

- [13] a) R.-D. Schnebeck, L. Randaccio, E. Zangrando, B. Lippert, *Angew. Chem.* **1998**, *110*, 128; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, *37*, 119; b) R.-D. Schnebeck, E. Freisinger, B. Lippert, *Chem. Commun.* **1999**, 675.
 [14] S.-W. Lai, M. C.-W. Chan, S.-M. Peng, C. M. Che, *Angew. Chem.* **1999**, *111*, 696; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38*, 669.
 [15] L. Schenetti, G. Bandoli, A. Dolmella, G. Trovo, B. Longato, *Inorg. Chem.* **1994**, *33*, 3169.
 [16] P. Chaudhuri, I. Karpenstein, M. Winter, C. Butzlaff, E. Bill, A. X. Trautwein, U. Flörke, H. J. Haupt, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1992**, 321.
 [17] A.-K. Duhme, S. C. Davies, D. L. Hughes, *Inorg. Chem.* **1998**, *37*, 5380.
 [18] P. Biscarini, R. Kuroda, *Inorg. Chim. Acta* **1988**, *154*, 209.
 [19] A.-K. Duhme, R. C. Hider, H. H. Khodr, *Chem. Ber.* **1997**, *130*, 969.

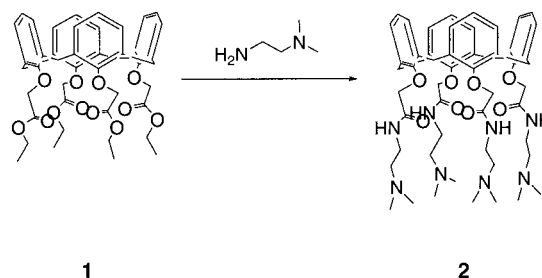
Erster nichtkovalent gebundener Calix[4]aren-Gd^{III}-Albumin-Komplex

L. Henry Bryant, Jr.,* Alexander T. Yordanov,
 Jenny J. Linnoila, Martin W. Brechbiel und
 Joseph A. Frank

Gadolinium(III) wird in Form von Chelatkomplexen seit langem als Kontrastmittel in der Kernspintomographie (einem NMR-Bildgebungsverfahren, magnetic resonance imaging, MRI) verwendet, und zwar wegen seiner elektronischen Konfiguration f^7 und langen Relaxationszeit. Die nichtkovalente Anbindung von Gd^{III}-Komplexen geringer Molekülmasse an Serumalbumin liefert makromolekulare Blutkreislauf-MR-Kontrastmittel, die eine erhöhte Wirksamkeit und längere Verweilzeiten im Blutkreislauf aufweisen, allerdings ohne die sonst üblichen Probleme bei der Ausscheidung.^[1] Lauffer et al.^[2] sowie andere haben die Synthese und die Relaxivität (Geschwindigkeitskonstante der Relaxation) nichtkovalent gebundener Addukte von Gd^{III}-Komplexen beschrieben.^[3] Zur Chelatisierung wurden Diethylentriaminpentaessigsäure(DTPA)- sowie 1,4,7,10-Tetraazacyclododecan-1,4,7,10-tetraessigsäure(DOTA)-Derivate verwendet, die eine lipophile Gruppe enthalten. Überraschend ist, dass trotz des beträchtlichen Interesses an der Entwicklung wasserlöslicher, Lanthanoidionen bindender Calix[4]arene für zahlreiche Anwendungen^[4,5] keine Daten für wässrige Lösungen vorliegen, anhand derer ihr Potential als MR-Kontrastmittel bewertet werden könnte. Roundhill et al. berichteten über die Relaxivität eines Calix[4]aren-Tetraamid-Gd^{III}-Komplexes

bei 400 MHz.^[5] Die Messung war allerdings in Wasser/DMSO durchgeführt worden, weshalb die Ergebnisse nicht notwendigerweise unmittelbar auf biomedizinische Anwendungen übertragbar sind. Im Folgenden stellen wir den ersten Calix[4]aren-Gd^{III}-Komplex vor, der nichtkovalent an menschliches Serumalbumin (HSA) bindet, wie durch kernmagnetische Relaxationsdispersionsexperimente (magnetic relaxation dispersion, MRD) nachgewiesen wurde.

