

**Untersuchung der
säurekatalysierten Dissoziationskinetik
und von komplexchemischen Eigenschaften
Gd(III)-haltiger MRT-Kontrastmittel**

Dissertation

zur Erlangung des Grades
des Doktors der Naturwissenschaften
der Naturwissenschaftlich-Technischen Fakultät
der Universität des Saarlandes

von

Tim Scharding

Saarbrücken

2019

Tag des Kolloquiums:

26.04.2019

Dekan:

Prof. Dr. Guido Kickelbick

Berichterstatter:

Prof. Dr. Kaspar Hegetschweiler

PD Dr. Ralf Kautenburger

Vorsitzender:

Prof. Dr. Andreas Speicher

Akademischer Mitarbeiter:

Dr. Andreas Rammo

Ich bedanke mich

bei **Herrn Prof. Dr. Kaspar Hegetschweiler** für die Möglichkeit eine derart interessante Aufgabenstellung unter seiner Anleitung zu bearbeiten, für sein Vertrauen in meine Fähigkeiten und seine ständige Bereitschaft mir bei Problemen mit Rat und Tat zur Seite zu stehen,

bei **Herrn Prof. Dr. Andreas Speicher** für die wissenschaftliche Begleitung meiner Arbeit,

bei der **Firma Bayer**, insbesondere bei **Dr. Thomas Frenzel**, der sich im Rahmen einer langjährigen Kooperation stets sehr hilfsbereit und unterstützend zeigte und mir sogar einen einmonatigen Forschungsaufenthalt in den Laboratorien der Abteilung MR and CT - Contrast Media Research der Bayer Pharma AG ermöglichte,

bei **Dr. Bernd Morgenstern** für die gute Zusammenarbeit, die vielen hilfreichen Tipps, sowie Diskussionen und Anregungen, die sehr zum Erfolg der Arbeit beigetragen haben,

bei meinen Vertiefungspraktikanten **Daniel Lamberty**, **Danjano Trenz** und **Marc Schneider**, die mit Ihren Erkenntnissen ebenfalls einen Beitrag zu meiner Dissertation geleistet haben,

bei **Dr. Volker Huch** für das Durchführen von Röntgenstrukturanalysen und bei **Dr. Bernd Morgenstern** für das Verfeinern eben dieser Strukturdaten,

bei **Susanne Harling** für das Messen vieler Elementaranalysen,

bei **PD Dr. Ralf Kautenburger** und **Mitarbeitern** für die Bestimmung von Metallgehalten in Lösung,

bei allen meinen **Kollegen** und **Kolleginnen** für die gemeinsamen Stunden, in denen wir viel gelacht und Spaß zusammen gehabt haben,

und zuletzt bei meiner **Familie** und meiner **Frau**, die während der ganzen Zeit immer für mich da waren und an mich geglaubt haben.

Abkürzungen und Symbole

Gew.-%	Gewichtsprozent
<i>I</i>	Ionenstärke
L	Ligand
M	Metall
M	Stoffmengenkonzentration in mol·l ⁻¹
Me ₄ N ⁺ X ⁻ ,	Tetramethylammonium(X = Cl ⁻ , OH ⁻ , CH ₃ SO ₃ ⁻ (methansulfonat))
TMA(X)	
NMR, MRT,	Kernspinresonanz (<i>Nuclear Magnetic Resonance</i>), Magnetresonanztomographie, Magnetic Resonance Imaging
MRI	
ORTEP	Oakridge Thermal Ellipsoid Plot
KM	Kontrastmittel
KZ	Koordinationszahl
TMSP- <i>d</i> ₄	Natriumtrimethylsilylpropionat- <i>d</i> ₄

Liganden

dtpa ⁵⁻	Diethylentriaminpentaacetat
dtpa-bma ³⁻	Diethylentriaminpentaacetat-bismethylamid
dtpa-bmea ³⁻	Diethylentriaminpentaacetat-bisethoxymethylamid
eob-dtpa ⁵⁻	(4S)-4-(4Ethoxybenzyl)-3,6,9-triaza-3,6,9-triscarboxymethyl-undecandiacetat
bopta ⁵⁻	4-carboxy-5,8,11-tris(carboxymethyl)-1-phenyl-2-oxa-5,8,11-triazatridecan-13-säure
fosveset ⁶⁻	(2R)-2-[[[(4,4-Diphenylcyclohexyloxy)phosphonyloxy]methyl]-1,4,7-triazaheptan-1,1,4,7,7-pentaacetat
dota ⁴⁻	1,4,7,10-Tetraazacyclododecan-1,4,7,10-tetraacetat
bt-do3a ³⁻	10-[2,3-Dihydroxy-(1-hydroxymethyl)-propyl]-1,4,7,10-tetraazacyclododecan-1,4,7-triacetat
hp-do3a ³⁻	10-(2-Hydroxypropyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan-1,4,7-triacetat
tris	Tris(hydroxymethyl)aminoethan

Inhaltsverzeichnis

Kurzzusammenfassung.....	1
Abstract	2
Zusammenfassung.....	3
1. Einleitung	5
1.1. Medizinische Diagnostik.....	5
1.2. Magnetresonanz-Tomographie.....	6
1.3. MRT-Kontrastmittel: Eigenschaften und Anforderungen.....	9
1.4. Stabilität von Gd(III)-haltigen Kontrastmitteln.....	15
1.4.1. Thermodynamische Stabilität	17
1.4.2. Kinetische Stabilität.....	22
1.5. Zielsetzung	28
2. Ergebnisse und Diskussion.....	29
2.1. Überblick.....	29
2.2. Verfolgung des Komplexzerfalls durch pH-stat Messungen	32
2.3. pH-stat Experimente.....	45
2.3.1. Bemerkungen zur Methode	45
2.3.2. Komplexe offenkettiger Liganden.....	50
2.3.3. Komplexe makrozyklischer Liganden.....	51
2.3.3.1. Gd(<i>hp</i> -do3a); <i>Prohance</i> [®]	57
2.3.3.2. Gd(<i>bt</i> -do3a); <i>Gadovist</i> [®]	84
2.3.3.3. Gd(<i>dota</i>) ⁻ ; <i>Dotarem</i> [®]	101
2.4. Verfolgung des Komplexzerfalls durch Messung von Protonenrelaxationsraten	112
2.5. Relaxivitätsexperimente	116
2.5.1. Bemerkungen zur Methode	116
2.5.2. Komplexe offenkettiger Liganden.....	118
2.5.3. Komplexe makrozyklischer Liganden.....	119
2.6. Bewertung und Vergleich beider Methoden	133

2.7. Protonierung und Deprotonierung der Komplexe	145
2.8. Strukturaufklärung im Festkörper	161
2.8.1. Strukturaufklärung von $[\text{Gd}(\text{H}_2\text{dota})(\text{H}_2\text{O})]\text{Cl}\cdot\text{H}_2\text{O}$	161
2.8.2. Strukturaufklärung kaliumhaltiger Komplexe mit H_4dota	170
2.8.2.1. Strukturaufklärung von $[\text{CsK}_2(\text{H}_4\text{dota})_4]\text{Cl}_3$	170
2.8.2.2. Strukturaufklärung von $[\text{K}_2(\text{H}_4\text{dota})_2]\text{Cl}_2$	176
3. Experimenteller Teil.....	181
3.1. Liganden und Chemikalien	181
3.2. Potentiometrische Titration	183
3.3. Untersuchung des Komplexzerfalls mittels eines pH-stat.....	186
3.4. Untersuchung des Komplexzerfalls mittels Messung der Protonenrelaxation.....	188
3.5. Metallkomplexsynthesen.....	190
3.5.1. Synthese von $[\text{Gd}(\text{H}_2\text{dota})(\text{H}_2\text{O})]\text{Cl}\cdot\text{H}_2\text{O}$	190
3.5.2. Synthese von $[\text{CsK}_2(\text{H}_4\text{dota})_4]\text{Cl}_3$	191
3.5.3. Synthese von $[\text{K}_2(\text{H}_4\text{dota})_2]\text{Cl}_2$	192
3.6. Isolation der Liganden beziehungsweise Komplexe	193
3.7. Charakterisierung relevanter Substanzen	194
3.8. Weitere Analyseergebnisse	196
4. Literaturverzeichnis.....	200
5. Anhang	211
5.1. NMR-Spektren	211
5.2. Kristallographischer Anhang.....	220

Kurzzusammenfassung

In dieser vergleichenden Studie wurde die Dissoziationskinetik der drei kommerziellen makrozyklischen Gd(III)-haltigen MRT-Kontrastmittel *Prohance*[®] (Gd(hp-do3a)), *Gadovist*[®] (Gd(bt-do3a)) und *Dotarem*[®] (Gd(dota)⁻) untersucht. Die Reaktionskinetik wurde einerseits durch pH-metrische Verfolgung und Ausgleich des Protonenverbrauchs im Zuge der säurekatalysierten Ligandfreisetzung mit einem pH-stat untersucht. Andererseits konnte die Gadoliniumfreisetzung durch Messung von Protonenrelaxationszeiten mit Hilfe der ¹H-NMR-Spektroskopie verfolgt werden. Der Komplexzerfall wurde jeweils anhand verschiedener kinetischer Modelle ausgewertet, um genauere Informationen über den Zerfallsmechanismus und eventuell auftretende Intermediate zu erhalten ($1.0 \leq \text{pH} \leq 2.5$). Letztlich war es so möglich die Geschwindigkeitskonstante k_{Obs} unter vergleichbaren Bedingungen zu bestimmen und eine kinetische Stabilitätsreihenfolge für die Kontrastmittel bei 37 °C festzulegen: *Dotarem*[®] > *Gadovist*[®] > *Prohance*[®] >> Kontrastmittel offenkettiger Liganden. Weiterhin wurde die Protonierbarkeit/Deprotonierbarkeit der oben genannten Komplexe mittels potentiometrischer Titrations untersucht. Darüber hinaus konnten aus verschiedenen Festkörperstrukturen interessante Informationen über in der Literatur postulierte Komplexspezies abgeleitet werden. So konnte unter anderem die Existenz zweifach protonierter Gd(H₂dota)⁺-Spezies, die sich während der säurekatalysierten Dissoziation bilden, belegt werden.

Abstract

In this comparative study the dissociation kinetics of the three commercially available macrocyclic Gd(III)-containing MRI contrast agents *Prohance*[®] (Gd(hp-do3a)), *Gadovist*[®] (Gd(bt-do3a)) and *Dotarem*[®] (Gd(dota)⁻) was researched. On the one hand, the examination of the reaction kinetics was done with a pH-stat through pH-metric tracking and compensation of the proton consumption caused by acid catalyzed ligand release. On the other hand, it was possible to determine the gadolinium release by measurements of proton relaxation times by means of ¹H-NMR spectroscopy. In both cases, the complex decomposition was analyzed with different kinetic models to gain more exact information about the decay mechanism and eventually occurring intermediate species ($1.0 \leq \text{pH} \leq 2.5$). Lately it was possible to determine the rate constant k_{Obs} under comparable conditions and to define a stability order at 37 °C: *Dotarem*[®] > *Gadovist*[®] > *Prohance*[®] >> contrast agents with open-chain ligands. Furthermore, the ability of the above-mentioned complexes to become protonated or deprotonated was investigated with potentiometric titrations. Additional information about postulated complex species was derived from interesting solid-state structures. Thus the existence of the double protonated Gd(H₂dota)⁺ species, which is formed during acid catalyzed dissociation, was proven.

Zusammenfassung

Mit Blick auf die aktuelle Diskussion einer möglichen toxischen Wirkung Gd(III)-haltiger MRT-Kontrastmittel wurde in Zusammenarbeit mit der Firma Bayer Pharma AG (MR & CT Contrast Media Research, Berlin) die kinetische Stabilität der kommerziell erhältlichen Formulierungen (*Prohance*[®] (Gd(hp-do3a)), *Gadovist*[®] (Gd(bt-do3a)) und *Dotarem*[®] (Gd(dota)⁻) unter vergleichbaren Bedingungen untersucht. Bisherige Studien liefern kaum vergleichbare Datensätze, da die Messungen teils unter sehr unterschiedlichen Bedingungen und darüber hinaus mit den verschiedensten Methoden durchgeführt wurden. Da die Makrozyklen aufgrund ihrer hohen kinetischen Inertie sehr langsam zerfallen, wurden die Experimente bei einer Temperatur von 37 °C durchgeführt. Die ungünstige Lage des thermodynamischen Gleichgewichts sorgt zudem dafür, dass nur in sauren Medien eine signifikante Dissoziation zu beobachten ist. Daher wurden die Messungen im Bereich $1.0 \leq \text{pH} \leq 2.5$ durchgeführt. Die Komplexdissoziation konnte einerseits durch pH-metrische Verfolgung und Ausgleich des Protonenverbrauchs ($[\text{H}^+] = \text{konstant}$) im Zuge der säurekatalysierten Ligandfreisetzung mit einem pH-stat in 70 mM Lösungen der Kontrastmittel untersucht werden. Die sehr hohe Komplexkonzentration ist dabei der hohen Protonenkonzentration in Lösung geschuldet. Auf diese Weise werden ausreichend hohe Protonenumsätze für eine pH-metrische Verfolgung gewährleistet. Andererseits konnte die Gadoliniumfreisetzung durch Messung von Protonenrelaxationszeiten mit Hilfe der ¹H-NMR-Spektroskopie in 1 mM Kontrastmittellösungen beobachtet werden. Die Datenauswertung zur Bestimmung der Geschwindigkeitskonstante des Komplexzerfalls k_{Obs} erfolgte bei beiden Messmethoden anhand verschiedener kinetischer Modelle, um genauere Informationen über den Zerfallsmechanismus und eventuell auftretende Intermediate zu erhalten. Das Auftreten von Zwischenprodukten konnte jedoch nicht nachgewiesen werden. Alle Messungen wurden in einem wässrigen, 1 M TMACl-Medium durchgeführt. Lediglich bei der pH-stat Methode war für *Dotarem*[®] ein Wechsel des Inertsalzes notwendig, da dieser Komplex in derart hochkonzentrierten Probenlösungen mit dem Chloridion aus TMACl einen wasserunlöslichen Komplex der Zusammensetzung $[\text{Gd}(\text{H}_2\text{dota})(\text{H}_2\text{O})]\text{Cl} \cdot \text{H}_2\text{O}$ bildet. In diesem Fall fand 1 M TMAMS Verwendung. Die hohe Komplexkonzentration bei dieser Methode erschwerte das Konstanthalten der Ionenstärke im Vergleich zur Methode zur Verfolgung von Relaxationszeiten. Letztlich war es möglich die Geschwindigkeitskonstante k_{Obs} unter vergleichbaren Bedingungen zu bestimmen und eine kinetische Stabilitätsreihenfolge für die Kontrastmittel festzulegen: *Dotarem*[®] > *Gadovist*[®] > *Prohance*[®] >> Kontrastmittel offenkettiger Liganden.

Die Geschwindigkeitskonstanten $k_{\text{Obs}} (\cdot 10^{-3} \text{ h}^{-1})$, ermittelt durch die Verfolgung des Protonenverbrauchs nach einer Reaktion pseudo 1. Ordnung, liegen zwischen pH 2.5 und 1.0 in einem Bereich von: $14.3 \leq k_{\text{Obs}} \leq 549$ für *Prohance*[®], $2.29 \leq k_{\text{Obs}} \leq 51.8$ für *Gadovist*[®] und $0.30 \leq k_{\text{Obs}} \leq 20.7$ für *Dotarem*[®]. Bei Messung von Relaxationszeiten ergeben sich die folgenden Werte: $11.9 \leq k_{\text{Obs}} \leq 391$ für *Prohance*[®], $1.26 \leq k_{\text{Obs}} \leq 45.0$ für *Gadovist*[®] und $0.092 \leq k_{\text{Obs}} \leq 8.16$ für *Dotarem*[®]. Die Reaktionsgeschwindigkeit fällt dabei mit steigendem pH. Der verbleibende Geschwindigkeitsunterschied zwischen beiden Methoden lässt sich nicht gänzlich klären. Es ist jedoch anzunehmen, dass dieser entweder einen Medieneffekt darstellt oder auf den unterschiedlichen Messgrößen an sich beruht. Weiterhin wurde die Protonierbarkeit/Deprotonierbarkeit der Gd(III)-Komplexe mit den Liganden hp-do3a^{3-} , bt-do3a^{3-} und dota^{4-} mittels potentiometrischer Titrations in 10 mM Komplexlösungen (1 M TMAcI oder 1 M TMAMS) bei einer Temperatur von 25 °C untersucht. Aufgrund der relativ hohen Zerfallsgeschwindigkeit des Komplexes Gd(hp-do3a) in sauren Lösungen konnte durch acidimetrische Titration keine Komplexprotonierungskonstante $\log K_{\text{P}}^{\text{Gd}(\text{H}_x\text{L})}$ bestimmt werden. Für die langsamer zerfallenden Komplexe war dies allerdings möglich (Gd(bt-do3a): $\log K_{\text{P}}^{\text{Gd}(\text{HL})} = 1.15(1)$, Gd(dota): $\log K_{\text{P}}^{\text{Gd}(\text{HL})} = 1.22(3)$, $\log K_{\text{P}}^{\text{Gd}(\text{H}_2\text{L})} = 1.0(1)$). Zudem war es möglich alle drei Komplexe in alkalimetrischen Titrations zu deprotonieren (Gd(hp-do3a): $\text{p}K_{\text{S}}^{\text{GdL}} = 11.20(1)$, Gd(bt-do3a): $\text{p}K_{\text{S}}^{\text{GdL}} = 9.39(2)$, Gd(dota): $\text{p}K_{\text{S}}^{\text{GdL}} = 11.4(3)$). Die vergleichsweise hohe Acidität von Gd(bt-do3a) lässt dabei auf die Deprotonierung einer OH-Gruppe des aliphatischen Polyalkohols schließen. Lediglich bei Gd(dota)⁻ kann mit Sicherheit von einer Deprotonierung des komplexgebundenen Wassermoleküls ausgegangen werden. Darüber hinaus konnten sowohl von dem Liganden dota^{4-} als auch von seinem Komplex Gd(dota)⁻ Festkörperstrukturen der Zusammensetzung $[\text{Gd}(\text{H}_2\text{dota})(\text{H}_2\text{O})]\text{Cl} \cdot \text{H}_2\text{O}$, $[\text{CsK}_2(\text{H}_4\text{dota})_4]\text{Cl}_3$ und $[\text{K}_2(\text{H}_4\text{dota})_2]\text{Cl}_2$ erhalten werden. Die Verbindungen bilden ausgedehnte dreidimensionale Strukturen, die über komplexe Wasserstoffbrückennetzwerke aufgebaut werden. Belegen die beiden letztgenannten Strukturen anschaulich die Bildung eines Begegnungskomplexes, in dem das Kaliumion lediglich von Carboxylatresten koordiniert wird und damit nicht in der N₄-Kavität des Komplexes sitzt, so ist vor allem die erstgenannte Struktur von großem Interesse. Sie belegt schließlich die Existenz einer zweifach protonierten Spezies der Form Gd(H_2dota)⁺. Außerdem wird dadurch deren Relevanz für das der säurekatalysierten Komplexdissoziation vorgelagerte schnelle Gleichgewicht zwischen Komplex und seinen protonierten Spezies Gd(H_xL) verdeutlicht.

1. Einleitung

1.1. Medizinische Diagnostik

Weichgewebe und Strukturen im Körperinneren mit nicht-invasiven bildgebenden Diagnose-techniken untersuchen zu können und damit den Patienten nicht mehr als notwendig zu belasten, stellt für die medizinische Diagnostik eine zentrale Herausforderung dar.

Ein sehr weit verbreitetes und hilfreiches bildgebendes Diagnoseverfahren stellt die kontrastverstärkte Magnetresonanz-Tomographie (MRT) dar. Sie erlaubt die nicht-invasive Aufklärung von zwei- beziehungsweise dreidimensionalen Strukturen von Organen und Weichgewebe.^[1] Jährlich werden annähernd 30 Millionen Untersuchungen basierend auf dieser Technologie durchgeführt und auch in Zukunft wird dem Verfahren mit der Integration von neuen Bildgebungsverfahren in die klinische Praxis eine wichtige Rolle zukommen.^[2,3] Andere moderne Diagnosemethoden wie die Röntgentomographie (RT) und die Computertomographie (CT) oder nuklearmedizinische Methoden, wie die Positronen-Emissions-Tomographie (PET) und die Single-Photon-Emissions-CT (SPECT) wurden aufgrund des Einsatzes von ionisierender Strahlung als potentiell kanzerogen eingestuft.^[4,5] Gegenüber diesen Methoden zeichnet sich die MRT, wegen des Verzichts auf ionisierende Strahlung, als besonders sicher aus. Diese Tatsache ist mit ein Grund dafür, dass der Technik seit der ursprünglichen Beschreibung der Kernspinresonanz in den 1940er Jahren von Bloch, Bloembergen und Purcell^[6,7] besondere Aufmerksamkeit der wissenschaftlichen Welt zuteilwurde, weshalb sie bis heute eine stetige Weiterentwicklung erfuhr und erfahren wird.

1.2. Magnetresonanz-Tomographie

Die Möglichkeit der Darstellung hochauflösender dreidimensionaler Bilder des Gewebes ist ein weiterer Grund, welcher diese Technik zu einer der wichtigsten Methoden der medizinischen Diagnostik zur Untersuchung innerer Organe macht.^[1] Die Methode liefert anatomische Bilder, die der Abbildung von Protonen, hauptsächlich denen von Wasser, in verschiedenen Geweben entsprechen.^[8] Dabei dient die Relaxationsgeschwindigkeit der Protonen als Größe zur Erstellung der Gewebebilder.

Wie oben bereits erwähnt, bildet die Kernspinresonanz die physikalische Grundlage dieses Verfahrens.^[9,10] Die Technik beruht dabei auf der Tatsache, dass der Atomkern des Wasserstoffatoms (Proton) einen Eigendrehimpuls besitzt (allgemein gültig für alle Atome mit einem Kernspin I ungleich 0). Die Protonen rotieren also um ihre eigene Achse (Spin) und induzieren dadurch ein magnetisches Dipolmoment. Wirkt nun ein extrinsisches Magnetfeld (z -Richtung) auf die Protonen, so richten sich diese mit ihrem Spinvektor sowohl parallel als auch antiparallel zu diesem Magnetfeld aus, wobei ein geringer Überschuss an parallel ausgerichteten Protonen vorherrscht. Dieser Zustand ist energetisch schließlich etwas günstiger. Durch das externe Magnetfeld wirkt auf die Atomkerne ein Drehmoment, welches die magnetischen Momente in Feldrichtung auslenkt, wodurch es zu einer torkelnden Bewegung um die z -Achse kommt. Diese wird als Präzession bezeichnet. Die Larmor-Frequenz ω_0 der Bewegung steht dabei über die Larmor-Gleichung ($\omega_0 = \gamma \cdot B_0$) in direktem Zusammenhang mit dem gyromagnetischen Verhältnis γ und der äußeren Magnetfeldstärke B_0 . Je stärker das Magnetfeld, desto schneller präzedieren die Spins der Protonen. Da sich die Magnetisierung der statistisch in z -, x - und y -Richtung verteilten, entgegengesetzt ausgerichteten Protonen negiert, resultiert durch den Protonenüberschuss in z -Richtung eine Nettomagnetisierung in eben dieser Richtung. Dieser Magnetisierungsvektor wird als Longitudinalmagnetisierung bezeichnet (*Abbildung 1 a*). Wegen ihrer Ausrichtung parallel zum externen Magnetfeld lässt sich diese aber nicht direkt messen. Durch Anlegen eines hochfrequenten Wechselfeldes, welches sich mit der Larmor-Frequenz der Protonen in Resonanz befindet, werden diese in einen energetisch ungünstigeren Zustand angeregt. Dabei werden einige Spins von $+z$ - in $-z$ -Richtung umgeklappt, und es kommt erneut zur Auslöschung entgegengesetzter Komponenten. Die Longitudinalmagnetisierung nimmt ab.

Gleichzeitig erzeugt der Radiofrequenzimpuls eine Phasenkohärenz der Spins, d. h. die Protonenpräzession wird synchronisiert, wodurch eine Nettomagnetisierung in der x - y -Ebene entsteht. Dieser Vektor wird als Transversalmagnetisierung bezeichnet. Er bewegt sich zunächst in der x - y -Ebene in Phase mit den präzedierenden Protonen. Je nach Dauer und Intensität des eingestrahlten Impulses kann es so zur vollständigen Auslöschung der Longitudinalmagnetisierung kommen (Abbildung 1 b)).

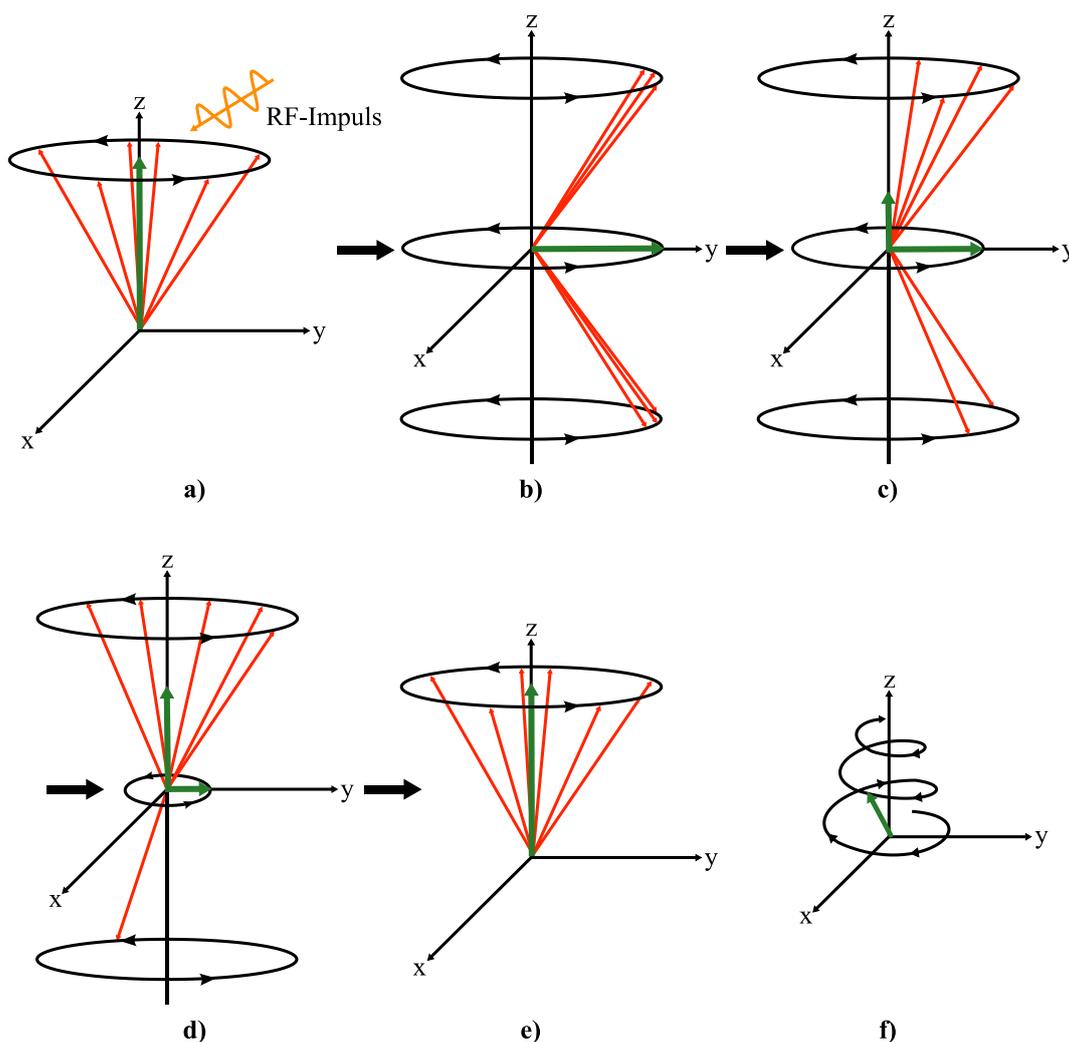


Abbildung 1: Schematische Darstellung der Kernspinresonanz nach Anregung von Protonen mit einem RF-Impuls in Bezug auf typische MRT-Experimente. Rote Pfeile: Orientierung der Spins, grüne Pfeile: Orientierung der longitudinalen (z -Richtung) und der transversalen Magnetisierung (x - y -Ebene). In Anlehnung an [11].

Nach Abschalten des hochfrequenten Wechselfeldes relaxieren die Protonen nach zwei voneinander unabhängigen, aber gleichzeitig ablaufenden Mechanismen in ihren Grundzustand zurück.

Zum einen kommt es zu einer Energieübertragung von den angeregten Protonen auf ihre Umgebung, wodurch wieder mehr Spins parallel als antiparallel in z -Richtung orientiert sind. Deshalb wird dieser Prozess auch als Spin-Gitter-Relaxation bezeichnet (Longitudinalrelaxation). Hierdurch wird die Longitudinalmagnetisierung wiederhergestellt und die Gesamtdauer dieses Prozesses wird mit der longitudinalen Relaxationszeit T_1 beschrieben. Zum anderen baut sich gleichzeitig die Phasenkohärenz der synchronisierten Spins durch Magnetfeldinhomogenitäten und die winzigen, sich gegenseitig beeinflussenden Magnetfelder der umgebenden Protonen ab, weshalb auch die Transversalmagnetisierung wieder abnimmt (Transversalrelaxation). Dieser Prozess wird deshalb auch als Spin-Spin-Relaxation bezeichnet und die Gesamtdauer wird durch die transversale Relaxationszeit T_2 beschrieben (*Abbildung 1 c) bis e)*). Der Summenvektor aus Transversal- und Longitudinalmagnetisierung relaxiert während dieser beiden Prozesse in einer spiralförmigen Bewegung von der Transversalebene (x - y -Ebene) in seine Ausgangslage, der z -Richtung. Er induziert dabei nicht nur den für Magnet-Resonanz-Experimente typischen FID (*free induction decay*) in einer Empfängerspule, sondern repräsentiert auch das gesamte magnetische Moment eines Gewebes (*Abbildung 1 f)*). Die Darstellung der Strukturen des Körperinneren wird aber erst durch den unterschiedlichen Wassergehalt (Protonendichte) und die unterschiedlichen Relaxationszeiten in verschiedenen Gewebearten möglich. Die longitudinale Relaxationszeit T_1 hängt von der Stärke des Magnetfeldes und dem Wassergehalt beziehungsweise der Umgebung im untersuchten Gewebe ab. Je höher der Wassergehalt, desto länger ist T_1 . Die transversale Relaxationszeit T_2 ist in der Regel kürzer als T_1 und hängt vor allem von den extrinsischen und intrinsischen Magnetfeldinhomogenitäten ab. Auf Basis dieser Tatsachen lassen sich nun T_1 - respektive T_2 -gewichtete Abbildungen des Gewebes durch unterschiedliche Pulssequenzen erzeugen. Im Zusammenhang mit paramagnetischen Kontrastmitteln auf Gd(III)-Basis sind aber vor allem T_1 -gewichtete Messungen von Bedeutung, da die prozentuale Änderung von $1/T_1$ in organischem Gewebe deutlich stärker ausfällt als die Änderung von $1/T_2$.^[9,11,12]

1.3. MRT-Kontrastmittel: Eigenschaften und Anforderungen

Die Qualität des Bildkontrastes steht im Fokus der Anwendung von MRT-Kontrastmitteln. Diese kontrastverstärkenden chemischen Metallkomplexe spielen eine entscheidende Rolle für die kontrastverstärkte Magnetresonanztomographie. Die Funktionsweise dieser Substanzen basiert auf der Verkürzung der Relaxationszeiten T_1 und T_2 , respektive einer Erhöhung der Relaxationsraten $1/T_1$ und $1/T_2$ durch den Einfluss paramagnetischer Metalle, allen voran Gd^{3+} . Die Kontrastmittel reichern sich in bestimmten Geweben an und verkürzen dort die Relaxationsgeschwindigkeit der Wasserprotonen in der unmittelbaren Umgebung. ^[12,13,14] Die Bewertung solcher Verbindungen ist über die Relaxivität r_i ($i = 1, 2$) möglich (1). Sie gibt an, wie stark die Relaxationsraten von Wasserprotonen in Gegenwart des paramagnetischen Kontrastmittels, abhängig von dessen Konzentration, zunehmen. $(1/T_i)_d$ bezeichnet dabei die (diamagnetische) Relaxationsrate des umgebenden Lösemittels ohne Kontrastmittel. ^[1,13,15]

$$(T_i)^{-1} = (T_i)_d^{-1} \cdot r_i \cdot [Gd] \quad (1)$$

Darüber hinaus ist es möglich die aktuellen Verbindungen nach ihrem Effekt auf das aufgenommene Bild (Kontrast) und ihren magnetischen Eigenschaften einzuordnen. ^[16] Paramagnetische Substanzen verstärken den Kontrast in T_1 -gewichteten Aufnahmen, wodurch das Gewebe, in dem sich die Substanz anreichert, heller beziehungsweise signalreicher erscheint. Sie werden deshalb auch als positive Kontrastmittel bezeichnet. ^[11,13,16] Superparamagnetische Eisenoxid-Nanopartikel (*SPIO*) wirken sich jedoch besonders auf die T_2 -Zeit aus und bewirken nach Anreicherung in Geweben eine Verdunkelung dieser Regionen. Aus diesem Grund werden sie auch als negative Kontrastmittel bezeichnet. ^[16-19]

Paramagnetische Metallionen, also Ionen mit einem oder mehreren ungepaarten Elektronen verfügen über ein permanentes magnetisches Moment. In wässrigen Lösungen kommt es zu dipolaren Wechselwirkungen zwischen dem ausgeprägten fluktuierenden Magnetfeld in der Umgebung des Metallions, welches rapide mit der Distanz zum Metall abnimmt, und dem deutlich kleineren magnetischen Moment der umgebenden Wasserprotonen. Dabei führen zufällige Schwankungen dieser dipolaren Wechselwirkung in der Folge molekularer Bewegungen zu einer Verkürzung der transversalen und longitudinalen Relaxationszeiten. ^[1,13,14,20]

Wenig überraschend hat sich Gd^{3+} mit seinen 7 ungepaarten Elektronen und dem daraus resultierenden, besonders stark ausgeprägten paramagnetischen Moment sowie seiner langen Elektronenspin-Relaxationszeit als besonders geeignetes Metallion zur Verwendung in Kontrastmitteln erwiesen.^[12,13,21] Neben dem Metallion spielen noch weitere entscheidende Faktoren bei der Beeinflussung der Relaxivität der Komplexe eine Rolle. Diese Faktoren und Mechanismen werden mit den Solomon-Bloembergen-Morgan-Gleichungen (SBM) über die Theorie der paramagnetischen Relaxation genauer beschrieben und sollen an dieser Stelle nur kurz und rein qualitativ erläutert werden.^[12,13,22–26]

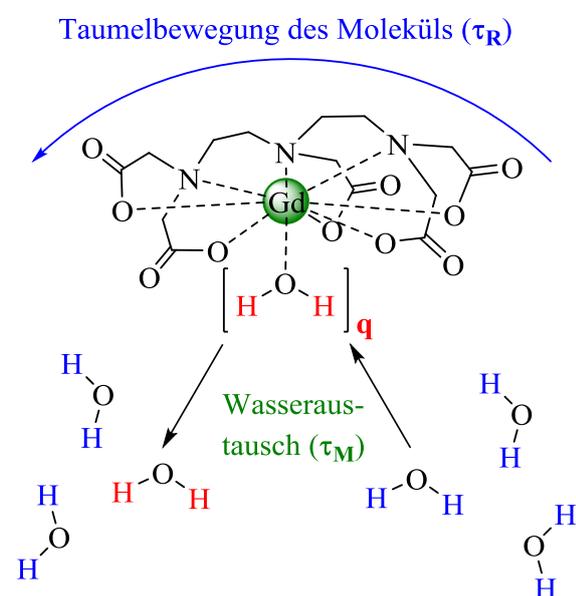


Abbildung 2: Schematische Darstellung der Faktoren und Mechanismen, welche die Relaxivität r_1 eines typischen MRT-Kontrastmittels (hier: $[Gd(dtpa)(H_2O)]^{2-}$, *Magnevist*[®]) entscheidend beeinflussen. Dargestellt sind die Taubelbewegung des Komplexes τ_R , der Wasseraustausch zwischen Innen- und Außensphäre τ_M sowie die Anzahl der direkt in der ersten Koordinationssphäre an das Gd^{3+} gebundenen Wassermoleküle q . In Anlehnung an [13].

Die Relaxationsrate der Lösemittelprotonen setzt sich dabei aus einem diamagnetischen Anteil (Relaxationsrate des Lösemittels ohne paramagnetische Substanz) und einem paramagnetischen Anteil zusammen. Der paramagnetische Anteil hängt wiederum linear von der Konzentration der paramagnetischen Substanz ab. Der durch das starke fluktuierende Magnetfeld um Gd^{3+} herum eröffnete paramagnetische Relaxationsweg enthält jeweils die Anteile der Innen- und Außensphärenrelaxation der Lösemittelmoleküle. In der inneren Koordinationssphäre befinden sich nur die direkt an das Metallzentrum gebundenen Wassermoleküle. Die nächste Sphäre enthält über Wasserstoffbrücken an den Komplex oder Gegenionen gebundene Wassermoleküle. In der äußeren Sphäre befindet sich das freie Lösemittel. Der Innensphärenanteil der Relaxationsrate beruht auf den Dipol-Dipol-Wechselwirkungen zwischen fluktuierendem Magnetfeld des Metallzentrums und dem der Protonen des koordinierten Wassermoleküls, und nimmt mit steigendem Gd–H Abstand rapide ab.

Aus diesem Grund sind die Bindung des Wassermoleküls der inneren Sphäre und der Austausch mit der Umgebung für die Übertragung der Wechselwirkung so wichtig.^[1] Aus den SBM-Gleichungen geht in diesem Zusammenhang klar hervor, dass die Relaxivität vor allem durch eine Erhöhung der Hydratationszahl q ($q = 1$ bei allen kommerziell erhältlichen MRT-Kontrastmitteln) sowie eine Optimierung der Wasseraustauschgeschwindigkeit τ_M zwischen erster und zweiter Koordinationssphäre beziehungsweise dem umgebenden Lösemittel und der Rotationskorrelationszeit τ_R der Taumelbewegung des Komplexes verbessert werden kann (Abbildung 2).

Die Verwendung von Gd^{3+} bringt neben der Verkürzung der Relaxationszeiten allerdings nicht nur Vorteile mit sich. Gadolinium(III)-Ionen (107.8 pm) verfügen über einen ähnlichen Ionenradius wie Ca^{2+} (114 pm) und sind deshalb äußerst toxisch, da sie physiologische Prozesse inhibieren können, die von der Aufnahme von Calcium(II)-Ionen abhängig sind (z. B. Bildung der Skelettmuskulatur).^[27,28] Diese Probleme lassen sich allerdings umgehen, indem die $Gd(III)$ -Ionen durch Chelatliganden L^x in thermodynamisch und kinetisch stabilen Komplexen gebunden werden und so die Freisetzung der schädlichen Ionen vor der natürlichen Ausscheidung weitgehend verhindert wird.^[8,27]

Tabelle 1: Kommerziell erhältliche Kontrastmittel, Markennamen und Vertrieb. Angegeben sind die Akronyme der Liganden in ihrer vollständig deprotonierten Form.

Ligand	Markenname	Firma
dtpa ⁵⁻	<i>Magnevist</i> [®] [b]	Bayer HealthCare
dtpa-bma ³⁻	<i>Omniscan</i> [®] [a]	GE Healthcare
dtpa-bmea ³⁻	<i>Optimark</i> [®] [a]	Mallinckrodt Inc.
eob-dtpa ⁵⁻	<i>Eovist</i> [®] , <i>Primovist</i> [®]	Bayer HealthCare
fosveset ⁶⁻	<i>Ablavar</i> [®] , <i>Vasovist</i> [®] [c]	Lantheus Medical Imaging
bopta ⁵⁻	<i>Multihance</i> [®]	Bracco Imaging
dota ⁴⁻	<i>Artirem</i> [®] , <i>Dotarem</i> [®]	Guerbet
bt-do3a ³⁻	<i>Gadovist</i> [®]	Bayer HealthCare
hp-do3a ³⁻	<i>Prohance</i> [®]	Bracco Imaging

[a]: Sollen seit 2017 wegen Bedenken hinsichtlich der Stabilität laut der European Medicines Agency (EMA) in Europa nicht mehr verwendet werden. [b]: Seit 2017 laut EMA nur noch in geringen Dosen. [c]: Entzug der Vermarktungsberechtigung durch die EMA in Europa im Oktober 2011.^[29,30]

Alle in den aktuell kommerziell erhältlichen Kontrastmitteln (*Tabelle 1*) verwendeten Liganden zählen zur Substanzklasse der Polyaminopolycarboxylate. Sie verfügen jeweils über acht Donorgruppen (gemischter Satz aus N- und O-Donoratomen) und koordinieren dementsprechend achtzählig an Gd^{3+} , wobei dieses in der Koordinationszahl Neun vorliegt und somit die verbleibende, freie Koordinationsstelle mit einem Wassermolekül besetzt ist. Dieses fungiert als Vermittler der dipolaren Wechselwirkung zwischen paramagnetischem Gadolinium(III) und der Umgebung.^[12,13] Die in den heutigen Kontrastmitteln verwendeten Liganden lassen sich strukturell ganz grundlegend in zwei verschiedene Unterklassen aufteilen. Ausgehend vom 1,4,7,10-Tetraazacyclododecan (makrozyklisch) oder dem offenkettigen Diethylentriamin-Grundgerüst werden alle diagnostisch eingesetzten Liganden (*Abbildung 3*) durch Anfügen weiterer metallbindender Substituenten (Carboxylate, Amide, ...) an die Stickstoffatome des Rückgrats erhalten. Eine weitere Unterteilung ergibt sich aus der Ladung der aus den vollständig deprotonierten Liganden L^{x-} und Gd^{3+} gebildeten Komplexe. Je nach Ladung der koordinierenden Donoratome ergeben sich neutrale (L^{3-}) oder anionische (L^{4-} bis L^{6-}) Komplexe. Insgesamt lassen sich die Substanzen so in vier Untergruppen unterteilen, die sich direkt in ihrer thermodynamischen Stabilität unterscheiden ($\log K_{GdL(I)} < \log K_{GdL(II)} < \log K_{GdL(III)} < \log K_{GdL(IV)}$):

(I) nicht-ionische, also ungeladene Komplexe aus den beiden Diamid-Derivaten in *Omniscan*[®] und *Optimark*[®].

(II) ungeladene Komplexe der makrozyklischen Derivate, bei denen ein Acetat durch einen neutralen Substituenten ersetzt wurde, in *Gadovist*[®] und *Prohance*[®].

(III) anionische Komplexe (zweifach oder dreifach negativ geladen) der offenkettigen Derivate, ohne neutrale Donoratome, in *Magnevist*[®], *Primovist*[®], *Vasovist*[®] und *Multihance*[®].

(IV) der anionische Komplex $[Gd(dota)]^-$ mit dem makrozyklischen Liganden $dota^{4-}$.

Ob ein Komplex ionischen oder nicht-ionischen Charakter aufweist, hat direkten Einfluss auf den pGd, bzw. die effektive Wirksamkeit bei physiologischem pH ($pGd = -\log[Gd^{3+}]$ bei pH 7.4, Totalkonzentration $[Gd^{3+}]_t = 1 \mu M$ und $[L]_t = 10 \mu M$). Die ionischen Komplexe haben durchweg höhere pGd-Werte, weshalb unter physiologischen Bedingungen deutlich weniger freies Gd^{3+} vorliegt als bei den neutralen Verbindungen.

