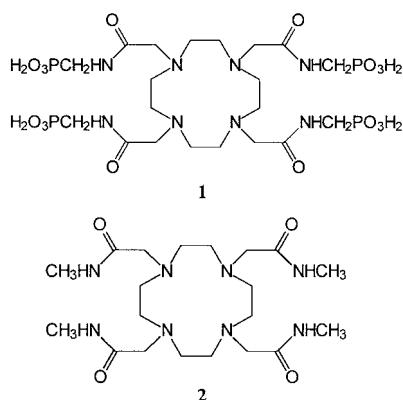


Ein neuartiges pH-empfindliches MRI-Kontrastmittel**

Shanrong Zhang, Kuangcong Wu und A. Dean Sherry*

Die meisten Gadoliniumkomplexe verstärken die Relaxation von Wasserprotonen über einen raschen Austausch von Innensphärenwassermolekülen gegen Lösungsmittelwassermoleküle.^[1] Neuere Ergebnisse kinetischer Untersuchungen haben jedoch gezeigt, daß die Lebensdauer eines Innensphärenwassermoleküls in Gd^{III} -Komplexen von 0.84 ns bei Gd^{III} in wässriger Lösung und 208 ns bei $[\text{Gd}(\text{dota})]^-$ (dota = 1,4,7,10-Tetraazacyclododecan- N,N',N'',N''' -tetraacetat) bis zu mehr als 19000 ns beim Tetraamidanalogon $[\text{Gd}(\mathbf{2})]$ reichen kann.^[1d, 2, 3] Vor kurzem beschriebene Kontrastmittel auf Gadoliniumbasis, die empfindlich gegenüber Enzymaktivität^[4a] und Ca^{2+} ^[4b] sind, haben den Anstoß zur Synthese von neuen Cyclenliganden mit verschiedenartigen Seitenarmen gegeben. Da bekannt war, daß Tetraamidderivate von Cyclen



in wässriger Lösung mit Gd^{III} sowohl thermodynamisch stabile als auch kinetisch inerte Komplexe bilden,^[3, 5, 6] haben wir Tetraamidliganden mit längeren nichtkoordinierenden Phosphonat- oder Carboxylatseitenketten untersucht, wobei wir beabsichtigten, neue Systeme mit spezifischem Ionenpaarbildungsvermögen herzustellen. Bei der Charakterisierung eines der neuen Derivate aus dieser Reihe haben wir beobachtet, daß die Wasserprotonenrelaxivität R_1 von $[\text{Gd}(\mathbf{1})]$ eine ungewöhnliche pH-Abhängigkeit aufweist; sie steigt zwischen pH 4 und 6 an, erreicht ein Maximum bei etwa

pH 6, sinkt dann allmählich auf ein Minimum bei etwa pH 8.5 und bleibt schließlich bis pH 10.5 weitgehend pH-unabhängig, bevor sie bei höheren pH-Werten noch einmal ansteigt (Abbildung 1). $[\text{Gd}(\mathbf{2})]$ verhält sich in dieser Hinsicht völlig anders; R_1 ist hier zwischen pH 2 und 8 im wesentlichen pH-unabhängig, bevor es bei höheren pH-Werten zu einem Anstieg kommt.^[3] Ähnlich ist R_1 von $[\text{Gd}(\text{dotp})]^{5-}$ (dotp ist das Tetraphosphonatanalogon von dota) über einen großen pH-Bereich (3–13) pH-unabhängig.^[7]

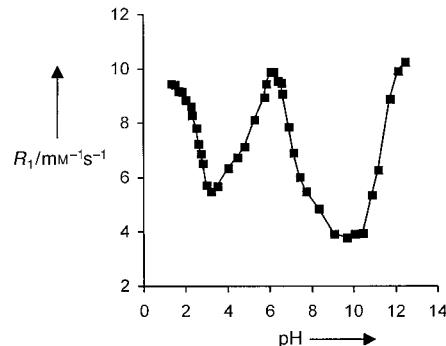


Abbildung 1. Die pH-Abhängigkeit der Wasserprotonenrelaxivität von $[\text{Gd}(\mathbf{1})]$ bei 20 MHz; $T=25^\circ\text{C}$. Die durchgezogene Linie ist lediglich als Betrachtungshilfe gedacht und wurde nicht durch Regressionsanalyse erhalten.

