizadeh, N. Deravi, *J. Toxicol.*, **2022**, 4911205

Protoncserén alapuló paramágneses fémiont tartalmazó komplexek hatékonyságához elengedhetetlen a labilis protonok és a paramágneses fémion közötti kis távolság ( $r_{M-H} \leq 4 \text{ \AA}$ ) a labilis proton elegendően rövid relaxációs idejének megteremtéséhez. Másrésről a negatív töltéssel rendelkező donoratombok neutrális proton hordozó donoratombokkal való helyettesítése lecsökkenti a képződő fém-komplex stabilitását és kinetikai inertségét. A Mn(II)-komplexek eleve kisebb stabilitásúak, mint az analóg Gd(III)-komplexek, ami neutrális protonhordozó donoratombokat tartalmazó ligandumok esetében tovább csökken. Ennek megfelelően proton cserén alapuló Mn(II)-alapú MRI kontrasztanyagok fejlesztésére kevés lehetőség nyílik. Ezzel szemben J. Morrow és munkatársai számos alkoholos-OH csoportot oldalláncban tartalmazó triazamakrociklusos ligandum Fe(III)-komplexét javasolták MRI kontrasztanyag célú felhasználásra,<sup>4</sup> amelyek az -OH és oldószer vízprotonok közötti cserefolyamatokon keresztül fejtik ki relaxációs sebesség növelő hatásukat. A FeL1 komplexekben a Fe – OH közötti kötéstávolság 2,094 Å, ami közel 0,3 Å-el rövidebb, mint a Gd – OH kötéstávolság a [Gd(HP-DO3A)] komplexben (Gd – OH: 2,31 – 2,33 Å) a Fe(III)-ion kisebb méretének és polarizáló képességének köszönhetően. Mivel a labilis proton relaxációs ideje egyenes arányos a fémion-proton közötti távolság hatodik hatványával ( $T_{1p}^H \sim r_{Gd-H}^6$ ), így lényegesen nagyobb relaxációs protoncsere hozzájárulás várható a labilis protonokat tartalmazó Fe(III)-komplexek esetében, mint a Gd(III)-komplexeknél. A J. Morrow és munkatársai által vizsgált a Fe(III)-komplexeknek a relaxivitása nagyon kicsi ( $r_{1p} = 0,4 - 3,8 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ , 4,7 T, 37°C, szérum), de Fe(III) alapú MRI kontrasztanyagok előállításával és vizsgálatával foglalkozó publikációk és szabadalmak száma alapján ez a terület jelentős fejlődésen mehet keresztül a közeljövőben, ami *in vivo* vizsgálatokban alkalmazható hatékony Fe(III)-komplexek fejlesztését és klinikai vizsgálatokban való megjelenését eredményezheti. A Gd(III)-komplexek MRI vizsgálatokból való kiszorulása rövid távon ugyanakkor nem valószínű.

- 3) A Ga(III)-, Sc(III)- és Ln(III)-komplexek oldatfázisú szerkezetét, dinamikai folyamatait és képződését változtatott hőmérsékletű 1D (<sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C, <sup>17</sup>O) és 2D (<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H COSY, <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H NOESY, <sup>1</sup>H-<sup>13</sup>C HSQC és <sup>1</sup>H-<sup>13</sup>C HMBC) NMR spektroszkópiás módszerekkel vizsgáltuk. A La(III)-, Nd(III)- és [Gd(AAZTA)]<sup>-</sup> komplexek röntgendiffrakciós szerkezetvizsgálatai alapján szilárd fázisban dimerek képződnek (15. ábra). A dimer

<sup>4</sup> E. A. Kras, E. M. Snyder, G. E. Sokolow, J. R. Morrow, *Acc. Chem. Res.*, 2022, 55, 1435-1444