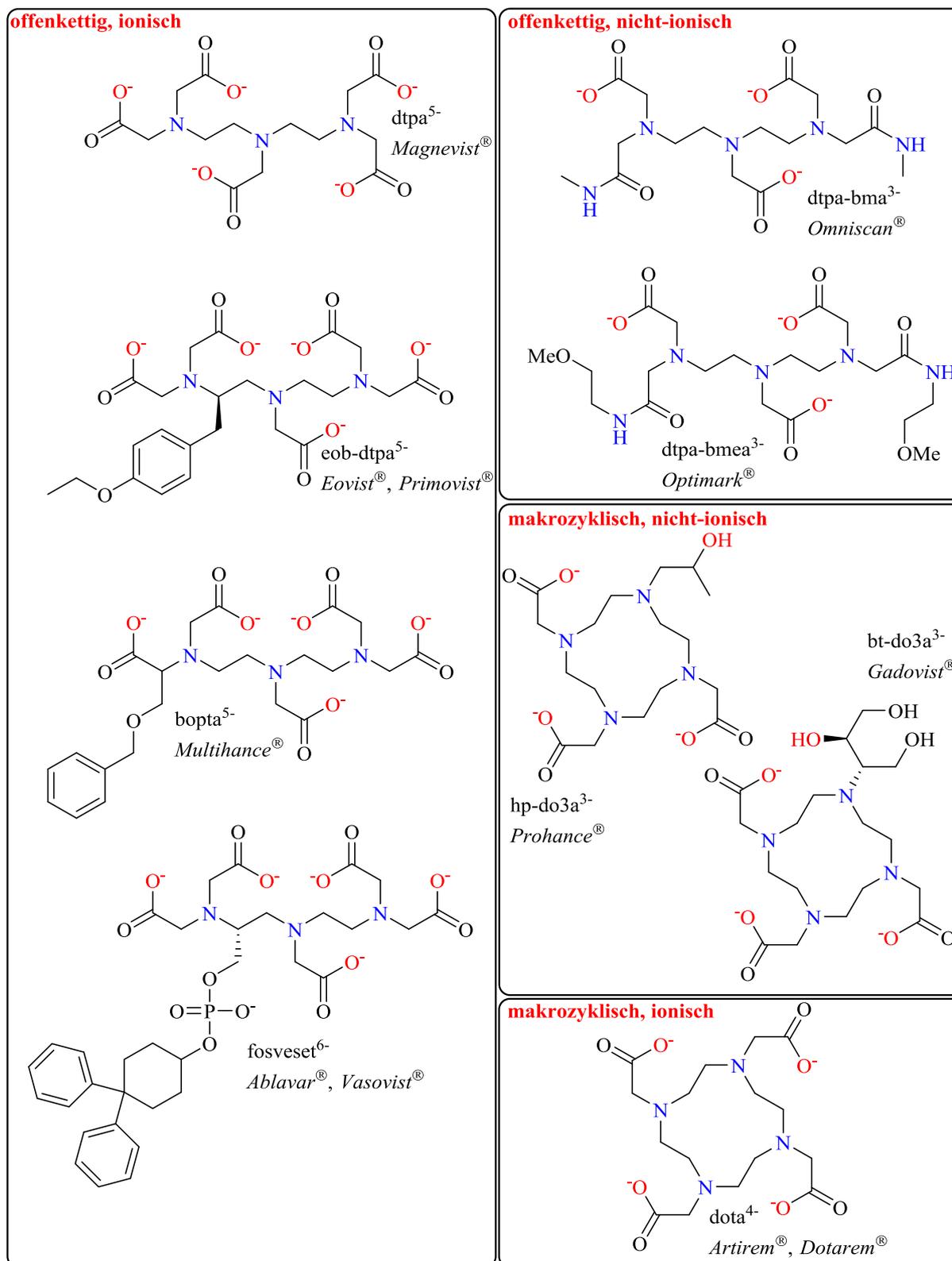


Abbildung 3: Strukturformeln der in kommerziell erhältlichen Gd(III)-haltigen Kontrastmitteln verwendeten Liganden in ihrer vollständig deprotonierten Form L^x . Der Übersicht halber sind Donoratome, die direkt an das Metallzentrum koordinieren farbig dargestellt.

So entsprechen die pGd-Werte der vier nicht-ionischen Komplexe ($15.3 \leq \text{pGd} \leq 16.1$) in etwa dem von $[\text{Gd}(\text{edta})]^-$ ($\text{pGd} = 15.6$)^[31,32], welches trotz seiner vergleichsweise hohen thermodynamischen Stabilität ($\log K_{\text{GdL}} = 17.4$) ähnlich toxisch ist wie GdCl_3 ($\text{LD}_{50} \sim 0.5 \text{ mmol/kg}$).^[1,33] Die pGd-Werte der anionischen Komplexe liegen, ungeachtet der Struktur ihres Grundgerüsts, alle in einem sehr engen Bereich ($18.6 \leq \text{pGd} \leq 19.6$)^[31,32], aber deutlich über den neutralen Komplexen und sind damit im Vergleich in etwa drei bis vier Zehnerpotenzen stabiler. Das heißt, dass konstitutionelle Unterschiede (offenkettig vs. makrozyklisch) offenbar kaum bis gar keine Rolle spielen.

Es muss aber unbedingt betont werden, dass die hier angegebene Stabilitätsreihenfolge nicht die Inertie der Komplexe mit einbezieht und deshalb nicht für die Beurteilung der Sicherheit eines Kontrastmittels innerhalb des menschlichen Körpers herangezogen werden darf. Hier spielen andere Faktoren eine entscheidende Rolle, die im weiteren Verlauf der Arbeit diskutiert werden.

Neben der Beeinflussung der thermodynamischen Stabilität konnten, durch Derivatisierung der beiden Grundgerüste, verschiedene Eigenschaften, wie z. B. die Wasserlöslichkeit oder das Verteilungsverhalten der Komplexe im Körper gesteuert werden. Die relativ hydrophilen Komplexe der Liganden dtpa^{5-} , $\text{dtpa-bma}^{3-/-\text{bmea}^{3-}}$, hp-/bt-do3a^{3-} und dota^{4-} reichern sich deshalb im extrazellulären Raum an und werden hauptsächlich über die Nieren ausgeschieden. Bei eob-dtpa^{5-} und bopta^{5-} wurde die Lipophilie allerdings gesteigert, und es kommt dadurch zur hepatozellulären Aufnahme und der Verteilung im Leber-Gallen-Trakt^[13,34], Gadofosveset hingegen bindet reversibel an humanes Serumalbumin (HSA) im Blut und ermöglicht so die Abbildung der Blutgefäße^[35].

1.4. Stabilität von Gd(III)-haltigen Kontrastmitteln

Die offensichtliche Toxizität von freiem Gadolinium(III) für den menschlichen Organismus stellt eine grundlegende Anforderung an die in MRT-Kontrastmitteln verwendeten Komplexe dar. Sie müssen in vivo äußerst stabil sein, um eine Dissoziation vor der Ausscheidung aus dem Körper zu vermeiden. Der Begriff der Stabilität muss in diesem Zusammenhang allerdings von verschiedenen Standpunkten aus betrachtet werden. Im Mittelpunkt vieler Untersuchungen stehen deshalb zum einen die thermodynamische Stabilität (Komplexbildungskonstanten) und zum anderen die kinetische Stabilität (Inertie) der Komplexe.^[36–40] Mit erstmaligem Auftreten der nephrogenen systemischen Fibrose (NSF) bei Patienten mit geschwächter Nierenfunktion im Jahr 1997^[41], die 2006 von zwei unabhängigen Arbeitsgruppen^[42,43] in Zusammenhang mit der Gabe von Gd(III)-haltigen MRT-Kontrastmitteln, insbesondere mit der nicht-ionischen Verbindung [Gd(dtpa-bma)] (*Omniscan*[®]), gebracht wurde, nahm das Interesse an der Stabilität und der Sicherheit dieser Substanzen stark zu.^[44–47] Die Entstehung der NSF wird dabei auf die verlangsamte Ausscheidung der Komplexe bei Patienten mit einer ernsten Nierenfunktionsstörung und damit einhergehend der Komplexdissoziation und der anschließenden Akkumulation von freiem Gd^{3+} zurückgeführt. Die mittlere Verweilzeit beträgt im Körper von gesunden Patienten nur wenige Stunden, wohingegen sich die Dauer der Ausscheidung bei nierengeschwächten Patienten auf mehrere Tage belaufen kann.^[38] Die Erkrankung führt zur Bildung von Hautläsionen, die sich in der Verhärtung der Haut und des subkutanen Gewebes äußern. In schlimmen Fällen kann dies zur vollständigen Bewegungsunfähigkeit und schließlich dem Befall von Organen, wie Lunge, Leber und sogar dem Herzen führen. Die Krankheit verläuft potentiell tödlich, und es existiert bis heute keine spezifische Therapie, die sich bewährt hätte.^[48–50] In der Folge erhalten heute nierengeschädigte Patienten keine Kontrastmittel mit ungünstigem Langzeitverhalten mehr, weshalb die Anzahl der NSF Erkrankungen in den letzten Jahren deutlich zurückgegangen ist.^[49] Die besorgniserregende Beobachtung, dass es gerade nach Mehrfachgabe von MRT-Kontrastmitteln auch bei gesunden Patienten zu einer Freisetzung von Gadolinium(III)-Ionen kommen kann, welche sich offensichtlich in kleineren Mengen im Gehirn ablagern, hat in letzter Zeit jedoch erneut für großes Aufsehen gesorgt. Die Frage nach dem Mechanismus der Gadoliniumaufnahme und der Überwindung der Blut-Hirn-Schranke ist allerdings noch ungeklärt.^[51,52]

In diesem Zusammenhang haben *in vitro* Studien gezeigt, dass makrozyklische Komplexe, aufgrund ihrer viel langsameren Kinetik in Bezug auf Dissoziations- beziehungsweise Transmetallierungsreaktionen, eine deutlich geringere Neigung zur Freisetzung von Gd^{3+} zeigen, als ihre linearen Gegenstücke. Aus diesem Grund gelten die makrozyklischen Verbindungen auch heute noch als besonders sicher. Die viel weniger inerten linearen Vertreter sind im Gegensatz dazu wesentlich anfälliger für Komplexdissoziation oder Transmetallierung mit zweiwertigen Metallen, die im Körper relativ häufig vorkommen (Zn^{2+} , Cu^{2+} , Ca^{2+}).^[47,53-55]

Das Risiko für den Patienten an NSF zu erkranken, lässt sich basierend auf diesen Beobachtungen ebenfalls, ganz analog zu den in *Kapitel 1.3 S. 9* erläuterten thermodynamischen Stabilitätsklassen, qualitativ einordnen. Für das Risiko einer Erkrankung ergibt sich die Reihenfolge: offenkettig und nicht-ionisch (Klasse I) > offenkettig und anionisch (Klasse III) >> makrozyklisch und nicht-ionisch (Klasse II) > makrozyklisch und anionisch (Klasse IV).^[38] Die Kategorisierung nach der Inertie der Verbindungen unterstreicht noch einmal, dass diese nicht im Einklang mit der zuvor getätigten Kategorisierung nach der thermodynamischen Stabilität steht. Schließlich sind die Positionen der makrozyklisch nicht-ionischen und der offenkettig anionischen Verbindungen vertauscht.

Die Ausführungen der letzten Seiten lassen sich anhand einiger grundlegender Konzepte zur Thematik der thermodynamischen und kinetischen Stabilität in Bezug auf Gd(III)-haltige MRT-Kontrastmittel leicht verstehen und sollen deshalb im Folgenden genauer beleuchtet werden. Mit Hilfe dieser Konzepte ist eine grundlegende Beurteilung der Sicherheit einer solchen Verbindung möglich.

1.4.1. Thermodynamische Stabilität

In der Literatur wurden zwei Konzepte zur Erklärung der thermodynamischen Stabilität von Gadoliniumchelaten vorgeschlagen.^[38] Zum einen ist eine Betrachtung der thermodynamischen Stabilitätskonstanten $\log K_{\text{GdL}}$ und $\log K_{\text{kond.}}$ möglich. Diese spiegeln die Affinität des Liganden zu Gadolinium wieder und eignen sich im Grunde nur zur Bestimmung der frei in wässriger Lösung vorliegenden Gleichgewichtskonzentration an Gd^{3+} beziehungsweise Ligand. Zum anderen kann die Selektivität, also die relative in vitro Stabilitätskonstante $K_{\text{sel.}}$, in Anwesenheit endogen verfügbarer Ionen (Ca^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Fe^{3+} , H^+ , OH^- , CO_3^{2-} , PO_4^{3-} , ...), betrachtet werden.^[47,56]

Während der Komplexbildung zwischen Gd^{3+} (M) und Ligand (L) stellt sich ein Gleichgewicht zwischen Produkten und Edukten ein (2).



Anwendung des Massenwirkungsgesetzes auf (2) führt zur thermodynamischen Gleichgewichtskonstante (3).

$$K_{\text{therm}} = [ML] \cdot ([M] \cdot [L])^{-1} \quad (3)$$

Diese wird üblicherweise logarithmisch ausgedrückt ($\log K_{\text{therm}} = \log K_{\text{GdL}}$). Der Übersicht halber werden innerhalb von Gleichungen in der Regel keine Ladungen angegeben. Die Bestimmung solcher Gleichgewichtskonstanten ist mithilfe potentiometrischer Titrations von Metall-Ligand-Lösungen möglich, sofern die Protonierungskonstanten des jeweiligen Liganden bekannt sind.^[37,52] Die Kernaussage der Gleichungen (2) und (3) lautet im Grunde, dass die thermodynamische Stabilitätskonstante $\log K_{\text{GdL}}$ umso größer ist, je weiter das Gleichgewicht auf die Seite des Komplexes verschoben ist, also je stabiler der gebildete Komplex ist.

Aus dieser Betrachtungsweise (nur gültig bei hohem pH, also vollständiger Deprotonierung des Liganden) lassen sich die Komplexe bezüglich ihrer tatsächlichen Stabilität bei physiologischem pH allerdings nicht direkt vergleichen, da hierfür die pK_S -Werte des jeweiligen Liganden im relevanten pH-Bereich berücksichtigt werden müssen. Zur besseren Vergleichbarkeit kann in diesem Zusammenhang die konditionelle Stabilität betrachtet werden, welche die Protonierungsstufen des Liganden berücksichtigt (4).^[37,38]

$$k_{kond.} = \frac{[M_{(komplex)}]}{[M_{(frei)}] \cdot [H_n L_{(frei)}]} \quad (4)$$

$[M_{(komplex)}]$ bezieht sich auf das gesamte komplexgebundene Metall, also die Summe aller Teilchen, die sowohl M als auch L gleichzeitig enthalten ($[M_{(komplex)}] = [ML] + [ML_2] + \dots + [M(HL)] + \dots + [M(OH)L] + \dots$). $[M_{(frei)}]$ steht für die Konzentration freier Metallionen in Lösung und $[H_n L_{(frei)}]$ bezieht sich auf die Summe aller Protonierungsprodukte des Liganden ($[H_n L_{(frei)}] = [L] + [HL] + \dots + [H_n L]$). Die Notwendigkeit dieser Größe lässt sich an einem einfachen Gedankenexperiment verdeutlichen. Für den Vergleich der Komplexbildung von Gd^{3+} mit dem Liganden $dtpa^{5-}$ ($\log K_{GdL} = 22.15(1)$) und dem Liganden $dota^{4-}$ ($\log K_{GdL} = 26.26(5)$) zeigt sich, dass die Affinität von $dtpa^{5-}$ zu Gd^{3+} aufgrund der saureren pK_S -Werte im Vergleich zu $dota^{4-}$ bis pH 4 deutlich größer ist, obwohl die thermodynamische Stabilität ca. um den Faktor 10^4 kleiner ist. Dieses Beispiel zeigt sehr deutlich die Wichtigkeit der Berücksichtigung von pK_S -Werten beim Vergleich der Komplexstabilität bei physiologischem pH ($\log K_{kond.}$). Dementsprechend zeigt eine höhere konditionelle Stabilität bei pH 7.4 auch eine erhöhte Stabilität eines Komplexes gegenüber eines anderen Komplexes an.

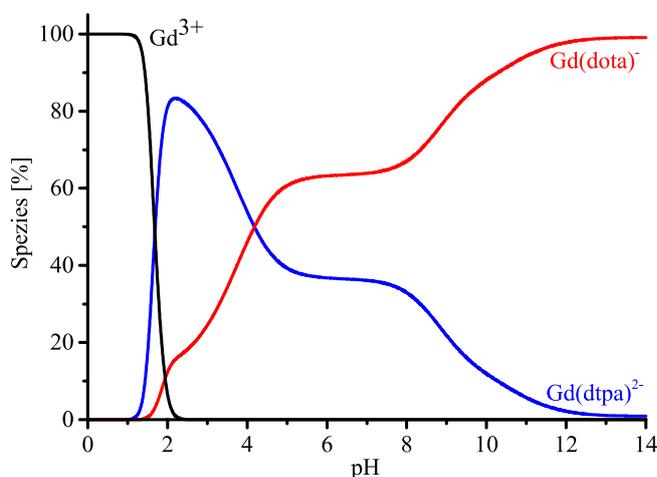
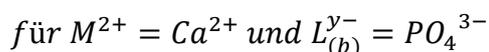
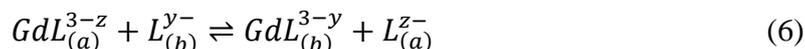
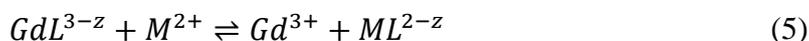


Abbildung 4: Vergleich des Gleichgewichtsanteils der beiden Komplexe $Gd(dota)^-$ (rot, $\log K_{kond.} = 18.65$,) und $Gd(dtpa)^{2-}$ (blau, $\log K_{kond.} = 18.14$) in Abhängigkeit des pH. Grundlage dieser Simulation bilden die pK_S -Werte (1 M TMACl) aus den Arbeiten von T. Scharding^[32] und A. Klein^[31].

Eine weitere hilfreiche Größe, die einen direkten Vergleich der Komplexstabilität erlaubt, ist der pM -Wert^[58] ($M = Gd^{3+}$, $pGd = -\log [Gd^{3+}]$). Dieser gibt an, wie viel Gd^{3+} bei physiologischem pH und definierten Ligand- bzw. Metallkonzentrationen ($pH = 7.4$, $[M]_{total} = 1 \mu M$, $[L]_{total} = 10 \mu M$) frei in Lösung vorliegt.

Insbesondere neueste Studien^[47], welche versuchen eine Vielzahl endogener, im menschlichen Plasma vorliegenden Komponenten miteinzubeziehen, um das Reaktionsgeschehen im Körper möglichst genau abzubilden, stellen fest, dass beim Kontrastmittelzerfall primär die Inertie (kinetische Stabilität) der Komplexe eine Rolle spielt und weniger ihre thermodynamische Stabilität.

Inerte Komplexe können in aller Regel unverändert ausgeschieden werden, auch wenn das thermodynamische Gleichgewicht auf die Seite der Zerfallsprodukte verschoben ist, weshalb die Bedeutung der einfachen Komplexbildungskonstanten (3) und (4) nicht überschätzt werden sollte. Die verfügbaren Stabilitätskonstanten zeigen zwar deutlich, dass das Gleichgewicht für alle Liganden bei pH 7.4 auf Seiten des Produktes GdL liegt, die Gefahr biologisch relevanter Gadoliniumfreisetzung besteht aber vielmehr in Transmetallierungsreaktionen mit den oben genannten endogenen Ionen. Die Reaktionen (5) bis (7) beschreiben diesen Freisetzungsprozess und werden zusätzlich durch diese Ionen katalysiert. Die Lage des Gleichgewichts lässt sich also nicht mit der intrinsischen Komplexstabilität (3) beurteilen, sondern es muss die Selektivität^[59] des Liganden bezüglich der beteiligten Kationen betrachtet werden.



Es ist allerdings so, dass sich die Selektivität von Polyaminopolycarboxylaten bezüglich Gd^{3+} , Ca^{2+} , Cu^{2+} und Zn^{2+} kaum unterscheidet, weshalb eine Erhöhung der Stabilität bezüglich eines bestimmten Kations (Ligandsynthese) die Selektivität gegenüber allen anderen Kationen gleichermaßen steigert. Dieses Verhalten ist nicht unerwartet, sondern es ist bekannt, dass sich die Affinität engverwandter Liganden für verschiedene Metallkationen durch eine lineare freie Energiebeziehung beschreiben lässt.^[60] Da der Grund für die Gd^{3+} Freisetzung in der Transmetallierung liegt, verbessert eine erhöhte Komplexstabilität die Biostabilität kaum bis gar nicht.

Ist der Gadoliniumaustausch jedoch genügend langsam (hohe Inertie), wird immer noch eine intakte Ausscheidung des Kontrastmittels gewährleistet, weshalb dem Aspekt der kinetischen Stabilität eine wesentlich größere Aufmerksamkeit geschenkt werden muss. Diese Interpretation deckt sich mit der in *Kapitel 1.4* aufgestellten Reihenfolge für die Gefahr an einer NSF zu erkranken, je nach verabreichtem Kontrastmittel.

Die hier beschriebenen thermodynamischen und konditionellen Stabilitätskonstanten sowie die Selektivität spiegeln zwar die Affinität der Liganden zu Gd^{3+} und die Lage des Gleichgewichts wieder, sind allerdings nur gültig, solange dem System eine ausreichende Zeit gegeben wird, um das thermodynamische Gleichgewicht zu erreichen.^[37,38] Zusammenfassend lässt sich jedoch sagen, dass alle kommerziell erhältlichen MRT-Kontrastmittel bei physiologischem pH thermodynamisch außerordentlich stabil sind ($pGd > 15$)^[31,32] sowie, dass bei Eintrag in neutrale wässrige Lösungen keine spontane Freisetzung von Gd^{3+} zu erwarten ist.

Die hohe thermodynamische Stabilität ist dabei hauptsächlich auf elektrostatische Wechselwirkungen zwischen Gd^{3+} (oxophile, harte Lewis-Säure) und den Donorgruppen des Chelatliganden zurückzuführen. Da die Bindungen in Gadoliniumchelaten überwiegend ionischen Charakter aufweisen, bilden sich mit mehrzähligen Polyaminopolycarboxylaten stabile Komplexe, und die quantitative Größe ihrer Stabilität wird maßgeblich von drei entscheidenden strukturellen Faktoren beeinflusst.^[13,37,38,61] (a) Die Gesamtbasizität ($\sum pK_S$) des Liganden, welche sich durch Summation der pK_S -Werte jedes einzelnen Donoratoms ergibt, korreliert direkt und linear mit der elektrostatischen Wechselwirkung zwischen Metall und Ligand beziehungsweise der thermodynamischen Komplexstabilität ($\log K_{GdL}$ vs. $\sum pK_S$).^[62] (b) Im Zusammenhang mit dem Chelateffekt stellt die Anzahl der gebildeten Chelatfünfringe (N–Gd–O und N–Gd–N), welche wegen der optimalen Ringgröße eine geringe sterische Spannung aufweisen, einen weiteren, die Stabilität beeinflussenden, strukturellen Faktor dar.^[63] (c) Zuletzt spielt der makrozyklische Effekt, welcher mit der Größe der gebildeten Kavität und der Präorganisation, dem starren Ringgerüst und der Konformation makrozyklischer Liganden zusammenhängt, eine wichtige Rolle.^[64] Diese strukturellen Aspekte haben grundlegende Auswirkungen auf die Stabilität der Komplexe. Der ionische Charakter eines Komplexes beeinflusst seine Stabilität drastisch. Nichtionische Donoratome (Amid-N) sind, aufgrund der geringeren elektrostatischen Wechselwirkung, weniger stark an das Metall gebunden als ionische Donoratome (Carboxylat-O). Deshalb ist der zweifach negativ geladene $Gd(dtpa)^{2-}$ Komplex (fünf Carboxylat-O) wesentlich stabiler als seine neutralen Derivate $Gd(dtpa-bma)$ und $Gd(dtpa-bmea)$.

Gleiches gilt für die Stabilität von $\text{Gd}(\text{dota})^-$ und seinen neutralen Derivaten $\text{Gd}(\text{hp-do3a})$ und $\text{Gd}(\text{bt-do3a})$. Offenkettige Liganden mit der gleichen Zahl und Art an Donoratomen wie dtpa^{5-} bilden ähnlich stabile Komplexe (eob-dtap^{5-} , bopta^{5-} , ...). Sie profitieren nicht vom makrozyklischen Effekt und bilden entsprechend weniger fünfgliedrige Chelatringer, weshalb sie alle deutlich weniger stabil als der ionische $\text{Gd}(\text{dota})^-$ Komplex sind.^[27,31,32,37,38]

1.4.2. Kinetische Stabilität

Lineare, offenkettige Liganden bilden zwar thermodynamisch stabile Metallkomplexe, zeigen jedoch aufgrund der hohen Flexibilität beziehungsweise Mobilität des Ligandgerüsts eine vergleichsweise hohe kinetische Labilität ($t_{1/2} < 5$ s, pH = 1, 25 °C, säurekatalysiert). Die wesentlich rigideren, stark präorganisierten makrozyklischen Liganden dissoziieren hingegen viel langsamer ($3.9 \text{ h} < t_{1/2} < 338 \text{ h}$, pH = 1, 25 °C), sind also kinetisch wesentlich inerte als die linearen Verbindungen, was in Einklang mit den vorherigen Ausführungen steht. Auch für die Geschwindigkeit der Gadoliniumfreisetzung ergibt sich die bekannte Komplexreihenfolge: $v(\text{Gd}(\text{dota})^-) < v(\text{Gd}(\text{bt-d03a})) < v(\text{Gd}(\text{hp-d03a})) \ll v(\text{linear, offenkettige Gd(III)-KM})$.^[38] Es ist offensichtlich, dass die thermodynamische Stabilität allein nicht ausreichend ist, um die *in vivo* Stabilität zu charakterisieren, sondern dass kinetische Parameter die entscheidende Rolle übernehmen.

In der Literatur sind zahlreiche Studien bekannt, die wesentliche Aspekte der kinetischen Stabilität von Gd(III)-haltigen MRT-Kontrastmitteln diskutieren.^[27,36–39,47,65–67] Es werden verschiedene Modelle diskutiert, die versuchen die Freisetzung von Gd^{3+} -Ionen quantitativ zu erfassen. Es ist unbestritten, dass in biologischen Medien hauptsächlich katalysierte Reaktionen zwischen den Komplexen und endogenen Ionen (Metallkationen und Liganden) eine Rolle spielen ($\text{GdL} + \text{M}^* \rightleftharpoons \text{Gd}^{3+} + \text{M}^*\text{L}$).^[37]

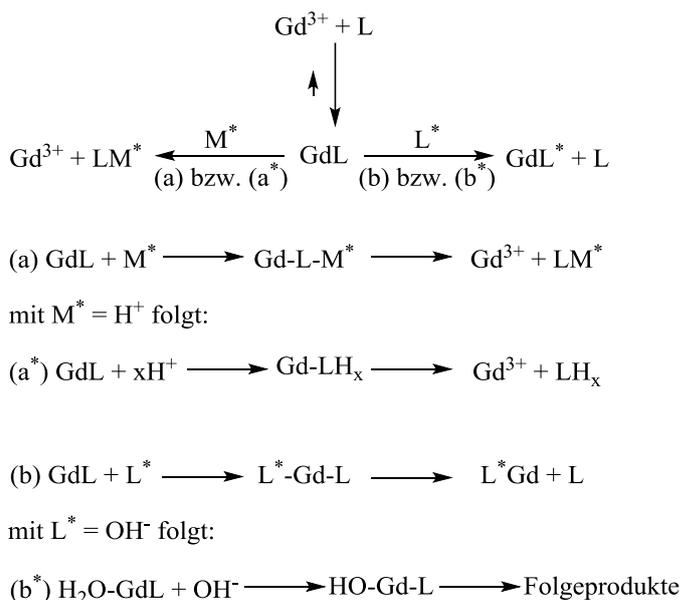


Abbildung 5: Schematische Darstellung der relevanten Prozesse beim katalysierten (a, b) und unkatalysierten Zerfall der Gadoliniumkomplexe. (a) Katalyse durch Lewisäuren M^* ; (a^{*}) $\text{M}^* = \text{H}^+$, Säurekatalyse; (b) Katalyse durch Lewisbasen L^* ; (b^{*}) $\text{L}^* = \text{OH}^-$, Basenkatalyse.

Die Komplexdissoziation erfolgt entweder säurekatalysiert mit anschließender, schneller Reaktion zwischen dem freigesetzten Liganden und endogenen Metallkationen oder durch direkten Angriff des endogenen Metalls unter Bildung mehrkerniger Intermediate.^[38,66] Unter kinetischer Stabilität wird in diesem Zusammenhang die Inertie solcher Komplexe gegenüber Reaktionen verstanden, die eine Freisetzung von Gd^{3+} bewirken könnten.

Biologisch relevante Gadoliniumfreisetzung ist nur möglich, wenn die Zerfallsreaktion selbst katalysiert wird und eine Stabilisierung der Zerfallsprodukte erfolgt (*Abbildung 5*). Die Anwesenheit einer endogenen Lewisäure oder -base kann eine Umkoordination bewirken. (Bildung von LM^* oder L^*Gd). In der Folge kommt es zu einer Labilisierung der Gd-L Bindung und letztlich zur Freisetzung von Gd^{3+} .^[65] Da in biologischen Medien eine Vielzahl an nieder- und hochmolekularen Metallkomplexbildnern (z. B. Citrat, Transferrin^[68]) wie auch konkurrierende Metallkationen (Mg^{2+} , Ca^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Fe^{3+})^[47] vorliegen, ergibt sich ein unüberschaubares Geflecht an möglichen Reaktionswegen. Darüber hinaus sind die Dissoziationsraten bei physiologischem pH für alle Chelate äußerst gering und damit chemisch kaum erfassbar. Aus diesem Grund beschränken sich die Untersuchungen dieser Arbeit auf die in wässrigen Medien omnipräsente Lewisäure H^+ und -base OH^- , deren Konzentrationen sich sehr exakt durch Zugabe entsprechender Säure oder Base und durch pH-Messung kontrollieren lassen.

Katalytische Ligandabspaltung durch H^+ (Säurekatalyse)^[69] oder OH^- (Basenkatalyse)^[70] ist für Metallkomplexe ein seit langem wohlbekanntes Phänomen. Bei der Säurekatalyse erfolgt die Protonierung an einer basischen funktionellen Gruppe des koordinierten Liganden, wodurch die Metall-Ligand-Bindung geschwächt und damit die Ligandabspaltung erleichtert wird (*Abbildung 6 a*). Basenkatalytisch kann eine schwach saure Funktionalität des Liganden deprotoniert werden. Im Falle der Gadoliniumkomplexe kommt hierfür nur das in der ersten Sphäre koordinierte Wassermolekül in Frage. In der Folge wird die entsprechende Metall-Ligand-Bindung zwar vorerst gestärkt (höhere Elektronendichte), es kommt jedoch nach einem "Push-Pull"-Mechanismus zu einer Labilisierung von Bindungen zu anderen Liganden oder funktionellen Gruppen, insbesondere in *trans*-Position, wodurch diese nun leichter vom Metall gelöst werden. Da auf diesem Wege die Bildung von Gadoliniumhydroxo-Spezies zugänglich wird, stellt sich die Frage, ob die Deprotonierung von $GdL(H_2O)$ (abhängig vom pK_s des koordinierten Wassers) zu $GdL(OH)$ und darauf folgend die Freisetzung von Gd^{3+} respektive die Fällung von $Gd(OH)_3$ beobachtbar ist.

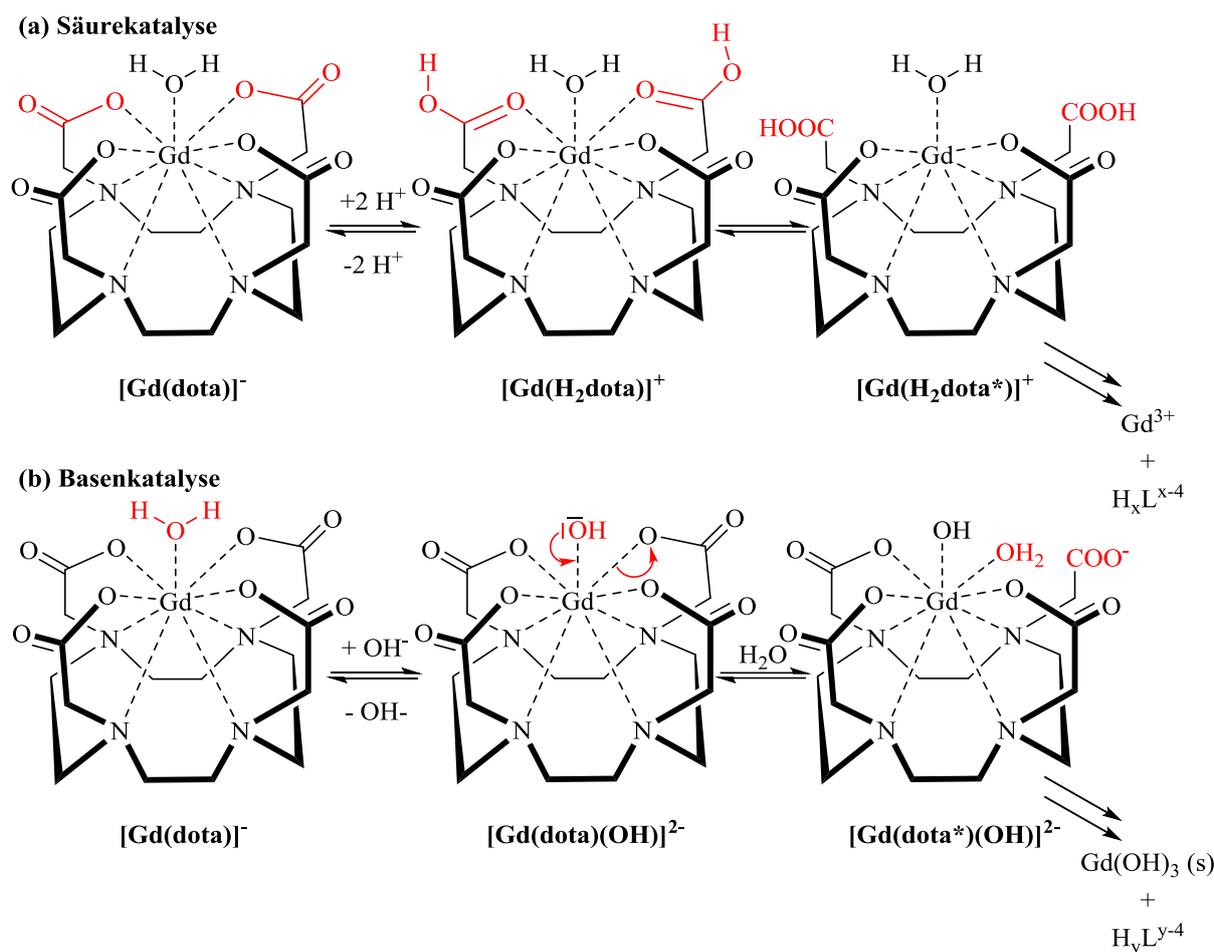
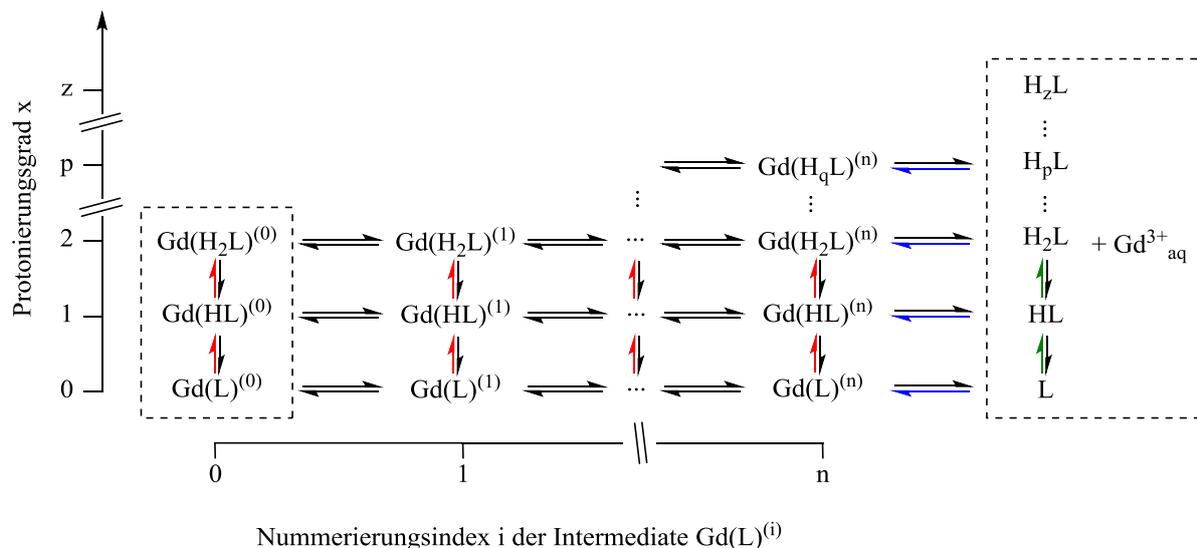


Abbildung 6: Schematische Darstellung möglicher erster Schritte während der Säure- (a) bzw. Basenkatalyse (b), die jeweils über mehrere weitere Schritte zur Bildung von freiem Gd^{3+} , respektive festem $Gd(OH)_3$ führen.

Die Ligandablösung muss dabei, nach den in *Abbildung 6* gezeigten ersten Schritten der Säure- beziehungsweise Basenkatalyse, in mehreren weiteren Schritten erfolgen. In diesem Zusammenhang erhebt sich natürlich die Frage nach der Bildung von Zwischenprodukten, und ob deren Identifikation und die Verfolgung ihrer Bildung sowie ihres Zerfalls als Funktion der Zeit beobachtet werden kann. Die Erfassung solcher Zwischenprodukte setzt zum einen voraus, dass ihre Bildungsgeschwindigkeit die ihres Zerfalls deutlich überschreitet. Anderenfalls würde das transiente Intermediat nur zu einem sehr geringen, über einen langen Zeitraum nahezu konstanten Anteil, vorliegen (“*steady-state*“). Gleichzeitig muss die Lebensdauer der Intermediate aber lange genug sein, um die Erfassbarkeit zu ermöglichen. Andererseits spielt die Unterscheidbarkeit der Spezies eine wichtige Rolle. So ist es mit gadoliniumselektiven Elektroden ausschließlich möglich freies Gd^{3+} zu bestimmen, nicht aber komplexgebundenes Gadolinium.

Geeignete spektroskopische Methoden, wie z. B. die Messung der Protonenrelaxation, ermöglichen hingegen die Bestimmung beider Formen. Der zugrundeliegende Mechanismus von Komplexbildung, respektive –dissoziation wurde in der Literatur ausführlich, jedoch nicht immer zutreffend, diskutiert.^[47,65,71] Zum korrekten Verständnis der relevanten Sachverhalte, ist es notwendig, die folgenden grundlegenden Voraussetzungen zu überblicken (Abbildung 7).



Geschwindigkeitsgesetze der Bildung und des Zerfalls der Intermediate $[Gd(H_xL)^{(i)}]$

$$\frac{d[Gd(H_xL)^{(i)}]}{dt} = k_{(x)}^{(+i)} [Gd(H_xL)^{(i-1)}] \quad (8) \quad \frac{d[Gd(H_xL)^{(i-1)}]}{dt} = k_{(x)}^{(-i)} [Gd(H_xL)^{(i)}] \quad (9)$$

Geschwindigkeitsgesetze der Protonierung bzw. Deprotonierung dieser Intermediate

$$\frac{d[Gd(H_xL)^{(i)}]}{dt} = k_{(x)}^{(+cp)} [Gd(H_{x-1}L)^{(i)}][H^+] \quad (10) \quad \frac{d[Gd(H_{x-1}L)^{(i)}]}{dt} = k_{(x)}^{(-cp)} [Gd(H_xL)^{(i)}] \quad (11)$$

Geschwindigkeitsgesetze der Komplexbildung bzw. der Dissoziation

$$\frac{d[Gd(H_xL)^{(n)}]}{dt} = k_{(x)}^{(+c)} [Gd^{3+}][H_xL] \quad (12) \quad \frac{d[Gd^{3+}]}{dt} = k_{(x)}^{(-c)} [Gd(H_xL)^{(n)}] \quad (13)$$

Geschwindigkeitsgesetze der Protonierung bzw. Deprotonierung des Liganden

$$\frac{d[H_xL]}{dt} = k_{(x)}^{(+lp)} [H_{x-1}L][H^+] \quad (14) \quad \frac{d[H_{x-1}L]}{dt} = k_{(x)}^{(-lp)} [H_xL] \quad (15)$$

Abbildung 7: Schematische Darstellung der Elementarschritte der säurekatalysierten Komplexdissoziation. Die Geschwindigkeitsgesetze der einzelnen Reaktionen sind jeweils angegeben ((8) bis (15)) und farblich nach ihrer Reaktionsordnung kodiert. Schwarz: Reaktion erster Ordnung, farbig: Reaktion zweiter Ordnung, (+) und (-): Reaktionsrichtung, c: Komplexbildung, cp: Komplexprotonierung, lp: Ligandprotonierung.

Die gesamte, säurekatalysierte Komplexdissoziation verläuft in einzelnen Schritten, die prinzipiell alle für sich reversibel sind. Interne Umlagerungen folgen einer Reaktion erster Ordnung (monomolekularer Prozess). Gleiches gilt für Deprotonierungen sowie die Ablösung des Liganden vom Komplex. Protonierungsreaktionen sowie die Bildung des Komplexes sind bimolekulare Reaktionen und verlaufen demnach nach einer Reaktion zweiter Ordnung (*Abbildung 7*).

Der Protonierungsgrad nimmt während der säurekatalysierten Ligandablösung zu. Die in MRT-Kontrastmitteln verwendeten Gadoliniumkomplexe, insbesondere die makrozyklischen Vertreter, können in saurer Lösung maximal zweifach protoniert werden.^[39] Es resultiert ein pH abhängiges Gleichgewicht zwischen GdL , $Gd(HL)$ und $Gd(H_2L)$. Die freien Liganden hingegen können in saurer Lösung fünf- bis sechsfach protoniert vorliegen. Für die Dissoziation ergibt sich in *Abbildung 7* also ein genereller Reaktionspfad von unten links nach oben rechts. Es ist klar, dass sich der genaue Weg allerdings in Abhängigkeit des pH ändern muss, da in stark sauren Lösungen sowohl für Edukte als auch Produkte höhere Protonierungsgrade erzielt werden. Des Weiteren können sich unterschiedlich protonierte Intermediate strukturell unterscheiden und es kann davon ausgegangen werden, dass sich der Mechanismus der Ligandablösung je nach pH ändert. Nach dem Prinzip der mikroskopischen Reversibilität müssen Komplexbildung und -zerfall bei definiertem pH allerdings nach dem gleichen Mechanismus über dieselben Intermediate erfolgen. Dies gilt auch für Systeme, die weit vom thermodynamischen Gleichgewicht entfernt sind.^[72]

Die Zuordnung eines Mechanismus wird weiterhin dadurch verkompliziert, dass davon ausgegangen werden muss, dass die Gesamtreaktion gleichzeitig über mehrere Pfade ablaufen kann. Aus dem pH abhängigen Gleichgewicht zwischen den drei Komplexspezies $Gd(H_xL)$ ergeben sich mehrere Reaktionspfade, die parallel durchlaufen werden. Dabei wäre es allerdings unzutreffend den bevorzugten Pfad der dominierenden Spezies zuzurechnen. Gemäß Gleichung (8) ist die Umsatzrate im ersten Schritt sowohl von der Geschwindigkeitskonstante $k_x^{(i)}$ als auch von der Konzentration der relevanten Spezies $[Gd(H_xL)]$ abhängig. Das Haupteingangstor des Komplexzerfalls kann z. B. $Gd(H_2L)$ sein, selbst wenn die Spezies nur zu einem sehr geringen Anteil vorliegt (z. B. $< 1\%$), solange in diesem Fall das Verhältnis $k_{(2)}^{(+1)}/k_{(1)}^{(+1)}$ und $k_{(1)}^{(+1)}/k_{(0)}^{(+1)}$ genügend groß ist (z. B. $> 10^4$).

Die bereits erwähnte Reversibilität resultiert bei fortschreitender Reaktionsdauer in einer deutlichen Abweichung von einem einseitigen Reaktionsverlauf. Dieser Tatsache wurde in der Literatur bisher kaum Aufmerksamkeit geschenkt. Erläuterungen hierzu folgen in *Kapitel 2.2 e)* (*Abbildung 13*).

Es wurden zahlreiche Methoden beschrieben, die eine Verfolgung der Komplexdissoziation in Anwesenheit oder Abwesenheit endogener Metalle in saurer Lösung erlauben. Zu ihnen zählen unter anderem die Spektrophotometrie, die Fluoreszenzspektroskopie, die ^1H -NMR-Spektroskopie (Relaxivität), die Ionenaustauschchromatographie oder pH-metrische Messungen.^[14,73-79] In diesen Studien wurde die Geschwindigkeitskonstante k_{Obs} der säurekatalysierten Komplexdissoziation mit Hilfe einer Reaktionskinetik pseudo erster Ordnung aufgeklärt. Die Dissoziationsrate folgt dann (16) und (17):

$$\frac{d[\text{Gd}^{3+}]}{dt} = k_{\text{Obs}}[\text{GdL}] \quad (16)$$

$$k_{\text{Obs}} = k_0 + k_1[\text{H}^+] + k_2[\text{H}^+]^2 \quad (17)$$

Mit der Annahme, dass $\text{Gd}(\text{HL})$ im untersuchten pH-Bereich die dominierende Spezies ist und die spontane Dissoziation, charakterisiert durch k_0 , keine Rolle spielt, hängt k_{Obs} also nur noch von der Protonenkonzentration ab. Die aus den Geradensteigungen von $\ln[\text{GdL}]_t = f(t)$ ermittelten Halbwertszeiten $t_{1/2}$ beziehungsweise k_{Obs} sind allerdings abhängig von den experimentellen Bedingungen (Ionenstärke, Komplexkonzentration, pH, Temperatur), weshalb in der Literatur teilweise unterschiedliche Werte für die gleichen Experimente dokumentiert sind.^[38,77,80,81] Deshalb wurde die Dissoziationskinetik aller makrozyklischen Komplexe und ausgewählten offenkettigen Derivaten in dieser Arbeit mit zwei verschiedenen Methoden (pH-metrisch und Protonenrelaxation) unter den gleichen Bedingungen auf der Basis eines Satzes von akribisch bestimmten Gleichgewichtskonstanten und $\text{p}K_{\text{S}}$ -Werten ausgiebig untersucht und mit den Literaturdaten verglichen.