Um weiteren Einblick in das ungewöhnliche Relaxationsverhalten von $[\text{Gd}(\mathbf{1})]$ zu erhalten, haben wir die Strukturen unterschiedlicher $[\text{Ln}(\mathbf{1})]$ -Komplexe in Lösung NMR-spektroskopisch untersucht. Bei allen $[\text{Ln}(\mathbf{1})]$ -Komplexen (ausgenommen von Gd^{III}) zeigten die ^{31}P -NMR-Spektren einfache Signale, deren chemische Verschiebungen sich nicht sehr von denen des freien Liganden unterschieden. Im Vergleich mit den stark verschobenen ^{31}P -NMR-Signalen der analogen $[\text{Ln}(\text{dotp})]^{5-}$ -Komplexen^[8] deutete dies darauf hin, daß die vier Phosphonatgruppen in $[\text{Ln}(\mathbf{1})]$ relativ weit vom paramagnetischen Zentrum entfernt und vermutlich nicht an das Zentral-Ion koordiniert sind. Alle ^1H - und ^{13}C -NMR-Spektren von $[\text{Ln}(\mathbf{1})]$ waren damit in Einklang, daß hauptsächlich nur eine molekulare, strukturell sehr starre Spezies vorliegt. Die Hyperfeinverschiebungen der Makrocyclusprotonen von $[\text{Yb}(\mathbf{1})]$ glichen denen von $[\text{Yb}(\text{dotp})]^{5-}$,^[8] $[\text{Yb}(\text{dota})]^-$,^[9] und $[\text{Yb}(\text{dotma})]^-$,^[10] was darauf schließen ließ, daß das Yb^{3+} -Zentrum von den vier Amidsauerstoffatomen und den vier Makrocyclusstickstoffatomen chelatisiert wird (dotma = 1,4,7,10-Tetraazacyclododecan- N,N',N'',N''' -tetra(2-propionat)). Bei 25°C wurde nach einer Korrektur gegen Volumensuszeptibilitäts effekte bei Zusatz von $[\text{Dy}(\mathbf{1})]$ keine Verschiebung des ^{17}O -NMR-Signals von freiem Wasser festgestellt; bei 75°C wurde dagegen eine beträchtliche Verschiebung beobachtet (Abbildung 2). Die Steigung der Ausgleichsgeraden für die Messungen bei 75°C deutete darauf hin, daß *ein* Innensphärenwassermolekül von $[\text{Dy}(\mathbf{1})]$ im Austausch mit freiem Wasser steht.^[11] Die Unempfindlichkeit des ^{17}O -NMR-Wassersignals gegenüber $[\text{Dy}(\mathbf{1})]$ bei 25°C läßt darauf schließen, daß der Wasseraustausch bei dieser Temperatur langsam ist. Die Temperaturabhängigkeit der Linienbreite bestätigte, daß der Wasseraus-

[*] Prof. Dr. A. D. Sherry, S. Zhang, K. Wu
Department of Chemistry
University of Texas at Dallas
P.O. Box 830688
Richardson, TX 75083-0688 (USA)
und
The Rogers Magnetic Resonance Center
Department of Radiology
University of Texas Southwestern Medical Center
5801 Forest Park Road
Dallas, TX 75235-9085 (USA)
Fax: (+1) 972-883-2925
E-mail: sherry@utdallas.edu

[**] Diese Arbeit wurde von der Robert A. Welch Foundation (AT-584) und der Division of Research Resources, National Institutes of Health (RR-02584), unterstützt. Wir danken Dr. Evelyn Babcock, Rogers Magnetic Resonance Center, UT-Southwestern Medical Center, Dallas, für ihre Hilfe bei den MRI-Experimenten.

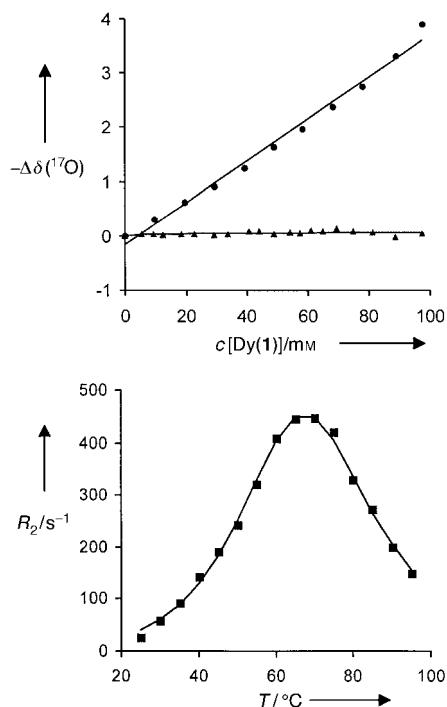


Abbildung 2. Oben: Chemische Verschiebung (^{17}O) des freien Wassers als Funktion der Konzentration von $[\text{Dy(1)}]$ bei 25°C (\blacktriangle) und 75°C (\bullet). Unten: Linienbreite des ^{17}O -NMR-Signals des freien Wassers in Gegenwart von 46 mM $[\text{Dy(1)}]$ als Funktion der Temperatur bei $\text{pH } 9.5$. Die Kurve wurde durch nichtlineare Regression nach Pubanz et al. berechnet.^[12]