szerkezetű  $[\text{Ln}(\text{AAZTA})(\text{H}_2\text{O})]_2^{2-}$  molekulában a Ln(III)-ionhoz torzult kétszeresen fedett négyzetes antiprizmás elrendezésben három nitrogén, három karboxilát és egy belső szférás vízmolekula oxigén monodentátként koordinálódik, míg a negyedik karboxilát és a szomszédos  $[\text{Ln}(\text{AAZTA})]^-$  komplex egyik karboxilát oxigén donoratomja hídhelyzetben bidentátként koordinálódik mindkét központi fémionhoz szokatlan, tízes koordinációjú Ln(III)-iont eredményezve. Mivel a monomer ( $[\text{Gd}(\text{AAZTA})(\text{H}_2\text{O})_2]^-$ ) és dimer ( $[\text{Gd}(\text{AAZTA})(\text{H}_2\text{O})]_2^{2-}$ ) szerkezetű Gd(III)-komplexben két és egy belső szférás vízmolekula található Gd(III) iononként, így a Gd(III)-komplex relaxivitásának koncentráció függése során a kapott  $r_{1p}$  értékek csökkennének a dimer szerkezetű  $[\text{Gd}(\text{AAZTA})(\text{H}_2\text{O})]_2^{2-}$  komplex mennyiségének növekedésével. Azonban a kapott  $r_{1p}$  értékek monoton nőnek Gd(III)-komplex koncentrációjának növekedésével igazolva a monomer szerkezetű  $[\text{Gd}(\text{AAZTA})(\text{H}_2\text{O})_2]^-$  komplex kizárólagos jelenlétét  $[\text{GdL}]=0,1 - 4,0$  mM tartományban. A  $^{17}\text{OH}_2$  víz  $^{17}\text{O}$  NMR jelének Dy(III)-komplex indukált eltolódása szintén alátámasztotta a két belső szférás vízmolekulát tartalmazó  $[\text{Dy}(\text{AAZTA})(\text{H}_2\text{O})_2]^-$  komplex dominanciáját széles koncentráció tartományban ( $[\text{DyL}]=0 - 90$  mM). Ezzel szemben a sorozat nagyobb rendszámú elemei esetében képződő  $[\text{Ln}(\text{AAZTA})(\text{H}_2\text{O})]^-$  komplexek monomerként fordulnak elő a  $[\text{Er}(\text{AAZTA})(\text{H}_2\text{O})]^-$  és  $[\text{Lu}(\text{AAZTA})(\text{H}_2\text{O})]^-$ , valamint a  $[\text{Dy}(\text{AAZTA})(\text{H}_2\text{O})]^-$  egykristályaiban (15. ábra). A  $[\text{Ln}(\text{AAZTA})(\text{H}_2\text{O})]^-$  komplexekben a Ln(III)-ionhoz az AAZTA ligandum hét donoratomja koordinálódik torzult dodekaedres geometriában és a Ln(III)-ion a három nitrogén és a négy karboxilát oxigén által határolt síkok között helyezkedik el, míg az axiális pozícióban egy vízmolekula található. A lantanoida sorozaton belül a  $[\text{Ln}(\text{AAZTA})(\text{H}_2\text{O})_q]^-$  komplexek hidratációjában és szerkezetében bekövetkező változásokat elméleti számításokkal is igazoltuk. Meghatároztuk a mono- és bisz-hidratált  $[\text{Ln}(\text{AAZTA})(\text{H}_2\text{O})_q]^-$  komplexek relatív szabadenergia értékeit, amelyek alapján a lantanida sorozat első felében a bisz-hidratált  $[\text{Ln}(\text{AAZTA})(\text{H}_2\text{O})_2]^-$  képződése preferált, míg a monohidratált  $[\text{Ln}(\text{AAZTA})(\text{H}_2\text{O})]^-$  komplexek a sorozat második felében válnak termodinamikailag stabilisabbá a Tm(III)-, az Yb(III)- és a  $[\text{Lu}(\text{AAZTA})(\text{H}_2\text{O})]^-$  komplexek esetében a monohidratált forma kizárólagos képződésével.

A  $[\text{Gd}(\text{BCAED})]^-$  komplexben a Gd(III)-ionhoz közel ideális kétszeresen fedett trigonális prizma elrendezésben négy nitrogén és négy karboxilát oxigén koordinálódik (18. ábra). A trigonális síkokat az N2, N3 és O7, valamint az O3, O5 és O1 donor atomok