1.5. Zielsetzung

Neben dem Auftreten der nephrogenen systemischen Fibrose hat vor allem die Entdeckung, dass es selbst bei gesunden Patienten nach mehrmaliger Gabe von Gd(III)-haltigen MRT-Kontrastmitteln zu Gadoliniumablagerungen im Gehirn kommen kann, erneut die Frage nach der Sicherheit (*in vivo* Stabilität) solcher Verbindungen aufgeworfen. Es existieren zahlreiche Untersuchungen zur kinetischen und thermodynamischen Stabilität Gd(III)-haltiger MRT-Kontrastmittel. Es ist allerdings unbestritten, dass die kinetische Inertie der Substanzen für ihre *in vivo* Stabilität die mit Abstand wichtigste Rolle einnimmt. Aus der Abhängigkeit der bis heute generierten Daten von den experimentellen Bedingungen (pH, Temperatur, Ionenstärke, Komplexkonzentration) resultiert allerdings die Notwendigkeit einer vereinheitlichten Untersuchung der Dissoziationskinetik aller Komplexe (1 M Inertelektrolyt, 70 mM Komplex, 37 °C). In diesem Zusammenhang wurden im Zuge dieser Arbeit die makrozyklischen Kontrastmittel *Prohance*[®] (Gd(hp-do3a)), *Gadovist*[®] (Gd(bt-do3a)) und *Dotarem*[®] (Gd(dota)⁻) mit zwei verschiedenen Methoden (pH-metrisch und Protonenrelaxation) bei einer Temperatur von 37 °C säurekatalysiert untersucht und untereinander sowie mit der Literatur verglichen. Zusätzlich sollten auch die offenkettigen, kinetisch sehr labilen Kontrastmittel, soweit möglich bei einer Temperatur von 0 °C, untersucht werden. Basis der Messungen stellt hierbei ein Satz von unter exakt den gleichen Bedingungen gemessenen Stabilitätskonstanten und pK_S -Werten dar. Bei der Auswertung der Daten wurden in der Literatur bisher vernachlässigte Überlegungen zur Reversibilität der untersuchten Prozesse berücksichtigt und diskutiert. Des Weiteren sollten Least-Squares-Fits entwickelt werden, mit denen die Erstellung eines möglichst vollständigen Datensatzes kinetischer Parameter (k_0 , k_1 , k_2 , $K_1(\text{Gd}(\text{HL}))$ und $K_2(\text{Gd}(\text{H}_2\text{L}))$) ermöglicht wird. Zur Vervollständigung der Datenlage wurden in diesem Zusammenhang weitere potentiometrische Titrations zur Bestimmung der Protonierungs-/Deprotonierungskonstanten der Komplexspezies Gd(HL), Gd(H₂L) und GdL(H₂O) durchgeführt und mit den theoretisch berechneten Werten verglichen. Abgerundet wurden die Untersuchungen durch die Züchtung von Kristallen, die unter anderem den strukturellen Beweis für die Existenz eines zweifach protonierten Komplexes der Form [Gd(H₂dota)(H₂O)]Cl·H₂O erbringen.

2. Ergebnisse und Diskussion

2.1. Überblick

Bis heute finden sich in der Literatur zahlreiche Untersuchungen der kinetischen Stabilität der kommerziell erhältlichen MRT-Kontrastmittel. Die dort festgehaltenen Ergebnisse unterscheiden sich allerdings in Abhängigkeit der experimentellen Bedingungen (Temperatur, Ionenstärke, Komplexkonzentration, ...) sowie der angewendeten Messmethode (Spektrophotometrie, $^1\text{H-NMR}$ -Spektroskopie, ...).^[38,77,80,81] Es fehlt also nach wie vor an einer umfassenden Studie, die versucht die kinetischen Charakteristika der Kontrastmittel unter möglichst einheitlichen Bedingungen aus einer Hand zu bestimmen und zu vergleichen.

Also wurde die Kinetik der säurekatalysierten Dissoziationsreaktion der drei makrozyklischen Gd(III)-haltigen MRT-Kontrastmittel *Prohance*[®] ([Gd(hp-do3a)]), *Gadovist*[®] ([Gd(bt-do3a)]) und *Dotarem*[®] ([Gd(dota)]⁻) unter sauren Bedingungen (pH ~ 1.0 – 2.5) mit zwei unterschiedlichen Methoden untersucht und verglichen. Die Verfolgung der Protonenrelaxationsraten respektive –zeiten mittels $^1\text{H-NMR}$ -Spektroskopie zum einen und die Verfolgung und der stetige Ausgleich der pH-Änderung mit einer 1.0 M Säure (HCl oder CH₃SO₃H) mit Hilfe eines pH-stat zum anderen. Ziel beider Methoden war die Bestimmung der Geschwindigkeitskonstante k_{Obs} des Komplexzerfalls. Relaxationsmessungen konnten bei einer Komplexkonzentration von 1 mM durchgeführt werden, wohingegen pH-stat Messungen eine deutlich höhere Konzentration (70 mM) benötigten, um die Änderung der Protonenkonzentration auf ein gut erfassbares Niveau anzuheben.

Neben den kinetischen Charakteristika der Komplexdissoziation wurden an ausgewählten Liganden beziehungsweise Komplexen zusätzliche potentiometrische Titrations zur Bestimmung der Protonierungskonstanten K_1 und K_2 der Komplexe ($\text{GdL} \rightarrow \text{Gd(HL)} \rightarrow \text{Gd(H}_2\text{L)}$) durchgeführt. Des Weiteren wurden auf diese Art möglicherweise auftretende Deprotonierungsreaktionen am komplexgebundenen Wasser $\text{GdL(H}_2\text{O)}$ untersucht. Bei den untersuchten Kontrastmitteln handelte es sich in diesem Zusammenhang um die makrozyklischen Vertreter *Prohance*[®] ([Gd(hp-do3a)]), *Gadovist*[®] ([Gd(bt-do3a)]) und *Dotarem*[®] ([Gd(dota)]⁻) sowie die Gd(III)-Komplexe der offenkettigen Liganden dtpa^{5-} (*Magnevist*[®]), eob-dtpa^{5-} (*Primovist*[®]), dtpa-bma^{3-} (*Omniscan*[®]) und dtpa-bmea^{3-} (*Optimark*[®]).

Grund für diese Untersuchungen ist die Tatsache, dass zum einen die Deprotonierung von komplexgebundenem Wasser als Einstieg in eine basenkatalysierte Dissoziationsreaktion der Komplexe betrachtet werden kann und zum anderen die protonierten Spezies eben dieser Komplexe in der Literatur ausführlich und häufig als Startpunkt der säurekatalysierten Komplexdissoziation beschrieben werden (*Abbildung 6, S. 24*).

Im gleichen Zuge wurden wegen der Umstellung des Inertsalzes von TMACl auf TMAMS für die Kinetikmessungen die thermodynamischen Stabilitätskonstanten und pK_S -Werte des Liganden dota^{4-} bzw. seines Komplexes $[\text{Gd}(\text{dota})]^-$ Neubestimmt und mit den Ergebnissen der bisherigen Untersuchungen im TMACl-Medium vergleichend gegenübergestellt. Die Komplex- bzw. Ligand- und Metallkonzentration betrug für potentiometrische Titrationsen, sofern nicht anders angegeben, 10 mM. Alle Messungen, egal ob potentiometrische Titration, pH-stat Messung oder Protonenrelaxation, wurden zudem bei einer 1 M Ionenstärke durchgeführt, um konstante Aktivitätskoeffizienten zu gewährleisten. Aus diesem Grund wurde für alle Messungen ein 1 M Titrationsmittel verwendet.

Da der Wechsel des Inertsalzes lediglich die Konsequenz aus der Tatsache war, dass der Komplex $[\text{Gd}(\text{dota})]^-$ wasserunlösliche, amorphe Feststoffe mit den Chloridionen, aber auch mit Kaliumionen, des Hintergrundmediums bildet, erhob sich in diesem Zusammenhang natürlich die Frage nach der Struktur dieser Verbindungen im Festkörper. Aus diesem Grund wurden Kristallisationsexperimente angestellt, mit denen die Kristallstrukturen der Verbindungen $[\text{Gd}(\text{H}_2\text{dota})(\text{H}_2\text{O})]\text{Cl}\cdot\text{H}_2\text{O}$, $[\text{K}_2(\text{H}_4\text{dota})_2]\text{Cl}_2$ und $[\text{CsK}_2(\text{H}_4\text{dota})_4]\text{Cl}_3$ aufgeklärt werden konnten.

In den folgenden Kapiteln wird immer wieder auf einen Satz von Komplexbildungskonstanten und pK_S -Werte verwiesen. Diese wurden im Arbeitskreis Hegetschweiler im Rahmen einer umfassenden Studie^[31,32,82] über die vereinheitlichte Bestimmung von thermodynamischen Gleichgewichtskonstanten und pK_S -Werten Gd(III)-haltiger MRT-Kontrastmittel gemessen. Der Übersicht halber sind alle Konstanten in (*Tabelle 2*) zusammengefasst. Im Text wird dann entweder direkt auf die Tabelle oder auf die angegebenen Referenzen verwiesen.

Tabelle 2: Protonierungs-/Deprotonierungskonstanten und Stabilitätskonstanten aller kommerziell erhältlichen Gd(III)-haltigen MRT-Kontrastmittel.

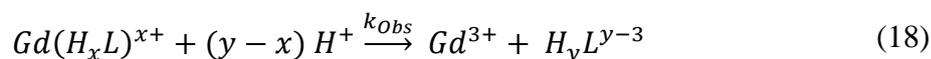
	dota ^{4-[a]} <i>Artirem</i> [®] <i>Dotarem</i> [®]	bt-do3a ^{3-[a]} <i>Gadovist</i> [®]	hp-do3a ^{3-[b]} <i>Prohance</i> [®]	fosveset ^{6-[b]} <i>Ablavar</i> [®] <i>Vasovist</i> [®]	dtpa ^{5-[a]} <i>Magnevist</i> [®]	eob-dtpa ^{5-[a]} <i>Eovist</i> [®] <i>Primovist</i> [®]	bopta ^{5-[b]} <i>Multihance</i> [®]	dtpa-bma ^{3-[a]} <i>Omniscan</i> [®]	dtpa-bmea ^{3-[a]} <i>Optimark</i> [®]
log K_{HL}	12.74(1)	12.15(1)	12.03(1)	10.88(2)	10.37(1)	11.46(1)	10.47(2)	9.30(1)	9.31(1)
log K_{H_2L}	9.66(1)	9.35(1)	9.63(1)	8.42(2)	8.40(1)	8.53(1)	8.09(2)	4.42(1)	4.52(1)
log K_{H_3L}	4.60(1)	4.26(1)	4.30(1)	4.30(2)	4.18(1)	4.16(1)	4.22(2)	3.48(1)	3.50(1)
log K_{H_4L}	4.15(1)	3.13(1)	3.34(1)	2.83(3)	2.74(1)	2.70(1)	2.82(2)	1.85(1)	1.83(2)
log K_{H_5L}	2.36(1)	1.79(1)	1.86(1)	2.56(4)	2.13(3)	2.18(2)	2.10(3)	1.43(3)	1.49(3)
log K_{H_6L}	1.78(2)	--	--	--	1.80(5)	1.74(3)	1.87(4)	--	--
log K_{GdL}	26.26(5)	21.08(4)	21.99(4)	22.21(3)	22.15(1)	23.67(2)	21.88(2)	16.43(3)	16.56(5)
log $K_P^{Gd(HL)}$	1.22(3) ^[c]	1.15(1) ^[c]	--	--	2.03(1)	1.97(2)	2.13(2)	1.21(2)	1.40(4)
log $K_P^{Gd(H_2L)}$	1.0(1) ^[c]	--	--	--	--	--	--	--	--
log $K_P^{GdL(H_2O)}$	11.4(3) ^[c]	9.39(2) ^[c]	11.20(1) ^[c]	--	--	--	--	--	--
log $K_{kond.}$	18.66	14.38	15.13	17.67	18.14	18.45	18.06	14.53	14.64
pGd	19.61	15.33	16.08	18.62	19.09	19.41	19.02	15.48	15.59
pK _w	14	14	14	14	14	14	14	14	14

$T = 25\text{ °C}$, $I = 1\text{ M TMACl}$, $[L]_t = [Gd]_t = 10\text{ mM}$, $K_i = [LH_i] \cdot [LH_{i-1}]^{-1} \cdot [H^+]^{-1}$, $K_{GdL} = [GdL] \cdot [Gd^{3+}]^{-1} \cdot [L]^{-1}$, $K_P^{Gd(H_xL)^{x+}} = [Gd(H_xL)] \cdot [Gd(H_{x-1}L)]^{-1} \cdot [H^+]^{-1}$, $K_P^{GdL(H_2O)} = [GdL(H_2O)] \cdot [GdL(OH)]^{-1} \cdot [H^+]^{-1}$, $K_{kond.} = [ML] \cdot [M^{z+}]^{-1} \cdot [H_nL^{n+}]^{-1}$ (bei pH 7.4) pGd = $-\log[Gd^{3+}]$ (bei pH 7.4, $[Gd]_t = 1\text{ }\mu\text{M}$, $[L]_t = 10\text{ }\mu\text{M}$). ^[a]: Master-Arbeit Tim Scharding^[32], ^[b]: Dissertation Angela Klein^[31], ^[c]: Diese Arbeit.

2.2. Verfolgung des Komplexzerfalls durch pH-stat Messungen

Die für diesen Teil der Arbeit durchgeführten pH-stat-Experimente wurden in Anlehnung an die von M. Brehm (Schering AG, Berlin, *interner Bericht*, APC 71/95^[79], APC 34/95^[78]) abgehaltene Studie aufgesetzt. In diesem Zusammenhang sollen zunächst die dort besprochenen Ergebnisse und die angewendete Methodik diskutiert und gleichzeitig wichtige Bezüge zu dieser Arbeit hergestellt werden.

Brehm untersuchte in seiner Arbeit die Dissoziationsreaktion der Komplexe Gd(hp-do3a) (*Prohance*[®]) und Gd(bt-do3a) (*Gadovist*[®]) bei einer Temperatur von 25 °C und einer Ionenstärke von 0.1 M KCl. Dabei betrug die Kontrastmittelkonzentration jeweils 0.1 M. Das untersuchte pH-Intervall erstreckte sich über einen Bereich von etwa zwei pH-Einheiten (1.5 < pH < 3.6). Brehm stellte einen stetigen Säureverbrauch (0.1 M HCl) fest, welcher durch einen pH-stat kontinuierlich ausgeglichen wurde. Dieser Befund lässt sich als eine säurekatalysierte Zerfallsreaktion der Komplexe interpretieren:



Ein in der Literatur^[83,84] mehrfach diskutiertes Modell für den Reaktionsablauf geht davon aus, dass es bereits bei der Einstellung des pH-Wertes zur raschen Bildung von ein- und zweifach protonierten Komplexen Gd(HL)⁺ und Gd(H₂L)²⁺ kommt, welche dann auf verschiedenen Reaktionsrouten zum finalen Zerfallsprodukt, nämlich freiem Gd³⁺ und freiem Liganden H_yL^{y-3} reagieren (*Abbildung 8*)

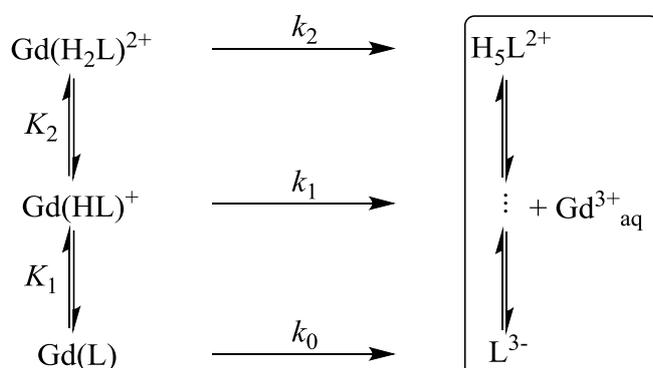


Abbildung 8: Schematische Darstellung der Komplexdissoziation unter Berücksichtigung des durch rasche Protonierung des Komplexes GdL entstehenden Vorgleichgewichts aus GdL und Gd(H_xL)^{x+}.

Dabei kann die initiale Bildung der protonierten Spezies als Vorgleichgewicht betrachtet werden, welches sich dann durch die Protonierungskonstanten $K_1 = [\text{Gd}(\text{HL})^+][\text{GdL}]^{-1} \cdot [\text{H}^+]^{-1}$ und $K_2 = [\text{Gd}(\text{H}_2\text{L})^{2+}][\text{Gd}(\text{HL})^+]^{-1} \cdot [\text{H}^+]^{-1}$ berechnen lässt.

Das Geschwindigkeitsgesetz der Komplexdissoziation lautet dann wie folgt:

$$\frac{d[Gd^{3+}]}{dt} = k_{obs} \cdot [Gd(H_xL)^{x+}]_t \quad (19)$$

$$[Gd(H_xL)^{x+}]_t = [GdL] + [Gd(HL)^+] + [Gd(H_2L)^{2+}] \quad (20)$$

Anschließendes Umstellen der Protonierungskonstanten K_1 und K_2 nach $Gd(HL)^+$ beziehungsweise $Gd(H_2L)^{2+}$ liefert nun für die beobachtbare Geschwindigkeitskonstante k_{obs} der Reaktion:

$$k_{obs} = \frac{k_o + k_1 \cdot K_1 \cdot [H^+] + k_2 \cdot K_1 \cdot K_2 \cdot [H^+]^2}{1 + K_1 \cdot [H^+] + K_1 \cdot K_2 \cdot [H^+]^2} \quad (21)$$

Aus *Abbildung 8* lässt sich weiter ableiten, dass der Säureverbrauch direkten Aufschluss über die freigesetzte Menge an Gd^{3+} gibt, sofern die Protonenaufnahme durch die Ablösung des Liganden am Ende der Reaktionskette bedingt ist. Es kann davon ausgegangen werden, dass sich beim Liganden ebenfalls ein sehr rasches Protolysegleichgewicht einstellt, weshalb dieses für die Gesamtreaktionsgeschwindigkeit vernachlässigbar ist. Da der mittlere Protonierungsgrad des Liganden allerdings pH-abhängig ist (sinkt mit steigendem pH), ist auch der Protonenverbrauch pH-abhängig. Die hier eingesetzten Polyaminopolycarboxylatliganden sind alle starke Polybasen und es gilt $y > x$ (18). Damit kann der Protonenverbrauch aus dem mittleren Protonierungsgrad bei gegebenem pH-Wert berechnet werden.

Aus der offensichtlichen pH-Abhängigkeit der Geschwindigkeitskonstanten k_{obs} lassen sich einige Rückschlüsse über das Reaktionsgeschehen ziehen. Zunehmende Protonierung der Komplexe unter Bildung von $Gd(H_xL)^{x+}$ führt zu einer steigenden Labilisierung der Komplexe an sich, weshalb die Annahme $k_2 > k_1 > k_0$ durchaus plausibel ist. Die Destabilisierung der Bindung resultiert dabei aus der Protonierung des nicht koordinierenden Sauerstoffatoms einer koordinierenden Carboxylatgruppe. Die Gd-O-Bindung kann nun entweder direkt geöffnet werden (*Abbildung 6, S. 24*) oder es kann zunächst zum langsamen Transfer des Protons auf ein Stickstoffatom kommen.

In beiden Fällen reagiert das Produkt deutlich schneller zu Gd^{3+} weiter als im Falle der spontanen H_2O -gestützten Komplexdissoziation.^[38,66] Des Weiteren ist es klar, dass die Unterschreitung eines gewissen pH-Wertes ($pH < \log K_2$) dazu führt, dass die Komplexe überwiegend in Form von $Gd(H_2L)^{2+}$ vorliegen. Ist dieser Punkt erreicht, wird eine weitere Erhöhung der Protonenkonzentration zu keiner weiteren Steigerung der Reaktionsgeschwindigkeit mehr führen, weshalb $\log k_{obs}$ als Funktion des pH-Wertes ($-\log [H^+]$) dann in einen Bereich der Sättigung hineinläuft (Abbildung 9).

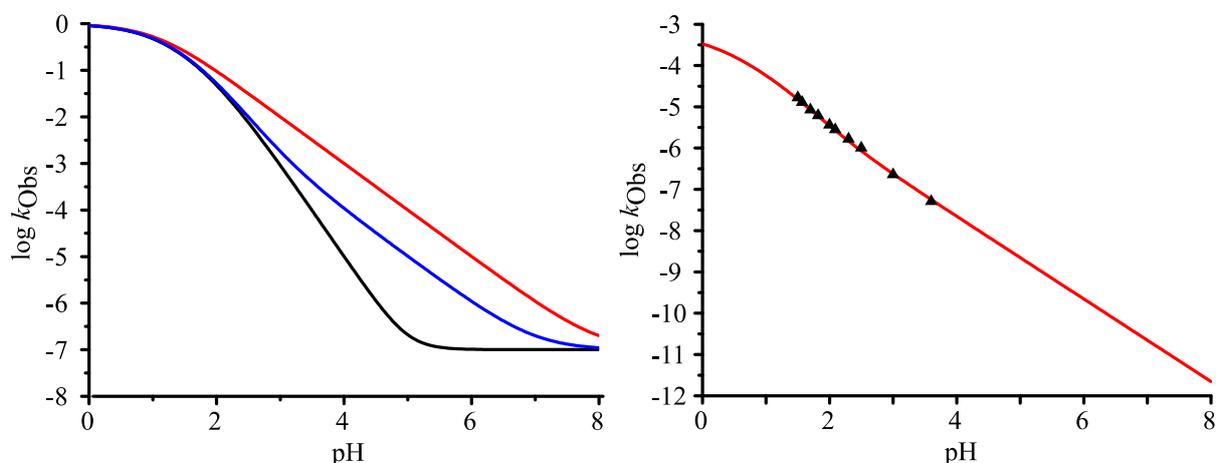


Abbildung 9: pH-Abhängigkeit von k_{obs} . Links: Berechnete Modellbeispiele für dominante Komplexspezies $Gd(H_xL)^{x+}$. Schwarz: k_2 -Dominanz: $k_2 : k_1 : k_0 = 1 : 10^{-5} : 10^{-7}$; rot: k_1 -Dominanz: $k_2 : k_1 : k_0 = 1 : 10^{-1} : 10^{-7}$; blau: intermediärer Fall: $k_2 : k_1 : k_0 = 1 : 10^{-2} : 10^{-7}$. In allen drei Fällen gilt $\log K_1 = 2$ und $\log K_2 = 1$. Rechts: Berechneter und gemessener Verlauf von k_{obs} als Funktion des pH ($-\log [H^+]$) für *Prohance*[®] auf Basis der von Brehm gefitteten Konstanten (Tabelle 3). Darstellung der Messwerte (schwarze Dreiecke) und des berechneten Fits (rote Linie).

Tabelle 3: Die von M. Brehm durch Least-Squares-Fits erhaltenen Konstanten für eine Temperatur von 25 °C.

	$k_0 [s^{-1}]$	$k_1 [s^{-1}]$	$k_2 [s^{-1}]$	$\log K_1$	$\log K_2$
<i>Prohance</i> [®]	$< 10^{-19}$	$7 \cdot 10^{-6}$	$6 \cdot 10^{-4}$	1.5	0.1
<i>Gadovist</i> [®]	$< 10^{-20}$	$3 \cdot 10^{-6}$	$7 \cdot 10^{-5}$	1.0	0.3

Zu der hier von M. Brehm angewendeten Methode und den vorgestellten Ergebnissen seien zunächst einige kritische, aber durchaus allgemeingültige Gedanken erlaubt:

(a) Messungen bei 25 °C haben den Vorteil, dass sich der maximale Protonenverbrauch, welcher sich aus dem mittleren Protonierungsgrad des freiwerdenden Liganden bei gegebenem pH im thermodynamischen Gleichgewicht ergibt, direkt aus den thermodynamischen Daten ermitteln lässt, weil diese in aller Regel bei derselben Temperatur erhoben werden. Der größte und entscheidende Nachteil für die Untersuchungen in dieser Dissertation ist jedoch, dass die Reaktionsgeschwindigkeit der kinetisch durchweg sehr inerten makrozyklischen Komplexe (insbesondere *Dotarem*[®]) bei dieser Temperatur so langsam ist, dass eine Verfolgung des gesamten Reaktionsgeschehens, oder wenigstens einer oder zwei Halbwertszeiten $t_{1/2}$, bei dieser Temperatur kaum möglich wäre.

Dies liegt vor allem darin begründet, dass das Potential der pH-Glaselektrode kaum länger als zwei bis drei Tage konstant gehalten werden kann und es danach schlicht zur Verfälschung der Ergebnisse kommt. Die pH-stat-Routine versucht schließlich durch kontinuierliche Säurezugabe ein konstantes Potential aufrecht zu erhalten, was zwangsläufig zu falschen Zugabevolumina führt, wenn das Elektrodenpotential driftet. Allerdings sollte auch erwähnt werden, dass Brehm in seiner Arbeit lediglich die initiale Reaktionsgeschwindigkeit, also die Geschwindigkeit der Reaktion ganz zu Anfang der Dissoziation (kleiner Umsatz) bestimmt hat, weshalb das Driften der Elektrode noch keine große Rolle spielen dürfte. Aus diesem Grund sind die in dieser Dissertation erhobenen Daten bei einer Temperatur von $37\text{ °C} \pm 0.1\text{ °C}$ entstanden, was neben der erhöhten Reaktionsgeschwindigkeit den Vorteil hat, physiologischen Bedingungen näher zu kommen.

(b) Darüber hinaus ist zu erwähnen, dass die Verwendung von KCl als Hintergrundmedium Gefahren birgt, die, wie frühere Studien der Arbeitsgruppe Hegetschweiler gezeigt haben^[31,32,82], einen nicht zu vernachlässigenden Einfluss auf die zugrundeliegenden pK_s -Werte des Liganden (hier: $hp\text{-do}3a^{3-}$ und $bt\text{-do}3a^{3-}$) haben, da dieser eine deutliche Neigung zur Komplexbildung mit K^+ -Ionen hat. Dies führt zu einer Absenkung der pK_s -Werte und damit zu einer Veränderung des mittleren Protonierungsgrades, aus dem sich, wie oben erwähnt, auf das maximale Zugabevolumen rückrechnen lässt. Außerdem ist es streng genommen nur dann erlaubt Konzentrationskonstanten wie die hier zu Grunde liegenden thermodynamischen Gleichgewichtskonstanten zu verwenden, wenn eine konstante Ionenstärke eingehalten wird.

Im Grunde können mit Hilfe pH-metrischer Titrations lediglich Aktivitäten gemessen werden. Um direkte Rückschlüsse auf Konzentrationskonstanten zu ziehen, müssen die Ionenstärke und damit auch die Aktivitätskoeffizienten, welche nach Debye-Hückel^[85,86] eine Funktion der Ionenstärke^[87] I darstellen, während der Messung möglichst konstant gehalten werden. In diesem Zusammenhang muss die Ladungsänderung über die Messdauer berücksichtigt werden.

$$I = \frac{1}{2} \sum c_i \cdot z_i^2 \quad (22)$$

Da die Ladung des gelösten Teilchens quadratisch in die Ionenstärke (22) eingeht, wird es umso schwieriger I konstant zu halten, je höher geladen die während der Messung auftretenden Teilchen sind. Bildet sich im Verlauf der Reaktion z. B. ein dreifach negativ geladenes Teilchen, was in diesem Fall der vollständig deprotonierte Ligand hp-do3a³⁻ oder bt-do3a³⁻ wäre, so ginge dieses bereits mit einem Faktor von 9 in die Ionenstärke mit ein. In der Konsequenz muss der Inertelektrolyt in einem ausreichend großen Überschuss (≥ 100 -fach) eingesetzt werden, um konstante Aktivitätskoeffizienten zu gewährleisten.

In den Untersuchungen von Brehm ist also keineswegs eine konstante Ionenstärke gewährleistet ($[\text{GdL}] = [\text{KCl}] = 0.1 \text{ M}$). Es ist durchaus denkbar, dass die nicht konstante Ionenstärke einen signifikanten, negativen Einfluss auf die Bestimmung von k_{Obs} hat. Bekanntlich reagieren kinetische Konstanten sehr viel empfindlicher auf Änderungen der Ionenstärke als thermodynamische Konstanten.^[88] Daher wurde in dieser Arbeit strikt auf die Verwendung kaliumhaltiger Medien verzichtet. Für die beiden Komplexe *Prohance*[®] und *Gadovist*[®] konnte TMACl verwendet werden. Für *Dotarem*[®] (dota⁴⁻) musste allerdings TMAMS eingesetzt werden, da sich herausgestellt hat, dass es bei tiefen pH-Werten ($\text{pH} < 2.0$) und ausreichend hohen Komplex- bzw. Kontrastmittelkonzentrationen ($[\text{GdL}] > 10 \text{ mM}$) zur Ausbildung eines Festkörpers über ein Wasserstoffbrückennetzwerk zwischen zweifach protoniertem Komplex $[\text{Gd}(\text{H}_2\text{dota})]^+$ und den Chloridionen des Inertelektrolyten kommt (*Kapitel 2.8.1*).

Die Problematik der Einhaltung einer konstanten Ionenstärke lässt sich allerdings nicht vollständig umgehen, da es bei derart hohen Komplexkonzentrationen (diese Arbeit: 0.07 M, Brehm: 0.1 M) nicht möglich ist, einen 100-fachen Überschuss des Inertsalzes einzusetzen. In diesem Fall läge keine ausreichend verdünnte Lösung mehr vor und die Wechselwirkung zwischen den gelösten Komponenten wäre nicht mehr vernachlässigbar.

Deshalb wurden die Experimente dieser Dissertation bei einer Ionenstärke von 1.0 M und einer Komplexkonzentration von 0.07 M durchgeführt. Dabei sollte beachtet werden, dass der Ligand sehr rasch protoniert wird und der mittlere Protonierungsgrad des Liganden \bar{p}_L im, in dieser Arbeit, untersuchten pH-Bereich (1.0 – 2.5) zwischen 4.98 und 3.97 liegt, weshalb die durchschnittliche Ladung des freien Liganden zwischen +1 und +2 liegt (Abbildung 10).

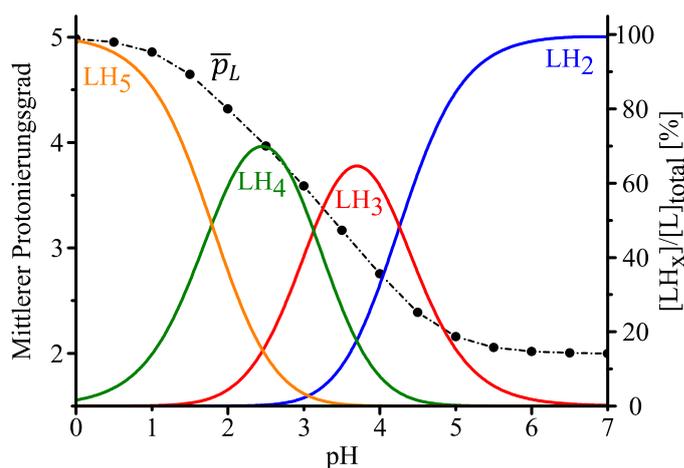


Abbildung 10: Schematische Darstellung des Verlaufs von \bar{p}_L (schwarz gepunktet) am Beispiel einer 0.07 M bt-do3a³⁻ Lösung. Das mit HySS2009 berechnete Verteilungsdiagramm ist zusätzlich in bunt dargestellt. Die zugrundeliegenden pK_S-Werte sind in Tabelle 2 dokumentiert.

Die protonierten Ligandspezies H_yL^{y-3} beeinflussen die Ionenstärke maximal mit einem Ladungsfaktor z_i^2 von 4. Gleiches gilt für den Komplex und seine protonierten Spezies $Gd(H_xL)^{x+}$. Das Gleichgewicht zwischen GdL , $Gd(HL)^+$ und $Gd(H_2L)^{2+}$ bedingt auch hier wieder eine maximale Ladung von +2 und einen Ladungsfaktor z_i^2 von 4. Lediglich Gd^{3+} liefert einen Beitrag von 9. Im Bestfall (durchschnittliche Ladung +1) bleibt die Ionenstärke also tatsächlich quasi unverändert. Liegen jedoch Gd^{3+} und $H_{4.98}L^{1.98+}$ im Verhältnis 1:1 vor (vollständige Komplexdissoziation bei pH 1.0) wird I signifikant verändert. Dieser Einfluss ist bei der zeitlichen Untersuchung einer Zerfallskinetik natürlich zu Beginn der Reaktion am geringsten und vergrößert sich mit zunehmender Freisetzung der geladenen Produkte Gd^{3+} und $H_{4.98}L^{1.98+}$. Das heißt, dass bei fortschreitender Reaktionsdauer mit deutlichen Abweichungen zwischen theoretisch berechneter Messgröße und dem tatsächlichen Messwert zu rechnen ist.

Bei steigendem pH sinkt der Einfluss auf die Ionenstärke jedoch wieder, da dort die während der Reaktion auftretenden Ladungen am Liganden niedriger ausfallen ($\bar{p}_L = 3.97$ bei pH 2.5, $z_i^2 \approx +1$). Diese Ausführungen gelten natürlich auch ganz analog für simple potentiometrische Titrations zur Bestimmung von pK_S-Werten beziehungsweise Stabilitätskonstanten.

(c) Anzunehmen der Protonenverbrauch während der Dissoziation würde durch die Ablösung des Liganden am Ende der Reaktionskette hervorgerufen (*Abbildung 7*) ist zwar plausibel, jedoch nicht zwangsläufig korrekt. Es ist durchaus vorstellbar, dass initial gebildetes $\text{Gd}(\text{H}_x\text{L})^{(0)}$ durch interne Umlagerung zu einer anderen Spezies $\text{Gd}(\text{H}_x\text{L})^{(i)}$ reagiert, welche dann durch weitere Protonenaufnahme ein weiteres Intermediat $\text{Gd}(\text{H}_y\text{L})^{(i+1)}$ bildet. Reagiert dieses anschließend in einer langsamen Reaktion ohne weitere Protonenaufnahme zu Gd^{3+} und H_yL , so entspricht der Säureverbrauch nicht mehr direkt der Gadoliniumfreisetzung. Die kinetische Stabilität des Komplexes lässt sich auf diese Weise nicht mehr ableiten.

(d) Das zugrundeliegende Teilchenmodell, genauer die bestimmten $\text{p}K_{\text{S}}$ -Werte des Liganden beziehungsweise des Komplexes, ist entscheidend für die Richtigkeit der Ergebnisse, sofern davon ausgegangen wird, dass der Protonenverbrauch tatsächlich nur durch die Ligandablösung am Ende der Reaktionskette hervorgerufen wird. Dann wird der Protonenverbrauch nämlich ausschließlich durch die $\text{p}K_{\text{S}}$ -Werte, die letztlich den mittleren Protonierungsgrad \bar{p}_L ergeben, bestimmt. Berechnen lässt sich \bar{p}_L nach der folgenden einfachen Formel:

$$\bar{p}_L = \frac{[\text{L}] \cdot 0 + [\text{LH}] \cdot 1 + \dots + [\text{LH}_n] \cdot n}{[\text{L}]_{\text{total}}} \quad (23)$$

Eine kritische Betrachtung der von Brehm für hp-d03a^{3-} verwendeten $\text{p}K_{\text{S}}$ -Werte ($\log K_4 = 11.96$, $\log K_3 = 9.43$, $\log K_2 = 4.30$, $\log K_1 = 3.26$) zeigt ganz deutlich, dass das Teilchenmodell gerade ab $\text{pH} < 2.5$ äußerst ungenau wird, weil der niedrigste gemessene $\text{p}K_{\text{S}}$ bei 3.26 liegt. Damit fehlen entscheidende Informationen über den korrekten Protonierungsgrad bei besonders tiefen pH -Werten. Eine Aussage über die freigesetzte Gadoliniumkonzentration ist fehlerbehaftet. Auf Basis des Teilchenmodells aus *Tabelle 2* lässt sich \bar{p} wesentlich genauer bestimmen ($\log K_{\text{HL}} = 12.03(1)$, $\log K_{\text{H}_2\text{L}} = 9.63(2)$, $\log K_{\text{H}_3\text{L}} = 4.30(1)$, $\log K_{\text{H}_4\text{L}} = 3.34(1)$, $\log K_{\text{H}_5\text{L}} = 1.86(1)$). In *Abbildung 11* sind die beiden Teilchenverteilungen noch einmal abgebildet. Dort ist ganz klar zu erkennen, dass in beiden Fällen eine jeweils andere Spezies die Dominierende ist. Im Fall von Brehm liegt bei $\text{pH} 1.5$ nahezu ausschließlich der vierfach protonierte Ligand H_4L^+ vor, wohingegen das vollständigere Teilchenmodell bei diesem pH -Wert das Vorliegen eines Gemischs der beiden Spezies H_4L^+ und H_5L^{2+} anzeigt. Es ist also zu erwarten, dass in diesem Fall ein höherer Protonierungsgrad erzielt wird. Dieser ergibt mit der Totalkonzentration des Kontrastmittels und dem initialen Probenvolumen den maximalen Protonenverbrauch, weshalb auch dieser deutlich höher ist als von Brehm angenommen.

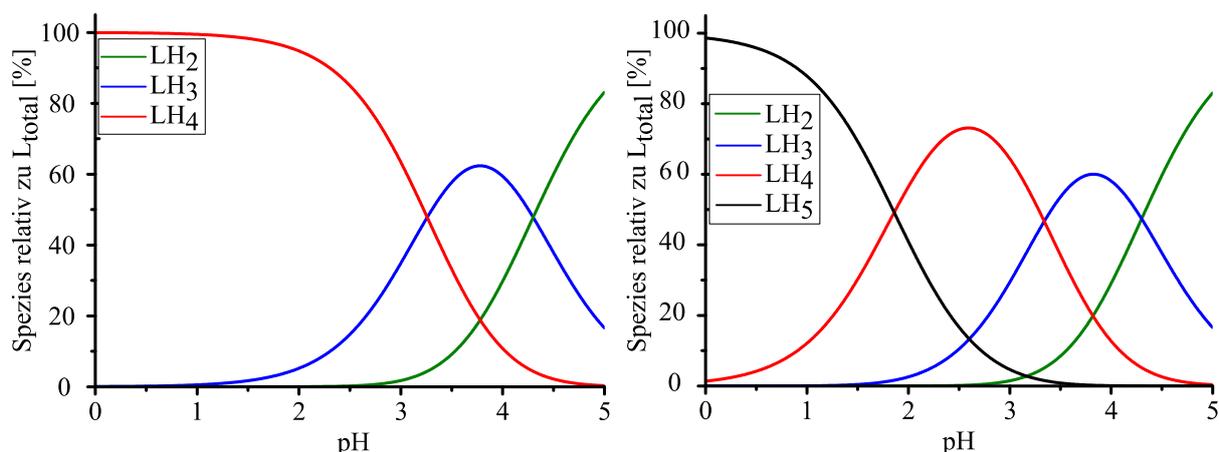


Abbildung 11: Mit HySS2009 berechnete Verteilungsdiagramme von 0.1 M hp-do3a³⁻ (Prohance®). Links: Modell auf Basis der pK_S-Werte von M. Brehm, rechts: Modell auf Basis der pK_S-Werte aus Tabelle 2. Spezies, die in dem angegebenen pH-Bereich vernachlässigbar sind, wurden der Übersicht halber weggelassen.

Im Hinblick auf die Messpunkte von Brehm sollen nun die \bar{p} -Werte auf Basis der beiden Teilchenmodelle bei pH 1.5 und 3.6 verglichen werden (Tabelle 4). Die pH-Werte sind dabei nicht willkürlich gewählt, sondern entsprechen dem jeweils höchsten und niedrigsten untersuchten pH von Brehm.

Tabelle 4: Vergleich der mittleren Protonierungsgrade auf Basis verschiedener Teilchenmodelle (Simuliert mit HySS2009). ^[a]Daten aus der Master-Arbeit von Tim Scharding^[32], ^[b]Daten von M. Brehm^[79] (APC 71/95, APC 34/95). V_{H⁺, max.} repräsentiert das Volumen an 0.1 M HCl, das bei vollständiger Ligandfreisetzung verbraucht werden würde.

pH	\bar{p}_L ^[a]	\bar{p}_L ^[b]	$\Delta\bar{p}_L$ [%]	V _{H⁺, max.} ^[a] [ml]	V _{H⁺, max.} ^[b] [ml]
1.5	4.69	3.98	15	215.7	183.1
3.6	3.21	3.16	1.5	147.7	145.4

Es wird sehr deutlich, dass die mittleren Protonierungsgrade vor allem bei niedrigem pH-Wert (hier pH 1.5) stark voneinander abweichen. Die Auswirkungen auf k_{Obs} lassen sich am einfachsten an folgender Gleichung veranschaulichen.

$$k_{Obs} = \frac{1/\bar{p}_L \cdot R_{Obs} \cdot [HX]/V_0}{[GdL]_{total}} \tag{24}$$

R_{Obs} = Verbrauch an HCl in ml s⁻¹, [HX] = Konzentration der zur pH-stat Titration verwendeten Säure in mol l⁻¹, V₀ = Volumen zu Beginn des pH-stat Experiments in ml, [GdL]_{total} = Gesamtkonzentration des Kontrastmittels in mol l⁻¹, \bar{p}_L = mittlerer Protonierungsgrad des freien Liganden H_yL^{y-3}.

Mit dieser Gleichung lassen sich nun die Geschwindigkeitskonstanten für die beiden unterschiedlichen Teilchenmodelle berechnen. Mit dem unvollständigeren Teilchenmodell von Brehm ergibt sich für k_{Obs} ein Wert von $1.676 \cdot 10^{-5} \text{ s}^{-1}$. Für das vollständigere Teilchenmodell wird eine Konstante von $1.414 \cdot 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ gefunden. Dieser Unterschied mag auf den ersten Blick klein erscheinen, spiegelt aber exakt die 15 %-ige Abweichung im mittleren Protonierungsgrad wider. Der Unterschied wird sogar noch deutlicher bei Betrachtung der Halbwertszeiten $t_{1/2}$. Es ergeben sich hier Werte von 11.49 h (Brehm) und 13.62 h (Teilchenmodell: *Tabelle 2*). Es bleibt also festzuhalten, dass das zugrundeliegende Teilchenmodell einen ganz entscheidenden Einfluss auf die Resultate der Auswertung hat. Der Einfluss wird in diesem Fall umso stärker, je tiefer der untersuchte pH-Wert liegt. Bei steigendem pH nimmt der Einfluss allerdings drastisch ab und kann ab einer von Ligand zu Ligand verschiedenen pH-Grenze sicherlich vernachlässigt werden. Dennoch handelt es sich hierbei um einen systematischen Fehler, welcher sich nur durch genaue Kenntnis der $\text{p}K_{\text{S}}$ -Werte des Liganden minimieren lässt.

Diese Ausführungen vernachlässigen allerdings die Tatsache, dass im Grunde auch der Komplex zur Protonenbilanz beiträgt. Dieser weist bereits zu Beginn der pH-stat Titration einen eigenen Protonierungsgrad \bar{p}_K auf, welcher von dem des Liganden subtrahiert werden muss, um den tatsächlichen Protonierungsgrad \bar{p}_{Real} zu erhalten. Die Gleichung zur Berechnung von k_{Obs} (24) muss dementsprechend leicht abgewandelt werden und lautet dann:

$$k_{\text{Obs}} = \frac{1/\bar{p}_{\text{Real}} \cdot R_{\text{Obs}} \cdot [\text{HX}]/V_0}{[\text{GdL}]_{\text{total}}} \quad (25)$$

Nun ist es aber nicht trivial, die Protonierungskonstanten des Komplexes zu bestimmen, da dieser stark sauer reagiert. Dieser Sachverhalt wird in *Kapitel 2.7* genauer erläutert. Es lässt sich jedoch festhalten, dass $\log K_1$ ($K_1 = [\text{Gd}(\text{HL})^+ \cdot [\text{Gd}(\text{L})]^{-1} \cdot [\text{H}^+]^{-1}$) bei allen drei Makrozyklen zwischen 1.0 und 1.2 liegt. Die Bestimmung von $\log K_2$ ($K_2 = [\text{Gd}(\text{H}_2\text{L})^{2+} \cdot [\text{Gd}(\text{HL})^+]^{-1} \cdot [\text{H}^+]^{-1}$) ist schwieriger. Es ist anzunehmen, dass dieser ≤ 1.0 ist. Die beiden Protonierungen wirken sich bei stark saurem pH ($\text{pH} \leq 1.5$) direkt auf \bar{p}_{Real} aus. Dieser wird vermindert und es käme in diesem Zusammenhang zu einer Verminderung des oben beschriebenen 15 %-igen systematischen Fehlers bei pH 1.5. Es ist allerdings schwierig vorherzusagen, wie groß die Änderung ausfällt, da $\log K_1$ und $\log K_2$ mit einer relativ großen Unsicherheit behaftet sind. Damit ist das Verhältnis der Spezies $[\text{Gd}(\text{HL})^+]$ und $[\text{Gd}(\text{H}_2\text{L})^{2+}]$ nicht genau bestimmbar.