tausch bei diesem Komplex unterhalb von etwa 67°C in der Tat langsam ist (Abbildung 2). Eine Datenanpassung^[12] ergab für $[\text{Dy(1)}]$ eine Wasseraustauschlebensdauer (τ_M) von $21 \pm 1.2\text{ }\mu\text{s}$ bei 25°C , was mit dem für $[\text{Gd(2)}]$ angegebenen Wert übereinstimmt.^[1d, 3] Interessanterweise war τ_M für den Wasseraustausch bei $[\text{Dy(1)}]$ von $\text{pH } 5.9$ bis 9.5 pH -unabhängig, d.h., die Veränderungen von R_1 innerhalb dieses pH -Bereichs hängen nicht mit Veränderungen hinsichtlich des Wassermolekülaustauschs zusammen.

Die Wasserprotonenrelaxivität R_1 von $[\text{Gd(1)}]$ stieg zwischen $\text{pH } 10.5$ und 12 auf etwa das 2.6fache. Bei $[\text{Gd(2)}]$ ist der R_1 -Wert in diesem Bereich zwar ebenfalls pH -abhängig,^[3] doch beginnt R_1 hier bereits bei $\text{pH } \approx 8$ anzusteigen und erreicht bei $\text{pH } 11$ etwa den 2.2fachen Wert. Dies wurde einem OH^- -katalysierten prototropen Austausch der gebundenen Wasserprotonen in diesem Komplex zugeschrieben.^[3] Für eine quantitative Analyse der Veränderung von R_1 oberhalb von $\text{pH } 10.5$ sind wir dem Beispiel von Aime et al.^[3] gefolgt und haben angenommen, daß τ_M proportional zu $(k_1 + k_2[\text{OH}^-])^{-1}$ ist. Unter der Voraussetzung, daß $k_1 = 4.76 \times 10^4\text{ s}^{-1}$ ist ($=\tau_M^{-1}$, wie ^{17}O -NMR-spektroskopisch bestimmt wurde), ergab eine Auswertung der Relaxivitätsdaten bei hohen pH -Werten auf der Grundlage dieser Gleichung $k_2 = 8.09 \times 10^7\text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$. Dieser Wert ist deutlich kleiner als der für $[\text{Gd(2)}]$ angegebene k_2 -Wert ($1.4 \times 10^{10}\text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$),^[3] was zeigt, daß für die Katalyse des prototropen Austauschs bei $[\text{Gd(1)}]$ höhere Basenkonzentrationen notwendig sind als bei $[\text{Gd(2)}]$. Dies hängt möglicherweise mit dem Schutz des koordinierten Wassermoleküls in $[\text{Gd(1)}]$ durch die verlängerten Seitenarme des Liganden zusammen.