Das neuartige Tetraamidotetraamin 25,26,27,28-Tetrakis-*N*-(*N,N*-dimethyl-2-aminoethyl)carbamoyloxymethoxycalix[4]aren **2** wurde in einem Schritt aus dem Tetraethylester **1** und *N,N*-Dimethylethyldiamin bei Raumtemperatur in hervorragender Ausbeute hergestellt. Es fällt in Form eines



weißen Niederschlags an und seine Struktur wurde durch Elementaranalyse, ¹H- und ¹³C-NMR-Spektroskopie sowie FAB-Massenspektrometrie bestätigt. Die Stabilitätskonstante des Komplexes, der durch Koordination von Gd^{III} durch die acht Sauerstoffatome am unteren Rand von **2** gebildet wird, beträgt $2 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ (kalorimetrische Titration).^[6] Dieser Wert ist deutlich größer als der für einen anderen Calix[4]aren-Gd^{III}-Komplex erhaltene Wert von $1.0 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$.^[5]

Die $1/T_1$ - und $1/T_2$ -MRD-Daten für Proben, die 0.001M Gd(NO₃)₃·5H₂O und 0.001M **2** enthielten, ohne HSA und nach Zugabe von 2 oder 10 % HSA sind in Abbildung 1 bzw. 2 gezeigt. Das $1/T_1$ -MRD-Profil von [Gd^{III}(**2**)] ähnelt denen der bereits beschriebenen DTPA-Gd^{III}- und DOTA-Gd^{III}-Komplexe.^[7] Dies deutet darauf hin, dass das Gd^{III}-Ion in Lösung neunfach koordiniert ist, wobei eine Koordinationsstelle durch ein Wassermolekül besetzt ist. Die Zugabe von HSA

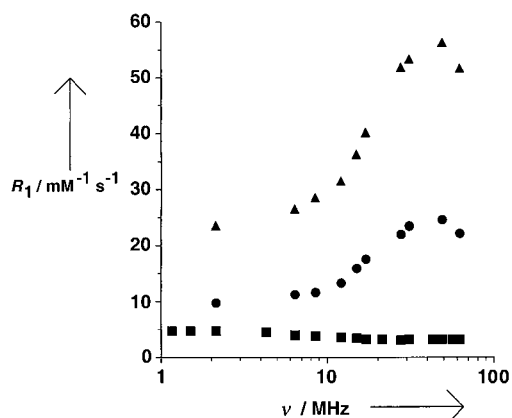


Abbildung 1. $1/T_1$ -H-MRD-Profil von [Gd^{III}(**2**)] ohne (■) sowie in Gegenwart von **2** (●) und von 10 % HSA (▲) bei 23 °C nach Abzug des HSA-Beitrags. ν = Proton-Larmor-Frequenz, R_1 = longitudinale oder Spingitter-Wasserprotonen-Relaxivität.

[*] Dr. L. H. Bryant, Jr., J. J. Linnoila, Dr. J. A. Frank
 Laboratory of Diagnostic Radiology Research (CC)
 Bldg. 10, Room B1N256
 National Institutes of Health
 Bethesda, MD 20892 (USA)
 Fax: (+1) 301-594-2979
 E-mail: blh@helix.nih.gov

Dr. A. T. Yordanov, Dr. M. W. Brechbiel
 Radioimmune & Inorganic Chemistry Section
 Bldg. 10, Room B3B69
 Radiation Oncology Branch
 NCI, National Institutes of Health
 Bethesda, MD 20892 (USA)

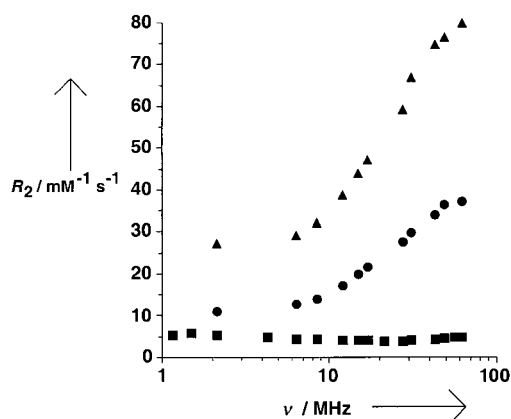


Abbildung 2. $1/T_2$ - ^1H -MRD-Profil von $[\text{Gd}^{\text{III}}(2)]$ ohne (■) sowie in Gegenwart von 2 (●) und von 10% HSA (▲) bei 23 °C nach Abzug des HSA-Beitrags. ν = Proton-Larmor-Frequenz, R_2 = transversale oder Spin-Spin-Wasserprotonen-Relaxivität.

führt zu einem charakteristischen Peak im MRD-Profil.^[8] Dies ist das Ergebnis der Zunahme der Rotationskorrelationszeit (tumbling time) des $[\text{Gd}^{\text{III}}(2)]$ -Komplexes infolge der nichtkovalenten Wechselwirkung mit HSA.