alkotják, míg az immino-diacetát csoportok két nitrogén atomja fedő helyzetben koordinálódik a Gd(III)-ionhoz. A  $[\text{Ln}(\text{BCAED})]^-$  komplexek oldatfázisú szerkezetét változtatott hőmérsékletű multinukleáris NMR spektroszkópiás módszerekkel tanulmányoztuk (Ln(III)=La(III), Y(III) és Lu(III)). A lantanida sorozaton belül a Ln(III)-ion méretének növekedésével csökken a  $[\text{Ln}(\text{BCAED})]^-$  komplex szerkezeti merevsége, amit egyértelműen alátámaszt, hogy a  $[\text{La}(\text{BACED})]^-$  szobahőmérsékleten felvett  $^{13}\text{C}$  NMR spektrumában 9 jel található. Ezzel szemben a  $[\text{Lu}(\text{BCAED})]^-$  és  $[\text{Y}(\text{BCAED})]^-$  komplexek  $^{13}\text{C}$  NMR spektrumában 17 - 17 jel van, amely megfelel a BCAED ligandum 17 szénatomjának, jelezve mindkét komplex aszimmetrikus oldatfázisú szerkezetét. A  $[\text{La}(\text{BCAED})]^-$  és  $[\text{Y}(\text{BCAED})]^-$  változtatott hőmérsékletű  $^{13}\text{C}$  NMR spektrumaiban a jelek kiszélesedését és kiátlagolódását a hőmérséklet növekedésével a trigonális síkok két szomszédos csúcsán található, de eltérő terminális amino-N csoporthoz kapcsolódó karboxilát-O donoratomok viszonylag gyors cseréjével értelmezhetjük. Ennek megfelelően a  $[\text{Gd}(\text{BCAED})]^-$  szilárd fázisú egykristály szerkezete és  $[\text{Ln}(\text{BCAED})]^-$  multinukleáris NMR spektroszkópiával meghatározott oldatfázisú szerkezete nagyon hasonló.

A  $[\text{Gd}(\text{Ph-HP-DO3A})]^-$ ,  $[\text{Gd}(\text{An-HP-DO3A})]$ ,  $[\text{Gd}(\text{Bz-HP-DO3A})]^-$ ,  $[\text{GdL1}]^{2-}$  és  $[\text{GdL2}]^{2-}$  az alkoholos -OH protonok intramolekuláris auto-katalizált cserefolyamatai feltételezhetően az oldalláncban található szomszédos funkciós csoportokkal kialakuló hidrogén kötések keresztül játszódnak le. Szilárd fázisú röntgendiffrakciós szerkezetvizsgálataink célja volt az intramolekuláris hidrogén kötések kialakulásának igazolása, amelyet multinukleáris ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ) NMR spektroszkópiás vizsgálatokkal korábban már igazoltunk.<sup>5</sup> Az alkoholos -OH oxigén (O1) csoport távolsága a protonált fenol és a deprotonált benzoát oxigén atomoktól a  $[\text{Gd}(\text{HPh-HP-DO3A})]$  és  $[\text{Gd}(\text{Bz-HP-DO3A})]^-$  komplexekben 4,12 és 4,26 Å a négyzetes antiprizmás (SAP), illetve 4,10 és 3,93 Å a csavart négyzetes antiprizmás (TSAP) izomerek esetében. Ezzel szemben a  $[\text{Gd}(\text{An-HP-DO3A})]$  komplex TSAP izomerében az alkoholos -OH (O1) és a deprotonált anilin -NH<sub>2</sub> csoportok távolsága közel 1,3 Å-el rövidebb (2,90 Å), mint a SAP izomerben (4,20 Å). A  $[\text{Gd}(\text{An-HP-DO3A})]$  komplex TSAP izomerében mért rövid kötéstávolság az alkoholos -OH és deprotonált anilin -NH<sub>2</sub> csoportok között kialakuló hidrogén kötéssel értelmezhető. A  $[\text{LuL1}(\text{H}_2\text{O})]^{2-}$  komplex szilárd fázisú egykristály röntgendiffrakciós szerkezetvizsgálata alapján a Lu(III)-ion a négy gyűrű,

<sup>5</sup> S. Aime, Zs. Baranyai, *Inorg. Chim. Acta*, **2022**, 532, 120730.

három karboxilát- és alkoholos-O donortom által határolt koordinációs üregben helyezkedik el, míg a kilencedik koordinációs helyet fedő pozícióban egy vízmolekula foglalja el (Lu–O1: 2,367 Å) fedett négyzetes antiprizmás (SAP) koordinációs szerkezetet kialakítva. Az alkoholos -OH oxigén csoport távolsága a foszfonát oxigén és a tercier-amino nitrogén donortomoktól a  $[\text{LuL1}(\text{H}_2\text{O})]^{2-}$  komplexben 3,63 és 2,96 Å, amelyek egyértelműen jelzik az intramolekuláris hidrogén kötés rendszer kialakulását a cserefolyamatokban résztvevő alkoholos -OH csoport részvételével.