Potentiometrische Titrationen von $[\text{Gd(1)}]$ haben ergeben, daß am Komplex zwischen $\text{pH } 9$ und 2 fünf Protonierungen stattfinden ($\lg K_n = 8.70, 7.28, 6.55, 6.02$ und 3.38). Bei einem Vergleich mit den Protonierungskonstanten des freien Liganden **1** im gleichen pH -Bereich ($\lg K_n = 7.30, 6.64, 6.11$ und 2.39) ist man versucht, die höchste Konstante ($\lg K_1 = 8.70$) des Komplexes dem gebundenen Wasser zuzuordnen (für den $\text{p}K_a$ -Wert des gebundenen Wassermoleküls von $[\text{Gd(2)}]$)^[3, 6] wurde 7.9 angegeben). Die Fluoreszenzlebensdauer von $[\text{Eu(1)}]$ war jedoch in diesem Bereich pH -unempfindlich; die chemische Verschiebung im ^{31}P -NMR-Spektrum von $[\text{Eu(1)}]$ zeigte pH -abhängige Veränderungen, die mit einer oberhalb von $\text{pH } 9$ beginnenden Protonierung einer Phosphonatgruppe in Einklang sind. Der von $[\text{Gd(1)}]$ katalysierte Anstieg der Wasserrelaxivität auf etwa das 2.6fache zwischen $\text{pH } 9$ und 6 scheint daher weitgehend mit der Protonierung der seitlichen Phosphonatgruppen zusammenzuhängen. Dies läßt darauf schließen, daß das durch Protonierung der Phosphonatgruppen gebildete H-Brücken-Netzwerk einen katalytischen Weg für den Austausch der gebundenen Wasserprotonen mit Protonen des freien Wassers bietet. Interessanterweise spricht das Maximum der R_1 -Kurve in der Nähe von $\text{pH } 6$ dafür, daß der prototrope Austausch sein Maximum nach der Protonierung von 3–4 Phosphonatresten erreicht und daß eine weitere Protonierung an diesen Stellen das H-Brücken-Austauschnetzwerk beeinträchtigt. Der anschließende Anstieg von R_1 unterhalb von $\text{pH } 3$ läßt darauf schließen, daß auch starke Säuren den prototropen Austausch der gebundenen Wasserprotonen katalysieren, wie schon von Aime et al.^[3] für $[\text{Gd(2)}]$ vorgeschlagen wurde. Anders als vor kurzem für $[\text{Gd(2)}]$ beschrieben,^[6] finden wir jedoch keinen Hinweis auf eine Freisetzung von freiem Gd^{III} (durch Nachweis mit kolorimetrischen Indikatoren) aus $[\text{Gd(1)}]$ – nicht einmal nach einer zweimonatigen Lagerung in 2.5 M HNO_3 ; der Anstieg von R_1 unterhalb von $\text{pH } 3$ hängt also nicht mit einer Freisetzung des Aqua-Ions zusammen. Interessanterweise entspricht das zwischen $\text{pH } 8.5$ und 10.5 beobachtete Minimum von R_1 ($3.8\text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$) nicht einer reinen Außenosphärenrelaxation, wie sie bei diesem Feld für andere Gd^{III} -Komplexe typisch ist (ca. $2-2.4\text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$). Dies deutet darauf hin, daß in diesem pH -Bereich noch ein kleiner prototroper Austauschbeitrag (ca. 50%) bleibt, der entweder durch eine partielle Deprotonierung des gebundenen Wassermoleküls oder durch die vollständig deprotonierten Phosphonatgruppen katalysiert wird.

Die ungewöhnliche Empfindlichkeit der Wasserrelaxivität von $[\text{Gd(1)}]$ legt nahe, diesen Komplex in einem MRI-Experiment zur Abbildung von pH -Änderungen einzusetzen (MRI = magnetic resonance imaging). Mit einem 4.7-T-Imaging-System wurden T_1 -gewichtete Protonenbilder von Phantomen mit 0.2 mM $[\text{Gd(dtpa)}]^{2-}$ und $[\text{Gd(1)}]$ jeweils bei $\text{pH } 6$ und 9 aufgenommen (Bilder nicht gezeigt; dtpa = Diethylenetriamin- N,N,N',N'',N'' -pentaacetat). Mit einer Spin-Echo-Sequenz und typischen Parametern für eine T_1 -gewichtete Bildgebung ($\text{TR/TE} = 300/12\text{ ms}$) haben wir für die $[\text{Gd(1)}]$ -Probe bei $\text{pH } 6$ einen 50proz. Anstieg der mittleren Pixelintensität gegenüber der $\text{pH } 9$ -Probe gefunden, während die mittlere Pixelintensität der entsprechenden $[\text{Gd(dtpa)}]^{2-}$ -Proben um ca. 10% abnahm. Es läßt sich also mit $[\text{Gd(1)}]$

ein MRI-Kontrast erzielen, der außerordentlich empfindlich gegenüber dem pH-Wert ist. Zwar wurden bereits Vorschläge für andere Ansätze zur Herstellung von Gadoliniumkomplexen mit einer im Bereich physiologischer pH-Werte pH-empfindlichen Relaxivität gemacht,^[13] wie die vorliegenden Ergebnisse zeigen, läßt sich aber der prototrope Austausch, möglicherweise durch Seitenarme, in Liganden wie **1** so modulieren, daß eine Reihe von Kontrastmitteln mit unterschiedlicher pH-Empfindlichkeit entwickelt werden kann.