Gerade bei pH 1.5 kann es allerdings als gesichert gelten, dass lediglich die einfach protonierte Komplexspezies $[\text{Gd}(\text{HL})^+]$ einen signifikanten Beitrag zu \bar{p}_{Real} liefert. Unter der Annahme $\log K_1 = 1.0$ nimmt der mittlere Protonierungsgrad des Komplexes \bar{p}_K nach Henderson-Hasselbalch ($\text{pH} = \text{p}K_s + \log ([\text{A}^-]/[\text{HA}])$ mit $[\text{A}^-] = [\text{GdL}]$ und $[\text{HA}] = [\text{Gd}(\text{HL})^+]$) bei pH 1.5 und einer Totalkonzentration von 100 mM den Wert 0.3 an. Es liegt hier also etwa 30 % $[\text{Gd}(\text{HL})]$ vor. In Anlehnung an *Tabelle 4 a*) lässt sich nun unter Verwendung von $\bar{p}_{\text{Real}} = 4.39$ eine neue Geschwindigkeitskonstante k_{Obs} berechnen, welche sich erneut um 6.4 % vom vorherigen Ergebnis (ohne Berücksichtigung von \bar{p}_K) unterscheidet ($k_{\text{Obs}} = 1.511 \cdot 10^{-5} \text{ s}^{-1}$, $t_{1/2} = 12.74 \text{ h}$). Dieses hypothetische Rechenbeispiel zeigt sehr deutlich, dass die Interpretation der Ergebnisse ohne genaue Kenntnis des zugrundeliegenden Teilchenmodells sehr schwierig ist. Auf diesem Weg können sehr leicht systematische Fehler gemacht werden. Ganz analog zum obigen Fall gilt auch hier, dass eine weitere Erniedrigung des pH zu einer stärkeren Beeinflussung von \bar{p}_{Real} führt.

Dabei wird \bar{p}_K bis zu einem Maximum von 2 ansteigen. Ab dann dürfte eine weitere Erniedrigung des pH zu keiner weiteren Beschleunigung der Reaktion mehr führen (siehe Plateau in *Abbildung 9*). Die Berücksichtigung der Komplexprotonierung kann an dieser Stelle jedoch nicht uneingeschränkt empfohlen werden, da die Bestimmung der nötigen Konstanten mit einem relativ großen intrinsischen Fehler behaftet ist. Es ist deshalb nicht eindeutig vorhersagbar, ob die Aussagekraft der Ergebnisse dadurch tatsächlich gesteigert wird. Dennoch zeigen die Ausführungen zum Protonierungsgrad sehr deutlich, wie schwierig die Bestimmung von Geschwindigkeitskonstanten mit einer pH-stat Methode ist.

(e) Des Weiteren postuliert Brehm eine einseitige Reaktionskinetik für die eigentliche Ligandablösung, welche im Anschluss an das schnelle Vorgleichgewicht der Komplexprotonierung abläuft ($\text{GdL} \rightleftharpoons \text{Gd}(\text{H}_x\text{L})^{x+} \xrightarrow{k_{\text{Hin}}} \text{Gd}^{3+} + \text{H}_y\text{L}^{y-3}$). Dies setzt aber voraus, dass die Rückreaktion, also in diesem Fall die erneute Bildung des Komplexes, vernachlässigt werden darf. Da der Gesamtprozess der Komplexdissoziation allerdings in einzelne Elementarschritte zerfällt (*Abbildung 7*), von denen anzunehmen ist, dass sie jeweils reversibel sind, sollte erwähnt werden, dass die Rückreaktion nur dann vernachlässigbar ist, wenn ihre Geschwindigkeit die der Dissoziation nicht deutlich überschreitet. Die Komplexbildung stellt dabei prinzipiell eine bimolekulare Reaktion zweiter Ordnung zwischen freiem Ligand und freiem Metall dar. Die Dissoziation darf hier aufgrund der Wahl geeigneter Bedingungen ($[\text{H}^+]$ bleibt konstant) als monomolekulare Reaktion pseudo 1. Ordnung aufgefasst werden.

Gleiches gilt für Deprotonierungen und interne Umlagerungen. Unter Berücksichtigung der von Brehm verwendeten thermodynamischen Gleichgewichtskonstanten von *Prohance*[®] ($\log K_{GdL} = 22.8$, $\log K_{GdHL} = 1.5$) muss allerdings festgestellt werden, dass das Gleichgewicht bereits ab einem pH von 2.0 deutlich auf der Seite der komplexierten Spezies $[GdL]$ und $[Gd(HL)]^+$ liegt (*Abbildung 12*).

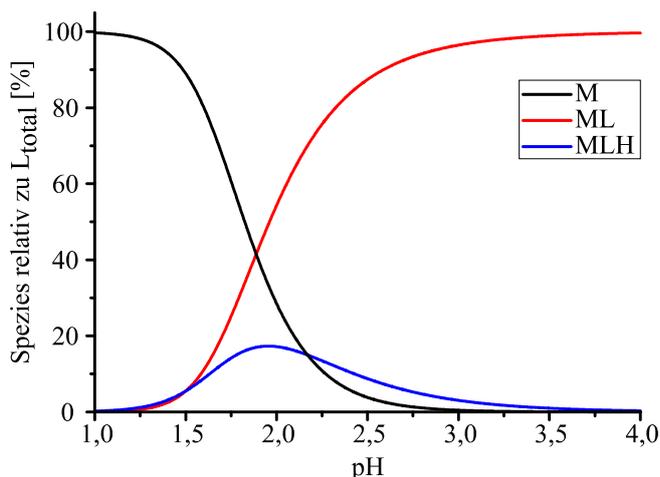


Abbildung 12: Mit HySS2009 simuliertes Verteilungsdiagramm auf Basis des Teilchenmodells von Brehm für den Komplex Gd(*hp-do3a*) (*Prohance*[®]). $[Gd]_t = [L]_t = 0.1 \text{ M}$ (0.1 M KCl), $\log K_4 = 11.96$, $\log K_3 = 9.43$, $\log K_2 = 4.30$, $\log K_1 = 3.26$, $\log K_{ML} = 22.8$, $\log K_{MLH} = 1.5$.

Das heißt zwar, die für die Rückreaktion notwendigen Teilchen Gd^{3+} und H_yL^{y-3} nehmen tendenziell mit steigendem pH ab (das ist natürlich auch zu erwarten), die Geschwindigkeit, mit der sie zu Komplexspezies rückreagieren nimmt jedoch deutlich zu. Einfacher ausgedrückt steigt die Geschwindigkeit der Komplexbildung mit steigendem pH-Wert deutlich an. Dies kann dazu führen, dass die Dissoziationsreaktion bereits sehr früh zum vollständigen Erliegen kommt. Im Gegensatz zur angenommenen einseitigen Kinetik pseudo 1. Ordnung zeigen sich dann deutliche Abweichungen des Konzentrationsverlaufs von GdL. Die Konzentrationsabnahme des Komplexes mündet letztlich sehr schnell in ein Gebiet der Sättigung. Die oben erwähnte Reversibilität der Reaktion und ihre Auswirkung auf den Konzentrationsverlauf in Bezug auf pH-stat Messungen lässt sich leicht an zwei simplen Beispielen veranschaulichen. Dabei wird das Konzentrationsprofil von GdL (in diesem Fall *Prohance*[®]) in einer 100 mM Probenlösung für verschiedene Verhältnisse von k_{Hin} zu $k_{Rück}$ simuliert. Hin- und Rückreaktion verlaufen der Einfachheit halber beide nach einer Reaktionskinetik erster Ordnung. Es mag zwar strenggenommen sein, dass die Rückreaktion ($Gd^{3+} + H_yL^{y-3} \rightarrow Gd(H_xL)^{x+}$) einer bimolekularen Reaktionskinetik 2. Ordnung folgt, qualitativ ändert dies jedoch nichts, und so bleibt das Problem mathematisch deutlich einfacher handhabbar. *Beispiel 1* vernachlässigt die Rückreaktion und *Beispiel 2* beschreibt den Fall einer reversiblen Gleichgewichtsreaktion.^[88] Die grundlegenden Gleichungen werden noch einmal in *Tabelle 5* dargestellt.

Tabelle 5: Grundlegende kinetische Gleichungen^[88] für eine Kinetik erster Ordnung (links) und eine Gleichgewichtsreaktion, bestehend aus Hin- und Rückreaktion jeweils 1. Ordnung. $[A] = [\text{GdL}]$: Komplexkonzentration zum Zeitpunkt t , $[A]_0 = [\text{GdL}]_0$: Komplexkonzentration zum Zeitpunkt $t = 0$, $[A]_\infty = [\text{GdL}]_\infty$: Gleichgewichtskonzentration des Komplexes, k_{Hin} : Geschwindigkeitskonstante der Hinreaktion, $k_{\text{Rück}}$: Geschwindigkeitskonstante der Rückreaktion.

<i>Beispiel 1: Einseitige Kinetik</i>	<i>Beispiel 2: Zweiseitige Kinetik</i>
$A \rightarrow B$	$A \rightleftharpoons B$
$-\frac{d[A]}{dt} = k \cdot [A]$ (26)	$-\frac{d[A]}{dt} = k_{\text{Hin}} \cdot [A] - k_{\text{Rück}} \cdot [B]$ (27)
$[A] = [A]_0 \cdot e^{-k \cdot t}$ (28)	$[A] = \frac{k_{\text{Rück}} + k_{\text{Hin}} \cdot e^{-(k_{\text{Hin}} + k_{\text{Rück}}) \cdot t}}{k_{\text{Hin}} + k_{\text{Rück}}} \cdot [A]_0$ (29)
	$[A]_\infty = \frac{k_{\text{Rück}}}{k_{\text{Hin}} + k_{\text{Rück}}} \cdot [A]_0$ (30)

Berechnungen des Konzentrationsverlaufs von $[\text{GdL}]$ nach den obigen Gleichungen zeigen sehr deutlich das Abflachen der Komplexkonzentration mit steigendem Einfluss der Rückreaktion. Praktisch führt dies zu einer Erhöhung der minimal erreichbaren Gleichgewichtskonzentration $[\text{GdL}]_\infty$ (Abbildung 13).

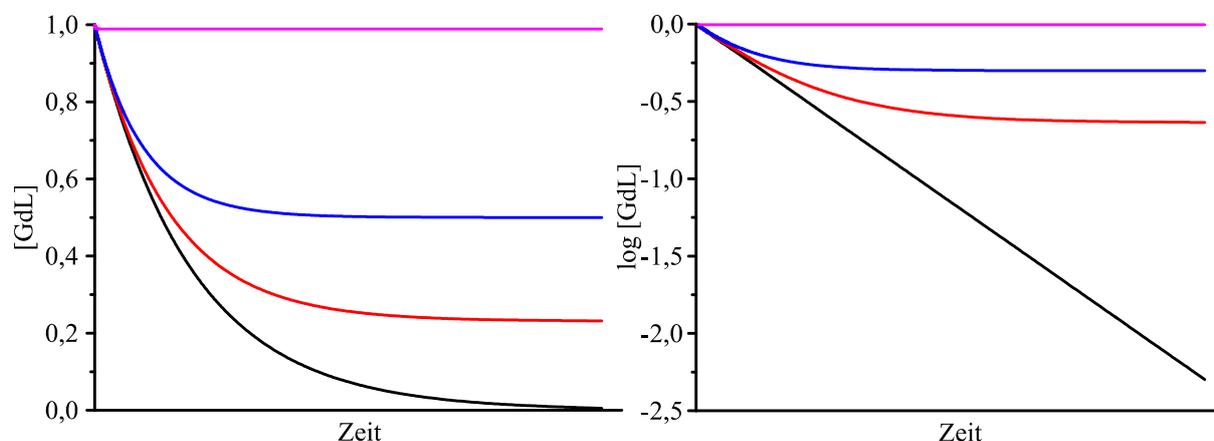


Abbildung 13: Simulation der zeitlichen Konzentrationsabnahme der Komplexspezies $[\text{GdL}]$ basierend auf den kinetischen Modellen aus *Tabelle 5*. Schwarz: einseitige Kinetik ($A \rightarrow B$) mit $k_{\text{Hin}} = 0.01$, rot: $k_{\text{Hin}} = 0.01$, $k_{\text{Rück}} = 0.003$, $k_{\text{Hin}}/k_{\text{Rück}} = 3.33$, blau: $k_{\text{Hin}} = 0.01$, $k_{\text{Rück}} = 0.01$, $k_{\text{Hin}}/k_{\text{Rück}} = 1$, magenta: $k_{\text{Hin}} = 0.01$, $k_{\text{Rück}} = 0.9$, $k_{\text{Hin}}/k_{\text{Rück}} = 0.011$. Zu beachten ist insbesondere, dass die Tangenten für $t \rightarrow 0$ in allen vier Fällen gleich ist.

Gezeigt ist jeweils die Konzentrationsabnahme des Komplexes GdL mit fortschreitender Reaktionsdauer. Die Geschwindigkeitskonstante der Hinreaktion k_{Hin} nimmt dabei in allen abgebildeten Fällen den gleichen Wert an (0.01), lediglich die Geschwindigkeitskonstante der Rückreaktion $k_{\text{Rück}}$ wurde variiert. Die schwarze Kurve zeigt den Fall ohne Rückreaktion.

Für die drei farbigen Kurven wurde der Einfluss des umgekehrten Reaktionspfades durch Erhöhung von $k_{\text{Rück}}$ verstärkt. Sobald die Rückreaktion auch nur eine kleine Rolle zu spielen beginnt, tritt ein deutliches Abflachen des Konzentrationsprofils auf (rot: $k_{\text{Hin}}/k_{\text{Rück}} = 3.33$). Je schneller nun die Rückreaktion wird, desto geringer fällt die Konzentrationsabnahme des Komplexes aus (blau: $k_{\text{Hin}}/k_{\text{Rück}} = 1$, magenta: $k_{\text{Hin}}/k_{\text{Rück}} = 0.011$), und die Gleichgewichtskonzentration $[\text{GdL}]_{\infty}$ steigt. Es reichen bereits kleinste Mengen der Zerfallsprodukte, um die Reaktion zum vollständigen Erliegen zu bringen, da diese viel schneller zum Edukt zurückreagieren, als dieses zerfallen kann.

Besondere Beachtung sollte allerdings der Tatsache geschenkt werden, dass die gedachten Tangenten an den Kurven für $t \rightarrow 0$ in allen vier Fällen die gleiche Steigung aufweisen. Dieser Umstand rechtfertigt eine Auswertung der Daten (Betrachtung kurzer Reaktionsdauer) unter Vernachlässigung der Komplexbildung (einseitige Kinetik pseudo 1. Ordnung), da diese erst mit fortschreitender Reaktionsdauer einen signifikanten Einfluss auf das Reaktionsgeschehen nimmt.

Es kann allerdings nicht genug darauf hingewiesen werden, dass die Messgröße bei einer pH-stat Messung das zugegebene Volumen zum Ausgleich des Protonenverbrauchs darstellt. Kommt es aber zum frühzeitigen Erliegen der Reaktion bei steigendem pH und es erfolgt eine Auswertung nach einer Kinetik erster Ordnung, so unterscheidet sich das tatsächlich gemessene Volumen selbstverständlich signifikant vom theoretisch berechenbaren Volumen. Demnach können sich hier durchaus Fehler auf den Geschwindigkeitskonstanten ergeben.

2.3. pH-stat Experimente

2.3.1. Bemerkungen zur Methode

Aus den in *Kapitel 2.2* (a) bis (e) genannten Gründen wurden die Experimente in dieser Arbeit unter den folgenden Bedingungen durchgeführt. Die Kontrastmittel *Prohance*[®] ([Gd(hp-do3a)]) und *Gadovist*[®] ([Gd(bt-do3a)]) wurden zusammen mit ihrem Hintergrundelektrolyten TMACl (Me₄NCl) gemischt. Für *Dotarem*[®] ([Gd(dota)]⁻) fand TMAMS (Me₄NSO₃Me) als Inertelektrolyt Anwendung. Grundlage für die Auswertung der mit diesen Verbindungen generierten Datensätze stellen die in *Tabelle 2* dokumentierten Konstanten dar. Der Einsatz von Methansulfonat verhindert die Bildung eines wasserunlöslichen Festkörpers, auf dessen Struktur in *Kapitel 2.8.1* näher eingegangen wird. Die Probenlösungen enthielten jeweils 0.07 M des Komplexes und die Ionenstärke betrug 1.0 M. Die Komplexkonzentration wurde dabei gerade so hoch gewählt, dass die pH Änderung auch in sehr sauren Lösungen (pH 1.0) noch gut messbar ist. Die Wahl eines 1 M Hintergrundmediums erlaubt nicht nur die Verwendung der ursprünglichen Teilchenmodelle (*Tabelle 2*), das Medium gewährt außerdem zumindest ansatzweise eine konstante Ionenstärke. Die Proben wurden so angesetzt, dass in der Regel jedes pH Inkrement zweifach bestimmt werden konnte. Alle Messungen wurden in einem pH Bereich von ca. 1.0 bis 2.5 bei einer Temperatur von 37 °C durchgeführt. Die erhöhte Temperatur ist notwendig, um die besonders langsame Dissoziationsreaktion der kinetisch inerten Makrozyklen leichter verfolgen zu können. Der nach Gleichung (18) zu erwartende Protonenverbrauch durch den freiwerdenden Liganden H₇L wird durch kontinuierliche pH Messung verfolgt und stetig mit einer 1.0 M Säure (Salzsäure für Gd(hp-do3a) und Gd(bt-do3a) und Methansulfonsäure für Gd(dota)⁻) von einer computergesteuerten Dosiereinrichtung ausgeglichen. Die Reaktion wurde durch rasche Zugabe einer definierten, aber etwas zu geringen Menge konzentrierter Säure gestartet. Die exakte Einstellung des pH-Wertes wurde dann von der pH-stat Regelung übernommen. Diese sehr simple Variante der Einstellung des zu untersuchenden pH hat sich gegenüber einer anderen Methode durchgesetzt.

Es wäre genauso möglich gewesen, den pH direkt durch den pH-stat einstellen zu lassen. Hierzu stünde dann allerdings nur eine 1.0 M Säure (Titrationsmittel) zur Verfügung. Daraus würde vor allem bei der Einstellung sehr niedriger pH-Werte (z. B. pH 1.0, 0.1 M H⁺) eine relativ große Verdünnung (+ 5 ml 1.0 M HCl) entstehen.

Außerdem ist dabei zu beachten, dass sich die Geschwindigkeit der anfänglichen Dosierung des pH-stat nach drei entscheidenden Faktoren richtet. Diese müssen im Prinzip für jeden Regelwert zuerst optimiert werden. Die maximale Dosierrate in $\text{ml}\cdot\text{s}^{-1}$ gibt die Geschwindigkeit vor, mit der die Dosiereinheit Titrationsmittel zugeben kann, bis der Regelbereich erreicht wird. Dieser beschreibt wiederum ein Potentialfenster in mV um den Regel-pH (bzw. das Regelpotential) herum, in dem die pH-stat Routine nur noch mit der minimalen Dosierrate zudosiert. Ist der Regelbereich zu groß oder die minimale Dosierrate zu klein gewählt worden, so dauert es unter Umständen sehr lange, bis der Regelwert erreicht wird. In dieser Zeit läuft die Reaktion allerdings schon ab, und zwar in die entgegengesetzte Richtung. Dadurch kann im schlimmsten Fall schon Ligand freigesetzt werden. Der Ligand kann seinerseits wiederum Protonen aufnehmen, bevor der Regelwert überhaupt erreicht wurde. Dieser Effekt ist natürlich umso stärker ausgeprägt, je schneller die Dissoziationsreaktion abläuft. Wurden die maximale und/oder die minimale Dosierrate allerdings zu groß und der Regelbereich zu klein gewählt, kann es zu einer Überregelung durch die Routine kommen. In diesem Fall wird schneller Säure zugegeben als die pH-Elektrode auf die Änderung der Protonenkonzentration reagieren kann. Wenn es erst einmal zur Überregelung gekommen ist, ist der pH-stat so lange nicht mehr in der Lage Säure zuzugeben, bis das Potential durch den natürlichen Ablauf der Dissoziation wieder unter den Regel-pH absinkt. In beiden Fällen entsteht ein Zeitfenster, in dem die Reaktion während eines pH-stat Experiments sozusagen unsichtbar abläuft. Aus diesen Gründen ist es oft ratsam, die Reaktion mit einer Menge an konzentrierter Säure zu starten, die gerade groß genug ist, um einige mV unterhalb des Regelpotentials zu landen und nur die restlichen mV durch die Routine hinzufügen zu lassen, da hier im Prinzip nur die minimale Dosierrate einen Einfluss auf die Dauer bis zum Erreichen des Regelpotentials hat. Diese lässt sich darüber hinaus sehr genau einstellen, weshalb auch der Regelwert üblicherweise exakt und innerhalb weniger Sekunden erreicht wird. Zusätzlich wird so die anfangs erwähnte Verdünnung vermieden, da von der konzentrierten Säure meist deutlich weniger als 0.7 ml ausreichen, um den gewünschten pH zu erreichen.

Im Gegensatz zur Studie von Brehm^[79] wurde versucht, das gesamte Reaktionsgeschehen oder wenigstens ein bis zwei Halbwertszeiten $t_{1/2}$ zu verfolgen und nicht nur den linearen Anfangsbereich. Der Säureverbrauch während der Reaktion wurde als Funktion der Zeit registriert.

Dabei muss sich die Methode einigen Einschränkungen unterwerfen:

(a) Die Messgröße der Methode stellt die Änderung des pH-Wertes in Abhängigkeit des Protonenverbrauchs durch Protonierung des Liganden und damit das zugegebene Volumen zum Ausgleich dieser Änderung dar. Für die Auswertung der Daten ist die Annahme essenziell und auch nachvollziehbar, dass der Protonenverbrauch erst durch Protonierung des Liganden am Ende der Reaktionskette erfolgt (*Abbildung 6 und Abbildung 7*). Nur in diesem Fall ist es möglich, den Protonenverbrauch direkt mit der Gadoliniumfreisetzung zu korrelieren. Außerdem ist es unter diesen Umständen unumgänglich, die pK_S -Werte des freigesetzten Liganden H_yL im untersuchten pH-Bereich genau zu kennen. Aus diesen wird schließlich der mittlere Protonierungsgrad des Liganden \bar{p}_L bei einhundertprozentiger Dissoziation berechnet. Weiterhin setzt das Modell ebenfalls die Kenntnis möglicherweise auftretender protonierter Komplexspezies $Gd(H_xL)$ und deren pK_S -Werte voraus. Denn auch diese beeinflussen den Protonierungsgrad des Gesamtsystems ($\bar{p}_{Real} = \bar{p}_L - \bar{p}_K$). Liegt der Komplex bereits nach der anfänglichen Zugabe konzentrierter Säure ein- oder zweifach protoniert vor, so verringert sich dadurch die maximal benötigte Säuremenge um genau diese Anzahl an Protonen (*Kapitel 2.2 c) bis d)*). Die Bestimmung dieser Protonierungskonstanten ist jedoch äußerst schwierig, weil die $\log K$ -Werte circa bei 1 und sogar noch deutlich tiefer liegen können. Aus der schwierigen Bestimmbarkeit ergibt sich für die Konstanten eine relativ große Unsicherheit. Der Fehler, welcher bei Ihrer Berücksichtigung entsteht, ist unvorhersehbar groß.

(b) Der pH-Bereich, in dem mit Hilfe von pH-stat Messungen die Dissoziationsreaktion untersucht werden kann, wird von mehreren Faktoren eingeschränkt. Zum einen wird es im sauren Bereich immer schwieriger korrekte oder überhaupt pK_S -Werte des Liganden oder der Komplexe zu messen. Da sich die freigesetzte Gadoliniummenge allerdings nur berechnen lässt, wenn der maximale Protonenverbrauch (ergibt sich aus dem mittleren Protonierungsgrad) bekannt ist, ergeben sich umso größere Fehler, je niedriger der untersuchte pH wird. Zum anderen wird der pH-Bereich nach unten durch die spezifischen Erfordernisse der Methode an sich beschränkt. Je tiefer der pH, desto höher ist die Protonenkonzentration in der Probenlösung. Damit eine gut messbare pH-Änderung während der Reaktion detektiert werden kann, muss die Komplexkonzentration entsprechend hoch sein. Die Änderung des pH sollte dabei nicht wesentlich kleiner sein als die durch den konstanten pH vorgegebene Säurekonzentration.

Dieser Sachverhalt lässt sich sehr einfach am Beispiel von *Dotarem*[®] veranschaulichen. Werden 70 mM des Komplexes Gd(dota)⁻ unter den allgemeinen experimentellen Bedingungen dieser Dissertation bei einem konstanten pH von 1.0 zur Dissoziation gebracht, so liegt der Ligand im thermodynamischen Gleichgewicht circa sechsfach protoniert vor.

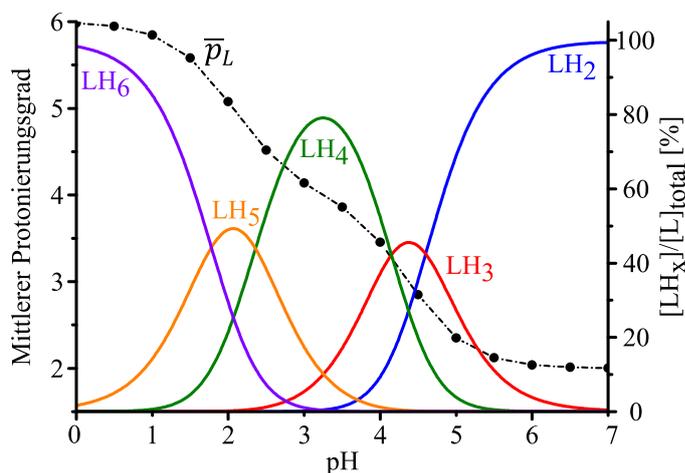


Abbildung 14: Schematische Darstellung des Verlaufs von \bar{p}_L (schwarz gepunktet) am Beispiel einer 0.07 M dota^{4-} Lösung (1.0 M TMACl). Das mit HySS2009 berechnete Verteilungsdiagramm ist zusätzlich in bunt dargestellt. Die zugrundeliegenden pK_S -Werte sind in *Tabelle 2* dokumentiert.

Bei vollständiger Komplexdissoziation kann der Ligand also 420 mM H^+ aufnehmen. Die durch den konstant vorgegebenen pH erzeugte Protonenkonzentration in Lösung beträgt allerdings nur 100 mM. Nun muss allerdings noch berücksichtigt werden, dass die Freisetzung des Liganden ein zeitlicher Prozess ist. Die $t_{1/2}$ der hier betrachteten Reaktion beträgt 32.8 h. In dieser Zeit werden 35 mM Ligand freigesetzt und dementsprechend 210 mM H^+ verbraucht. Das entspricht einem Protonenverbrauch von $6.4 \text{ mmol}\cdot\text{l}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ und einem ΔpH von 0.03. Dieses ΔpH mag auf den ersten Blick sehr klein erscheinen, es muss jedoch weiterhin bedacht werden, dass die Freisetzung des Liganden einer Exponentialfunktion folgt. Die pH-Änderung verhält sich hierzu proportional und ist deshalb zu Beginn der Reaktion deutlich größer als gegen Ende. Außerdem liegt die Messgenauigkeit einer herkömmlichen pH-Glaselektrode bei ± 0.01 pH-Einheiten, weshalb diese immer noch deutlich überschritten wird. Aus diesen Umständen resultiert allerdings ein entscheidender Nachteil der Methode für die pH-metrische Verfolgung besonders langsamer Reaktionen. Allgemein lässt sich festhalten, dass die pH-Änderung umso kleiner wird, je weiter die Reaktion fortgeschritten ist. Schließlich wird irgendwann die Messung von ΔpH beliebig ungenau und eine Auswertung des vollständigen Reaktionsverlaufs wird dadurch fragwürdig.

Die obere pH-Grenze wird zusätzlich durch die Stabilität der Gadoliniumchelate bestimmt. Den Endpunkt jeder dieser Messungen stellt das thermodynamische Gleichgewicht (2) dar, welches sich zwischen GdL , Gd^{3+} und L einstellt. Bei sehr niedrigen pH-Werten liegt dieses Gleichgewicht eindeutig und nahezu zu 100 % auf der Seite der dissoziierten Komponenten. Je weiter der pH ansteigt, desto mehr verschiebt es sich auf die Seite des Komplexes GdL (Abbildung 15).

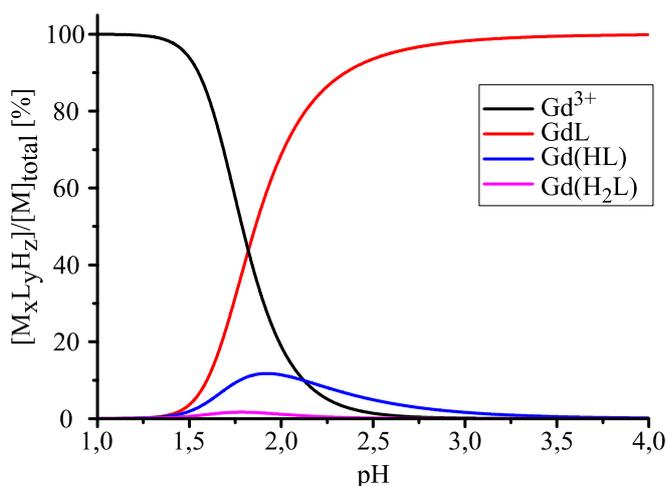


Abbildung 15: Mit HySS2009 simuliertes Verteilungsdiagramm auf Basis des Teilchenmodells aus Tabelle 2 für den Komplex $Gd(dota)^-$ (Dotarem®). 1 M TMACl, $[Gd]_t = [L]_t = 0.07$ M.

Je geringer aber die maximal freisetzbare Menge an Gd^{3+} respektive Ligand ausfällt, desto kleiner fällt auch die messbare pH-Änderung aus, da geringere Mengen Ligand auch einen geringeren Protonenumsatz zur Folge haben. Zusätzlich sinkt mit steigendem pH der mittlere Protonierungsgrad, was ebenfalls zu einer Verringerung von ΔpH führt. Die Erniedrigung von ΔpH ist dabei allerdings immer relativ zu der Verringerung der durch den Regel-pH vorgegebenen Protonenkonzentration in Lösung zu sehen.

(c) Die Verfolgbarkeit der Dissoziationsreaktion ist durch die Ansprechzeit der pH-Glaselektrode und damit verbunden die Geschwindigkeit der Dosierung limitiert. Bei der Untersuchung sehr schneller Reaktionen (labile Komplexe der offenkettigen Liganden) müssen deshalb die Ausführungen über die Art der anfänglichen Einstellung des Regel-pH am Anfang des Kapitels streng berücksichtigt werden. Würde in diesen Fällen die Einstellung des Regelwerts zu Beginn der Messung mit Hilfe der pH-stat Routine durchgeführt, käme es zu einem entscheidenden Problem, welches die Verfolgung solcher Reaktionen auf diesem Weg unmöglich macht. Die Zeit zur Einstellung des Regel-pH, ausgehend von der neutralen Kontrastmittellösung, dauert dann so lange, dass die Dissoziationsreaktion bereits vollständig abgelaufen ist, bevor der eigentliche Regelwert erreicht ist.

Dies ist leicht zu verstehen, da die Dissoziation im Prinzip sofort einsetzt, sobald der Lösung Säure zugesetzt wird. Nun verbraucht der freigesetzte Ligand aber direkt Protonen und erhöht den gemessenen pH, weshalb die Routine weiterhin Säure zugibt um diese Änderung auszugleichen. Da der Prozess der Dissoziation bei dieser Substanzklasse aber innerhalb weniger Sekunden (< 5 s bei pH 1.0 und 25 °C)^[38] abläuft, ist die pH-Elektrode nicht in der Lage, ein Gleichgewichtspotential und damit den korrekten pH zu messen. In diesem Zusammenhang ist es allerdings auch nicht ausreichend den Regel-pH zu Anfang mit konzentrierter Säure einzustellen. Die Reaktion ist dann immer noch zu schnell für die Elektrode.

2.3.2. Komplexe offenkettiger Liganden

Stellvertretend für die wesentlich labileren offenkettigen Derivate wurde das Kontrastmittel *Magnevist*® (dtpa^{5-}) unter exakt den gleichen Bedingungen wie zuvor untersucht. Die vergleichsweise langsamen pH-metrischen Messungen wurden bei einer Temperatur von $0\text{ °C} \pm 0.1\text{ °C}$ durchgeführt, um die Reaktionsgeschwindigkeit auf ein verfolgbares Niveau herabzusetzen. Trotz der Bemühungen, die Reaktionsgeschwindigkeit ausreichend zu verlangsamen, blieb dieses Vorhaben wegen der immer noch sehr schnellen Komplexdissoziation erfolglos. Bereits ab dem ersten Messpunkt wurde keine signifikante Volumenzugabe mehr detektiert. Dieser Befund wurde so interpretiert, dass die Reaktion bereits vollständig abgelaufen war und der freigesetzte Ligand schon während der Einstellung des Regel-pH mit Protonen gesättigt wurde. Da die anderen offenkettigen Vertreter entweder über die gleiche Art und Anzahl an Donoratomen oder sogar über schwächer koordinierende Donorgruppen (Amide) verfügen als dtpa^{5-} ist anzunehmen, dass deren Gd(III)-Komplexe ähnlich schnell oder gar schneller zerfallen. Zusätzlich wird die Untersuchung der anderen Verbindungen dadurch erschwert, dass sich das thermodynamische Gleichgewicht bereits bei noch niedrigeren pH-Werten als es bei den Makrozyklen der Fall ist, überwiegend auf der Seite des Komplexes befindet. Dementsprechend gering wird der Protonenverbrauch und damit ΔpH während der Dissoziation ausfallen. Es kann geschlussfolgert werden, dass alle Kontrastmittel mit offenkettigen Liganden im Bereich $1.0 \leq \text{pH} \leq 2.5$ selbst bei 0 °C zu rasch für die pH-stat Methode zerfallen.

2.3.3. Komplexe makrozyklischer Liganden

Zunächst wurden die drei makrozyklischen Komplexe *Prohance*[®] (Gd(hp-do3a)), *Gadovist*[®] (Gd(bt-do3a)) und *Dotarem*[®] (Gd(dota)⁻) mit Hilfe der Methode der Anfangsgeschwindigkeiten untersucht. Diese Methode ermöglicht die Bestimmung der Reaktionsordnung unter den verwendeten Bedingungen. Es mag zwar sein, dass die generelle Reaktionsführung für eine Reaktion pseudo 1. Ordnung spricht, es wurden jedoch auch Gründe genannt (z. B. Reversibilität), die zu Abweichungen von der erwarteten Kinetik führen können. Deshalb ist es sehr hilfreich, mit Hilfe der Anfangsgeschwindigkeiten zu überprüfen, ob und wie weit die Reaktion tatsächlich pseudo 1. Ordnung verläuft.

Um die Reaktionsordnung in Bezug auf den Reaktionspartner GdL zu bestimmen, kann die Abhängigkeit der Anfangsgeschwindigkeit von der Ausgangskonzentration $[GdL]_0$ ausgenutzt werden.^[88] Durch die Reaktionsführung ($[H^+] = \text{konst.}$) kann der Einfluss der Konzentration dieses Reaktionspartners bei der Komplexdissoziation nach (18) vernachlässigt werden. Die Reaktionsgleichung vereinfacht sich dann zu (31).



Damit ist das Geschwindigkeitsgesetz der Reaktion durch Gleichung (32) gegeben, wobei a die Ordnung der Reaktion in GdL angibt:

$$v = k \cdot [GdL]^a \quad (32)$$

Zu Beginn der Reaktion, also solange der Umsatz noch relativ klein ist, kann die Anfangsgeschwindigkeit v_0 durch (33) ausgedrückt werden.

$$v_0 = k \cdot [GdL]_0^a \quad (33)$$

Diese Anfangsgeschwindigkeit lässt sich im konkreten Fall der pH-stat Methode aus der Auftragung des während der ersten 10 % der Reaktion zugegeben Volumens gegen die Zeit bestimmen. Auch hierfür ergibt sich ein linearer Zusammenhang und die Steigung der Geraden liefert direkt die Anfangsgeschwindigkeit. Durch Logarithmieren des Ausdrucks (33) ergibt sich Gleichung (34).

Diese hat die allgemeine Form einer Geradengleichung ($y = n + mx$) und zeigt, dass sich die Reaktionsordnung a in GdL aus der Steigung der Geraden, die sich aus der doppelt logarithmischen Auftragung der Anfangsgeschwindigkeit v_0 gegen die Anfangskonzentration $[GdL]_0$ ergibt, ermitteln lässt.

$$\log v_0 = \log k + a \cdot \log[GdL]_0 \quad (34)$$

Beträgt die Steigung 1, so gilt es als gesichert, dass zumindest für kleine Umsätze eine Reaktion pseudo 1. Ordnung vorliegt. Einflüsse durch die Reversibilität der Reaktion können dann in diesem Bereich selbstverständlich vernachlässigt werden. Es sollte dabei beachtet werden, dass die Reaktion höchstens zu etwa 10 % ablaufen sollte, damit eine genügende Genauigkeit bei der Auswertung der experimentellen Daten erzielt wird.^[88]

Mit Hilfe der Methode konnte bestätigt werden, dass die Auswertung nach einer Kinetik pseudo 1. Ordnung für alle drei Komplexe im Bereich $1.0 \leq \text{pH} \leq 2.5$ gerechtfertigt ist. Die Ergebnisse der Methode der Anfangsgeschwindigkeiten und die Einschränkungen, die sich daraus für den jeweiligen Komplex ergeben, werden in den folgenden Kapiteln zu den einzelnen Verbindungen genauer erläutert und diskutiert.

Mit dem Ziel, den Konzentrationsverlauf von GdL und Gd^{3+} möglichst exakt über die gesamte Reaktionsdauer zu modellieren, wurde ein Least-Squares-Verfahren entwickelt, mit dem die Geschwindigkeitskonstante der Reaktion $GdL \rightarrow Gd^{3+} + H_yL$ unter Vernachlässigung der Reversibilität quantitativ bestimmt werden kann. Grundlage des Modells bildet eine Kinetik erster Ordnung. Das integrierte Geschwindigkeitsgesetz lautet im konkreten Fall der GdL Dissoziation:

$$[GdL] = [GdL]_0 e^{-k_{obs} \cdot t} \quad (35)$$

Da das direkte Ergebnis der pH-Änderung während der Messung das Ausgleichsvolumen ist, um einen konstanten pH aufrecht zu erhalten, muss nun ein Zusammenhang zwischen dem zugegebenen Volumen und der freigesetzten Konzentration an Gd^{3+} gefunden werden. Hierzu ist es zunächst nötig, den Konzentrationsverlauf von Gd^{3+} in Anlehnung an (35) zu beschreiben. Bei einer Reaktion 1. Ordnung muss für die Konzentration $[Gd^{3+}]$ Gleichung (36) gelten.

$$[Gd^{3+}] = [GdL]_0 - [GdL] \quad (36)$$

Durch Einsetzen von (35) in (36) wird schließlich Ausdruck (37) für die freie Gadoliniumkonzentration erhalten.

$$[Gd^{3+}] = [GdL]_0 \cdot (1 - e^{-k_{obs} \cdot t}) \quad (37)$$

Ohne nun eine notwendige Annahme zu machen, ist es nicht möglich, aus diesem Ausdruck auf das Volumen zu schließen, das nötig wäre, um eine beliebige Menge an Gadolinium freizusetzen. Die Annahme für ein 1:1 Verhältnis zwischen Gd^{3+} und Ligand lautet dann, dass zu jedem Zeitpunkt t $[H_yL] = [Gd^{3+}]$ sein muss. Dies impliziert, dass die Protonenaufnahme durch den Liganden im Prinzip erst am Ende der Reaktionskaskade (*Abbildung 7*) stattfinden darf (*Kapitel 2.2*). Das Gleichgewicht zwischen freiem, vollständig deprotoniertem Liganden L^y- und seinen protonierten Spezies H_yL wird dabei als so schnell angenommen, dass sein Beitrag zur Reaktionsgeschwindigkeit vernachlässigbar klein ist. Dies ist gerechtfertigt, da Protonierungsreaktionen bekanntermaßen sehr schnell ablaufen. Aus der Annahme ergibt sich dann, dass die Konzentration $[Gd^{3+}]$ in Gleichung (37) durch $[H_yL]$ ersetzt werden kann (38).

$$[H_yL] = [GdL]_0 \cdot (1 - e^{-k_{obs} \cdot t}) \quad (38)$$

Um von Ausdruck (38) direkt auf die benötigte Menge an Säure (n M HX, $X = Cl^-, CH_3SO_3^-$) schließen zu können, die der pH-stat zugeben müsste, um den Protonenverbrauch durch den Liganden auszugleichen, ist die Berücksichtigung des bereits mehrfach erwähnten Protonierungsgrades \bar{p}_L (23) notwendig (*Kapitel 2.2 c*). Die benötigte Protonenkonzentration lässt sich durch Multiplikation von (23) mit (38) berechnen. Es ergibt sich Gleichung (39) für die theoretisch berechnete Protonenkonzentration.

$$[H^+] = [GdL]_0 \cdot (1 - e^{-k_{obs} \cdot t}) \cdot \bar{p}_L \quad (39)$$

Das theoretisch benötigte Säurevolumen $V(HX)_{calc.}$ berechnet sich dann unter Berücksichtigung des initialen Volumens V_0 (50 ml) nach Gleichung (40).

$$V(HX)_{calc.} = \frac{[GdL]_0 \cdot (1 - e^{-k_{obs} \cdot t}) \cdot \bar{p}_L \cdot V_0}{[HX]} \quad (40)$$

Da $V(HX)_{calc.}$ eine direkte Abhängigkeit von k_{Obs} aufweist, lässt sich die Geschwindigkeitskonstante durch eine Ausgleichsrechnung bestimmen. Dazu muss die Summe aller Residuen zwischen theoretisch berechnetem und tatsächlich gemessenem Volumen durch Variation von k_{Obs} mit Hilfe eines Algorithmus minimiert werden.

$$\sum \{V(HX)_{calc.} - V(HX)_{gemessen}\}^2 = Minimum \quad (41)$$

Zur Anwendung kommt hier der Generalized Reduced Gradient (GRG2)^[89] mit dem Microsoft Excel Solver (Microsoft, Frontline Systems und Optimal Methods, USA). Mit Hilfe der so erhaltenen Geschwindigkeitskonstante lassen sich dann die Konzentrationsverläufe von Gd^{3+} und GdL nach (35) und (36) berechnen.

Da das Modell die anfängliche Protonierung des Komplexes zu GdHL und GdH₂L nicht berücksichtigt, ist es auch nicht vollständig. Es wurde allerdings bereits geklärt, dass die Bestimmung der beiden Protonierungskonstanten K_1 und K_2 mit einem relativ großen Fehler behaftet ist, weshalb das Modell durch ihre Berücksichtigung nicht zwangsläufig verbessert wird. Zudem spielen die beiden Konstanten vor allem nur bei sehr sauren pH-Werten (\sim pH 1.0) eine signifikante Rolle. Dennoch wird bei der Auswertung der Daten zumindest die etwas weniger saure Protonierung (GdL \rightarrow GdHL) berücksichtigt und mit dem ursprünglichen Modell ohne protonierte Komplexspezies verglichen. Im Falle der Komplexprotonierung muss lediglich \bar{p}_L in den Gleichungen (39) und (40) durch den „realen“ Protonierungsgrad (Differenz aus den mittleren Protonierungsgraden von Ligand \bar{p}_L und Komplex \bar{p}_K) ersetzt werden. Die Volumenzugabe berechnet sich dann nach Gleichung (42).

$$V(HCl)_{calc.} = \frac{[GdL]_0 \cdot (1 - e^{-k_{Obs} \cdot t}) \cdot (\bar{p}_L - \bar{p}_K) \cdot V_0}{[HX]} \quad (42)$$

Diese beiden Modelle zur Berechnung des zugegebenen Säurevolumens lassen sich allerdings nur anwenden, solange es zu keiner signifikanten Abweichung vom erwarteten Verlauf einer Reaktion pseudo 1. Ordnung kommt (Reversibilität). Wie in den folgenden Kapiteln gezeigt wird, ist die Abweichung jedoch bei höheren pH-Werten nicht mehr vernachlässigbar. Um in diesen Fällen dennoch eine Geschwindigkeitskonstante bestimmen zu können, wird k_{Obs} dort lediglich durch einen Fit über den linearen Anfangsbereich ermittelt.