Der an HSA nichtkovalent gebundene Gd^{III} -Komplex verhält sich wie eine Makromolekül; die Anbindung führt also zu einer längeren Rotationskorrelationszeit in Lösung. Damit wird die Elektronenspinrelaxationszeit, die von der Stärke des äußeren magnetischen Feldes abhängt, ausschlaggebend und es resultiert eine erhöhte Relaxivität, die für $[\text{Gd}^{\text{III}}(2)]$ bei einer Larmor-Frequenz von ca. 45 MHz ein Maximum durchläuft. Dass die Relaxivität von $[\text{Gd}^{\text{III}}(2)]$ in Gegenwart von 10% HSA größer ist als in Gegenwart von 2% HSA liegt an der stärkeren Zunahme der Rotationskorrelationszeit und einem dementsprechend größeren Gewicht der Elektronenspinrelaxationszeit von $[\text{Gd}^{\text{III}}(2)]$ in der HSA-reicheren Lösung. Die nichtkovalente Wechselwirkung zwischen $[\text{Gd}^{\text{III}}(2)]$ und HSA erhöht die $1/T_1$ - und die $1/T_2$ -Relaxivitäten bei allen untersuchten Feldstärken gegenüber denen des nicht gebundenen Komplexes.

HSA ist das am häufigsten vorkommende Protein im Blutplasma. Die Ergebnisse der nichtkovalenten Wechselwirkung zwischen $[\text{Gd}^{\text{III}}(2)]$ und HSA in vitro haben daher eine große Bedeutung für die zukünftige In-vivo-Verwendung von Calix[4]aren- Gd^{III} -Komplexen als MR-Kontrastmittel. Die nichtkovalente Wechselwirkung zwischen $[\text{Gd}^{\text{III}}(2)]$ und HSA in vivo könnte die Grundlage einer Anwendung in der dynamischen und der Steady-state-MR-Angiographie bilden und weist darüber hinaus ein großes Potential hinsichtlich der Entwicklung einer neuen Klasse von MR-Kontrastmitteln auf der Grundlage wasserlöslicher Calixarenchelatkomplexe auf.

Experimentelles

Die Reaktion wurde unter Argon durchgeführt. Das Tetraethylcalix[4]-arentetraacetat **1** wurde nach Lit. [9] hergestellt. *N,N*-Dimethylethylendiamin und $\text{Gd}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ wurden von Aldrich Chemical Co., Milwaukee, WI, bezogen. Die Stabilitätskonstante von $[\text{Gd}^{\text{III}}(2)]$ wurde bei MicroCal Inc., Northampton, MA, bestimmt.^[6]

2: 10.0 g **1** wurden in kleinen Portionen zu 30 mL *N,N*-Dimethylethylen-diamin gegeben und die resultierende Lösung wurde 18 h unter Argon gerührt. Das überschüssige Amin wurde bei vermindertem Druck ver-

dampft und der Rückstand mit Diethylether versetzt. Der weiße Niederschlag wurde abfiltriert, mit Diethylether gewaschen und im Vakuum getrocknet. Ausbeute: 11.2 g (92%). Schmp. 213 °C; Elementaranalyse (%): ber. für $\text{C}_{52}\text{H}_{72}\text{N}_8\text{O}_8$: C 66.6, H 7.74, N 12.0; gef.: C 66.7, H 7.86, N 11.8; FAB-MS: m/z : 937.5 [M^+]; ^1H -NMR (CDCl_3): δ = 2.19 (s, 24H; NCH_3), 2.44 (t, 8H; NCH_2), 3.22 (d, 4H; CH_2), 3.41 (q, 8H; CH_2NH), 4.44 (s, 8H; CH_2O), 4.47 (d, 4H; CH_2), 6.58 (m, 12H; ArH), 7.57 (br.s, 4H; mit D_2O austauschbar, NH); ^{13}C -NMR (CDCl_3): δ = 31.03, 37.04, 45.29, 58.11, 74.13, 123.31, 129.02, 134.48, 155.98, 169.76.