Experimentelles

Diethylaminomethylphosphonat^[14] wurde mit Bromacetylborom zu Diethylbromacetamidomethylphosphonat umgesetzt. Dieses (2.88 g, 0.01 mol) wurde mit Cyclen (0.43 g, 0.0025 mol) und Kaliumcarbonat (1.5 g, 0.011 mol) bei 60–70 °C in Acetonitril (10 mL) 6 h gerührt. Nach Abtrennung der Salze durch Filtration wurde der Ester von **1** als blaßgelber Feststoff (2.48 g) isoliert. Die Ethylestergruppen wurden in 30proz. HBr in Eisessig (8 mL) durch Röhren bei Raumtemperatur über Nacht entfernt. Reines **1** wurde mit Diethylether aus Methanol ausgefällt, was einen weißen Feststoff ergab: 0.53 g, 85.5 %. ¹H-NMR (D_2O): δ = 3.72 (br., 8H; NCH_2CO), 3.52 (d, 8H; CH_2P), 3.25 (br., 16H; NCH_2CH_2N); ¹³C-NMR (D_2O): δ = 170.65 (CO), 56.50 (NCH_2CO), 51.83 (NCH_2CH_2N), 38.24 (d, CH_2P). Befriedigende Elementaranalyse.

Die $[Ln(\mathbf{1})]$ -Komplexe wurden in Wasser durch Mischen einer LnX_3 -Lösung mit dem Liganden **1** bei $pH \approx 9$ hergestellt. Sämtliche NMR-Spektren wurden bei 11.7 T auf einem Varian-INOVA-500-Spektrometer unter Verwendung einer inversen 5-mm-Sonde (¹H) oder einer abstimmabaren 5-mm-Breitbandsonde (¹⁷O, ¹³C und ³¹P) aufgenommen. *tert*-Butylalkohol wurde als interner Standard der chemischen Verschiebung für ¹H und ¹³C verwendet, 85proz. H_3PO_4 als externer Standard für ³¹P. Die für die ¹⁷O-NMR-Experimente verwendete Probe von $[Dy(\mathbf{1})]$ enthielt 5% Dioxan, um die beobachteten Wasserverschiebungen gegen Volumensuszeptibilitätsverschiebungen korrigieren zu können. Die Messungen der Wasserprotonenrelaxation wurden temperaturkontrolliert mit einem MRS-6-NMR-Analysator mit einer Betriebsfrequenz von 20 MHz durchgeführt (Institut Jozef Stefan, Ljubljana, Slowenien). Die ¹H-Bilder wurden mit einem GE(Bruker)-Omega-4.7-T-Bildgebungssystem und einer 20-mm-Helmholtz-Spule erhalten. Die potentiometrischen Titrationen wurden in 0.1M NMe_4Cl bei 25 °C unter N_2 -Atmosphäre mit einem Accumet-925-pH-Meter, einer Orion-8103-Ross-Kombinationselektrode und einem Brinkmann/Metrohm-665-Dosimat-Titrimeter durchgeführt. Die erhaltenen Aktivität-gegen-Volumen-Titrationsskurven wurden mit einem kürzlich beschriebenen Tabellenkalkulationsprogramm analysiert.^[15]

Eingegangen am 17. März 1999 [Z13178]

International Edition: *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1999**, *38*, 3192–3194

Stichwörter: Lanthanoide • Makrocyclische Liganden • NMR-Spektroskopie • Relaxation

- [1] a) R. B. Lauffer, *Chem. Rev.* **1987**, *87*, 901; b) S. H. Koenig, R. D. Brown III, *Prog. NMR Spectrosc.* **1990**, *22*, 487; c) J. A. Peters, J. Huskens, D. J. Raber, *Prog. NMR Spectrosc.* **1996**, *28*, 283; d) S. Aime, M. Botta, M. Fasano, E. Terreno, *Chem. Soc. Rev.* **1998**, *27*, 19.
- [2] K. Micskei, L. Helm, E. Brücher, A. E. Merbach, *Inorg. Chem.* **1993**, *32*, 3844.
- [3] S. Aime, A. Barge, M. Botta, D. Parker, A. S. De Sousa, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 4767.
- [4] a) R. A. Moats, S. E. Fraser, T. J. Meade, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1997**, *36*, 726; b) W. H. Li, S. E. Fraser, T. J. Meade, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 1413.
- [5] H. Maumela, R. D. Hancock, L. Carlton, J. H. Reibenspies, K. P. Wainwright, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 6698.
- [6] L. Alderighi, A. Bianchi, L. Calabi, P. Dapporto, C. Giorgi, P. Losi, L. Paleari, P. Paoli, P. Rossi, B. Valtanoli, M. Virtuani, *Eur. J. Inorg. Chem.* **1998**, *1581*.