Dieses Verfahren ist zulässig, da insbesondere die Steigung der Tangente an den Konzentrationsverlauf von GdL bei ausreichend kleinen Umsätzen für unterschiedliche Verhältnisse von k_{Hin} zu $k_{Rück}$ den gleichen Wert annimmt (*Kapitel 2.2 e*, *Abbildung 13*). In diesem Zusammenhang erhebt sich allerdings die Frage, ob sich k_{Hin} und $k_{Rück}$ durch Fit des gesamten Reaktionsverlaufs bestimmen lassen. Es wird die Reaktion $GdL \rightleftharpoons Gd^{3+}$ betrachtet, damit das Problem mathematisch einfacher handhabbar bleibt. Am qualitativen Kurvenverlauf ändert dies jedoch nichts. Ganz analog zu den obigen Ausführungen können die benötigten Größen nach den Gleichungen (43) bis (45) berechnet und die Geschwindigkeitskonstanten anschließend durch Minimierung der Summe der Residuen erhalten werden.

$$[GdL] = \frac{k_{Rück} + k_{Hin} \cdot e^{-(k_{Hin}+k_{Rück}) \cdot t}}{k_{Hin} + k_{Rück}} \cdot [GdL]_0 \quad (43)$$

$$V(HCl)_{calc.} = \frac{[GdL]_0 \cdot \left(1 - \left\{ \frac{k_{Rück} + k_{Hin} \cdot e^{-(k_{Hin}+k_{Rück}) \cdot t}}{k_{Hin} + k_{Rück}} \right\}\right) \cdot \bar{p}_L \cdot V_0}{[HX]} \quad (44)$$

$$[GdL]_{\infty} = \frac{k_{Rück}}{k_{Hin} + k_{Rück}} \cdot [GdL]_0 \quad (45)$$

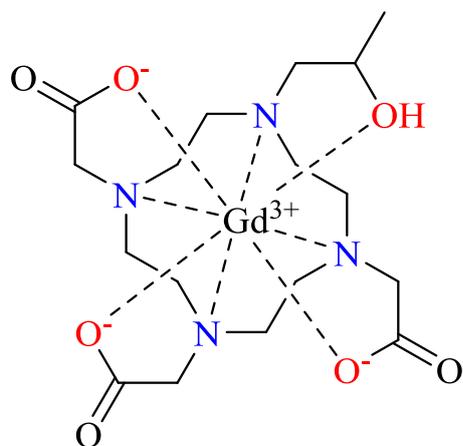
$[GdL]_{\infty}$ beschreibt die Konzentration auf die $[GdL]$ während der Dissoziation maximal absinken kann, bis der Gleichgewichtszustand erreicht ist. Da die Reversibilität der Reaktion ohnehin erst ab $pH \geq 2.0$ eine signifikante Rolle zu spielen beginnt, werden in diesem Fall die fehlerbehafteten Protonierungskonstanten K_1 und K_2 des Komplexes vernachlässigt.

Die Überprüfung der Richtigkeit der Modelle ist leider nicht trivial. Es kann jedoch zumindest im Falle der Reaktion pseudo 1. Ordnung ein allgemeingültiger Vergleich auf Basis der Linearisierbarkeit einer solchen Reaktion und den Berechnungen von Brehm^[79] angestellt werden. Zum einen sollte eine simple logarithmische Auftragung des prozentualen Volumenverbrauchs gegen die Zeit ($\ln(100 - V[\%])$) berechenbar aus \bar{p}_L) eine Gerade ergeben, deren Steigung die Geschwindigkeitskonstante k_{Obs} ergibt. Die Gerade beschreibt dabei nichts anderes als die Konzentrationsabnahme von GdL in Abhängigkeit des zugegebenen Volumens. Weiterhin kann die Konstante direkt aus der Anfangsgeschwindigkeit nach Gleichung (24) berechnet werden.

Stimmen die Ergebnisse dieser beiden Varianten gut mit dem Ergebnis des theoretischen Modells überein, so ist dies ein starkes Indiz für seine Richtigkeit, zumindest im linearen Bereich für kleine Umsätze. Um für den generierten Datensatz eine gewisse statistische Sicherheit gewährleisten zu können, wurden alle Messungen in der Regel zweimal durchgeführt.

Da die Langzeitstabilität der pH-Elektrode nicht überfordert werden sollte, fanden die Experimente bei 37 °C statt. Die erhöhte Reaktionsgeschwindigkeit (im Vergleich zu Messungen bei 25 °C) sollte in Kombination mit der relativ hohen Komplexkonzentration von 70 mM zu einer gut messbaren pH-Änderung führen. Fehler durch Messungenauigkeiten sollten auf diese Weise minimiert werden. Zudem wurde die Stabilität der Elektrode in einem Langzeitexperiment überprüft. Hierzu wurde das gemessene Potential in einer wässrigen Lösung bei pH 2.0 für 48 h verfolgt. Innerhalb dieses Zeitraums lag die Potentialschwankung bei ± 0.2 mV, was in etwa einer pH-Änderung von 0.004 pH-Einheiten entspräche. Unter Berücksichtigung der Messgenauigkeit einer pH-Elektrode (± 0.01 pH) darf diese Schwankung definitiv vernachlässigt werden. Des Weiteren wurde die Elektrode vor und nach jeder Messung zur Überprüfung des Standardelektrodenpotentials kalibriert.

2.3.3.1. Gd(*hp-do3a*); *Prohance*[®]



Das Kontrastmittel *Prohance*[®] wird von Bracco Imaging vertrieben. Es zählt zu den makrozyklischen Komplexen und besteht aus dem Liganden *hp-do3a*³⁻. Dieser wurde vom 1,4,7,10-Tetraazacyclododecan-1,4,7,10-tetraacetat durch Substitution eines Acetatrests durch einen 2-Hydroxypropylrest abgeleitet. Der Ligand koordiniert achtzählig über vier Stickstoffatome, drei Carboxylatsauerstoffatome und einen Alkoholsauerstoff an Gd³⁺. Die verbleibende neunte Koordinationsstelle wird

von einem Wassermolekül besetzt. Der gebildete Komplex ist elektrisch neutral und verfügt über acht stabile Chelatfünfringe (N-Gd-N und N-Gd-O). Unter den makrozyklischen Komplexen ist die Verbindung kinetisch am labilsten. Was die thermodynamische Stabilität angeht, ist der Komplex mit Gd(*bt-do3a*) vergleichbar und unterliegt dem ionischen Gd(*dota*)⁻ in etwa um den Faktor 10⁴.

(a) Methode der Anfangsgeschwindigkeit:

Die Theorie der Methode und ihr Zweck wurden im vorherigen Kapitel diskutiert. Mit der Methode können nur dann optimale Ergebnisse erzielt werden, wenn die Experimente bei einem definierten pH, welcher innerhalb des untersuchten pH-Bereichs ($1.0 \leq \text{pH} \leq 2.5$) liegt, durchgeführt werden. Dieser pH sollte dabei allerdings als Erfahrungswert aufgefasst werden. Er sollte grundsätzlich so gewählt werden, dass die Reaktionsgeschwindigkeit schnell genug ist, um eine signifikante pH-Änderung hervorzurufen, aber langsam genug, um am Anfang beim Einstellen des Regel-pH keine Informationen über die ablaufende Reaktion zu verlieren. Für das Kontrastmittel *Prohance*[®] hat sich pH 2.0 als guter Regel-pH erwiesen. Hier liegt die Halbwertszeit bei etwa 12 h, weshalb sich das Experiment relativ schnell durchführen lässt. Es sollen schließlich nur sehr kleine Umsätze berücksichtigt werden und dementsprechend gering fällt auch die nötige Messdauer aus. Da die Anfangsgeschwindigkeit und die Anfangskonzentration bei einer Reaktion erster Ordnung proportional zueinander sind, kann für eine Verdopplung der Anfangskonzentration auch eine Verdopplung der Anfangsgeschwindigkeit erwartet werden. Die Anfangskonzentration lag deshalb in einem Bereich von $0.05 \text{ M} \leq [\text{GdL}]_0 \leq 0.3 \text{ M}$.

Die tatsächliche Ausgangskonzentration der späteren Experimente zur Bestimmung der Geschwindigkeitskonstanten liegt so zwar am unteren Ende der linearen Funktion, eine weitere Verringerung der Ausgangskonzentration unterhalb von 0.05 M würde allerdings wegen des zu geringen ΔpH wenig Sinn machen. Das auf 37 °C temperierte, gerührte Kontrastmittel (kontinuierliche Temperaturmessung) wurde zur Einstellung des Regel-pH rasch mit konzentrierter Salzsäure versetzt. Nach einer Mischzeit von einer Minute wurde das Regelpotential genau durch die pH-stat Routine mit 1.0 M HCl eingestellt und die Messung sofort gestartet. Alle Messungen nach dieser Methode enthielten 1.0 M TMACl als Hintergrundmedium. Die Messdauer betrug für dieses Experiment maximal zwei Halbwertszeiten, die Auswertung erfolgte aber immer nur jeweils bis ca. 10 % Umsatz. Das Säurevolumen, das für einen zehnpromzentigen Umsatz notwendig ist ($V_{10\%}$), lässt sich wiederum aus dem mittleren Protonierungsgrad des freien Liganden \bar{p}_L (23) nach Gleichung (46) berechnen.

$$V_{10\%} = \frac{\bar{p}_L \cdot [\text{GdL}]_0 \cdot V_0}{[\text{HX}]} \cdot 0.1 \quad (46)$$

Tabelle 6: Experimentelle Parameter der pH-stat Titrations zur Bestimmung der Reaktionsordnung der Dissoziation von *Prohance*[®] bei pH 2.0.

Kontrastmittel, Komplex	<i>Prohance</i> [®] , Gd(hp-do3a)
Methode	potentiometrische Titration (pH-stat)
Titrationstyp	kontinuierlich
Inertelektrolyt	TMACl (1.0 M)
Temperatur	37 ± 0.1 °C
Anzahl der Messungen	6 (1.0 M HCl)
[GdL] ₀	0.05 M – 0.3 M
[H ⁺], Regel-pH	10 ⁻² M, pH = 2.0
Regelbereich ¹	20 mV
Maximale / minimale Dosierrate	1 ml·min ⁻¹ / 10 µl·min ⁻¹
Anzahl der Messpunkte	144
Abstand zwischen Messpunkten	10 min
Messdauer	24 h

¹ Der Regelbereich sowie die maximale und minimale Dosierrate sind nur für das Einstellen des Regel-pH von Bedeutung.

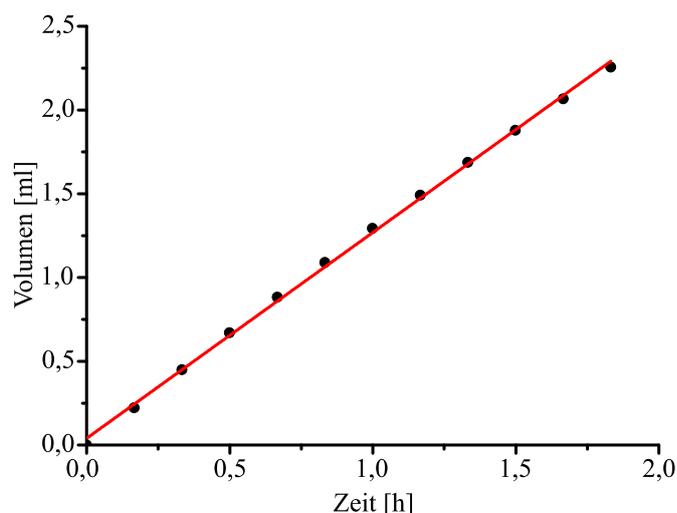


Abbildung 16: Linearer Fit (rote Linie) zur Bestimmung der Anfangsgeschwindigkeit des Säureverbrauchs R_{Obs} in $\text{ml}\cdot\text{h}^{-1}$ aus der Auftragung des zugegebenen Säurevolumens gegen die Zeit (schwarze Punkte). $\text{pH} = 2.0$, $\bar{p}_L = 4.38$, 1.0 M TMACl , $[\text{Gd}(\text{hp-d}03\text{a})]_0 = 100 \text{ mM}$, $R^2 = 0.999$, $R_{\text{Obs}} = 1.23 \text{ ml}\cdot\text{h}^{-1}$.

Abbildung 16 zeigt exemplarisch den Gang der Datenauswertung an einer $0.1 \text{ M Prohance}^{\text{®}}$ Lösung in 1.0 M TMACl . Die Steigung des linearen Fits an die Auftragung des zugegebenen Säurevolumens gegen die Zeit liefert direkt die Anfangsgeschwindigkeit des Säureverbrauchs R_{Obs} in $\text{ml}\cdot\text{h}^{-1}$. Alle Fits zur Bestimmung von R_{Obs} zeigen stets ausgezeichnete Linearität. Es sei darauf hingewiesen, dass R_{Obs} zunächst in die Dissoziationsrate R_d (47) des jeweiligen Komplexes in $\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$ umgerechnet werden muss. R_d darf mit v_0 aus (34) gleichgesetzt werden.

$$R_d = -\frac{d[\text{GdL}]}{dt} = \frac{1}{\bar{p}_L} \cdot R_{\text{Obs}} \cdot \frac{[\text{HX}]}{V_0} \quad (47)$$

Die Berechnung der Geschwindigkeitskonstante k_{Obs} erfolgt dann, wie bereits erläutert, nach Gleichung (24). Die Ergebnisse der Methode der Anfangsgeschwindigkeiten für das Kontrastmittel *Prohance*[®] sind in Tabelle 7 zusammengefasst. Das Ergebnis der doppelt logarithmischen Auftragung der Anfangsgeschwindigkeit der Komplexdissoziation R_d vs. die Anfangskonzentration $[\text{GdL}]_0$ ist in Abbildung 17 dargestellt. Für alle folgenden Abbildungen dieser Art ist zu beachten, dass die Logarithmen jeweils mit -1 multipliziert wurden, um eine Steigung mit positivem Vorzeichen zu erhalten. Das Logarithmieren von R_d und $[\text{GdL}]_0$ erfordert weiterhin deren Dimensionslosigkeit. Formal richtig ist es demnach die Dimensionslosigkeit der Größen zu erzwingen. Realisieren lässt sich dies, indem die jeweilige Größe durch das Produkt $1 \cdot [\text{Einheit der Größe}]$ dividiert wird. Es ist also durchaus legitim die Einheiten bei der doppelt logarithmischen Auftragung weg zu lassen. Werden diese dennoch in eckigen Klammern angegeben, so werden sie natürlich nicht logarithmiert. Sie sollen in diesem Fall lediglich für Klarheit sorgen und beziehen sich dann auf die ursprüngliche Größe.

Tabelle 7: Ergebnisse der Bestimmung der Anfangsgeschwindigkeit des Säureverbrauchs R_{Obs} und der Dissoziationsrate R_d des Kontrastmittels *Prohance*[®] bei pH 2.0.

[GdL] ₀ [mol·l ⁻¹]	R_{Obs} [ml·h ⁻¹]	R^2	$R_d = v_0$ [mol·l ⁻¹ ·s ⁻¹]	k_{Obs} [1/s]	$t_{1/2}$ [h]
0.05	0.57	0.998	$7.17 \cdot 10^{-7}$	$1.43 \cdot 10^{-5}$	13.46
0.075	1.02	1.000	$1.29 \cdot 10^{-6}$	$1.73 \cdot 10^{-5}$	11.13
0.1	1.23	0.999	$1.56 \cdot 10^{-6}$	$1.56 \cdot 10^{-5}$	12.34
0.15	2.01	0.999	$2.55 \cdot 10^{-6}$	$1.70 \cdot 10^{-5}$	11.33
0.2	2.68	0.998	$3.40 \cdot 10^{-6}$	$1.70 \cdot 10^{-5}$	11.33
0.3	3.87	0.998	$4.91 \cdot 10^{-6}$	$1.64 \cdot 10^{-5}$	11.74

R^2 beschreibt das Bestimmtheitsmaß der linearen Regression und zeigt in diesem Fall sehr deutlich, dass die Messwerte kaum streuen.

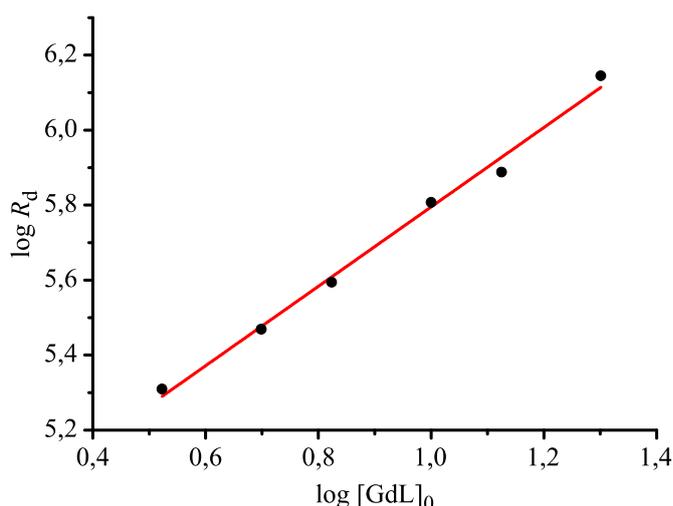


Abbildung 17: Ermittlung der Reaktionsordnung a durch doppelt logarithmische Auftragung der anfänglichen Dissoziationsrate R_d ($\sim 10\%$ Umsatz) gegen die Anfangskonzentration $[\text{GdL}]_0$. a ergibt sich aus der Steigung der in Rot dargestellten linearen Regression. pH = 2.0, 1 M TMACl, 0.05 M bis 0.3 M *Prohance*[®], $a = 1.06$, $R^2 = 0.991$.

Aus der Steigung der linearen Regression dieser Auftragung lässt sich direkt die Reaktionsordnung a ableiten. Da a einen Wert von 1.06 annimmt, darf eine Reaktion pseudo 1. Ordnung zur Bestimmung der Geschwindigkeitskonstante k_{Obs} verwendet werden. Strenggenommen ist diese Aussage nur für den untersuchten pH von 2.0 und die ersten 10 % des Reaktionsumsatzes gültig, es ist jedoch nicht sehr wahrscheinlich, dass sich die Reaktionsordnung bei den anderen pH-Werten ändert. Eine Änderung des Mechanismus und damit der Ordnung in Abhängigkeit des pH ist jedoch nicht gänzlich auszuschließen, sie würde jedoch bei der Art der Auswertung direkt durch starke Abweichungen von Fit und Messkurve auffallen. Für den Fall, dass es schon vor dem Erreichen von 10 % Umsatz zu Abweichungen von einer Reaktion erster Ordnung kommt, wurden mit der pH-stat Routine immer genügend viele Datenpunkte generiert, um auch für geringere Umsätze noch einen recht umfangreichen Datensatz zur Verfügung zu haben.

Ein weiteres sehr interessantes Resultat lässt sich für die Reproduzierbarkeit der pH-stat Messungen ableiten. Im Prinzip wurden hier sechs Messungen unter exakt den gleichen Bedingungen durchgeführt. Lediglich die Anfangskonzentration wurde variiert. Da hier aber nachweislich eine Reaktion erster Ordnung vorliegt, hat diese Variation keinen Einfluss auf die Geschwindigkeitskonstante k_{Obs} . Aus den Daten lässt sich für pH 2.0 eine mittlere Halbwertszeit von 11.90 ± 0.79 h ableiten. Die Standardabweichung beträgt also lediglich 6.7 %, was für eine relativ gute Reproduzierbarkeit der Ergebnisse spricht. Die einzige wirklich größere Abweichung der $t_{1/2}$ ergibt sich bei einer Konzentration von 0.05 M $[\text{GdL}]_0$. Dort weichen Mittelwert und Messwert um circa 12 % voneinander ab. Der höhere Fehler ergibt sich aus der bereits besprochenen Limitierung der Methode durch die Messgenauigkeit der pH-Elektrode. Je niedriger die Komplexkonzentration, desto geringer fällt ΔpH aus und desto stärker wirkt sich die Elektrodengenauigkeit auf das Messergebnis aus. Aus diesem Grund wurden die finalen Messungen zur Bestimmung von k_{Obs} bei einer Komplexkonzentration von 70 mM stets doppelt ausgeführt. Selbstverständlich darf dieses Ergebnis nur als Indiz für eine gute Reproduzierbarkeit aufgefasst werden. Es ist offensichtlich, dass die Messgenauigkeit stark von der Protonenkonzentration in Lösung abhängt, weshalb diese je nach pH variieren kann. Bei relativ hohen Protonenkonzentrationen ($\text{pH} \leq 1.5$) muss auch die zeitliche pH-Änderung während der Reaktion ausreichend groß sein, damit die Messgenauigkeit der Elektrode nicht überfordert wird. Bei höheren pH-Werten spielt die Protonenkonzentration der Lösung eine geringere Rolle. Diese Tatsache kann jedoch durch die Verlangsamung der Reaktion aufgewogen werden. So können durch das sinkende ΔpH dennoch Messfehler entstehen.

(b) *Untersuchung der Dissoziationskinetik zur Bestimmung von k_{Obs} , k_{Hin} und $k_{\text{Rück}}$*

Die Dissoziationskinetik wurde bei einer Komplexkonzentration $[\text{GdL}]_0$ von 0.07 M untersucht. Die Temperatur betrug 37 ± 0.1 °C und als Inertelektrolyt wurde TMACl bei einer 1 M Ionenstärke eingesetzt. Ziel der Untersuchungen war die Verfolgung einer möglichst vollständigen Dissoziationsreaktion. Die teils sehr langsame Reaktionsgeschwindigkeit hat dies jedoch nur sehr selten erlaubt. Im Idealfall konnte das Reaktionsgeschehen über zwei Halbwertszeiten verfolgt werden. In allen anderen Fällen wurde die Reaktion so lange wie irgend möglich beobachtet. Es wurde dann von Fall zu Fall entschieden, über welchen Zeitraum die Datenauswertung sinnvolle Ergebnisse liefert. Im Falle von *Prohance*[®] war dies eher unproblematisch, da der Komplex von allen drei Makrozyklen ohnehin am schnellsten zerfällt.

Die Dissoziation von *Prohance*[®] wurde in einem Bereich von $1.0 \leq \text{pH} \leq 2.5$ in Abständen von 0.5 pH Einheiten untersucht. Engmaschigere Experimente bringen keinen Zugewinn an Informationen und wären wegen der geringeren pH-Differenz zwischen den einzelnen Regel-pH-Werten nur anfälliger für Schwankungen in der Messgenauigkeit gewesen. Deshalb sind Abstände von 0.5 pH-Einheiten sinnvoll. Zunächst sollen die Ergebnisse der Auswertung nach einer reinen Kinetik pseudo 1. Ordnung nach (35) bis (41) dargestellt und erörtert werden. Im Anschluss wird die Auswertung unter Berücksichtigung einer Rückreaktion nach (43) bis (45) durchgeführt und mit den bisherigen Ergebnissen verglichen. Da für den untersuchten Komplex keine Komplexprotonierungskonstanten $\log K_{\text{P}}^{\text{Gd}(\text{H}_x\text{L})}$ bestimmt werden konnten (Tabelle 2), wird deren Einfluss auf den mittleren Protonierungsgrad natürlich vernachlässigt. Es wird also nur \bar{p}_L berücksichtigt.

(b 1) *pH 1.0*

Die Messdaten konnten bei pH 1.0 sowohl unter Berücksichtigung als auch unter Vernachlässigung einer Rückreaktion gut ausgewertet werden. Die genauen experimentellen Parameter sind in Tabelle 8 dargestellt.

Tabelle 8: Experimentelle Parameter der pH-stat Titrationen zur Bestimmung der Geschwindigkeitskonstanten k_{Obs} , k_{Hin} und $k_{\text{Rück}}$ der Dissoziation von *Prohance*[®] bei pH 1.0.

Kontrastmittel, Komplex	<i>Prohance</i> [®] , Gd(hp-do3a)
Methode	potentiometrische Titration (pH-stat)
Titrationstyp	kontinuierlich
Inertelektrolyt	TMACl (1.0 M)
Temperatur	37 ± 0.1 °C
Anzahl der Messungen	4 (1.0 M HCl)
[GdL] ₀	0.07 M
[H ⁺], Regel-pH	100 mM, pH = 1.0
Regelbereich	10 mV
Maximale / minimale Dosierrate	1 ml·min ⁻¹ / 30 µl·min ⁻¹
Anzahl der Messpunkte	144 bis 288
Abstand zwischen Messpunkten	5 bis 10 min
Messdauer	24 h

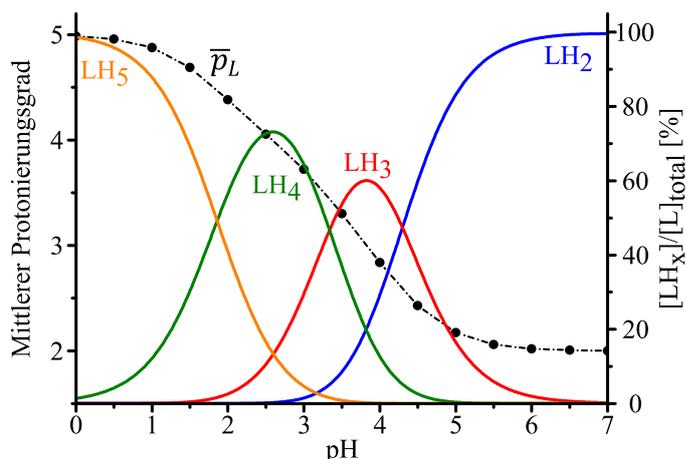


Abbildung 18: Schematische Darstellung des Verlaufs von \bar{p}_L (schwarz gepunktet) am Beispiel einer 0.07 M hp-do3a³⁻ Lösung (1.0 M TMACl). Das mit HySS2009 berechnete Verteilungsdiagramm ist zusätzlich in bunt dargestellt. Die zugrundeliegenden pK_S-Werte sind in *Tabelle 2* dokumentiert.

Der Ligand hp-do3a³⁻ trägt bei pH 1.0 im Mittel 4.88 Protonen (\bar{p}_L , *Abbildung 18*). Für eine vollständige Ligandfreisetzung wären demnach 17.08 ml 1.0 M HCl notwendig. Werden die Messdaten mit Hilfe einer Reaktion erster Ordnung ausgewertet, ergibt sich eine relativ gute Übereinstimmung zwischen gemessenem und berechnetem Volumen. Es zeigt sich jedoch eine signifikante Abweichung zwischen den beiden Größen ab einer Reaktionsdauer von ca. 6 h. Die Volumenzugabe durch den pH-stat ist bereits bei 15.8 ml beendet (*Abbildung 19, links*). Es sei darauf hingewiesen, dass in den folgenden Abbildungen zu den Least-Squares Fits nicht alle Messpunkte dargestellt werden, um eine bessere Übersicht gewährleisten zu können.

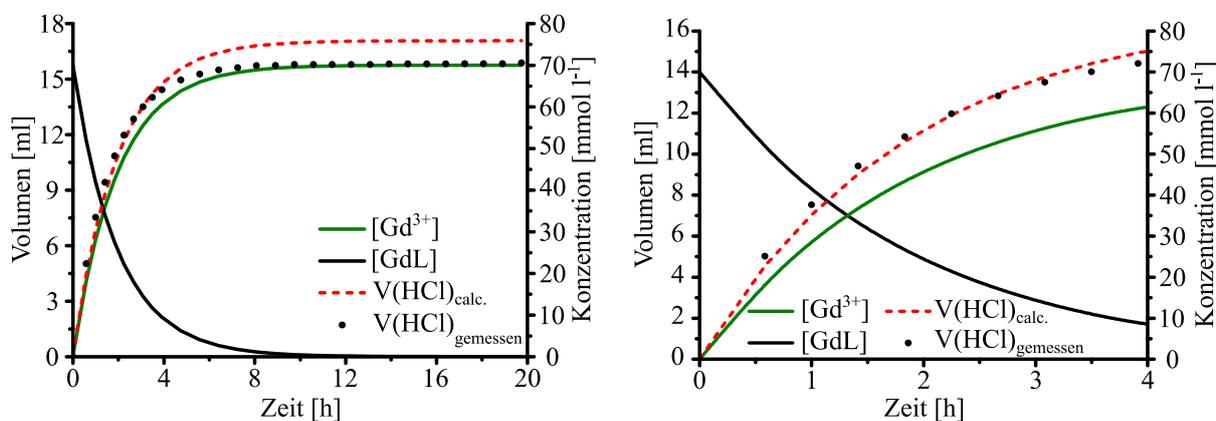


Abbildung 19: Least-Squares Fit von $V(HCl)_{calc.}$ (rot gestrichelt) an $V(HCl)_{gemessen}$ (schwarze Punkte) nach einer Reaktion 1. Ordnung für eine 0.07 M Prohance[®] Lösung (1.0 M TMACl) bei pH 1.0. Die berechneten Konzentrationsverläufe von GdL (schwarze Linie) und Gd³⁺ (grüne Linie) sind zusätzlich dargestellt. Links: Auswertung über gesamte Messdauer, $k_{Obs} = 5.11 \cdot 10^{-1} \text{ h}^{-1}$, $t_{1/2} = 1.36 \text{ h}$; rechts: Auswertung unter Vernachlässigung der Abweichung vom erwarteten Verlauf, $k_{Obs} = 5.31 \cdot 10^{-1} \text{ h}^{-1}$, $t_{1/2} = 1.31 \text{ h}$.

Der Volumenfit (rot gestrichelte Linie) läuft aber bis zum maximal nötigen Volumen, wie es für eine Reaktion erster Ordnung zu erwarten wäre. Die so erhaltene Geschwindigkeitskonstante k_{Obs} beträgt $5.11 \cdot 10^{-1} \text{ h}^{-1}$ ($t_{1/2} = 1.36 \text{ h}$). Da eine weitere Minimierung der Summe der Residuen zwischen $V(\text{HCl})_{\text{gemessen}}$ und $V(\text{HCl})_{\text{calc.}}$ nicht möglich ist, ist es durchaus plausibel anzunehmen, dass bereits bei pH 1.0 keine rein einseitige Kinetik mehr vorliegt. In der Datenauswertung kann diesem Problem auf zwei Wegen begegnet werden: Einerseits durch Betrachtung eines wesentlich kürzeren Zeitraumes (annähernd linearer Bereich), wie bei der Methode der Anfangsgeschwindigkeiten und andererseits durch Verwendung einer zweiseitigen Kinetik unter Berücksichtigung der Rückreaktion ($k_{\text{Rück}}$).

Bei der simplen Betrachtung eines kürzeren Zeitraumes kommt es selbstverständlich zu einer signifikanten Verbesserung des Fits. Wird der Zeitraum allerdings klein genug gewählt, dass die Reversibilität der Reaktion noch keine Rolle spielt und groß genug, dass der Fit durch ausreichend viele Messpunkte gestützt wird, werden tatsächlich zutreffendere Resultate für k_{Obs} erzielt (*Abbildung 19, rechts*). Die auf diese Weise ermittelte Geschwindigkeitskonstante beträgt $5.31 \cdot 10^{-1} \text{ h}^{-1}$, ($t_{1/2} = 1.31 \text{ h}$) und unterscheidet sich lediglich um ca. 3.8 % von der zuvor bestimmten Konstante. Dafür sollte k_{Obs} nun aber von dem Einfluss der Reversibilität entkoppelt sein. Darüber hinaus konnte so die Summe der Residuen drastisch verringert werden. Diese Aussage gilt allerdings nur eingeschränkt. Es ist klar, dass die Summe der Residuen (41) kleiner werden muss, wenn die Anzahl der Punkte in der Ausgleichsrechnung verringert wird. Wenn also im Folgenden von einer Verringerung der Summe der Residuen gesprochen wird, wird die Summe zunächst durch die Anzahl der ausgewerteten Messpunkte geteilt, um Informationen über die Abweichung pro Punkt zu erhalten. Die so erhaltene Größe soll der Einfachheit halber zukünftig als ΔV_{N} bezeichnet werden. Auf die Angabe der Einheit ml^2 wird verzichtet, da diese für den Vergleich der beiden Auswertungsvarianten unerheblich ist. Auf diese Weise lässt sich die Qualität der beiden Fits aus *Abbildung 19* besser beurteilen. Erfolgt die Datenanpassung über die gesamte Messdauer nach einer einfachen Reaktion erster Ordnung, so ist $\Delta V_{\text{N}} = 0.93$. Dieser Wert ist erwartungsgemäß relativ groß. Wird nur der Bereich ohne die Abweichung vom zu erwartenden Reaktionsverlauf einer Reaktion 1. Ordnung untersucht, so verringert sich ΔV_{N} auf einen Wert von 0.18. Damit ist die Abweichung pro Punkt in etwa um den Faktor 5 verringert worden. Der Fehler auf der so bestimmten Geschwindigkeitskonstante k_{Obs} fällt dementsprechend deutlich geringer aus.

Die Notwendigkeit für eine Größe zur näherungsweisen Beurteilung der Qualität der Fits resultiert daraus, dass eine einfache statistische Größe wie R^2 (gilt nur für lineare Zusammenhänge) für die individuellen Modellfunktionen (Gleichungen (40) und (44)) nicht existiert.

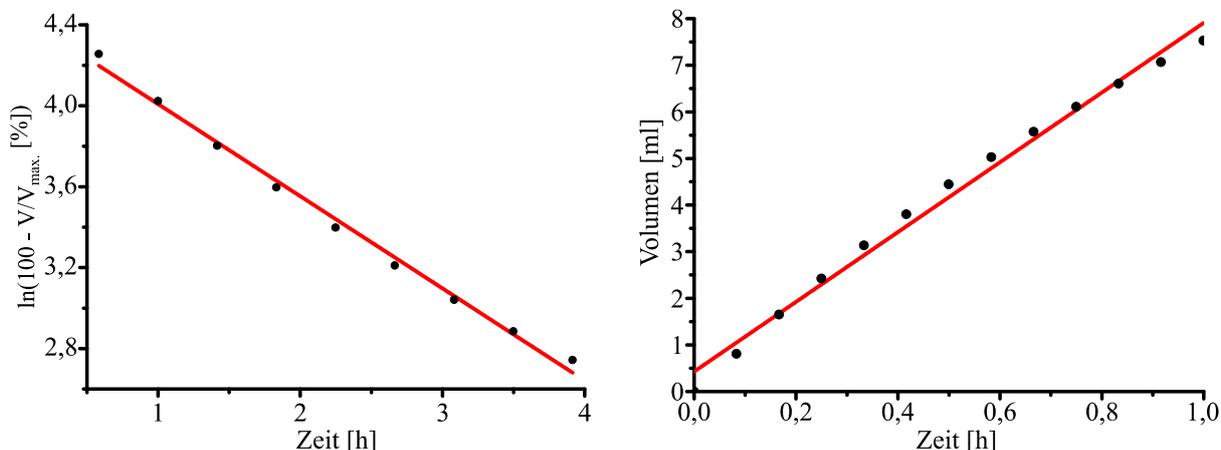


Abbildung 20: Logarithmische Auftragung (links) zur Überprüfung der Kinetik erster Ordnung, $k_{\text{Obs}} = 4.55 \cdot 10^{-1} \text{ h}^{-1}$, $t_{1/2} = 1.52 \text{ h}$, $R^2 = 0.994$. Auftragung des initialen Protonenverbrauchs (rechts) zur Bestimmung von k_{Obs} für sehr kleine Umsätze, $R_{\text{Obs}} = 7.48 \text{ ml} \cdot \text{h}^{-1}$, $k_{\text{Obs}} = 4.38 \cdot 10^{-1} \text{ h}^{-1}$, $t_{1/2} = 1.58 \text{ h}$, $R^2 = 0.990$.

Neben dem Ansatz, die Auswertung mit Hilfe von Exponentialfunktionen durch ΔV_N zu vergleichen, ist es aber auch möglich eine Linearisierung für den Bereich vorzunehmen, in dem die Reaktion kaum bis gar nicht vom Verlauf einer Reaktion 1. Ordnung abweicht. Schließlich liefert die Integration des Geschwindigkeitsgesetzes $d[\text{GdL}]/dt = -k \cdot [\text{GdL}]$ den linearen logarithmischen Ausdruck (48) für den Abbau von GdL.

$$\ln[\text{GdL}] = \ln[\text{GdL}]_0 - k \cdot t \tag{48}$$

Wird die Komplexkonzentration zum Zeitpunkt t nun durch die prozentuale Abnahme von GdL ausgedrückt, lässt sich $[\text{GdL}]$ dabei ganz einfach aus dem Verhältnis des zugegeben Volumens V_{gemessen} und dem maximal nötigen Volumen $V_{\text{max.}}$ berechnen. Gleichung (48) geht dann in die finale Form für die Datenauswertung (49) über.

$$\ln\left\{100 - \left(\frac{V_{\text{gemessen}}}{V_{\text{max.}}}\right) \cdot 100\right\} = \ln(100) - k \cdot t \tag{49}$$

Dieser Ausdruck mag auf den ersten Blick relativ schwer verständlich wirken. Deshalb ist es hilfreich $V_{\text{gemessen}}/V_{\text{max.}}$ und dessen Bedeutung noch einmal etwas genauer zu betrachten. Die beiden Volumina lassen sich mit Hilfe von (40) und (46) berechnen.

Dann muss noch berücksichtigt werden, dass $[GdL]_0 \cdot (1 - e^{-k_{\text{Obs}} \cdot t})$ gleich der Konzentration an freiem Gd^{3+} ist und es ergibt sich Gleichung (50).

$$\frac{V_{\text{gemessen}}}{V_{\text{max.}}} = \frac{[Gd^{3+}] \cdot \bar{p}_L \cdot V_0}{[HX]} \cdot \left(\frac{[GdL]_0 \cdot \bar{p}_L \cdot V_0}{[HX]} \right)^{-1} = \frac{[Gd^{3+}]}{[GdL]_0} \quad (50)$$

Diese beschreibt nichts anderes als den Anteil an freiem Gd^{3+} , der sich in Abhängigkeit der Volumenzugabe gebildet hat. Letztlich ergibt die Differenz in Gleichung (49) also die verbleibende Menge GdL (von 100 % am Anfang der Reaktion) nach Zugabe einer definierten Menge einer Säure definierter Konzentration.

Diese Art der Auswertung (*Abbildung 20, links*) bringt folgende Vorteile mit sich. Da die einzigen wirklich bekannten Größen bei der Messung V_{gemessen} und $V_{\text{max.}}$ sind, lässt sich so die Geschwindigkeitskonstante bestimmen, ohne den relativ komplizierten Weg über die Berechnung von $V(\text{HCl})_{\text{calc.}}$ zu gehen. Außerdem lassen sich aus dieser Methode indirekt Rückschlüsse auf die Qualität des Fits von $V(\text{HCl})_{\text{calc.}}$ (*Abbildung 19 rechts*) ziehen, solange in beiden Fällen der gleiche Messzeitraum ausgewertet wird. Es ist unbestritten, dass die Linearisierung bei einer Reaktion 1. Ordnung mathematisch sinnvoll ist und korrekte Resultate liefert. Da ausführlich gezeigt wurde, dass die Dissoziation in den angegebenen Grenzen tatsächlich 1. Ordnung verläuft, darf angenommen werden, dass das Bestimmtheitsmaß R^2 des linearen Fits auch als Maß für die Güte des Fits von $V(\text{HCl})_{\text{calc.}}$ (Exponentialfunktion) betrachtet werden kann.

Die auf diesem Weg bestimmte Geschwindigkeitskonstante k_{Obs} nimmt den Wert $4.55 \cdot 10^{-1} \text{ h}^{-1}$ ($t_{1/2} = 1.52 \text{ h}$) an. Das Bestimmtheitsmaß beträgt 0.994. Die ausgezeichnete Linearität im untersuchten Zeitraum unterstützt noch einmal das Ergebnis der Methode der Anfangsgeschwindigkeiten und die theoretischen Ausführungen hierzu. Würde keine Reaktion 1. Ordnung vorliegen, ergäbe sich keine derart hohe Korrelation zwischen den aufgetragenen Größen. Das Ergebnis stimmt außerdem sehr gut mit den Geschwindigkeitskonstanten überein, die durch die Anpassung von $V(\text{HCl})_{\text{calc.}}$ ermittelt wurden.

Abgerundet wird das Gesamtergebnis durch die Ermittlung von k_{Obs} aus der Anfangsgeschwindigkeit (*Abbildung 20, rechts*). Es sei darauf hingewiesen, dass in diesem Fall $V_{10\%}$ deutlich überschritten werden musste.

Die Reaktionsgeschwindigkeit war so hoch, dass bis zum Erreichen von $V_{10\%}$ nur fünf Datenpunkte generiert wurden. Um ausreichend viele Messpunkte zu erhalten, wurde die erste Stunde der Reaktion betrachtet. Die Geschwindigkeitskonstante beträgt $4.38 \cdot 10^{-1} \text{ h}^{-1}$ ($t_{1/2} = 1.58 \text{ h}$) und deckt sich damit relativ gut mit den bisherigen Ergebnissen. Darüber hinaus ergibt sich exzellente Linearität für die Auftragung des Volumens gegen die Zeit ($R^2 = 0.990$).

Bisher ungeklärt geblieben ist jedoch die Frage nach der Abweichung vom erwarteten Reaktionsverlauf bei fortschreitender Reaktionsdauer. Mögliche Gründe hierfür könnten natürlich die zunehmende Verdünnung, die Änderung der Ionenstärke (*Kapitel 2.2 b*) oder das Driften der Elektrode, beziehungsweise eine zu geringe Messgenauigkeit (*Kapitel 2.3.1 b*) während der Reaktion sein. Aufgrund der systematischen, signifikanten Abweichung ist jedoch anzunehmen, dass der Grund für diese die Reaktion an sich ist. Die Auswirkungen der Reversibilität wurden bereits ausführlich in *Kapitel 2.2 e*) erörtert. Die Datenauswertung und die Ausgleichsrechnung folgt den Gleichungen (43) bis (45). Das Resultat unter Berücksichtigung der Reversibilität ist in *Abbildung 21* dargestellt.

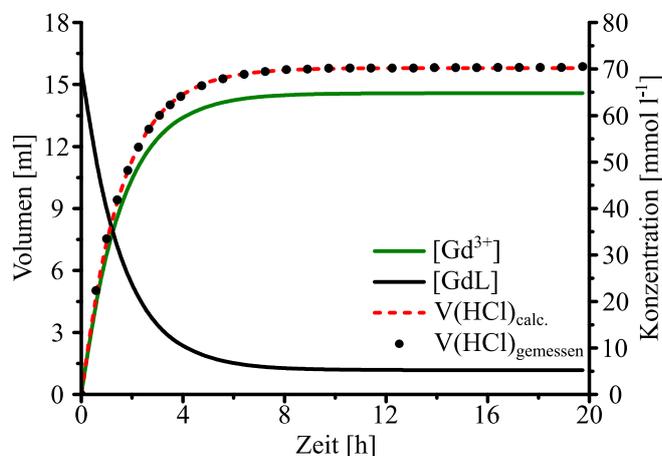


Abbildung 21: Least-Squares Fit von $V(\text{HCl})_{\text{calc.}}$ (rot gestrichelt) an $V(\text{HCl})_{\text{gemessen}}$ (schwarze Punkte) unter Berücksichtigung der Reversibilität ($\text{GdL} \rightleftharpoons \text{Gd}^{3+}$) für eine 0.07 M Prohance® Lösung (1.0 M TMACl) bei pH 1.0. Die Konzentrationsverläufe von GdL (schwarze Linie) und Gd^{3+} (grüne Linie) sind zusätzlich dargestellt. $[\text{GdL}]_{\infty} = 5.24 \text{ mM}$, $k_{\text{Hin}} = 5.87 \cdot 10^{-1} \text{ h}^{-1}$, $k_{\text{Rück}} = 4.73 \cdot 10^{-2} \text{ h}^{-1}$, $k_{\text{Hin}}/k_{\text{Rück}} = 12.6$.

Der reversible Fall zeigt besonders interessante Ergebnisse. Es ist sehr deutlich zu erkennen, dass die Qualität des Fits durch die Verwendung einer solchen Kinetik signifikant verbessert wird. Es ergibt sich eine nahezu perfekte Übereinstimmung zwischen gemessenem und theoretisch berechnetem Volumen. Die mittlere Abweichung pro ausgewerteten Messpunkt ΔV_N beträgt nur noch 0.003 und übertrifft damit sogar deutlich den Fall, bei dem nur der kleine Bereich ohne Abweichung vom erwarteten Verlauf betrachtet wurde (*Abbildung 19, rechts*). Die so berechnete Geschwindigkeitskonstante der Hinreaktion k_{Hin} deckt sich bei pH 1.0 noch gut mit den vorherigen Ergebnissen und beträgt $5.87 \cdot 10^{-1} \text{ h}^{-1}$ ($k_{\text{Rück}} = 2.66 \cdot 10^{-2} \text{ h}^{-1}$).

Aus dem Quotienten $k_{\text{Hin}}/k_{\text{Rück}}$ lässt sich das Verhältnis der Geschwindigkeiten der beiden gegenläufigen Reaktionen ableiten. Die Komplexdissoziation verläuft bei pH 1.0 ca. zwölfmal so schnell wie die Komplexbildung. Dieses Ergebnis ist absolut plausibel, da aufgrund des hohen Protonierungsgrades des Liganden die Komplexbildung erschwert ist. Außerdem lässt sich so die geringfügige Abweichung zwischen k_{Hin} und den zuvor ermittelten Werten für k_{Obs} erklären. Es würde schließlich wenig Sinn machen, wenn k_{Obs} signifikant von k_{Hin} verschieden wäre, wenn doch die Rückreaktion um den Faktor 12 langsamer ist und deshalb nur einen sehr geringen Einfluss ausüben kann. Es ist allerdings überraschend, dass sich für den reversiblen Fall eine Gleichgewichtskonzentration $[\text{GdL}]_{\infty}$ von ca. 5 mM berechnen lässt. Dies entspricht nur einer etwa 93 %-igen Freisetzung von Gd^{3+} . Aus den thermodynamischen Gleichgewichtskonstanten des Komplexes (Tabelle 2) wäre allerdings zu erwarten, dass das Gleichgewicht zu nahezu 100 % auf der Seite von freiem Gd^{3+} liegt (Abbildung 22).