- 4) Az általunk vizsgált rendszerek közül a Gd(III)-komplexek esetében számos példa áll rendelkezésre egy olyan adatbázis megszerkesztéséhez, amely alkalmas lehet a Gd(III)- és Ln(III)-komplexek szerkezete és összetétele alapján megjósolni/modellezni a Ln(III)-komplexek termodinamikai, képződés és disszociáció kinetikai és a Gd(III)-komplexek relaxációs sajátosságait. A Gd(III)-komplexek relaxációs sajátosságait befolyásoló tulajdonságok főként a belső és külső szférás relaxáció sebesség növelő hozzájárulások optimalizálására nyújtanak lehetőséget. Mivel a protoncsere relaxációs hozzájárulás alkalmazása viszonylag újkeletű, így nem áll rendelkezésünkre még elegendő példa egy megbízható adatbázis kiépítésére a Gd(III)- és esetleg Fe(III)-komplexek protoncsere hozzájárulást befolyásoló paraméterek modellezésére és relaxációs sebesség növelő hatásuk becslésére. A Fe(III)-komplexek MRI kontrasztanyagkénti felhasználása nem új keletű, de az elmúlt 35-40 évben a Gd(III)-komplexek dominanciája miatt nem történtek szisztematikus vizsgálatok a Fe(III)-komplexek szerkezetének és összetételének az egyensúlyi, kinetikai, redoxi és relaxációs sajátosságokra gyakorolt hatására vonatkozóan. Az utóbbi pár évben Fe(III) alapú MRI kontrasztanyagok előállításával és vizsgálatával foglalkozó közlemények száma alapján ezen a területen jelentős fejlődést érhetnek el, ami lehetővé teheti Fe(III)-komplexek egyensúlyi, kinetikai, redoxi és relaxációs sajátosságainak modellezését a rendelkezésre álló adatok alapján.
- 5) A Gd(III)-komplexek retenciója és *in vivo* disszociációjának egyik feltételezett mechanizmusa a ligandumok dekarboxileződése és a keletkező kevesebb fogszámú ligandummal képződő Gd(III)-komplex labilitása.<sup>6</sup> Vizsgálataink során igazoltuk, hogy

---

<sup>6</sup> J. Künnemeyer, L. Terborg, S. Nowak, L. Telgmann, F. Tokmak, B. K. Krämer, A. Günzel, G. A. Wiesmüller, J. Waldeck, C. Bremer, U. Karst, *Anal. Chem.* **2009**, *81*, 3600–3607.

a [Gd(DTPA)]<sup>2-</sup> komplex és származékai fémioncsere reakcióban vehetnek részt esszenciális fémionokkal (Cu<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup>, Ca<sup>2+</sup>) *in vivo* körülmények között a DTPA és származék ligandumok dekarboxileződése és degradációja nélkül.<sup>7,8</sup> A Gd(III)-komplexek redoxi rezisztenciáját támasztja alá, hogy a makrociklusos Gd(III)-komplexek *in vivo* retenciója intakt Gd(III)-komplex formájában történik, amit számos humán és állatkísérlet segítségével igazoltak.<sup>9,10</sup> Ezzel szemben a Fe(III)-komplexek *in vivo* disszociációja bekövetkezhet a központi Fe(III)-ion aszkorbinsav általi redukcióján keresztül (aszkorbinsav asszisztált Fenton-reakció).<sup>11,12</sup> Ezekben a reakciókban igazoltan szabad gyökök keletkezhetnek, amelyek redukálhatják a központi Fe(III)-iont Fe(II)-ionná a komplex disszociációját eredményezve.<sup>13</sup>

Válaszaim ismertetését követően újból szeretném megköszönni Dr. Kaizer Józsefnek értekezésem gyors és alapos bírálatát, támogató javaslatait.

Trieszt, 2024. január 8.

  
Dr. Baranyai Zsolt

---

<sup>7</sup> Zs. Baranyai, E. Brücher, F. Uggeri, A. Maiocchi, I. Tóth, M. András, A. Gáspár, L. Zékány, S. Aime, *Chem. Eur. J.* **2015**, *21*, 4789 – 4799

<sup>8</sup> Zs. Baranyai, Z. Pálinkás, F. Uggeri, A. Maiocchi, S. Aime, E. Brücher, *Chem. Eur. J.* **2012**, *18*, 16426 – 16435

<sup>9</sup> M. F. Tweedle, P. Wedeking, K. Kumar, *Invest. Radiol.* **1995**, *30*, 372–380.

<sup>10</sup> V. M. Runge, *Invest. Radiol.* **2016**, *51*, 273–279.

<sup>11</sup> W. H. Koppenol and R. H. Hider, *Free Radicals Biol. Med.*, **2019**, *133*, 3–10

<sup>12</sup> Zs. Baranyai, F. Carniato, A. Nucera, D. Horváth, L. Tei, C. Platas-Iglesias, M. Botta, *Chem. Sci.*, **2021**, *12*, 11138–11145.

<sup>13</sup> Y. Kirino, P. L. Southwick, and R. H. Schuler, *J. Am. Chem. Soc.*, **1974**, *96*, 673