- [7] S. Aime, M. Botta, E. Terreno, P. L. Anelli, F. Uggeri, *Magn. Reson. Med.* **1993**, *30*, 583.
- [8] C. F. G. C. Geraldes, A. D. Sherry, G. E. Kiefer, *J. Magn. Reson.* **1992**, *97*, 290; A. D. Sherry, J. Ren, J. Huskens, E. Brücher, É. Tóth, C. F. G. C. Geraldes, M. M. C. A. Castro, W. P. Cacheris, *Inorg. Chem.* **1996**, *35*, 4604.
- [9] M. P. M. Marques, C. F. G. C. Geraldes, A. D. Sherry, A. E. Merbach, H. Powell, D. Pubanz, S. Aime, M. Botta, *J. Alloys Compd.* **1995**, *225*, 303.
- [10] H. G. Brittain, J. F. Desreux, *Inorg. Chem.* **1984**, *23*, 4459.
- [11] M. C. Alpoim, A. M. Urbano, C. F. G. C. Geraldes, J. A. Peters, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* **1992**, *463*.
- [12] D. Pubanz, G. Gonzalez, D. H. Powell, A. E. Merbach, *Inorg. Chem.* **1995**, *34*, 4447.
- [13] a) J. Hall, R. Häner, S. Aime, M. Botta, S. Faulkner, D. Parker, A. S. de Sousa, *New J. Chem.* **1998**, *16*, 627; b) D. A. Beauregard, D. Parker, K. M. Brindle, *Abstr. Pap. 6th ISMRM Meeting* (Sydney) **1998**, *53*; c) M. Mikawa, N. Miwa, T. Akaike, A. Maruyama, *Abstr. Pap. 6th ISMRM Meeting* (Sydney) **1998**, *210*; d) M. Mikawa, N. Miwa, T. Akaike, A. Maruyama, *Abstr. Pap. 7th ISMRM Meeting* (Philadelphia) **1999**, *344*.
- [14] K. Yamauchi, M. Kinoshita, M. Imoto, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1972**, *45*, 2531; K. Yamauchi, Y. Mitsuda, M. Kinoshita, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1975**, *48*, 3285.
- [15] J. Huskens, H. van Bekkum, J. A. Peters, *Comput. Chem.* **1995**, *19*, 409.

Übergangsmetallinduzierte Pentamerisierung eines Phosphaalkins**

Peter Kramkowski und Manfred Scheer*

Professor Manfred Regitz zum 65. Geburtstag gewidmet

Die Chemie der Phosphaalkine wurde in den letzten 15 Jahren sehr intensiv untersucht, wobei Aspekte der elementorganischen Chemie^[1] und der Koordinationschemie^[2] in gleicher Weise bearbeitet wurden. Grundlage dieser immensen Entwicklung bildete die erstmalige Herstellung des kinetisch stabilisierten *t*BuC≡P durch G. Becker im Jahre 1981^[3, 4] und deren verbesserten Präparation durch M. Regitz und G. Becker.^[5] Mit dieser Verbindung wurde der Hauptteil der Untersuchungen zur Folgechemie von Phosphaalkinen durchgeführt, während das Supermesitylphosphaalkin Mes*C≡P (Mes* = 2,4,6-*t*Bu₃C₆H₂) und das Adamantylphosphaalkin AdC≡P (Ad = C₁₀H₁₅) sehr wenig in solche Untersuchungen einbezogen wurden. Kürzlich konnte von Regitz und Mitarbeitern erstmals das Mesitylphosphaalkin MesC≡P (Mes = 2,4,6-Me₃C₆H₂) in präparativ nutzbaren Mengen hergestellt werden.^[6]

Ein zentraler Aspekt der Untersuchungen zur Reaktivität der Phosphaalkine in Übergangsmetallverbindungen ist der

[*] Prof. Dr. M. Scheer, Dr. P. Kramkowski
Institut für Anorganische Chemie der Universität
D-76128 Karlsruhe
Fax: (+49) 721-661921
E-mail: mascheer@achim6.chemie.uni-karlsruhe.de

[**] Diese Arbeit wurde vom Fonds der Chemischen Industrie und von der Deutschen Forschungsgemeinschaft gefördert. Herrn Prof. Dr. M. Regitz danken wir für die anregende Diskussion zur Retrosynthese von Verbindung **2**.