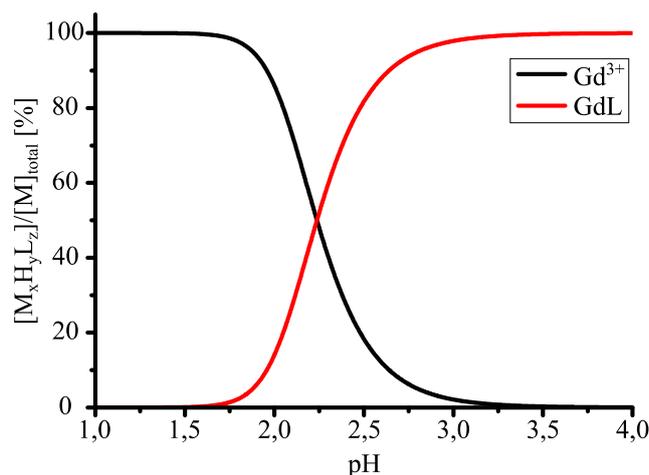


Abbildung 22: Mit HySS2009 simuliertes Verteilungsdiagramm auf Basis des Teilchenmodells aus Tabelle 2 für den Komplex $\text{Gd}(\text{hp-d}03\text{a})$ (Prohance®). $[\text{Gd}]_t = [\text{L}]_t = 0.07 \text{ M}$ (1.0 M TMACl).

Es sei allerdings erwähnt, dass die Gleichgewichtskonstanten in Batch-Titrationen bestimmt wurden und deshalb bis zum vollständigen Erreichen des thermodynamischen Gleichgewichts ein Zeitraum von mehreren Wochen zur Verfügung stand. Es wäre also durchaus denkbar, dass die Konzentration von $[\text{GdL}]$ über einen wesentlich längeren Zeitraum langsam weiter abnimmt und schließlich im thermodynamischen Gleichgewicht ihr Minimum erreicht. Die Genauigkeit der pH-stat Methode wäre allerdings nicht ausreichend, um einen solch langsamen Prozess zuverlässig verfolgen zu können. Eine Darstellung aller Ergebnisse der unterschiedlichen Auswerteverfahren findet sich in (Tabelle 9). Die Verfahren decken sich untereinander sehr gut.

Der Fehler ($\sigma = \sqrt{\frac{\sum(x-\bar{x})^2}{n}}$) auf k_{Obs} beträgt innerhalb dieser Einzelmessung lediglich 5.6 %. Für alle weiteren Messungen ergeben sich ähnliche Standardabweichungen.

Tabelle 9: Ergebnisse der verschiedenen Auswertemethoden für die Dissoziationskinetik von *Prohance*[®] bei pH 1.0, T = 37 °C, [Gd(hp-do3a)]_{total} = 70 mM in 1.0 M TMACl. Einseitig: Reaktion erster Ordnung (k_{Obs}); lang: Auswertung der gesamten Reaktion; kurz: Auswertung des Bereichs ohne Abweichung; logarithmisch: $\ln(100 - V/V_{\text{max.}} [\%])$; v_0 : Anfangsgeschwindigkeit; zweiseitig: Hin- und Rückreaktion jeweils erster Ordnung.

		GdL \rightarrow Gd ³⁺				GdL \rightleftharpoons Gd ³⁺
		einseitig				zweiseitig
		Lang	Kurz	Logarithmisch	v_0	
k_{Obs}	[h ⁻¹]	$5.11 \cdot 10^{-1}$	$5.31 \cdot 10^{-1}$	$4.45 \cdot 10^{-1}$	$4.38 \cdot 10^{-1}$	--
		$\Delta V_{\text{N}} = 0.93$	$\Delta V_{\text{N}} = 0.18$	$R^2 = 0.994$	$R^2 = 0.990$	
$t_{1/2}$	[h]	1.36	1.31	1.52	1.58	--
k_{Hin}	[h ⁻¹]	--	--	--	--	$5.87 \cdot 10^{-1}$
						$\Delta V_{\text{N}} = 0.003$
$k_{\text{Rück}}$	[h ⁻¹]	--	--	--	--	$4.73 \cdot 10^{-2}$
						$\Delta V_{\text{N}} = 0.003$
$k_{\text{Hin}}/k_{\text{Rück}}$		--	--	--	--	12.4
$[\text{GdL}]_{\infty}$	[mM]	--	--	--	--	5.24

Die Ergebnisse zeigen noch einmal sehr deutlich die Wichtigkeit, die Resultate genau zu hinterfragen. Bei derartig niedrigen pH-Werten sollte die Reversibilität der Reaktion eine untergeordnete Rolle spielen. Es zeigt sich jedoch, dass die Berücksichtigung der Rückreaktion die Qualität der Fits deutlich verbessert. Daraus lässt sich schließen, dass die Rückreaktion nicht vernachlässigt werden sollte. Es mag zwar sein, dass sich dieses Resultat bei geringen pH-Werten nur sehr wenig auf die Geschwindigkeitskonstante und die Halbwertszeit der Komplexdissoziation auswirkt, es ist jedoch zu erwarten, dass dieser Einfluss mit steigendem pH immer deutlicher wird.

Aus der Kombination der Resultate aller Duplikatmessungen und Datensätze bei pH 1.0 ergeben sich die in *Tabelle 10* zusammengefassten, gemittelten Geschwindigkeitskonstanten. Unter Berücksichtigung aller Fehlerquellen (Verdünnung, Änderung der Ionenstärke, Messgenauigkeit der pH-Elektrode, etc.) erscheint die Standardabweichung bei Verwendung einer einseitigen Kinetik mit 14.5 % nicht übermäßig hoch. Trotz der signifikanten Verbesserung der Qualität des Fits bei Berücksichtigung einer zweiseitigen Kinetik unterscheiden sich die Geschwindigkeitskonstanten k_{Obs} und k_{Hin} gerade einmal um 8.7 %. Dies ist wenig überraschend, da der Einfluss der Rückreaktion hier noch nicht sehr stark ausgeprägt ist.

Die beiden kinetischen Modelle liefern demnach zumindest für k_{Obs} , beziehungsweise k_{Hin} zuverlässige Ergebnisse. Die Angabe der Halbwertszeit der Reaktion erfolgt immer auf Basis der einseitigen Kinetik ($t_{1/2} = \ln(2) \cdot k_{\text{Obs}}^{-1}$). Diese beträgt 1.26 h.

Der Wert der Geschwindigkeitskonstante der Rückreaktion $k_{\text{Rück}}$ ist allerdings mit einem großen Fehler behaftet. Dies drückt sich in einer relativ großen Standardabweichung σ aus ($\sigma = 31\%$). Die Höhe dieses Wertes wirft die Frage auf, ob die Verbesserung des Fits an dieser Stelle tatsächlich als Indiz für das Auftreten einer Rückreaktion aufgefasst werden darf. Die thermodynamische Gleichgewichtslage spricht schließlich gegen eine Rückreaktion. Es wäre also ebenso denkbar, dass die Verbesserung der Datenlage lediglich durch das Hinzufügen einer weiteren Stellschraube, in diesem Fall $k_{\text{Rück}}$, entsteht, mit der die Datenanpassung für den GRG2 Algorithmus erleichtert wird. Die große Standardabweichung würde diese These unterstützen. Im Falle einer tatsächlich stattfindenden Rückreaktion sollte dieser Wert bei Mehrfachmessungen wesentlich zuverlässiger ermittelt werden können. Die Ergebnisse, die mit den verschiedenen Auswertemethoden erhalten werden, decken sich untereinander sehr gut und stützen sich gegenseitig.

Gerade bei pH 1.0 können relativ große Abweichungen zwischen Einzelmessungen entstehen. Diese lassen sich allerdings auf die vergleichsweise geringen pH-Änderungen aufgrund der ohnehin sehr hohen $[\text{H}^+]$ Konzentration zurückführen. Die Messgenauigkeit der Elektrode wird hier zum limitierenden Faktor. Um diesen Fehler zu minimieren, wurden die Messungen entsprechend oft wiederholt.

Tabelle 10: Zusammenfassung der Resultate aller Datensätze für *Prohance*[®] bei pH 1.0 und einer Ionenstärke von 1.0 M, Inertsalz: TMACl, T = 37 °C.

Einseitige Kinetik			Zweiseitige Kinetik				
$k_{\text{Obs}} [\text{h}^{-1}]$	$t_{1/2} [\text{h}]$	$\sigma [\%]$	$k_{\text{Hin}} [\text{h}^{-1}]$	$\sigma [\%]$	$k_{\text{Rück}} [\text{h}^{-1}]$	$\sigma [\%]$	$k_{\text{Hin}}/k_{\text{Rück}}$
$5.49 \cdot 10^{-1}$	1.26	14.5	$6.01 \cdot 10^{-1}$	3.85	$3.70 \cdot 10^{-2}$	31.0	16.2

(b 2) *pH 1.5*

Um im Folgenden auf ständige Wiederholungen zu verzichten, werden nur noch die wichtigsten Ergebnisse präsentiert und zusammen mit den jeweiligen experimentellen Parametern dargestellt. Da die Diskussion der Ergebnisse in weiten Teilen analog zu den vorherigen Ausführungen verläuft, wird an den entsprechenden Stellen auf die bereits besprochenen Konzepte verwiesen.

Tabelle 11: Experimentelle Parameter der pH-stat Titrations zur Bestimmung der Geschwindigkeitskonstanten k_{Obs} , k_{Hin} und $k_{\text{Rück}}$ der Dissoziation von *Prohance*[®] bei pH 1.5.

Kontrastmittel, Komplex	<i>Prohance</i> [®] , Gd(hp-do3a)
Methode	potentiometrische Titration (pH-stat)
Titrationstyp	kontinuierlich
Inertelektrolyt	TMACl (1.0 M)
Temperatur	37 ± 0.1 °C
Anzahl der Messungen	2 (1.0 M HCl)
[GdL] ₀	0.07 M
[H ⁺], Regel-pH	31.62 mM, pH = 1.5
Regelbereich	10 mV
Maximale / minimale Dosierrate	1 ml·min ⁻¹ / 60 µl·min ⁻¹
Anzahl der Messpunkte	288
Abstand zwischen Messpunkten	5 min
Messdauer	24 h

Wie in *Abbildung 22* gezeigt wurde, liegt das thermodynamische Gleichgewicht bei pH 1.5 nach wie vor nahezu vollständig auf der Seite von freiem Gd³⁺. Die Dissoziation verläuft demnach ebenso vollständig. Eine einseitige Kinetik pseudo 1. Ordnung sollte also für die Bestimmung der Geschwindigkeitskonstante zuverlässige Ergebnisse liefern.

In *Abbildung 23* (links) wird diese Annahme bestätigt. Eine Reaktion 1. Ordnung beschreibt das Reaktionsgeschehen tatsächlich relativ exakt. Es kommt aber erneut zu deutlichen Abweichungen bei fortschreitender Reaktionsdauer (ab ca. 12 h). Aus dem mittleren Protonierungsgrad des Liganden (4.69) bei pH 1.5 errechnet sich das maximal zuzugebende Volumen zu 16.4 ml 1.0 M HCl. Es werden innerhalb von 24 h jedoch maximal 15.5 ml erreicht.

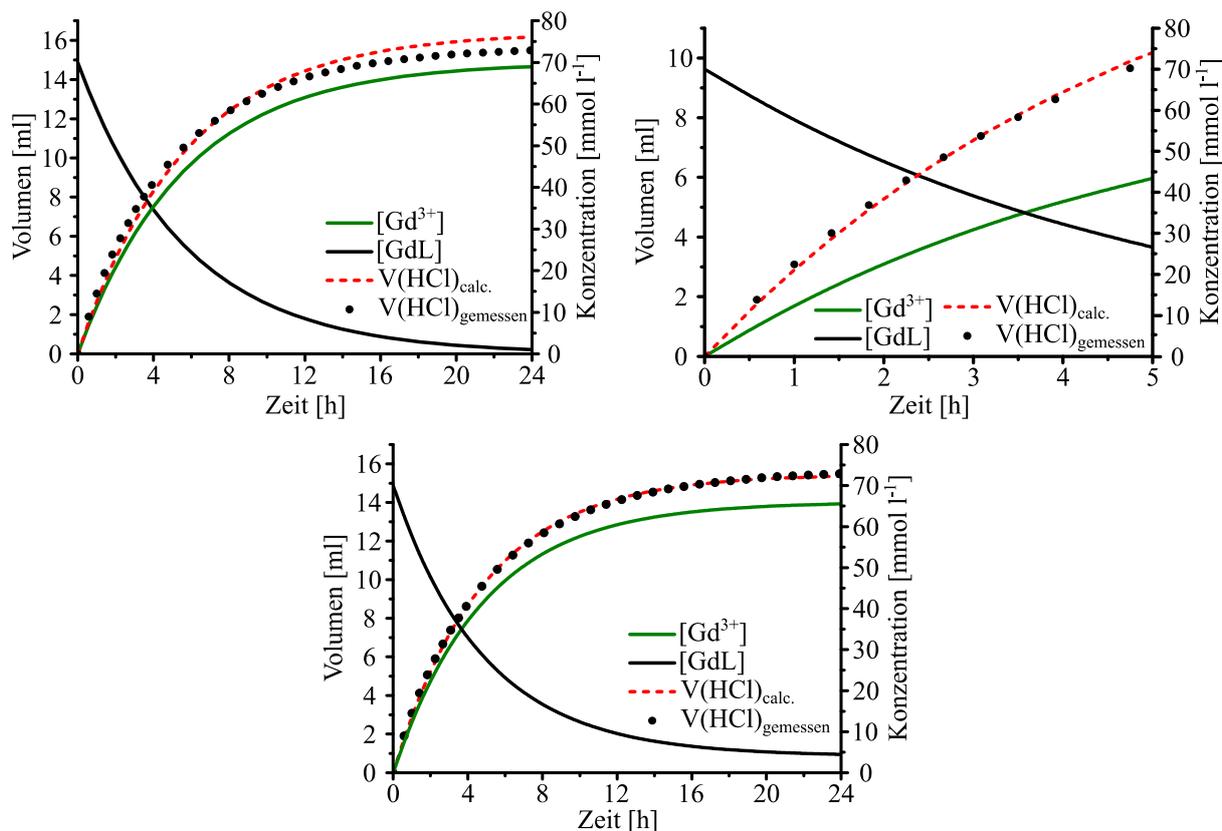


Abbildung 23: Least-Squares Fit von $V(\text{HCl})_{\text{calc.}}$ (rot gestrichelt) an $V(\text{HCl})_{\text{gemessen}}$ (schwarze Punkte) für eine 0.07 M *Prohance*[®] Lösung (1.0 M TMACl) bei pH 1.5. Die berechneten Konzentrationsverläufe von GdL (schwarze Linie) und Gd^{3+} (grüne Linie) sind zusätzlich dargestellt. Links: Reaktion 1. Ordnung, gesamte Messdauer, $k_{\text{Obs}} = 1.76 \cdot 10^{-1} \text{ h}^{-1}$, $t_{1/2} = 3.93 \text{ h}$; rechts: Reaktion 1. Ordnung, Vernachlässigung der Abweichung, $k_{\text{Obs}} = 1.94 \cdot 10^{-1} \text{ h}^{-1}$, $t_{1/2} = 3.57 \text{ h}$; unten: Berücksichtigung der Reversibilität, $k_{\text{Hin}} = 1.95 \cdot 10^{-1} \text{ h}^{-1}$, $k_{\text{Rück}} = 1.19 \cdot 10^{-2} \text{ h}^{-1}$, $k_{\text{Hin}}/k_{\text{Rück}} = 16.4$.

Dennoch ist die mittlere Abweichung pro Punkt bereits sehr gering ($\Delta V_N = 0.22$). Wird der Bereich der Abweichung ausgeblendet und lediglich über die Datenpunkte gefittet, für die tatsächlich noch eine Reaktion 1. Ordnung vorzuliegen scheint, so wird dieser Wert um den Faktor 11 verbessert (rechts, $\Delta V_N = 0.02$). Die so erhaltene Geschwindigkeitskonstante kann erneut durch die beiden linearen Fits ($\ln(100 - V/V_{\text{max.}} [\%])$ vs. t und V vs. t) validiert werden. Die aufgetragenen Größen korrelieren nahezu perfekt und es wird ein dementsprechend hervorragendes Bestimmtheitsmaß erreicht ($0.998 \leq R^2 \leq 0.999$). Auf die Abbildung der beiden Auftragungen (digitaler Anhang) wird im Folgenden verzichtet, da der Informationsgewinn dadurch sehr gering wäre. Wird die Reversibilität der Reaktion berücksichtigt (unten), verbessert sich die Qualität des Fits erneut um den Faktor 2 ($\Delta V_N = 0.01$). Es ergibt sich allerdings ein auf den ersten Blick erstaunliches Resultat. Der Quotient $k_{\text{Hin}}/k_{\text{Rück}}$ deutet darauf hin, dass die Rückreaktion in etwa sechzehnmal langsamer abläuft als die Hinreaktion ($[\text{GdL}]_{\infty} = 4.02 \text{ mM}$).

Dieser Befund an sich ist absolut plausibel, da, wie oben erwähnt, das thermodynamische Gleichgewicht auf eine nahezu vollständige Freisetzung von Gd^{3+} hindeutet. Erstaunlich ist allerdings der Vergleich mit der Einzelmessung (pH 1.0), die im vorigen Kapitel diskutiert wurde. Dort war die Hinreaktion gerade einmal zwölfmal so schnell wie die Rückreaktion. Es ist aber zu erwarten, dass sich dieses Verhältnis mit steigendem pH zugunsten der Rückreaktion verändert. Dies ist offensichtlich nicht der Fall. Da der Quotient von Messung zu Messung variiert, muss davon ausgegangen werden, dass der Grund für die auftretende Abweichung bei fortschreitender Reaktionsdauer zumindest nicht ausschließlich auf das Auftreten einer Rückreaktion zurückzuführen ist. Da zusätzlich auch die thermodynamische Gleichgewichtslage für einen, wenn überhaupt, sehr geringen Einfluss der Rückreaktion spricht, sollte bei diesen beiden pH-Werten sowohl das Verhältnis $k_{\text{Hin}}/k_{\text{Rück}}$ als auch die Geschwindigkeitskonstante der Rückreaktion äußerst kritisch betrachtet werden. Aufgrund des sehr geringen Einflusses der Rückreaktion gilt dies allerdings nicht für k_{Hin} . Diese Geschwindigkeitskonstante stimmt gut mit den Ergebnissen der einseitigen Kinetik überein und darf deshalb ebenfalls als valide betrachtet werden.

Tabelle 12: Ergebnisse der verschiedenen Auswertemethoden für die Dissoziationskinetik von *Prohance*[®] bei pH 1.5, T = 37 °C, $[\text{Gd}(\text{hp-d03a})]_{\text{total}} = 70 \text{ mM}$ in 1.0 M TMACl. Einseitig: Reaktion erster Ordnung (k_{Obs}); lang: Auswertung der gesamten Reaktion; kurz: Auswertung des Bereichs ohne Abweichung; logarithmisch: $\ln(100 - V/V_{\text{max.}} [\%])$; v_0 : Anfangsgeschwindigkeit; zweiseitig: Hin- und Rückreaktion jeweils erster Ordnung.

		$\text{GdL} \rightarrow \text{Gd}^{3+}$				$\text{GdL} \rightleftharpoons \text{Gd}^{3+}$
		einseitig				zweiseitig
		Lang	Kurz	Logarithmisch	v_0	
k_{Obs}	$[\text{h}^{-1}]$	$1.76 \cdot 10^{-1}$ $\Delta V_{\text{N}} = 0.22$	$1.94 \cdot 10^{-1}$ $\Delta V_{\text{N}} = 0.02$	$1.86 \cdot 10^{-1}$ $R^2 = 0.999$	$1.87 \cdot 10^{-1}$ $R^2 = 0.998$	--
$t_{1/2}$	$[\text{h}]$	3.93	3.57	3.72	3.71	--
k_{Hin}	$[\text{h}^{-1}]$	--	--	--	--	$1.95 \cdot 10^{-1}$
$k_{\text{Rück}}$	$[\text{h}^{-1}]$	--	--	--	--	$\Delta V_{\text{N}} = 0.01$
$k_{\text{Hin}}/k_{\text{Rück}}$		--	--	--	--	$1.19 \cdot 10^{-2}$
$[\text{GdL}]_{\infty}$	$[\text{mM}]$	--	--	--	--	$\Delta V_{\text{N}} = 0.01$
						16.4
						4.02

Die Resultate der verschiedenen Auswertemethoden sind in *Tabelle 12* dargestellt. Die Ergebnisse stützen sich gegenseitig und stimmen sehr gut miteinander überein. Die Standardabweichung beträgt lediglich 4.1 %. Die Resultate dürfen als valide angesehen werden. Aus den vereinigten Datensätzen aller Duplikatmessungen ergeben sich die in *Tabelle 13* zusammengefassten Resultate.

Tabelle 13: Zusammenfassung der Resultate aller Datensätze für *Prohance*[®] bei pH 1.5 und einer Ionenstärke von 1.0 M, Inertsalz: TMACl, T = 37 °C.

Einseitige Kinetik			Zweiseitige Kinetik				
k_{Obs} [h ⁻¹]	$t_{1/2}$ [h]	σ [%]	k_{Hin} [h ⁻¹]	σ [%]	$k_{\text{Rück}}$ [h ⁻¹]	σ [%]	$k_{\text{Hin}}/k_{\text{Rück}}$
$1.65 \cdot 10^{-1}$	4.20	15.6	$1.69 \cdot 10^{-1}$	15.4	$2.44 \cdot 10^{-2}$	51.2	6.9

Bei pH 1.5 beträgt die Halbwertszeit der Komplexdissoziation 4.20 h. Die Standardabweichung beläuft sich auf 15.6 % und ist damit geringfügig schlechter als bei pH 1.0. Wesentlich gravierender ist allerdings der Fehler auf der Geschwindigkeitskonstante der Rückreaktion. Dieser liegt mit 51.2 % sehr hoch. Die äußerst geringe Reproduzierbarkeit belegt, dass die Bestimmung dieser Konstante nicht zuverlässig möglich ist, obwohl der sich abzeichnende Trend durchaus sinnvoll ist.²

² In diesem und in den folgenden Teilen der Arbeit wird an manchen Stellen zur Vermeidung von Wiederholungen auf die Abbildung gewisser Auftragungen verzichtet. Deren Resultate werden jedoch stets im Text diskutiert. Die Abbildungen finden sich im digitalen Anhang der Arbeit (beigefügte DVD).

(b 3) *pH 2.0*

Ab einem pH-Wert von 2.0 ergibt sich ein besonders interessantes Bild was die Reversibilität der Reaktion angeht. Das thermodynamische Gleichgewicht liegt hier erstmals nicht mehr vollständig auf der Seite von freiem Gd^{3+} . Die Komplexkonzentration im Gleichgewicht beträgt 24.6 mM (*Abbildung 22, S. 68*). In diesem Fall wäre die Beeinflussung durch eine Rückreaktion also tatsächlich auch chemisch plausibel. Um den zu erwarteten Anstieg der Reaktionsdauer, der durch die zunehmende Verringerung der Reaktionsgeschwindigkeit verursacht wird, mit ausreichend vielen Datenpunkten zu stützen, wurde die Messdauer auf 65 h erhöht (*Tabelle 14*). Ziel ist es schließlich, möglichst viele Halbwertszeiten beobachten zu können. Messpunkte wurden nur noch alle 10 min aufgenommen, um eine signifikante Volumenänderung zwischen den einzelnen Punkten zu gewährleisten.

Tabelle 14: Experimentelle Parameter der pH-stat Titrationen zur Bestimmung der Geschwindigkeitskonstanten k_{Obs} , k_{Hin} und $k_{Rück}$ der Dissoziation von *Prohance*[®] bei pH 2.0.

Kontrastmittel, Komplex	<i>Prohance</i> [®] , Gd(hp-do3a)
Methode	potentiometrische Titration (pH-stat)
Titrationstyp	kontinuierlich
Inertelektrolyt	TMACl (1.0 M)
Temperatur	37 ± 0.1 °C
Anzahl der Messungen	2 (1.0 M HCl)
[GdL] ₀	0.07 M
[H ⁺], Regel-pH	10 mM, pH = 2.0
Regelbereich	10 mV
Maximale / minimale Dosierrate	1 ml·min ⁻¹ / 30 µl·min ⁻¹
Anzahl der Messpunkte	390
Abstand zwischen Messpunkten	10 min
Messdauer	65 h

Die Annahme, dass eine Reaktion 1. Ordnung das Geschehen nicht mehr ausreichend beschreiben kann, wird in *Abbildung 24* bestätigt. Eine Datenanpassung auf Basis einer solchen Kinetik ist nicht mehr sinnvoll. Es ergeben sich sehr große Fehler auf den so bestimmten Konstanten (links). Die mittlere Abweichung pro Punkt (ΔV_N) beträgt 2.55 und ist damit mehr als zehnmals größer als es noch bei pH 1.5 der Fall war. Dieses Ergebnis wird demnach bei der Gesamtauswertung vernachlässigt.

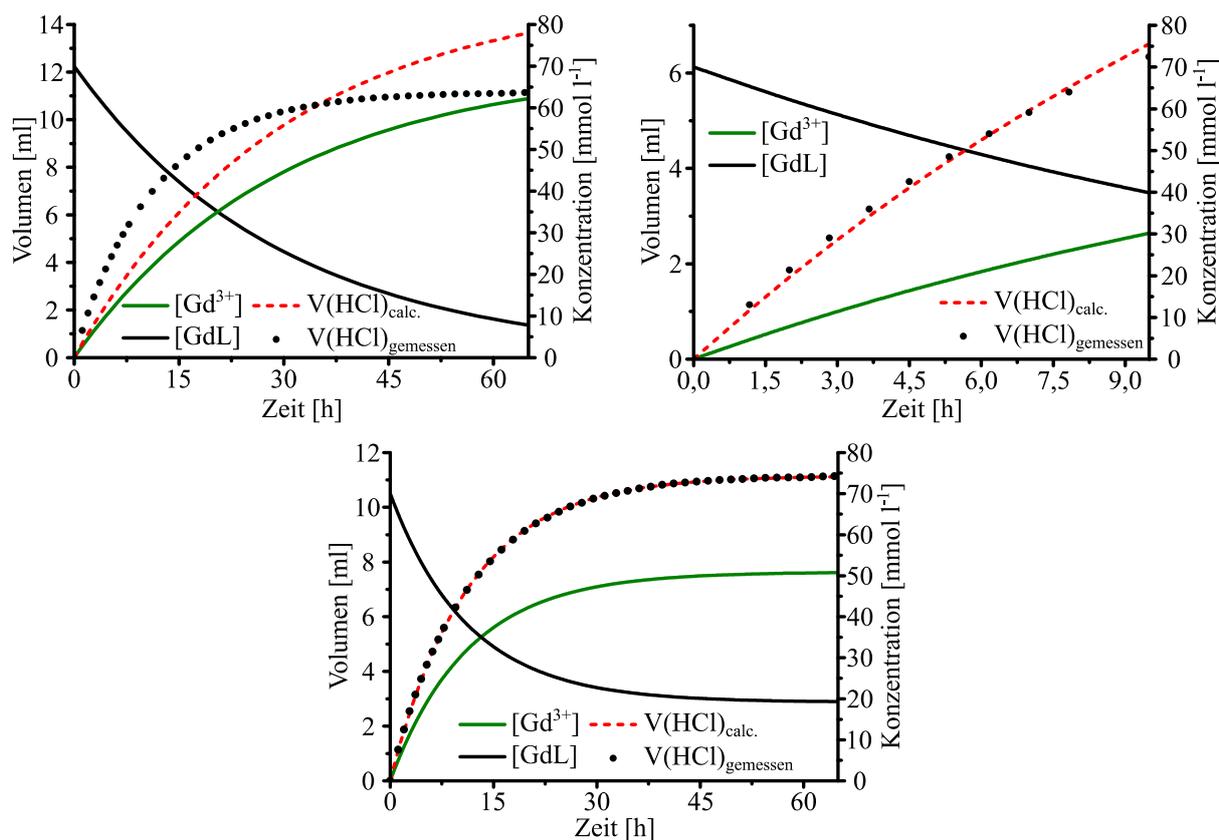


Abbildung 24: Least-Squares Fit von $V(\text{HCl})_{\text{calc.}}$ (rot gestrichelt) an $V(\text{HCl})_{\text{gemessen}}$ (schwarze Punkte) für eine 0.07 M *Prohance*[®] Lösung (1.0 M TMACl) bei pH 2.0. Die berechneten Konzentrationsverläufe von GdL (schwarze Linie) und Gd³⁺ (grüne Linie) sind zusätzlich dargestellt. Links: Reaktion 1. Ordnung, gesamte Messdauer, $k_{\text{Obs}} = 3.38 \cdot 10^{-2} \text{ h}^{-1}$, $t_{1/2} = 20.53 \text{ h}$; rechts: Reaktion 1. Ordnung, Vernachlässigung der Abweichung, $k_{\text{Obs}} = 5.93 \cdot 10^{-2} \text{ h}^{-1}$, $t_{1/2} = 11.68 \text{ h}$; unten: Berücksichtigung der Reversibilität, $k_{\text{Hin}} = 6.43 \cdot 10^{-2} \text{ h}^{-1}$, $k_{\text{Rück}} = 2.42 \cdot 10^{-2} \text{ h}^{-1}$, $k_{\text{Hin}}/k_{\text{Rück}} = 2.65$.

Besonders stark ausgeprägt ist die Unterschreitung des maximal nötigen Volumens, um eine vollständige Dissoziation zu gewährleisten. Dieses beträgt 15.34 ml bei einem mittleren Protonierungsgrad von 4.38. Es wird allerdings maximal ein Volumen von ca. 11 ml 1.0 M HCl hinzudosiert. Wird nun die Datenanpassung auf einen Zeitraum von ca. 10 h beschränkt (rechts), so lässt sich die Reaktion dennoch sehr gut mit einer Kinetik 1. Ordnung auswerten.

Die mittlere Abweichung pro Punkt beträgt in diesem Fall lediglich 0.02 und führt dementsprechend zu zuverlässigen Ergebnissen. Gestützt wird dieses Resultat erneut durch die beiden linearen Auftragungen ($\ln(100 - V/V_{\max.} [\%])$ vs. t und V vs. t). Im Abschnitt (a) dieses Kapitels wurde bereits sehr ausführlich gezeigt, dass dieses Vorgehen für ausreichend kleine Umsätze legitim ist.

Da bei diesem pH-Wert alles auf einen signifikanten Einfluss durch eine Rückreaktion hindeutet, wurden die Daten ebenfalls unter Berücksichtigung dieses Sachverhalts ausgewertet (unten). Die Qualität des Fits ist überragend. Dies drückt sich in einer extrem kleinen mittleren Abweichung aus ($\Delta V_N = 0.0009$). Die Gleichgewichtskonzentration $[GdL]_{\infty}$ berechnet sich zu 19.1 mM und liegt damit zumindest nahe am thermodynamischen Gleichgewicht (24.6 mM). Die Hinreaktion ist nicht einmal mehr dreimal so schnell wie die Rückreaktion ($k_{\text{Hin}}/k_{\text{Rück}} = 2.65$). Dies scheint mit zunehmendem pH plausibel, da der Gleichgewichtsanteil der Komplexe immer größer wird, je höher der pH-Wert ist.

Tabelle 15: Ergebnisse der verschiedenen Auswertemethoden für die Dissoziationskinetik von *Prohance*[®] bei pH 2.0, $T = 37$ °C, $[Gd(\text{hp-do3a})]_{\text{total}} = 70$ mM in 1.0 M TMAcL. Einseitig: Reaktion erster Ordnung (k_{Obs}); lang: Auswertung der gesamten Reaktion; kurz: Auswertung des Bereichs ohne Abweichung; logarithmisch: $\ln(100 - V/V_{\max.} [\%])$; v_0 : Anfangsgeschwindigkeit; zweiseitig: Hin- und Rückreaktion jeweils erster Ordnung.

		GdL \rightarrow Gd ³⁺				GdL \rightleftharpoons Gd ³⁺
		einseitig				zweiseitig
		Lang	Kurz	Logarithmisch	v_0	
k_{Obs}	[h ⁻¹]	$3.38 \cdot 10^{-2}$	$5.93 \cdot 10^{-2}$	$5.62 \cdot 10^{-2}$	$6.03 \cdot 10^{-2}$	--
		$\Delta V_N = 2.55$	$\Delta V_N = 0.02$	$R^2 = 0.997$	$R^2 = 0.999$	
$t_{1/2}$	[h]	20.53	11.68	12.34	11.49	--
k_{Hin}	[h ⁻¹]	--	--	--	--	$6.43 \cdot 10^{-2}$
						$\Delta V_N = 0.0009$
$k_{\text{Rück}}$	[h ⁻¹]	--	--	--	--	$2.42 \cdot 10^{-2}$
						$\Delta V_N = 0.0009$
$k_{\text{Hin}}/k_{\text{Rück}}$		--	--	--	--	2.65
$[GdL]_{\infty}$	[mM]	--	--	--	--	19.13

Die Zusammenfassung der Resultate der verschiedenen Auswertemethoden (*Tabelle 15*) belegen die ausgezeichnete Qualität der Ergebnisse. Die Standardabweichung beträgt innerhalb der Messung lediglich 2.7 % und ist damit noch deutlich kleiner als bei pH 1.5 und pH 1.0. Das Ergebnis darf daher als valide betrachtet werden. Aus den vereinigten Datensätzen aller Duplikatmessungen ergeben sich die in *Tabelle 16* zusammengefassten Resultate.

Tabelle 16: Zusammenfassung der Resultate aller Datensätze für *Prohance*[®] bei pH 2.0 und einer Ionenstärke von 1.0 M, Inertsalz: TMACl, T = 37 °C.

Einseitige Kinetik			Zweiseitige Kinetik				
k_{Obs} [h ⁻¹]	$t_{1/2}$ [h]	σ [%]	k_{Hin} [h ⁻¹]	σ [%]	$k_{\text{Rück}}$ [h ⁻¹]	σ [%]	$k_{\text{Hin}}/k_{\text{Rück}}$
$5.83 \cdot 10^{-2}$	11.90	2.7	$6.21 \cdot 10^{-2}$	4.5	$2.34 \cdot 10^{-2}$	3.6	2.65

Insgesamt werden sehr niedrige Standardabweichungen erreicht, was für eine sehr gute Reproduzierbarkeit der Ergebnisse spricht (2.7 % bis 4.5 %). Gleiches gilt vor allem für k_{Hin} und $k_{\text{Rück}}$. Lagen deren Standardabweichungen bisher noch jenseits der 30 %, so sind sie nun wesentlich besser reproduzierbar. Dies spricht eindeutig für den tatsächlichen Einfluss durch die immer dominanter werdende Rückreaktion. Das Verhältnis der beiden Konstanten erscheint ebenfalls plausibel zu sein. Zudem deckt sich die erreichte Gleichgewichtskonzentration für $[\text{GdL}]_{\infty}$ (19.2 mM) relativ gut mit dem thermodynamischen Gleichgewicht (24.6 mM). Aus diesen Gründen sollte ab einem pH von 2.0 bei *Prohance*[®] die Rückreaktion nicht mehr vernachlässigt werden. Der Lösungsansatz der zweiseitigen Kinetik liefert mit Abstand die zuverlässigsten und chemisch plausibelsten Resultate. Zudem unterscheiden sich k_{Hin} und k_{Obs} lediglich um 6.5 %. Dieser geringe Unterschied deutet darauf hin, dass die Rückreaktion einen sehr geringen Einfluss auf das anfängliche Reaktionsgeschehen hat, wo die Bestimmung von k_{Obs} nach einer einseitigen Kinetik 1. Ordnung erfolgt. Dies ist absolut nachvollziehbar, da bei kleinen Umsätzen die Konzentration der Produkte ($\text{Gd}^{3+} + \text{HyL}^{y-3}$) noch sehr gering ist.

Die grundsätzliche Verbesserung der Standardabweichungen im Vergleich zu niedrigeren pH-Werten lässt sich höchst wahrscheinlich mit der Größe der pH-Wert Änderung erklären. Während sich der mittlere Protonierungsgrad und damit verbunden der Protonenumsatz bei steigendem pH nur geringfügig ändert (4.88 bei pH 1.0 und 4.06 bei pH 2.5), sinkt die Protonenkonzentration der Probenlösung deutlich (0,1 M bei pH 1.0 und ~ 0,03 M bei pH 2.5).

So werden bei pH 2.0 ca. 11 ml 1.0 M HCl bis zum Erreichen der Gleichgewichtskonzentration hinzugegeben. Dies entspricht bezogen auf das Anfangsvolumen ($V_0 = 50$ ml) 220 mM Protonen, die sich zusätzlich in der Probenlösung befinden. Unter Berücksichtigung der oben angegebenen Halbwertszeit von 11.9 h entspricht der Protonenumsatz etwa $9.2 \text{ mmol}\cdot\text{l}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$. Dies entspricht wiederum einer pH Änderung von $\Delta\text{pH} = 0.3$. Damit ist die minimale Messgenauigkeit der Elektrode ($\Delta\text{pH} \pm 0.01$) bei weitem überschritten, und gut reproduzierbaren Messungen steht nichts im Wege.

(b 4) *pH* 2.5

Die Reversibilität, die das Reaktionsgeschehen bereits bei *pH* 2.0 signifikant beeinflusst hat, sollte ihren Einfluss bei *pH* 2.5 noch wesentlich verstärken. Das thermodynamische Gleichgewicht (*Abbildung 22*) liegt nun schon sehr deutlich auf der Seite des Komplexes. Bei Erreichen des Gleichgewichts sollten 57.18 mM GdL vorliegen.

Tabelle 17: Experimentelle Parameter der *pH*-stat Titrations zur Bestimmung der Geschwindigkeitskonstanten k_{Obs} , k_{Hin} und $k_{\text{Rück}}$ der Dissoziation von *Prohance*[®] bei *pH* 2.5.

Kontrastmittel, Komplex	<i>Prohance</i> [®] , Gd(hp-do3a)
Methode	potentiometrische Titration (<i>pH</i> -stat)
Titrationstyp	kontinuierlich
Inertelektrolyt	TMACl (1.0 M)
Temperatur	37 ± 0.1 °C
Anzahl der Messungen	2 (1.0 M HCl)
[GdL] ₀	0.07 M
[H ⁺], Regel- <i>pH</i>	3.16 mM, <i>pH</i> = 2.5
Regelbereich	10 mV
Maximale / minimale Dosierrate	0.5 ml·min ⁻¹ / 10 µl·min ⁻¹
Anzahl der Messpunkte	132
Abstand zwischen Messpunkten	20 min
Messdauer	44 h

Die experimentellen Bedingungen sind im Vergleich zu *pH* 2.0 weitgehend unverändert geblieben. Allerdings mussten die minimale und maximale Dosierrate aufgrund der geringen Protonenkonzentration (~ 0.03 M) in Lösung verringert werden, um ein Überregeln des *pH*-stat beim Einstellen des Regelwertes zu vermeiden. Außerdem wurde die maximale Messdauer verringert. Es ist zwar eine deutlich höhere Halbwertszeit zu erwarten, der Einfluss der immer dominanter werdenden Rückreaktion sollte allerdings zu einem sehr frühzeitigen Stillstand der Dissoziation führen (*Kapitel 2.2 e*, *Abbildung 13*). Zudem wurde der Abstand der Messpunkte von 10 min auf 20 min erhöht, um ausreichend große Volumenänderungen zwischen den einzelnen Punkten zu registrieren.

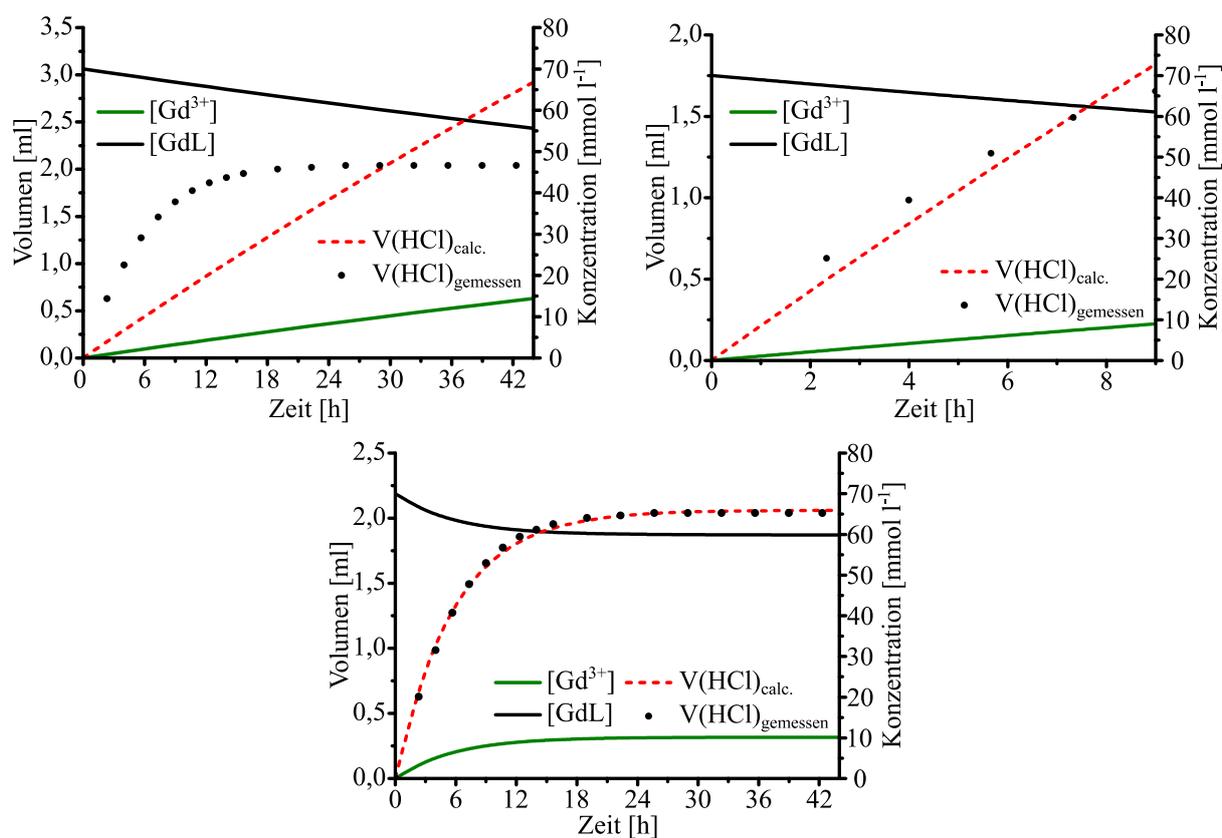


Abbildung 25: Least-Squares Fit von $V(\text{HCl})_{\text{calc.}}$ (rot gestrichelt) an $V(\text{HCl})_{\text{gemessen}}$ (schwarze Punkte) für eine 0.07 M *Prohance*[®] Lösung (1.0 M TMACl) bei pH 2.5. Die berechneten Konzentrationsverläufe von GdL (schwarze Linie) und Gd³⁺ (grüne Linie) sind zusätzlich dargestellt. Links: Reaktion 1. Ordnung, gesamte Messdauer, $k_{\text{Obs}} = 5.23 \cdot 10^{-3} \text{ h}^{-1}$, $t_{1/2} = 132.43 \text{ h}$; rechts: Reaktion 1. Ordnung, Vernachlässigung der Abweichung, $k_{\text{Obs}} = 1.52 \cdot 10^{-2} \text{ h}^{-1}$, $t_{1/2} = 46.31 \text{ h}$; unten: Berücksichtigung der Reversibilität, $k_{\text{Hin}} = 2.53 \cdot 10^{-2} \text{ h}^{-1}$, $k_{\text{Rück}} = 1.49 \cdot 10^{-2} \text{ h}^{-1}$, $k_{\text{Hin}}/k_{\text{Rück}} = 0.17$.

Erwartungsgemäß bildet eine Kinetik 1. Ordnung keine geeignete Grundlage mehr, um das gesamte Reaktionsgeschehen abzubilden (*Abbildung 25, links*). Die so bestimmte Geschwindigkeitskonstante entbehrt jeder Grundlage und wird bei der Auswertung der Daten vernachlässigt. Die Qualität des Fits über einen verkürzten Zeitraum (9 h) leidet ebenfalls (*Abbildung 25, rechts*). Dies liegt aber eher darin begründet, dass aufgrund der geringen Anzahl an Datenpunkten ein zeitlicher Bereich gewählt werden muss, der nicht gänzlich unbeeinflusst bleibt. Dennoch ergibt sich eine relativ geringe mittlere Abweichung ($\Delta V_N = 0.01$), die zusätzlich durch die hohe Linearität ($0.973 \leq R^2 \leq 0.999$) der beiden linearen Auftragungen ($\ln(100 - /V_{\text{max.}} [\%])$ vs. t und V vs. t) gestützt wird. Aus dem mittleren Protonierungsgrad des Liganden (4.06) errechnet sich das für die vollständige Gd³⁺-Freisetzung notwendig Volumen an 1.0 M HCl zu 14.2 ml. Die Reaktion kommt jedoch bereits bei einem hinzugefügten Volumen von 2.0 ml zum Erliegen.