MRD-Messungen: Eine HSA-Stammlösung (20% w/v) in deionisiertem Wasser wurde aus 96–99-proz. Albumin (Fraktion V, Sigma Chemical Co., St. Louis, MO) hergestellt. Die Relaxationsmessungen wurden mit einem speziell hierfür entworfenen T_1 - T_2 -Analysator mit variablem Feld (Southwest Research Institute, San Antonio, TX) bei 23 °C durchgeführt. Die Stärke des magnetischen Feldes wurde von 0.02 bis 1.5 T (entsprechend einer Proton-Larmor-Frequenz von 1–64 MHz) verändert. T_1 wurde mit einer Sättigungs-Recovery-Pulssequenz mit 32 inkrementellen Recovery-Zeiten gemessen. Die angegebenen molaren Relaxivitäten (Relaxationsgeschwindigkeitskonstanten bezogen auf eine Gd-Konzentration von 1 mM) wurden nach Subtraktion des Wasserbeitrags bzw. des diamagnetischen Beitrags der 2- oder 10-proz. HSA-Lösung erhalten. T_2 wurde mit einer Carr-Purcell-Meiboom-Gill-Pulssequenz mit 500 Echos und einem Zeitintervall τ von 2 ms zwischen den Echos gemessen.

Eingegangen am 5. Oktober 1999 [Z14109]

- [1] a) R. B. Lauffer, *Chem. Rev.* **1987**, 87, 901; b) S. Aime, M. Botta, M. Fasano, E. Terreno, *Chem. Soc. Rev.* **1998**, 27, 19.
- [2] R. B. Lauffer, D. J. Parmelee, S. U. Dunham, H. S. Ouellet, R. P. Dolan, S. Witte, T. J. McMurry, R. C. Walovitch, *Radiology* **1998**, 207, 529.
- [3] P. Caravan, J. J. Ellison, T. J. McMurry, R. B. Lauffer, *Chem. Rev.* **1999**, 99, 2293.
- [4] a) E. M. Georgiev, J. Clymire, G. L. McPherson, D. M. Roundhill, *Inorg. Chim. Acta* **1994**, 227, 293; b) L. Prodi, S. Pivari, F. Bolletta, M. Hissler, R. Ziessel, *Eur. J. Inorg. Chem.* **1998**, 12, 1959; c) S. V. Shevchuk, E. A. Alexeeva, N. V. Rusakova, Y. V. Korovin, V. A. Bacherikov, A. I. Gren, *Mendeleev Commun.* **1998**, 3, 112; d) F. Arnaud-Neu, M. J. Schwing-Weill, *Synth. Met.* **1997**, 90, 157; e) F. J. Steemers, H. G. Meuris, W. Verboom, D. N. Reinhoudt, E. B. van der Tol, J. W. Verhoeven, *J. Org. Chem.* **1997**, 62, 4229; f) F. Arnaud-Neu, S. Cremin, S. Harris, M. A. McKervey, M. J. Schwing-Weill, P. Schwinte, A. Walker, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* **1997**, 3, 329; g) J. W. Steed, C. P. Johnson, C. L. Barnes, R. K. Juneja, J. L. Atwood, S. Reilly, R. L. Hollis, P. H. Smith, D. L. Clark, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, 117, 11426; h) F. Arnaud-Neu, *Chem. Soc. Rev.* **1994**, 23, 235; i) D. M. Roundhill, *Prog. Inorg. Chem.* **1995**, 43, 533; j) S. Pappalardo, F. Bottino, L. Giunta, M. Pietraszkiewicz, J. Karpiuk, *J. Inclusion Phenom. Mol. Recognit. Chem.* **1991**, 10, 387; k) J. L. Atwood, S. G. Bott, *J. Less-Common Met.* **1986**, 126, 396; l) M. H. B. G. Gansey, F. J. Steemers, W. Verboom, D. N. Reinhoudt, *Synthesis* **1997**, 643; m) N. Sabbatini, M. Guardigli, A. Mecati, V. Balzani, R. Ungaro, E. Ghidini, A. Casnati, A. Pochini, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1990**, 878; n) M. H. B. G. Gansey, W. Verboom, F. C. J. M. van Veggel, V. Vetrogon, F. Arnaud-Neu, M.-J. Schwing-Weill, D. N. Reinhoudt, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* **1998**, 2351.
- [5] E. M. Georgiev, D. M. Roundhill, *Inorg. Chim. Acta* **1997**, 258, 93.
- [6] K. A. Connors, *Binding Constants: The Measurement of Molecular Complex Stability*, Wiley, New York, **1987**, S. 353–355.
- [7] G. Hernandez, M. F. Tweedle, R. G. Bryant, *Inorg. Chem.* **1990**, 29, 5109.
- [8] S. H. Koenig, *Invest. Radiol.* **1994**, 29, S127.
- [9] F. Arnaud-Neu, E. M. Collins, M. Deasy, G. Ferguson, S. J. Harris, B. Kaitner, A. J. Lough, M. A. McKervey, E. Marques, B. L. Ruhl, M. J. Schwing-Weill, E. M. Seward, *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, 111, 8681.