Die beste Datenanpassung wird unter Berücksichtigung einer zweiseitigen Kinetik erreicht (*Abbildung 25, unten*). Es ergibt sich erneut eine nahezu perfekte Übereinstimmung zwischen gemessenem und berechnetem Volumen ($\Delta V_N = 0.0006$). Die Gleichgewichtskonzentration $[GdL]_\infty$ beträgt 59.84 mM und entspricht sehr genau der aus dem thermodynamischen Gleichgewicht ermittelten Gleichgewichtskonzentration des Komplexes (57.18 mM). Das Verhältnis $k_{Hin}/k_{Rück} = 0.17$ zeigt sehr deutlich, dass die Rückreaktion zunehmend die Überhand gewinnt und bereits ca. sechsmal schneller abläuft als die Hinreaktion. Es ist also wenig überraschend, dass die Reaktion sehr rasch zum Erliegen kommt, da die Produkte ($Gd^{3+} + H_yL^{y-3}$) der Dissoziation nach ihrer Bildung sehr rasch zum Komplex zurückreagieren.

Tabelle 18: Ergebnisse der verschiedenen Auswertemethoden für die Dissoziationskinetik von *Prohance*[®] bei pH 2.5, $T = 37$ °C, $[Gd(hp\text{-}do3a)]_{total} = 70$ mM in 1.0 M TMACl. Einseitig: Reaktion erster Ordnung (k_{Obs}); lang: Auswertung der gesamten Reaktion; kurz: Auswertung des Bereichs ohne Abweichung; logarithmisch: $\ln(100 - V/V_{max.} [\%])$; v_0 : Anfangsgeschwindigkeit; zweiseitig: Hin- und Rückreaktion jeweils erster Ordnung.

		GdL \rightarrow Gd ³⁺				GdL \rightleftharpoons Gd ³⁺
		einseitig				zweiseitig
		Lang	Kurz	Logarithmisch	v_0	
k_{Obs}	[h ⁻¹]	$5.23 \cdot 10^{-3}$	$1.52 \cdot 10^{-2}$	$1.37 \cdot 10^{-2}$	$1.89 \cdot 10^{-2}$	--
		$\Delta V_N = 0.50$	$\Delta V_N = 0.01$	$R^2 = 0.973$	$R^2 = 0.999$	--
$t_{1/2}$	[h]	132.43	42.47	50.48	36,62	--
k_{Hin}	[h ⁻¹]	--	--	--	--	$2.53 \cdot 10^{-2}$
						$\Delta V_N = 0.0006$
$k_{Rück}$	[h ⁻¹]	--	--	--	--	$1.49 \cdot 10^{-1}$
						$\Delta V_N = 0.0006$
$k_{Hin}/k_{Rück}$		--	--	--	--	0.17
$[GdL]_\infty$	[mM]	--	--	--	--	59.84

In Tabelle 18 zeigt sich, dass der Standardfehler innerhalb der Auswertemethoden zwar größer im Vergleich zu pH 2.0 geworden ist, mit 5.2 % aber immer noch einen sehr guten Wert annimmt. Auch bei pH 2.5 stützen sich die Resultate der Methoden gegenseitig und dürfen als valide betrachtet werden. Die Geschwindigkeitskonstante k_{Obs} beträgt damit $1.45 \cdot 10^{-2} \text{ h}^{-1}$ ($\pm 5.2 \%$). Die Halbwertszeit beträgt dementsprechend 48.80 h (± 2.49 h).

Aus den vereinigten Datensätzen aller Duplikatmessungen ergeben sich die in *Tabelle 19* zusammengefassten Resultate.

Tabelle 19: Zusammenfassung der Resultate aller Datensätze für *Prohance*[®] bei pH 2.5 und einer Ionenstärke von 1.0 M, Inertsalz: TMACl, T = 37 °C.

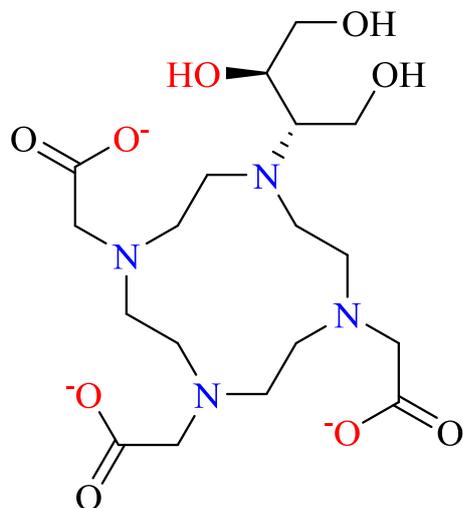
Einseitige Kinetik			Zweiseitige Kinetik				
k_{Obs} [h ⁻¹]	$t_{1/2}$ [h]	σ [%]	k_{Hin} [h ⁻¹]	σ [%]	$k_{\text{Rück}}$ [h ⁻¹]	σ [%]	$k_{\text{Hin}}/k_{\text{Rück}}$
$1.43 \cdot 10^{-2}$	48.47	5.5	$2.57 \cdot 10^{-2}$	1.4	$1.57 \cdot 10^{-1}$	4.8	0.16

Bei pH 2.5 zeichnen sich die Resultate ebenfalls durch ihre gute Reproduzierbarkeit aus. Die Geschwindigkeitskonstante k_{Obs} beträgt $1.43 \cdot 10^{-2} \text{ h}^{-1}$ ($\pm 5.5 \%$). Die Halbwertszeit beläuft sich auf 48.47 h ($\pm 2.67 \text{ h}$). k_{Obs} und k_{Hin} unterscheiden sich aufgrund des starken Einflusses der Rückreaktion allerdings um mehr als 50 %. Die Komplexbildung stellt bei pH 2.5 den dominierenden Anteil des Reaktionsgeschehens dar und verläuft sechsmal schneller als die Dissoziation. Sowohl k_{Hin} als auch $k_{\text{Rück}}$ lassen sich sehr zuverlässig bestimmen. Ihre Standardfehler belaufen sich lediglich auf 1.4 und 4.8 %. Zur Erklärung der niedrigen Standardabweichungen dient ebenfalls, genau wie bei pH 2.0, die relativ große pH-Änderung im Vergleich zur Protonenkonzentration der Probenlösung. Dennoch fällt die Änderung hier wesentlich geringer aus als bei pH 2.0. Sie beträgt nur noch $\pm 0.05 \text{ pH}$ Einheiten. Die deutliche Verringerung kommt dabei durch die Erhöhung der Halbwertszeit und die massive Verringerung des Gesamtumsatzes zustande. In *Tabelle 20* sind die bisherigen Ergebnisse noch einmal zusammengefasst.

Tabelle 20: Resultate der Untersuchung der Dissoziationskinetik von 70 mM *Prohance*[®] mit Hilfe eines pH-stat bei 37 °C in 1.0 M TMACl.

pH	Einseitige Kinetik			Zweiseitige Kinetik				
	k_{Obs} [h ⁻¹]	$t_{1/2}$ [h]	σ [%]	k_{Hin} [h ⁻¹]	σ [%]	$k_{\text{Rück}}$ [h ⁻¹]	σ [%]	$k_{\text{Hin}}/k_{\text{Rück}}$
1.0	$5.49 \cdot 10^{-1}$	1.26	14.5	$6.01 \cdot 10^{-1}$	3.85	$3.70 \cdot 10^{-2}$	31.0	16.2
1.5	$1.65 \cdot 10^{-1}$	4.20	15.6	$1.69 \cdot 10^{-1}$	15.4	$2.44 \cdot 10^{-2}$	51.2	6.93
2.0	$5.83 \cdot 10^{-2}$	11.90	2.7	$6.21 \cdot 10^{-2}$	4.5	$2.34 \cdot 10^{-2}$	3.6	2.65
2.5	$1.43 \cdot 10^{-2}$	48.47	5.5	$2.57 \cdot 10^{-2}$	1.4	$1.57 \cdot 10^{-1}$	4.8	0.16

2.3.3.2. Gd(bt-do3a); Gadovist®



Das Kontrastmittel *Gadovist*® wird von Bayer HealthCare vertrieben. Es zählt, genau wie *Prohance*®, zu den Kontrastmitteln mit makrozyklischem Grundgerüst und enthält den Liganden bt-do3a³⁻. Dieser kann vom 1,4,7,10-Tetraazacyclododecan-1,4,7,10-tetraacetat durch Substitution eines Acetatrests durch einen 1,3,4-Hydroxybutylrest abgeleitet werden. Der Ligand koordiniert ebenfalls achtzählig über vier Stickstoffatome, drei Carboxylatsauerstoffatome und einen Alkoholsauerstoff an Gd³⁺. Die verbleibende neunte Koordi-

nationsstelle wird von einem Wassermolekül besetzt. Der gebildete Komplex ist elektrisch neutral und verfügt über acht stabile Chelatfünfringe (N-Gd-N und N-Gd-O). Was die kinetische Inertie des Komplexes angeht, lässt sich dieser zwischen *Prohance*® und *Dotarem*® einordnen, wobei *Prohance*® das Schlusslicht in der Stabilitätsreihenfolge darstellt. Thermodynamisch ist der Komplex Gd(bt-do3a) etwa eine Zehnerpotenz weniger stabil als Gd(hp-do3a) und sogar circa um den Faktor 10⁵ instabiler als Gd(dota)⁻. Aufgrund seines neutralen Charakters liegt sein pGd (15.33) vergleichsweise niedrig (*Tabelle 2*).

(a) Methode der Anfangsgeschwindigkeit:

Auch bei *Gadovist*® sollte zunächst überprüft werden, ob der Datenauswertung für kleine Umsätze eine Kinetik 1. Ordnung zugrunde gelegt werden darf. Für dieses Kontrastmittel hat sich pH 1.6 als sinnvoller Regel-pH erwiesen. Die Halbwertszeit beträgt hier etwa 42 h und der Regelwert lässt sich sehr gut ansteuern, ohne am Anfang der Reaktion Informationen durch eine zu schnell voranschreitende Dissoziation zu verlieren. Da lediglich maximal 10 % des Umsatzes berücksichtigt werden, ergeben sich bei dieser Halbwertszeit immer noch relativ kurze Messzeiträume. Die Anfangskonzentration lag, genau wie bei den Experimenten an *Prohance*®, in einem Bereich von $0.05 \text{ M} \leq [\text{GdL}]_0 \leq 0.3 \text{ M}$. So lassen sich die Ergebnisse besser untereinander vergleichen. Auch hier wurde die auf 37 °C thermostatisierte Probenlösung mit wenigen µl konzentrierter HCl annähernd an den gewünschten pH herangeführt und schließlich durch kurze Einregelung mit Hilfe des pH-stat exakt eingestellt.

Die Ionenstärke betrug bei allen Messungen 1.0 mol l^{-1} . Als Inertelektrolyt fand TMACl Verwendung. Aufgrund der bereits relativ langen Halbwertszeit und der mangelnden Notwendigkeit langer maximaler Messzeiten wurde ein Messzeitraum von 24 h nicht überschritten. Es erschien nicht sinnvoll, mehr als zwei volle Halbwertszeiten mit der Messung abzudecken. Die Datenauswertung erfolgte aber immer nur jeweils bis maximal 10 % Umsatz. Die experimentellen Parameter sind in *Tabelle 21* zusammengefasst.

Tabelle 21: Experimentelle Parameter der pH-stat Titrations zur Bestimmung der Reaktionsordnung der Dissoziation von *Gadovist*[®] bei pH 1.6.

Kontrastmittel, Komplex	<i>Gadovist</i> [®] , Gd(bt-do3a)
Methode	potentiometrische Titration (pH-stat)
Titrationstyp	kontinuierlich
Inertelektrolyt	TMACl (1.0 M)
Temperatur	$37 \pm 0.1 \text{ }^\circ\text{C}$
Anzahl der Messungen	6 (1.0 M HCl)
[GdL] ₀	0.05 M – 0.3 M
[H ⁺], Regel-pH	25.12 M, pH = 1.6
Regelbereich	20 mV
Maximale / minimale Dosierrate	$1 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1} / 30 \text{ }\mu\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$
Anzahl der Messpunkte	144
Abstand zwischen Messpunkten	15 min
Messdauer	24 h

Die Resultate der Methode (*Tabelle 22, Abbildung 26*) belegen anschaulich, dass es auch für *Gadovist*[®] absolut legitim ist, eine Reaktion 1. Ordnung zur Auswertung der Datensätze zu verwenden. Die aus der doppelt logarithmischen Auftragung der Dissoziationsrate R_d gegen die Anfangskonzentration [GdL]₀ bestimmte Reaktionsordnung a (Steigung) beträgt 1.006. Trotz der im Vergleich zu *Prohance*[®] etwas schlechteren Linearität ($R^2 = 0.986$), kann aufgrund der Geradensteigung eine andere Reaktionsordnung ausgeschlossen werden. Strenggenommen gilt diese Aussage zwar nur bis maximal 10 % Umsatz. Mit Hilfe der bisher verwendeten Methoden zur Datenauswertung lässt sich aber sehr leicht optisch und anhand der Bestimmtheitsmaße und ΔV_N Werte entscheiden, über welchen Zeitraum das Reaktionsgeschehen tatsächlich einer Reaktion 1. Ordnung folgt.

Tabelle 22: Ergebnisse der Bestimmung der Anfangsgeschwindigkeit des Säureverbrauchs R_{Obs} und der Dissoziationsrate R_d des Kontrastmittels *Gadovist*[®] bei pH 1.6.

[GdL] ₀ [mol·l ⁻¹]	R_{Obs} [ml·h ⁻¹]	R^2	$R_d = v_0$ [mol·l ⁻¹ ·s ⁻¹]	k_{Obs} [1/s]	$t_{1/2}$ [h]
0.05	0.207	0.999	$2.49 \cdot 10^{-7}$	$4.98 \cdot 10^{-6}$	38.66
0.075	0.271	1.000	$3.27 \cdot 10^{-7}$	$4.36 \cdot 10^{-6}$	44.19
0.1	0.339	0.999	$4.09 \cdot 10^{-7}$	$4.09 \cdot 10^{-6}$	47.10
0.15	0.561	0.999	$6.77 \cdot 10^{-7}$	$4.51 \cdot 10^{-6}$	42.69
0.2	0.773	0.999	$9.23 \cdot 10^{-7}$	$4.66 \cdot 10^{-6}$	41.31
0.3	1.185	0.999	$1.43 \cdot 10^{-6}$	$4.76 \cdot 10^{-6}$	40.42

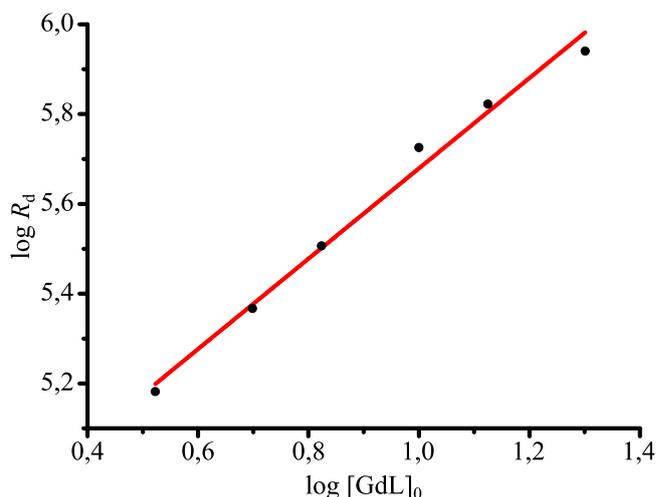


Abbildung 26: Ermittlung der Reaktionsordnung a durch doppelt logarithmische Auftragung der anfänglichen Dissoziationsrate R_d (~ 10 % Umsatz) gegen die Anfangskonzentration $[GdL]_0$. a ergibt sich aus der Steigung der in Rot dargestellten linearen Regression. pH = 1.6, 1 M TMACl, 0.05 M bis 0.3 M *Gadovist*[®], $a = 1.006$, $R^2 = 0.986$.

Die Einzelergebnisse zeigen zudem eine ausgezeichnete Reproduzierbarkeit sowie exzellente Linearität ($0.999 \leq R^2 \leq 1.000$). Die Halbwertszeit der Komplexdissoziation von *Gadovist*[®] bei pH 1.6 beträgt $41.86 \text{ h} \pm 2.84 \text{ h}$. Dies entspricht einer Geschwindigkeitskonstante k_{Obs} von $1.66 \cdot 10^{-2} \text{ h}^{-1} (\pm 6.8 \%)$.

(b) *Untersuchung der Dissoziationskinetik zur Bestimmung von k_{Obs} , k_{Hin} und $k_{\text{Rück}}$*

Die Kinetik der säurekatalysierten Komplexdissoziation von *Gadovist*[®] wurde bei einer Komplexkonzentration $[\text{GdL}]_0$ von 0.07 M untersucht. Die Probenlösungen wurden auf 37 ± 0.1 °C temperiert. Als Hintergrundmedium kam erneut TMACl bei einer 1.0 M Ionenstärke zum Einsatz. Um möglichst abgesicherte Daten zu generieren, war es auch bei *Gadovist*[®] das Ziel, nach Möglichkeit $2 \cdot t_{1/2}$ oder gar mehr zu messen und auszuwerten. Ab einer gewissen Dauer der Zerfallsreaktion ist dies jedoch nicht mehr möglich. Die Dissoziationsreaktion von *Gadovist*[®] wurde ebenfalls in einem Bereich von $1.0 \leq \text{pH} \leq 2.5$ in Abständen von 0.5 pH Einheiten untersucht. Im Vordergrund der Datenauswertung steht erneut der Vergleich der zwei entscheidenden kinetischen Modelle (einseitige vs. zweiseitige Kinetik). Da für den untersuchten Komplex die Komplexprotonierungskonstante $\log K_{\text{P}}^{\text{Gd(HL)}} = 1.15(1)$ bestimmt werden konnte (Tabelle 2), wird deren Einfluss auf den mittleren Protonierungsgrad zusätzlich berücksichtigt. Der Gang der Auswertung folgt exakt den in Kapitel 2.3.3.1 beschriebenen kinetischen Grundlagen, weshalb in diesem Kapitel nicht mehr explizit auf die dort erläuterten Konzepte eingegangen wird. In den folgenden Abschnitten wird auf die Abbildung der beiden linearen Fits ($\ln(100 - V/V_{\text{max.}} [\%])$ vs. t und V vs. t) vollständig verzichtet, da diese sich eindeutig durch ihr Bestimmtheitsmaß R^2 und die Geschwindigkeitskonstante k_{Obs} (Steigung der Geraden) sowie die Halbwertszeit $t_{1/2}$ charakterisieren lassen.

(b 1) *pH 1.0 und pH 1.5*

Sowohl bei pH 1.0 als auch bei pH 1.5 lassen sich die Messdaten von *Gadovist*[®] sehr gut mit einer einseitigen Kinetik und unter Berücksichtigung der Reversibilität der Reaktion mit einer zweiseitigen Kinetik auswerten. Die exakten experimentellen Parameter sind in Tabelle 23 dargestellt.

Im Vergleich zu *Prohance*[®] wurde der Regelbereich verdoppelt, um die Gefahr des Überregelns durch die pH-stat Routine zu verringern. Im gleichen Zuge wurde aber auch die minimale Dosierrate erhöht, um zu vermeiden, dass das Ansteuern des Regel-pH zu viel Zeit in Anspruch nimmt. Schließlich läuft auch während des Einregelns die Dissoziationsreaktion ab. Bei *Gadovist* wurden grundsätzlich zwei Duplikate pro pH-Wert gemessen, um ebenfalls eine Information über die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse zu erhalten.

Tabelle 23: Experimentelle Parameter der pH-stat Titrations zur Bestimmung der Geschwindigkeitskonstanten k_{Obs} , k_{Hin} und $k_{\text{Rück}}$ der Dissoziation von *Gadovist*[®] bei pH 1.0 und pH 1.5.

Kontrastmittel, Komplex	<i>Gadovist</i> [®] , Gd(bt-do3a)	
Methode	potentiometrische Titration (pH-stat)	
Titrationstyp	kontinuierlich	
Inertelektrolyt	TMACl (1.0 M)	
Temperatur	37 ± 0.1 °C	
Anzahl der Messungen	2 (1.0 M HCl) pro pH	
[GdL] ₀	0.07 M	
[H ⁺], Regel-pH	100 mM, pH = 1.0	31.62 mM, pH = 1.5
Regelbereich	20 mV	20 mV
Maximale / minimale Dosierrate	1.0 ml·min ⁻¹ / 60 µl·min ⁻¹	1.0 ml·min ⁻¹ / 30 µl·min ⁻¹
Anzahl der Messpunkte	640	640
Abstand zwischen Messpunkten	15 min	15 min
Messdauer	160 h	160 h

Bei beiden pH-Werten (*Abbildung 27*, *Abbildung 28*) ist eine Reaktion 1. Ordnung relativ gut geeignet, um das Reaktionsgeschehen zu beschreiben. Dies gilt sogar für sehr lange Zeiträume. Die Gesamtmessdauer betrug 160 h. So sollte der Bereich des frühzeitigen Abflachens der Volumenkurve möglichst exakt abgebildet werden, sofern die Reversibilität der Reaktion überhaupt eine Rolle spielt. Erstaunlich ist dabei vor allem, dass sich die Standardelektrodenpotentiale E° in diesem, für eine Glaselektrode, extrem langen Messzeitraum nur unwesentlich änderten. Innerhalb der beobachteten Zeitspanne betrug die Schwankung ΔE° kaum mehr als 2 mV. Aufgrund der äußerst geringen zeitlichen Änderung kann davon ausgegangen werden, dass diese einen vernachlässigbaren Einfluss auf die Resultate der Messung hat.

Aus dem mittleren Protonierungsgrad des Liganden (*Abbildung 10*, S. 37) lässt sich das zur vollständigen Dissoziation benötigte Volumen 1.0 M HCl berechnen. Dieser beträgt 4.86 bei pH 1.0 und 4.65 bei pH 1.5. Dementsprechend werden 17.00 ml respektive 16.27 ml Säure benötigt, um den Komplex komplett zu zerstören. Die theoretisch berechneten Volumina werden bei beiden Messungen annähernd erreicht. Der pH-stat dosiert 16.7 ml bei pH 1.0 und 15.8 ml bei pH 1.5 zur jeweiligen Probenlösung hinzu. Damit bleibt das hinzugefügte Säurevolumen lediglich um 1.8 % und 2.9 % hinter dem theoretisch berechneten zurück.

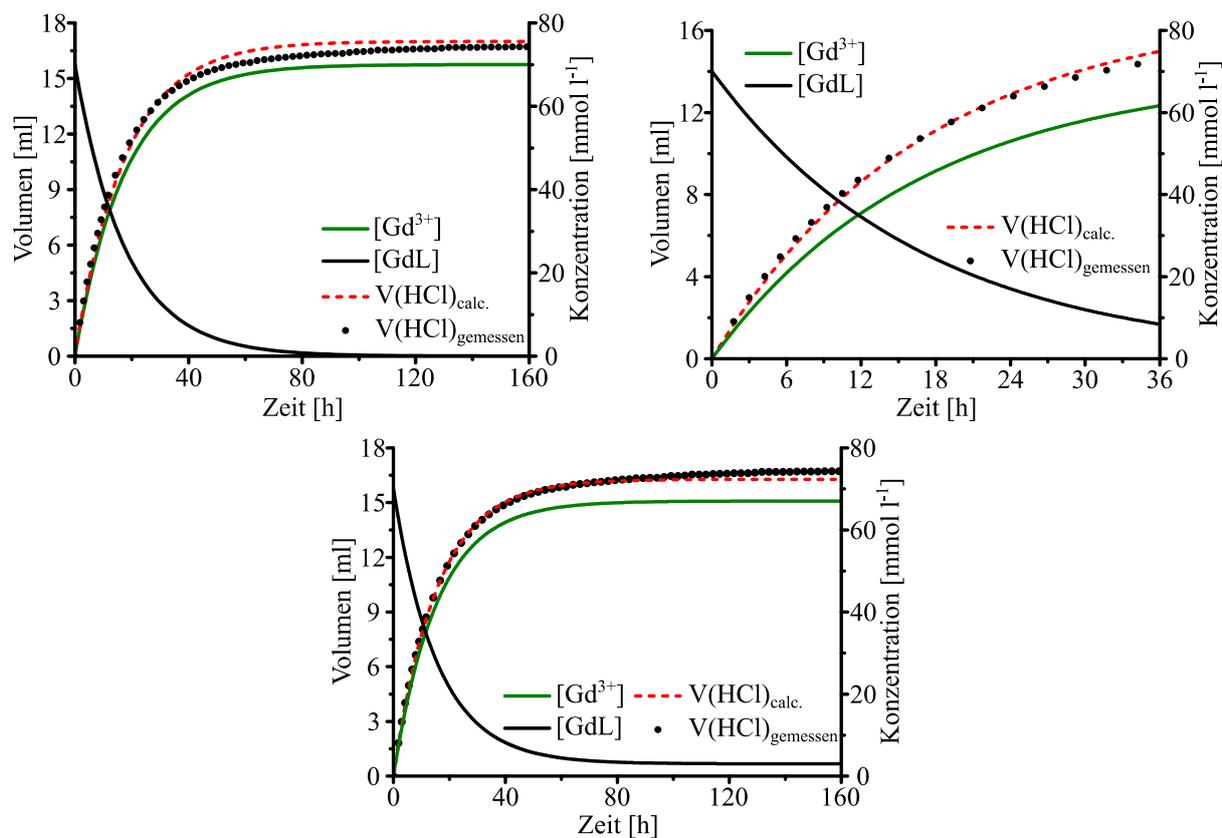


Abbildung 27: Least-Squares Fit von $V(\text{HCl})_{\text{calc.}}$ (rot gestrichelt) an $V(\text{HCl})_{\text{gemessen}}$ (schwarze Punkte) für eine 0.07 M *Gadovist*[®] Lösung (1.0 M TMACl) bei pH 1.0. Die berechneten Konzentrationsverläufe von GdL (schwarze Linie) und Gd^{3+} (grüne Linie) sind zusätzlich dargestellt. Links: Reaktion 1. Ordnung, gesamte Messdauer, $k_{\text{Obs}} = 5.64 \cdot 10^{-2} \text{ h}^{-1}$, $t_{1/2} = 12.28 \text{ h}$; rechts: Reaktion 1. Ordnung, Vernachlässigung der Abweichung, $k_{\text{Obs}} = 5.91 \cdot 10^{-2} \text{ h}^{-1}$, $t_{1/2} = 11.74 \text{ h}$; unten: Berücksichtigung der Reversibilität, $k_{\text{Hin}} = 6.14 \cdot 10^{-2} \text{ h}^{-1}$, $k_{\text{Rück}} = 2.74 \cdot 10^{-3} \text{ h}^{-1}$, $k_{\text{Hin}}/k_{\text{Rück}} = 22.41$.

Da letztlich die maximal hinzugefügte Stoffmenge HCl der limitierende Faktor für das Zutreffen der Kinetik 1. Ordnung ist, ist es absolut plausibel, dass sich das Reaktionsgeschehen in beiden Fällen sehr gut durch eine solche Kinetik beschreiben lässt. Die mittlere Abweichung pro Punkt ΔV_N liegt dementsprechend niedrig (0.18 bei pH 1.0 und 0.15 bei pH 1.5) und übertrifft die entsprechenden Werte von *Prohance*[®] deutlich. Dennoch liegt bei fortschreitender Reaktionsdauer eine relativ deutliche Abweichung der beiden Volumenkurven (Messung und Fit) voneinander vor. Durch Ausblenden dieses Bereichs wird die Qualität des Fits deutlich verbessert ($0.05 \leq \Delta V_N \leq 0.06$), die ermittelte Geschwindigkeitskonstante unterscheidet sich jedoch, wie erwartet, nur sehr geringfügig von der zuvor bestimmten (*Tabelle 24*). Gestützt werden die Resultate wiederum durch die beiden linearen Auftragungen, deren Bestimmtheitsmaß bei beiden pH-Werten ausgezeichnet ist ($0.997 \leq R^2 \leq 0.999$).

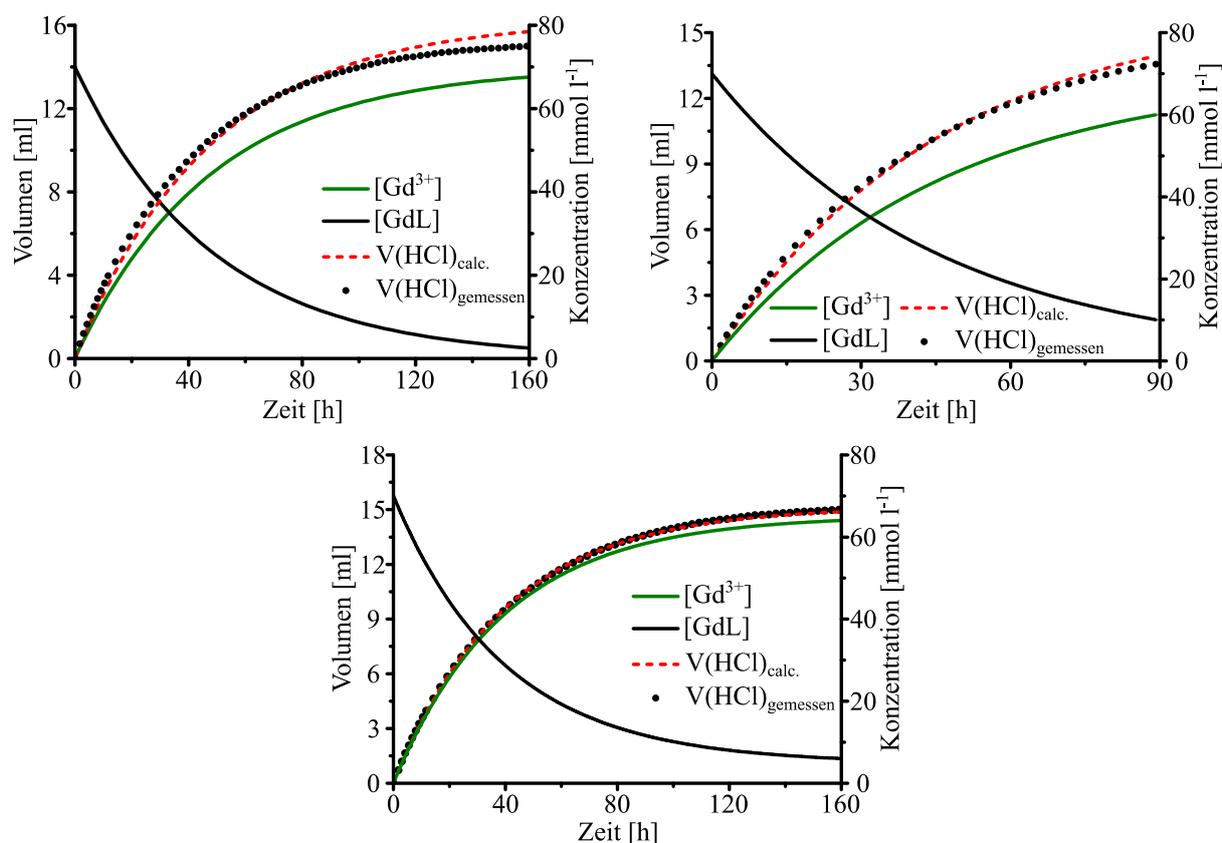


Abbildung 28: Least-Squares Fit von $V(\text{HCl})_{\text{calc.}}$ (rot gestrichelt) an $V(\text{HCl})_{\text{gemessen}}$ (schwarze Punkte) für eine 0.07 M Gadovist[®] Lösung (1.0 M TMACl) bei pH 1.5. Die berechneten Konzentrationsverläufe von GdL (schwarze Linie) und Gd³⁺ (grüne Linie) sind zusätzlich dargestellt. Links: Reaktion 1. Ordnung, gesamte Messdauer, $k_{\text{Obs}} = 2.09 \cdot 10^{-2} \text{ h}^{-1}$, $t_{1/2} = 33.18 \text{ h}$; rechts: Reaktion 1. Ordnung, Vernachlässigung der Abweichung, $k_{\text{Obs}} = 2.18 \cdot 10^{-2} \text{ h}^{-1}$, $t_{1/2} = 31.81 \text{ h}$; unten: Berücksichtigung der Reversibilität, $k_{\text{Hin}} = 2.34 \cdot 10^{-2} \text{ h}^{-1}$, $k_{\text{Rück}} = 1.73 \cdot 10^{-3} \text{ h}^{-1}$, $k_{\text{Hin}}/k_{\text{Rück}} = 13.53$.

Wird eine zweiseitige Kinetik zur Auswertung der beiden Datensätze verwendet, lässt sich die Fitqualität weiter verbessern. Das Ausmaß der Verbesserung beläuft sich auf einen Faktor 10 bei pH 1.0 und sogar Faktor 25 bei pH 1.5. Die Ergebnisse der beiden hier gezeigten Einzelmessungen sind in Tabelle 24 noch einmal zusammengefasst. Innerhalb einer Messung stützen sich die Resultate der verschiedenen Auswertemethoden sehr gut. Die Geschwindigkeitskonstante k_{Obs} nimmt bei pH 1.0 den Wert $5.61 \cdot 10^{-2} \text{ h}^{-1}$ an. Die Standardabweichung ist mit $\pm 3.5 \%$ sehr niedrig. Die Halbwertszeit der säurekatalysierten Komplexdissoziation von Gadovist[®] bei pH 1.0 beträgt dementsprechend 12.36 h ($\pm 0.43 \text{ h}$). Bei pH 1.5 nimmt die Geschwindigkeitskonstante den Wert $2.16 \cdot 10^{-2} \text{ h}^{-1}$ ($\pm 5.3 \%$) an. Die Halbwertszeit beträgt dann 32.09 h ($\pm 1.70 \text{ h}$).

Tabelle 24: Ergebnisse der verschiedenen Auswertemethoden für die Dissoziationskinetik von *Gadovist*[®] bei pH 1.0 sowie 1.5, T = 37 °C, [Gd(bt-do3a)]_{total} = 70 mM in 1.0 M TMACl. Einseitig: Reaktion erster Ordnung (k_{Obs}); lang: Auswertung der gesamten Reaktion; kurz: Auswertung des Bereichs ohne Abweichung; logarithmisch: $\ln(100 - V/V_{\text{max.}} [\%])$; v_0 : Anfangsgeschwindigkeit; zweiseitig: Hin- und Rückreaktion jeweils erster Ordnung.

pH 1.0		GdL → Gd ³⁺ , einseitige Kinetik			
		Lang	Kurz	Logarithmisch	v_0
k_{Obs}	[h ⁻¹]	$5.64 \cdot 10^{-2}$	$5.91 \cdot 10^{-2}$	$5.47 \cdot 10^{-2}$	$5.41 \cdot 10^{-2}$
		$\Delta V_{\text{N}} = 0.18$	$\Delta V_{\text{N}} = 0.06$	$R^2 = 0.998$	$R^2 = 0.997$
$t_{1/2}$	[h]	12.29	11.73	12.68	12.80
pH 1.5		GdL → Gd ³⁺ , einseitige Kinetik			
		Lang	Kurz	Logarithmisch	v_0
k_{Obs}	[h ⁻¹]	$2.09 \cdot 10^{-2}$	$2.18 \cdot 10^{-2}$	$2.03 \cdot 10^{-2}$	$2.33 \cdot 10^{-2}$
		$\Delta V_{\text{N}} = 0.15$	$\Delta V_{\text{N}} = 0.05$	$R^2 = 0.998$	$R^2 = 0.999$
$t_{1/2}$	[h]	33.18	31.81	34.21	29.77
pH 1.0		GdL ⇌ Gd ³⁺ , zweiseitige Kinetik			
		k_{Hin} [h ⁻¹]	$k_{\text{Rück}}$ [h ⁻¹]	$k_{\text{Hin}}/k_{\text{Rück}}$	[GdL] _∞ [mM]
		$6.14 \cdot 10^{-2}$	$2.74 \cdot 10^{-3}$	22.41	2.99
		$\Delta V_{\text{N}} = 0.006$			
pH 1.5		GdL ⇌ Gd ³⁺ , zweiseitige Kinetik			
		k_{Hin} [h ⁻¹]	$k_{\text{Rück}}$ [h ⁻¹]	$k_{\text{Hin}}/k_{\text{Rück}}$	[GdL] _∞ [mM]
		$2.34 \cdot 10^{-2}$	$1.73 \cdot 10^{-3}$	13.53	4.82
		$\Delta V_{\text{N}} = 0.002$			

Werden auch die Duplikate der beiden Messungen berücksichtigt, ändert sich die Datenlage nur geringfügig (*Tabelle 25*). Die Standardabweichungen werden erwartungsgemäß ein wenig schlechter, liegen aber in einem absolut akzeptablen Bereich ($6.37\% \text{ (pH 1.5)} \leq \sigma \leq 10.59\% \text{ (pH 1.0)}$). Diese Daten bescheinigen den Resultaten der Auswertung nach einer Reaktion 1. Ordnung eine relativ gute Reproduzierbarkeit.

Tabelle 25: Zusammenfassung der Resultate aller Datensätze für *Gadovist*[®] bei pH 1.0 sowie pH 1.5 und einer Ionenstärke von 1.0 M, Inertsalz: TMACl, T = 37 °C.

	Einseitige Kinetik			Zweiseitige Kinetik				
	k_{Obs} [h ⁻¹]	$t_{1/2}$ [h]	σ [%]	k_{Hin} [h ⁻¹]	σ [%]	$k_{\text{Rück}}$ [h ⁻¹]	σ [%]	$k_{\text{Hin}}/k_{\text{Rück}}$
pH 1.0	$5.18 \cdot 10^{-2}$	13.39	10.6	$5.81 \cdot 10^{-2}$	5.8	$4.51 \cdot 10^{-3}$	39.3	12.88
pH 1.5	$2.06 \cdot 10^{-2}$	33.57	6.4	$2.16 \cdot 10^{-2}$	8.3	$1.73 \cdot 10^{-3}$	100.0	12.49

Ein gänzlich anderes Bild ergibt sich jedoch bei der Betrachtung der Ergebnisse der zweiseitigen Kinetik. Wie auch schon bei *Prohance*[®] ist im Grunde keine Reproduzierbarkeit von $k_{\text{Rück}}$ gegeben. Im Fall von pH 1.5 gelingt die Bestimmung der Geschwindigkeitskonstante der Rückreaktion sogar nur bei einer von zwei Messungen. Im anderen Fall wird für sie ein Wert von 0 gefunden. Dies erklärt natürlich auch, warum sich eine Standardabweichung von 100 % ergibt. Der Fehler auf $k_{\text{Rück}}$ ist bei pH 1.0 zwar deutlich niedriger, die Abweichung beträgt allerdings immer noch inakzeptable 39.3 %. Weiterhin auffällig sind die Verhältnisse $k_{\text{Hin}}/k_{\text{Rück}}$. Aus ihnen lässt sich berechnen, dass die Rückreaktion mehr als zwölfmal langsamer verläuft als die Dissoziation an sich. Dies ist zwar qualitativ sinnvoll, eine quantitative Aussage sollte allerdings aufgrund der hohen Standardabweichung aus diesem Resultat nicht abgeleitet werden. Bei beiden pH-Werten errechnet sich aus den Geschwindigkeitskonstanten die Gleichgewichtskonzentration $[\text{GdL}]_{\infty}$ zu etwas mehr als 5 mM. Ein Vergleich mit dem thermodynamischen Gleichgewicht, welches sich nach 160 h Messdauer zumindest annähernd eingestellt haben sollte, zeigt jedoch, dass dieser Wert ebenfalls nicht sinnvoll ist. Die Gleichgewichtskonzentration müsste nach *Abbildung 29* verschwindend gering sein. Es muss also auch für *Gadovist*[®] festgehalten werden, dass eine Bestimmung von $k_{\text{Rück}}$ bis einschließlich pH 1.5 äußerst fragwürdig ist. Selbst bei besseren Standardabweichungen bliebe dennoch die Frage nach der Sinnhaftigkeit einer solchen Konstante, da das thermodynamische Gleichgewicht vollständig auf der Seite der beiden Dissoziationsprodukte liegt.

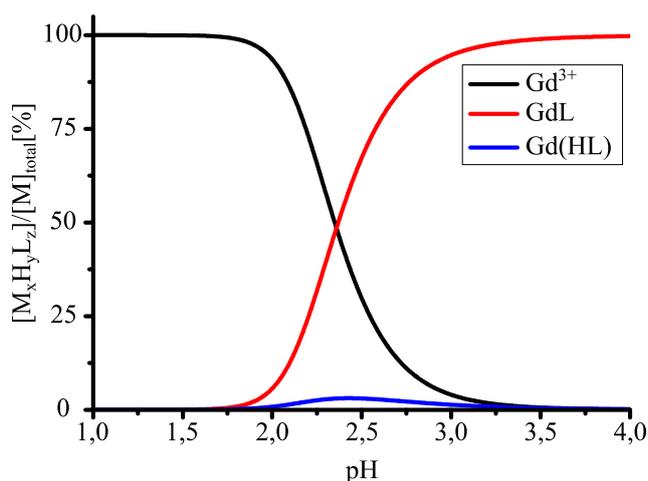


Abbildung 29: Mit HySS2009 simuliertes Verteilungsdiagramm auf Basis des Teilchenmodells aus *Tabelle 2* für den Komplex Gd(bt-do3a) (*Gadovist*[®]). $[\text{Gd}]_t = [\text{L}]_t = 0.07 \text{ M}$ (1.0 M TMACl).

Der Grund dafür, dass die Bestimmung von $k_{\text{Rück}}$ überhaupt gelingt, liegt darin, dass das maximal hinzudosierte Säurevolumen selbst dann hinter dem theoretisch berechneten Volumen zurückbleibt, wenn es im Grunde nicht zu erwarten wäre.

Die entstandene Differenz zwischen $V(\text{HCl})_{\text{calc.}}$ und $V(\text{HCl})_{\text{berechnet}}$ kann der Algorithmus bei Verwendung einer Reaktion erster Ordnung nicht ausgleichen. Durch Hinzufügen einer weiteren Stellschraube ($k_{\text{Rück}}$) gelingt die Datenanpassung jedoch. Die Tatsache, dass die zweiseitige Kinetik das Reaktionsgeschehen besser abbildet, kann auf den ersten Blick als Hinweis auf den Einfluss der Rückreaktion interpretiert werden. Da das thermodynamische Gleichgewicht allerdings vollständig auf der Seite der Dissoziationsprodukte liegt, ist es wahrscheinlicher, dass die Volumendiskrepanz einen anderen Grund als die Reversibilität hat. Die ohnehin recht geringe Abweichung könnte genauso gut auf geringfügige Konzentrationsfehler der angesetzten Probenlösungen zurückzuführen sein. Solche Konzentrationsschwankungen wirken sich schließlich besonders intensiv auf die Berechnung des maximalen Säureverbrauchs aus, da in Anlehnung an Gleichung (46) bereits kleinste Fehler der Anfangskonzentration $[\text{GdL}]_0$ durch Multiplikation mit dem mittleren Protonierungsgrad vervielfacht werden. Da Duplikate jedoch stets aus dem gleichen Ansatz vermessen wurden, müsste diese Volumenabweichung tendenziell bei beiden Mehrfachmessungen immer gleich stark ins Gewicht fallen. Das ist allerdings nicht der Fall. Eine weitere mögliche Erklärung für die Abweichung zwischen theoretisch berechneten und gemessenen Volumina könnte die Genauigkeit der pH-Messung liefern. Es wäre durchaus denkbar, dass der immer kleiner werdende Umsatz gegen Ende der Reaktion derart kleine Signaländerungen zur Folge hat, dass die pH-Elektrode diese nicht mehr korrekt erfassen kann. Die Reaktion könnte dann langsam weiter ablaufen, ohne dass der weitere Verlauf mit der verwendeten Methode detektiert werden könnte. Letztlich kann keine eindeutige Erklärung für die Abweichung gegeben werden. Bei den untersuchten pH-Werten (1.0 und 1.5) spricht die Datenlage allerdings nicht für eine Rückreaktion. Diese müsste schließlich jeweils bei beiden Duplikaten, bis auf eine akzeptable Standardabweichung, den gleichen Einfluss ausüben. Dem ist aber nicht so. Die Auswirkung auf k_{Hin} bleibt aber in beiden Fällen relativ klein. Die Geschwindigkeitskonstanten der Hinreaktion (zweiseitige Kinetik) unterscheiden sich kaum von den ermittelten k_{Obs} -Werten (einseitige Kinetik).

Wie am Anfang des Kapitels erwähnt, wurden die Geschwindigkeitskonstanten ganz analog unter Berücksichtigung der Protonierbarkeit des Komplexes erneut bestimmt. Die Protonierungskonstante des Komplexes ($\text{GdL} \rightarrow \text{Gd}(\text{HL})$, $\log K_{\text{P}}^{\text{Gd}(\text{HL})} = 1.15$) konnte bestimmt werden. Mit ihrer Hilfe lässt sich der mittlere Protonierungsgrad des Komplexes ermitteln. Dieser berechnet sich für den Komplex genauso, wie es für den Liganden in Gleichung (23) gezeigt wurde.

Der Verlauf von \bar{p}_K ist für den relevanten pH Bereich in *Abbildung 30* dargestellt. Es ist klar ersichtlich, dass der Einfluss der Komplexprotonierung mit steigendem pH drastisch abnimmt. Bei pH 1.0 nimmt \bar{p}_K noch einen Wert von 0.59 an, wohingegen er bis pH 2.5 auf 0.04 absinkt. Bereits ab pH 2.0 ist zu erwarten, dass der Einfluss durch die komplexgebundenen Protonen vernachlässigbar wird, da dort der Komplex bereits nahezu vollständig deprotoniert vorliegt. Für den Protonenumsatz ist allerdings nur der „reale“ Protonierungsgrad \bar{p}_{Real} verantwortlich, welcher die Differenz zwischen dem mittleren Protonierungsgrad des Liganden und dem des Komplexes darstellt. Die Datenauswertung erfolgt dann mit Hilfe von Gleichung (42). Es ergibt sich der in *Tabelle 26* zusammengefasste Datensatz.

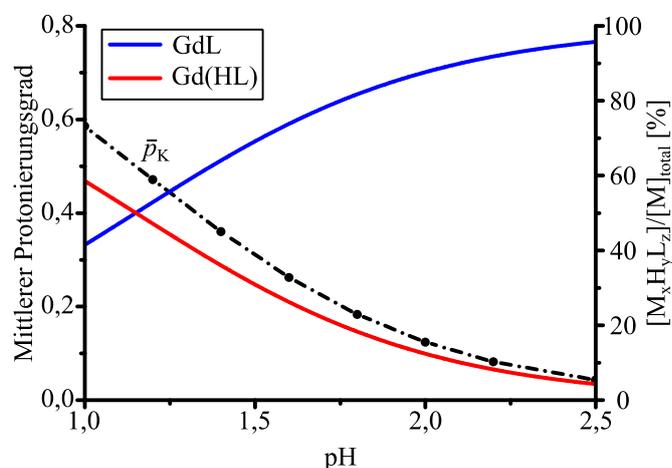


Abbildung 30: Schematische Darstellung des Verlaufs von \bar{p}_K (schwarz gepunktet) am Beispiel einer 0.07 M Gd(bt-do3a) Lösung (1.0 M TMACl). Das mit HySS2009 berechnete Verteilungsdiagramm ist zusätzlich bunt dargestellt. Die zugrundeliegenden log K-Werte sind in *Tabelle 2* dokumentiert.

Tabelle 26: Zusammenfassung der Resultate aller Datensätze für *Gadovist*[®] bei pH 1.0 sowie pH 1.5 und einer Ionenstärke von 1.0 M, Inertsalz: TMACl, T = 37 °C. Berücksichtigung der Protonierbarkeit des Komplexes.

	Einseitige Kinetik			Zweiseitige Kinetik				
	k_{Obs} [h ⁻¹]	$t_{1/2}$ [h]	σ [%]	k_{Hin} [h ⁻¹]	σ [%]	$k_{Rück}$ [h ⁻¹]	σ [%]	$k_{Hin}/k_{Rück}$
pH 1.0	$6.78 \cdot 10^{-2}$	10.22	11.2	$7.19 \cdot 10^{-2}$	10.43	0	0	--
pH 1.5	$2.37 \cdot 10^{-2}$	29.23	7.7	$2.57 \cdot 10^{-2}$	2.14	$7.31 \cdot 10^{-5}$	100.0	352

Die so bestimmten Konstanten befinden sich zum einen innerhalb der Standardabweichungen der Konstanten, die ohne die Berücksichtigung der Protonierbarkeit des Komplexes erhalten wurden. Zum anderen ist die Bestimmung von $k_{Rück}$ genauso wenig reproduzierbar wie zuvor. Daher ist es nicht möglich, einem der beiden Datensätze den klaren Vorzug zu gewähren. Wird die Protonierbarkeit des Komplexes nicht vernachlässigt, ist das Modell zwar vollständiger, der zugrundeliegende Wert der Protonierungskonstante ist allerdings kritisch zu betrachten.

Dieser ist aufgrund seines äußerst sauren Charakters bei der Bestimmung durch potentiometrische Titrations mit einem relativ großen Fehler behaftet. Aus diesem Grund kann keine eindeutige Empfehlung für die Berücksichtigung solcher Konstanten ausgesprochen werden. Dieser Aspekt wird zwar im Laufe der Arbeit weiter beleuchtet, die finalen Datensätze vernachlässigen jedoch die so ermittelten Konstanten.

(b 2) *pH 2.0 und pH 2.5*

Bis auf die Dosieraten konnten die sonstigen experimentellen Parameter exakt wie bei den vorigen Experimenten verwendet werden. Die minimale Dosierate wurde im Vergleich zu pH 1.5 noch einmal halbiert, um den Regelwert so genau wie möglich zu erreichen. Zudem war es bei pH 2.5 sinnvoll, die Abstände zwischen den Messpunkten deutlich zu erhöhen. Die Halbwertszeiten erreichen bei *Gadovist*[®] sehr schnell eine Größenordnung, die sich nicht mehr ohne weiteres abdecken lässt, weshalb es ab pH 2.0 nicht mehr möglich war mehrere $t_{1/2}$ zu untersuchen. Dies würde die Langzeitstabilität der pH-Glaselektrode überfordern und dementsprechend zu Messfehlern führen.

Tabelle 27: Experimentelle Parameter der pH-stat Titrations zur Bestimmung der Geschwindigkeitskonstanten k_{Obs} , k_{Hin} und $k_{\text{Rück}}$ der Dissoziation von *Gadovist*[®] bei pH 2.0 und pH 2.5.

Kontrastmittel, Komplex	<i>Gadovist</i> [®] , Gd(bt-do3a)	
Methode	potentiometrische Titration (pH-stat)	
Titrationstyp	kontinuierlich	
Inertelektrolyt	TMACl (1.0 M)	
Temperatur	37 ± 0.1 °C	
Anzahl der Messungen	2 (1.0 M HCl) pro pH	
[GdL] ₀	0.07 M	
[H ⁺], Regel-pH	10 mM, pH = 2.0	3.16 mM, pH = 2.5
Regelbereich	20 mV	20 mV
Maximale / minimale Dosierate	1.0 ml·min ⁻¹ / 15 µl·min ⁻¹	1.0 ml·min ⁻¹ / 15 µl·min ⁻¹
Anzahl der Messpunkte	640	160
Abstand zwischen Messpunkten	15 min	60 min
Messdauer	160 h	160 h

Innerhalb des untersuchten Zeitraumes von ca. 160 h war es zumindest bei pH 2.0 noch relativ gut möglich, die Reaktion durch eine Kinetik 1. Ordnung zu beschreiben. *Abbildung 31* zeigt jedoch erneut sehr deutlich, dass sich bei der Ausgleichsrechnung über die gesamte Messdauer signifikante Abweichungen zwischen theoretisch berechnetem und gemessenem Volumen ergeben. Diese fallen jedoch deutlich geringer aus, als es bei *Prohance*[®] der Fall war.

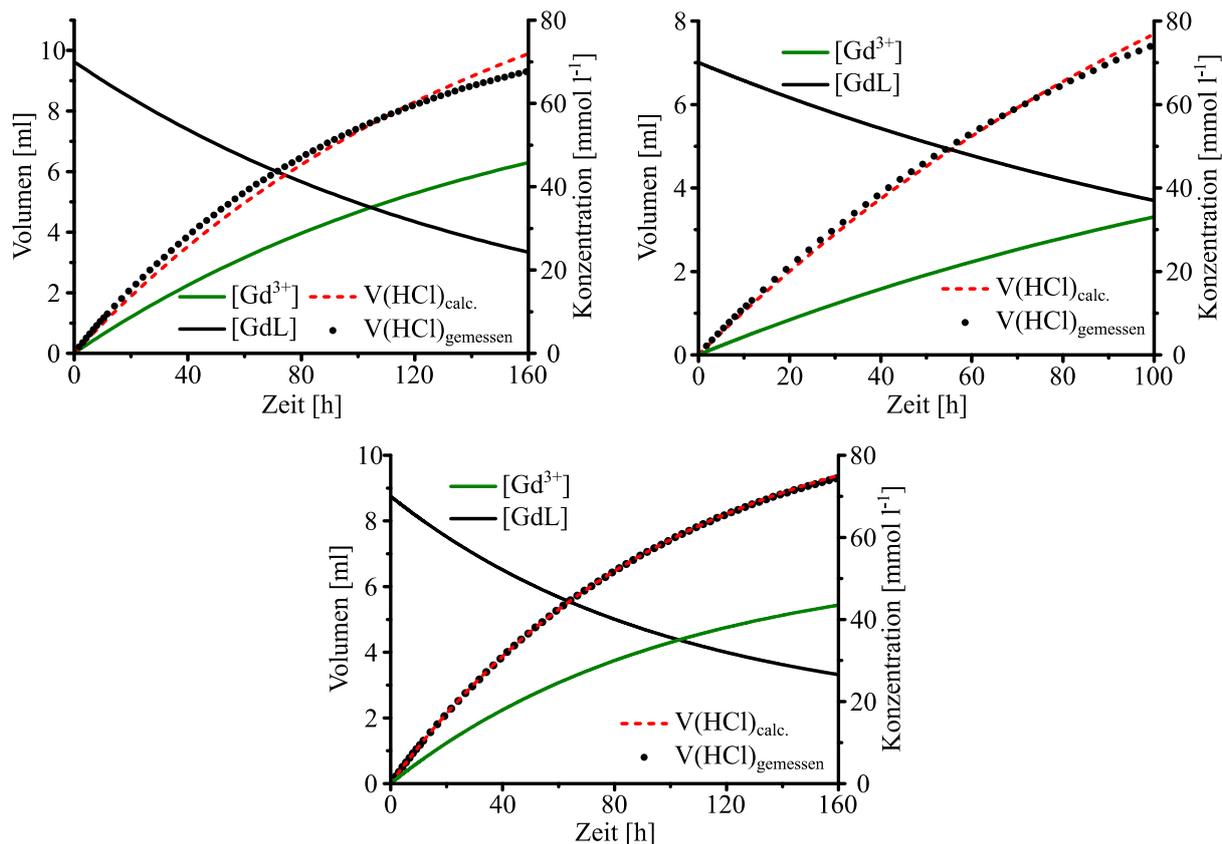


Abbildung 31: Least-Squares Fit von $V(\text{HCl})_{\text{calc.}}$ (rot gestrichelt) an $V(\text{HCl})_{\text{gemessen}}$ (schwarze Punkte) für eine 0.07 M *Gadovist*[®] Lösung (1.0 M TMACl) bei pH 2.0. Die berechneten Konzentrationsverläufe von GdL (schwarze Linie) und Gd³⁺ (grüne Linie) sind zusätzlich dargestellt. Links: Reaktion 1. Ordnung, gesamte Messdauer, $k_{\text{Obs}} = 6.63 \cdot 10^{-3} \text{ h}^{-1}$, $t_{1/2} = 104.6 \text{ h}$; rechts: Reaktion 1. Ordnung, Vernachlässigung der Abweichung, $k_{\text{Obs}} = 7.09 \cdot 10^{-3} \text{ h}^{-1}$, $t_{1/2} = 97.7 \text{ h}$; unten: Berücksichtigung der Reversibilität, $k_{\text{Hin}} = 7.77 \cdot 10^{-3} \text{ h}^{-1}$, $k_{\text{Rück}} = 2.21 \cdot 10^{-3} \text{ h}^{-1}$, $k_{\text{Hin}}/k_{\text{Rück}} = 3.52$.

Die Betrachtung der thermodynamischen Gleichgewichte beider Komplexe (*Prohance*[®]: *Abbildung 22*, *Gadovist*[®]: *Abbildung 29*) gibt jedoch Aufschluss über den Grund für diesen Sachverhalt. Bei *Prohance*[®] beträgt der Gleichgewichtsanteil des Komplexes bereits 14 %, wohingegen der Anteil von *Gadovist*[®] nur 5.6 % beträgt. Dementsprechend sollte der Einfluss der Rückreaktion in letzterem Fall geringer ausfallen, sofern ein ähnliches Verhältnis $k_{\text{Hin}}/k_{\text{Rück}}$ vorliegt. Dies ist der Fall.

Aufgrund der enorm langen $t_{1/2}$ ab pH 2.0 kann die Dissoziation bei *Gadovist*[®] nicht mehr bis zum Ende verfolgt werden. Die Plateaus in den Volumenkurven, die in den vorherigen Messungen noch das Erreichen des thermodynamischen Gleichgewichtes angezeigt haben, sind nun wesentlich schwächer ausgeprägt. Während bei pH 2.0 noch fast zwei Halbwertszeiten verfolgt werden können, wird bei pH 2.5 noch nicht einmal mehr eine erreicht.

Tabelle 28: Ergebnisse der verschiedenen Auswertemethoden für die Dissoziationskinetik von *Gadovist*[®] bei pH 2.0 sowie 2.5, T = 37 °C, [Gd(bt-do3a)]_{total} = 70 mM in 1.0 M TMACl. Einseitig: Reaktion erster Ordnung (k_{Obs}); lang: Auswertung der gesamten Reaktion; kurz: Auswertung des Bereichs ohne Abweichung; logarithmisch: $\ln(100 - V/V_{\text{max.}} [\%])$; v_0 : Anfangsgeschwindigkeit; zweiseitig: Hin- und Rückreaktion jeweils erster Ordnung.

pH 2.0		GdL → Gd ³⁺ , einseitige Kinetik			
		Lang	Kurz	Logarithmisch	v_0
k_{Obs}	[h ⁻¹]	$6.03 \cdot 10^{-3}$	$7.09 \cdot 10^{-3}$	$6.82 \cdot 10^{-3}$	$7.80 \cdot 10^{-3}$
		$\Delta V_{\text{N}} = 0.08$	$\Delta V_{\text{N}} = 0.01$	$R^2 = 0.998$	$R^2 = 1.000$
$t_{1/2}$	[h]	104.6	97.7	101.6	88.8
pH 2.5		GdL → Gd ³⁺ , einseitige Kinetik			
		Lang	Kurz	Logarithmisch	v_0
k_{Obs}	[h ⁻¹]	$1.49 \cdot 10^{-3}$	$2.27 \cdot 10^{-3}$	$2.14 \cdot 10^{-3}$	$2.45 \cdot 10^{-3}$
		$\Delta V_{\text{N}} = 0.10$	$\Delta V_{\text{N}} = 0.002$	$R^2 = 0.994$	$R^2 = 0.998$
$t_{1/2}$	[h]	466.5	306.0	323.8	283.3
pH 2.0		GdL ⇌ Gd ³⁺ , zweiseitige Kinetik			
		k_{Hin} [h ⁻¹]	$k_{\text{Rück}}$ [h ⁻¹]	$k_{\text{Hin}}/k_{\text{Rück}}$	[GdL] _∞ [mM]
		$7.77 \cdot 10^{-3}$	$2.21 \cdot 10^{-3}$	3.52	15.49
		$\Delta V_{\text{N}} = 4.23 \cdot 10^{-5}$			
pH 2.5		GdL ⇌ Gd ³⁺ , zweiseitige Kinetik			
		k_{Hin} [h ⁻¹]	$k_{\text{Rück}}$ [h ⁻¹]	$k_{\text{Hin}}/k_{\text{Rück}}$	[GdL] _∞ [mM]
		$2.89 \cdot 10^{-3}$	$1.28 \cdot 10^{-2}$	0.23	57.07
		$\Delta V_{\text{N}} = 4.76 \cdot 10^{-4}$			

Der Ligand trägt bei pH 2.0 im Mittel 4.32 Protonen, bei pH 2.5 sind es nur noch 3.97. Die für die vollständige Komplexdissoziation notwendigen Volumina belaufen sich deshalb auf 15.1 ml und 13.9 ml. Es werden jedoch nur 9.4 ml (pH 2.0) und 2.3 ml (pH 2.5) 1 M HCl hinzudosiert. Es zeichnet sich also erneut ein relativ starker Einfluss durch eine Rückreaktion, vor allem bei pH 2.5, ab.

Die Standardabweichung innerhalb einer Einzelmessung, also zwischen den verschiedenen Auswerteverfahren, ist erwartungsgemäß niedrig, die Reproduzierbarkeit ist dementsprechend hoch. Ab pH 2.5 (Abbildung 32) ist eine Kinetik 1. Ordnung jedoch nicht mehr geeignet, das gesamte Reaktionsgeschehen abzubilden.

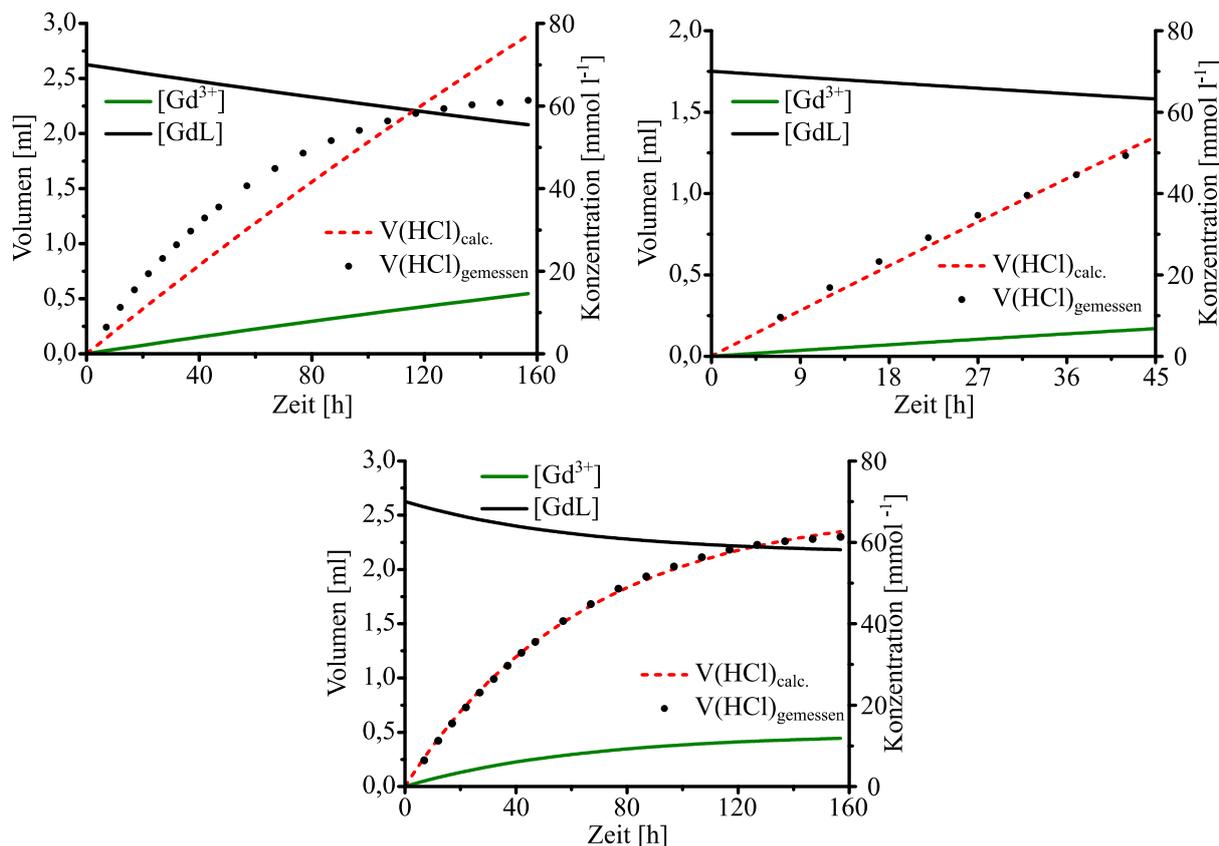


Abbildung 32: Least-Squares Fit von $V(\text{HCl})_{\text{calc.}}$ (rot gestrichelt) an $V(\text{HCl})_{\text{gemessen}}$ (schwarze Punkte) für eine 0.07 M Gadovist® Lösung (1.0 M TMACl) bei pH 2.5. Die berechneten Konzentrationsverläufe von GdL (schwarze Linie) und Gd³⁺ (grüne Linie) sind zusätzlich dargestellt. Links: Reaktion 1. Ordnung, gesamte Messdauer, $k_{\text{Obs}} = 1.49 \cdot 10^{-3} \text{ h}^{-1}$, $t_{1/2} = 466.5 \text{ h}$; rechts: Reaktion 1. Ordnung, Vernachlässigung der Abweichung, $k_{\text{Obs}} = 2.27 \cdot 10^{-3} \text{ h}^{-1}$, $t_{1/2} = 306.0 \text{ h}$; unten: Berücksichtigung der Reversibilität, $k_{\text{Hin}} = 2.89 \cdot 10^{-3} \text{ h}^{-1}$, $k_{\text{Rück}} = 1.28 \cdot 10^{-2} \text{ h}^{-1}$, $k_{\text{Hin}}/k_{\text{Rück}} = 0.23$.

Die Abweichung zwischen gemessenen und berechneten Volumina nimmt dort signifikant zu, weshalb die so ermittelte Geschwindigkeitskonstante für die Gesamtauswertung vernachlässigt werden muss. Über kürzere Zeiträume liefert die Kinetik 1. Ordnung allerdings noch sehr zuverlässige Ergebnisse mit äußerst geringen mittleren Abweichungen pro Messpunkt. Gestützt werden die Ergebnisse durch die linearen, zuvor schon oft diskutierten Auftragungen (logarithmisch und v_0), die sich durch ihre hohe Linearität auszeichnen.

Die Geschwindigkeitskonstante k_{Obs} (bestimmt nach einer Reaktion 1. Ordnung) nimmt bei pH 2.0 einen Wert von $7.08 \cdot 10^{-3} \text{ h}^{-1}$ ($\pm 6.3 \%$) und bei pH 2.5 einen Wert von $2.29 \cdot 10^{-3} \text{ h}^{-1}$ ($\pm 5.6 \%$) an. Die Halbwertszeiten betragen 97.9 h ($\pm 6.2 \text{ h}$) bei pH 2.0, respektive 302.7 ($\pm 17.0 \text{ h}$) bei pH 2.5 (*Tabelle 28*).

Die Qualität des Fits wird durch die Verwendung einer zweiseitigen Kinetik stark verbessert. Es ergeben sich keine nennenswerten Abweichungen zwischen theoretisch berechnetem und gemessenem Volumen mehr. Unter Berücksichtigung aller Duplikatmessungen und des Einflusses durch die Protonierbarkeit des Komplexes werden die in *Tabelle 29* gelisteten Resultate erhalten. Der Protonierungsgrad des Komplexes (*Abbildung 30*) beträgt bei pH 2.0 nur 0.12 und bei pH 2.5 sogar nur noch 0.04. Dies entspricht 2.9 %, respektive 1.0 % des Protonierungsgrades des Liganden. Da der „reale“ Protonierungsgrad ($\bar{p}_L - \bar{p}_K$) dort durch den Komplex nahezu unbeeinflusst bleibt, ist es nicht erstaunlich, dass sich die neu bestimmten Konstanten (*Tabelle 29^[b]*) nicht signifikant von den Konstanten ohne den Einfluss der Protonierbarkeit des Komplexes unterscheiden.

Die Geschwindigkeitskonstante k_{Obs} beträgt $7.41 \cdot 10^{-3} \text{ h}^{-1}$ ($\pm 6.2 \%$) bei pH 2.0 sowie $2.29 \cdot 10^{-3} \text{ h}^{-1}$ bei pH 2.5. Die Halbwertszeit der säurekatalysierten Dissoziation von *Gadovist*[®] beträgt demnach 93.5 h ($\pm 5.8 \text{ h}$) bei pH 2.0, respektive 303.1 h bei pH 2.5.

Tabelle 29: Zusammenfassung der Resultate aller Datensätze für *Gadovist*[®] bei pH 2.0 sowie pH 2.5 und einer Ionenstärke von 1.0 M, Inertsalz: TMACl, T = 37 °C. ^[a]: Vernachlässigung der Protonierbarkeit des Komplexes, ^[b]: Berücksichtigung der Protonierbarkeit des Komplexes, $\log K_{\text{P}}^{\text{Gd(HL)}} = 1.15(1)$.

	Einseitige Kinetik ^[a]			Zweiseitige Kinetik ^[a]				
	$k_{\text{Obs}} [\text{h}^{-1}]$	$t_{1/2} [\text{h}]$	$\sigma [\%]$	$k_{\text{Hin}} [\text{h}^{-1}]$	$\sigma [\%]$	$k_{\text{Rück}} [\text{h}^{-1}]$	$\sigma [\%]$	$k_{\text{Hin}}/k_{\text{Rück}}$
pH 2.0	$7.41 \cdot 10^{-3}$	93.5	6.2	$7.82 \cdot 10^{-3}$	0.64	$1.62 \cdot 10^{-3}$	36.4	4.83
pH 2.5	$2.29 \cdot 10^{-3}$	303.1	--	$2.89 \cdot 10^{-3}$	--	$1.28 \cdot 10^{-2}$	--	0.23
	Einseitige Kinetik ^[b]			Zweiseitige Kinetik ^[b]				
	$k_{\text{Obs}} [\text{h}^{-1}]$	$t_{1/2} [\text{h}]$	$\sigma [\%]$	$k_{\text{Hin}} [\text{h}^{-1}]$	$\sigma [\%]$	$k_{\text{Rück}} [\text{h}^{-1}]$	$\sigma [\%]$	$k_{\text{Hin}}/k_{\text{Rück}}$
pH 2.0	$7.67 \cdot 10^{-3}$	90.3	5.7	$8.04 \cdot 10^{-3}$	0.62	$1.40 \cdot 10^{-3}$	42.4	4.83
pH 2.5	$2.31 \cdot 10^{-3}$	300.1	--	$2.92 \cdot 10^{-3}$	--	$1.27 \cdot 10^{-2}$	--	0.23

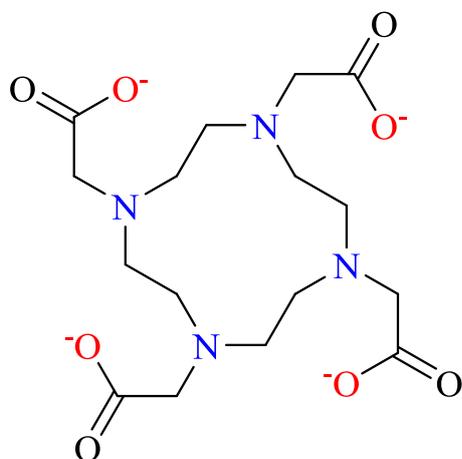
Die Betrachtung der Resultate der zweiseitigen Kinetik zeigt allerdings ein Problem, das zuvor schon bei *Prohance*[®] bestand, allerdings nur bei $\text{pH} < 2.0$. Die Standardabweichung bei der Bestimmung von $k_{\text{Rück}}$ ist mit 36.4 % inakzeptabel hoch. Ein möglicher Grund für die unzureichende Reproduzierbarkeit dieser Konstante könnte, wie zuvor schon erwähnt, darin liegen, dass der Einfluss durch die Rückreaktion wegen der Lage des Gleichgewichtes, welches zu mehr als 95 % auf der Seite der Zerfallsprodukte liegt, noch sehr gering ist.

Verstärkt würde dieser Effekt schließlich dadurch, dass die Hinreaktion immer noch fast fünfmal so schnell abläuft, wie die Rückreaktion. Das Zusammenspiel zwischen der Messgenauigkeit der Elektrode (± 0.01 pH), der langen Reaktionsdauer und dem geringen Konzentrationsunterschied zwischen einem Reaktionsumsatz von 95 % oder von 100 %, könnte derart große Standardabweichungen erklären.

Es sei noch erwähnt, dass für $\text{pH} 2.5$ keine Duplikatmessung vorliegt, weshalb auch keine Standardabweichung angegeben werden kann. Es kann jedoch festgehalten werden, dass der sich abzeichnende Trend durchaus sinnvoll erscheint. Es gibt daher keinen Grund das Ergebnis anzuzweifeln.

Bei $\text{pH} 2.0$ ist die Dissoziationsreaktion von *Gadovist*[®] noch etwa fünfmal schneller als die Komplexbildung. Die aus k_{Hin} und $k_{\text{Rück}}$ berechnete Gleichgewichtskonzentration $[\text{GdL}]_{\infty}$ beträgt 13.44 mM und liegt damit noch sehr deutlich über der aus dem thermodynamischen Gleichgewicht ermittelten Komplexkonzentration (3.92 mM). Bei $\text{pH} 2.5$ dominiert jedoch klar die Rückreaktion. Sie verläuft mehr als viermal so schnell als die Dissoziation. Mit $[\text{GdL}]_{\infty} = 56.91$ mM lässt sich jedoch eine Gleichgewichtskonzentration berechnen, die sich schon wesentlich besser mit dem thermodynamischen Gleichgewicht deckt (47.03 mM). Dennoch wird dieses um 17.4 % überschritten. Die Gültigkeit der Geschwindigkeitskonstante $k_{\text{Rück}}$ bleibt also nach wie vor zweifelhaft. Die Bestimmung von k_{Hin} verläuft zwar bei beiden pH-Werten problemlos, was durch die relativ geringen Abweichungen zu k_{Obs} belegt ist (5.2 % bei $\text{pH} 2.0$ und 20.9 % bei $\text{pH} 2.5$). Grundsätzlich sind jedoch die Konstanten, die mit Hilfe der einseitigen Kinetik bestimmt wurden, als zuverlässiger zu erachten und deshalb zu bevorzugen.

2.3.3.3. Gd(dota)⁻; *Dotarem*[®]



Das Kontrastmittel *Dotarem*[®] wird von Guerbet vertrieben. Was die thermodynamische respektive die kinetische Stabilität des Komplexes angeht, nimmt das Kontrastmittel eine besondere Rolle ein. Es ist mit einigem Abstand sowohl die thermodynamisch stabilste als auch die kinetisch inerteste Verbindung. Die hohe Stabilität des makrozyklischen Komplexes Gd(dota)⁻ resultiert aus dessen anionischem Charakter. Im Komplex findet das vollständig unsubstituierte Grundgerüst der makrozyklischen Komplexe, das 1,4,7,10-Tetraazacyclododecan-1,4,7,10-tetraacetat, Anwendung. Durch achtzählige Koordination über vier Stickstoffatome und vier Carboxylatsauerstoffatome an Gd³⁺ entsteht der besonders stabile, anionische Komplex. Die Koordination an das Zentralkation erfolgt über acht Chelatfünfringe (N-Gd-N und N-Gd-O). Die verbleibende neunte Koordinationsstelle wird, wie bei allen anderen Komplexen, ebenfalls von einem Wassermolekül besetzt. Von den Makrozyklen besteht bei *Dotarem*[®] aufgrund der hohen kinetischen Stabilität die geringste Gefahr einer signifikanten Gadoliniumfreisetzung. Die thermodynamische Stabilität des Komplexes ist zudem außerordentlich hoch. Er ist etwa zehntausendmal stabiler als der zweitstabilste makrozyklische Vertreter Gd(bt-do3a) (*Gadovist*[®]). Des Weiteren führt die negative Ladung des Komplexes, gepaart mit den außergewöhnlich niedrigen sauren, beziehungsweise hohen basischen pK_S-Werten, zu seiner vergleichsweise hohen konditionellen Stabilität (log K_{kond.} = 18.66) und einem hervorragenden pGd-Wert (pGd = 19.61) (*Tabelle 2*). Im Vergleich zu allen anderen Liganden, egal ob makrozyklisch oder offenkettig, zeigen der Ligand dota⁴⁻ und sein Komplex Gd(dota)⁻ einige besonders interessante koordinationschemische Eigenschaften. Wie bereits in früheren Studien der Arbeitsgruppe geklärt werden konnte, ist der Ligand in der Lage, Komplexe mit den Kationen des eigentlich inerten Hintergrundmediums zu bilden.^[31,32,82] Aus diesem Grund ist auf die Verwendung von KCl als Inertelektrolyt sowie kaliumhaltige Titrationsmittel zu verzichten. Im Laufe dieser Arbeit hat sich jedoch herausgestellt, dass auch TMAcI für die Durchführung von pH-stat Experimenten an *Dotarem*[®] ungeeignet ist.

Der Grund hierfür ist, dass *Dotarem*[®] ab $\text{pH} < 2.0$ und bei der für die pH-stat Messung nötigen, sehr hohen Komplexkonzentration (70 mM) in Form eines wasserunlöslichen, neutralen Komplexes der Zusammensetzung $[\text{Gd}(\text{H}_2\text{dota})(\text{H}_2\text{O})]\text{Cl}\cdot\text{H}_2\text{O}$ ausfällt. Da von der Verbindung Kristalle erhalten werden konnten, wird deren Struktur in *Kapitel 2.8.1* genauer diskutiert. An dieser Stelle reicht es jedoch zu wissen, dass im Festkörper jede dota-Einheit zweifach protoniert vorliegt, also als $\text{Gd}(\text{H}_2\text{dota})^+$. Diese Tatsache darf als struktureller Beweis für die Existenz einer zweifach protonierten Komplexspezies, wie in der Literatur oft angedeutet^[67,83,84], angesehen werden. Des Weiteren wurde das Anion (Cl^-) des Inertelektrolyten über ein Wasserstoffbrückennetzwerk im Festkörper gebunden. Aus der Kristallstruktur ließ sich außerdem ableiten, dass die Bildung dieser Verbindung durch die Verwendung eines raumgreifenderen Anions unterbunden werden kann. Zu diesem Zweck wurden die pH-stat Experimente an *Dotarem*[®] in einem eigens dafür hergestellten Hintergrundmedium durchgeführt. In dem Elektrolyten wurde Chlorid durch Methansulfonat (CH_3SO_3^-) ersetzt, welches aufgrund seiner räumlichen Struktur und seiner Größe für eine Komplexierung ungeeignet ist. Als Kation wurde nach wie vor das bewährte Tetramethylammonium-Kation ($(\text{CH}_3)_4\text{N}^+$) verwendet. Die Herstellung des Tetramethylammoniummethansulfonats (TMAMS) erfolgte durch Neutralisation von Tetramethylammoniumhydroxid-Lösung (TMAOH, 25 Gew-% in H_2O) mit Methansulfonsäure ($\text{CH}_3\text{SO}_3\text{H}$, $\geq 99.5\%$). Das feste Salz konnte durch vollständiges Entfernen des Lösemittels in reiner Form erhalten werden.

Wie in den vorigen Kapiteln schon ausführlich diskutiert wurde, ist das zugrundeliegende Teilchenmodell entscheidend für die Qualität der Ergebnisse der pH-stat Methode. Aus diesem Grund, und weil thermodynamische Gleichgewichtskonstanten von der Art des Inertelektrolyten abhängig sind, wurden sowohl die $\text{p}K_{\text{S}}$ -Werte als auch die Stabilitätskonstanten und eventuell vorhandene Deprotonierungs-/Protonierungskonstanten des Komplexes im TMAMS Medium erneut bestimmt. Die Resultate dieser Untersuchungen werden in *Kapitel 2.7* diskutiert und mit den Ergebnissen im TMACl Medium gegenübergestellt. Es ist jedoch für die weiteren Ausführungen sinnvoll, an dieser Stelle eine wichtige Erkenntnis vorweg zu nehmen. Die Konstanten in den beiden unterschiedlichen Medien unterscheiden sich nicht signifikant, weshalb keine ernstzunehmende Auswirkung auf die Resultate der pH-stat Experimente zu erwarten ist. Zur besseren Vergleichbarkeit mit den bisherigen Resultaten wird dementsprechend das Teilchenmodell im TMACl Medium zugrunde gelegt (*Tabelle 2*).

(a) *Methode der Anfangsgeschwindigkeit:*

Für *Dotarem*[®] wurde die Reaktionsordnung ebenfalls mit der Methode der Anfangsgeschwindigkeiten untersucht. Da für das Kontrastmittel eine weitere deutliche Verlangsamung der Dissoziationsreaktion im Vergleich zu *Gadovist*[®] und *Prohance*[®] zu erwarten ist, wurden die Experimente bei pH 1.0 durchgeführt. Die Halbwertszeit beträgt dort ca. 39 h und erlaubt deshalb relativ kurze Messzeiten, um 10 % Umsatz zu erreichen. Da *Dotarem*[®] deutlich teurer als die beiden anderen makrozyklischen Kontrastmittel ist, wurde der Bereich der untersuchten Anfangskonzentrationen eingeschränkt. Die Messungen wurden in einem Bereich von $0.05 \text{ M} \leq [\text{GdL}]_0 \leq 0.1 \text{ M}$ in Abständen von 10 mM durchgeführt. Aufgrund der geringen Konzentrationsabstände zwischen den Messpunkten wurde jede Messung wenigstens einmal wiederholt. Die Reaktion wurde erneut durch rasche Zugabe konzentrierter Säure, in diesem Fall allerdings $\text{CH}_3\text{SO}_3\text{H}$ ($\geq 99.5 \%$), gestartet. Der Protonenverbrauch wurde dann selbstverständlich mittels 1.0 M $\text{CH}_3\text{SO}_3\text{H}$ ausgeglichen. Die auf 37 °C thermostatisierten Probenlösungen enthalten zusätzlich 1.0 M TMAMS, um eine möglichst konstante Ionenstärke zu gewährleisten. Die Maximaldauer einer Messung hat 24 h nicht überschritten. Die Datenauswertung erfolgte jedoch jeweils maximal bis zu einem Umsatz von 10 %.

Tabelle 30: Experimentelle Parameter der pH-stat Titrations zur Bestimmung der Reaktionsordnung der Dissoziation von *Dotarem*[®] bei pH 1.0.

Kontrastmittel, Komplex	<i>Dotarem</i> [®] , Gd(dota) ⁻
Methode	potentiometrische Titration (pH-stat)
Titrationstyp	kontinuierlich
Inertelektrolyt	TMAMS (1.0 M)
Temperatur	$37 \pm 0.1 \text{ °C}$
Anzahl der Messungen	12 (1.0 M $\text{CH}_3\text{SO}_3\text{H}$)
$[\text{GdL}]_0$	0.05 M – 0.1 M
$[\text{H}^+]$, Regel-pH	100 mM, pH = 1.0
Regelbereich	15 mV
Maximale / minimale Dosierrate	$1 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1} / 50 \text{ } \mu\text{l} \cdot \text{min}^{-1}$
Anzahl der Messpunkte	720
Abstand zwischen Messpunkten	2 min
Messdauer	24 h

Die experimentellen Bedingungen können *Tabelle 30* entnommen werden. Es ist zu beachten, dass die minimale Dosierrate mit $50 \mu\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$ vergleichsweise schnell ist. Dies liegt daran, dass zum Erreichen von pH 1.0 unter Umständen zu viel Zeit verginge, wenn dieser Wert zu klein gewählt wird. Da *Dotarem*[®] das erste Kontrastmittel war, das im Rahmen dieser Dissertation untersucht wurde, sind die Abstände zwischen den Messpunkten noch sehr klein (2 min). Es hat sich allerdings sehr schnell herausgestellt, dass derart kleine Abstände keinen Zugewinn an Informationen mit sich bringen. Deshalb wurden die Abstände bei den zuvor besprochenen Verbindungen größer gewählt.

Wie zu erwarten war, ist auch bei *Dotarem*[®] eine zutreffende Beschreibung der Reaktionskinetik für kleine Umsätze durch eine Reaktion 1. Ordnung möglich. Die Resultate der Experimente (*Tabelle 31*, *Abbildung 33*) belegen dies anschaulich.

Tabelle 31: Ergebnisse der Bestimmung der Anfangsgeschwindigkeit des Säureverbrauchs R_{Obs} und der Dissoziationsrate R_{d} des Kontrastmittels *Dotarem*[®] bei pH 1.0.

$[\text{GdL}]_0$ [mol·l ⁻¹]	R_{Obs} [ml·h ⁻¹]	R^2	$R_{\text{d}} = v_0$ [mol·l ⁻¹ ·s ⁻¹]	k_{Obs} [1/s]	$t_{1/2}$ [h]
0.05	0.257	1.000	$2.41 \cdot 10^{-7}$	$4.82 \cdot 10^{-6}$	39.96
0.06	0.292	0.999	$2.74 \cdot 10^{-7}$	$4.56 \cdot 10^{-6}$	42.27
0.07	0.364	1.000	$3.41 \cdot 10^{-7}$	$4.87 \cdot 10^{-6}$	39.57
0.08	0.441	0.999	$4.14 \cdot 10^{-7}$	$5.17 \cdot 10^{-6}$	37.83
0.09	0.477	0.999	$4.47 \cdot 10^{-7}$	$4.97 \cdot 10^{-6}$	38.76

Die aus der doppelt logarithmischen Auftragung der Dissoziationsrate R_{d} gegen die Anfangskonzentration $[\text{GdL}]_0$ bestimmte Reaktionsordnung a (Steigung) beträgt 1.167. Damit liegt sie zwar etwas höher als bei den anderen Kontrastmitteln, aufgrund der Nähe zu 1 darf aber dennoch eine Reaktion 1. Ordnung angenommen werden. Die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse ist sehr gut. Die einzelnen Auftragungen zur Ermittlung der Anfangsgeschwindigkeit (V vs. t) zeigen ausgezeichnete Linearität ($0.999 \leq R^2 \leq 1.000$). Die etwas schlechtere Linearität der doppelt logarithmischen Auftragung ($R^2 = 0.984$) resultiert wahrscheinlich aus den geringeren Abständen zwischen den einzelnen Messpunkten, gibt jedoch keinen Anlass das Ergebnis anzuzweifeln. Die Halbwertszeit der Komplexdissoziation von *Dotarem*[®] bei pH 1.0 beträgt $38.88 \text{ h} \pm 3.21 \text{ h}$. Dies entspricht einer Geschwindigkeitskonstante k_{Obs} von $1.80 \cdot 10^{-2} \text{ h}^{-1}$ ($\pm 8.3 \%$).

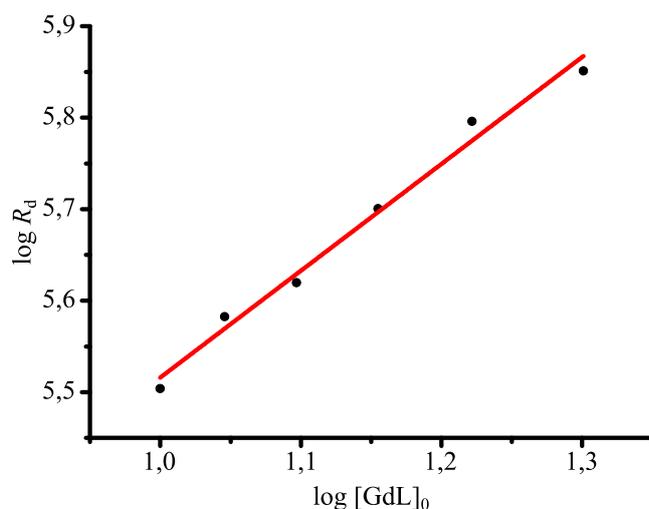


Abbildung 33: Ermittlung der Reaktionsordnung a durch doppelt logarithmische Auftragung der anfänglichen Dissoziationsrate R_d ($\sim 10\%$ Umsatz) gegen die Anfangskonzentration $[\text{GdL}]_0$. a ergibt sich aus der Steigung der in rot dargestellten linearen Regression. $\text{pH} = 1,0$, 1 M TMAMS , $0,05\text{ M bis }0,1\text{ M Dotarem}^\circledast$, $a = 1,167$, $R^2 = 0,984$.

(b) *Untersuchung der Dissoziationskinetik zur Bestimmung von k_{Obs} , k_{Hin} und $k_{\text{Rück}}$*

Zur Untersuchung der säurekatalysierten Komplexdissoziation von *Dotarem*[®] wurden Lösungen des Kontrastmittels mit einer Komplexkonzentration von $0,07\text{ M}$ ($[\text{GdL}]_0$) verwendet. Aus den am Anfang des Kapitels genannten Gründen wurden die Messungen mit TMAMS als Inertelektrolyt bei einer Ionenstärke von $1,0\text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ durchgeführt. Die Probenlösungen wurden, wie auch schon zuvor, auf $37\text{ °C} \pm 0,1\text{ °C}$ temperiert. Wegen der sehr langsamen Reaktionskinetik des untersuchten Komplexes konnte das Reaktionsgeschehen nur unterhalb von $\text{pH } 1,3$ über mehrere Halbwertszeiten beobachtet werden. Oberhalb war dies nicht mehr sinnvoll. *Dotarem*[®] war das erste der drei makrozyklischen Kontrastmittel, das untersucht wurde. Deshalb unterscheiden sich die pH -Inkrementen noch von den anderen beiden Liganden. Erst nach der vollständigen Untersuchung dieses Komplexes wurde klar, dass der bei den anderen beiden Makrozyklen verwendete pH -Bereich vollkommen ausreichend ist. Untersucht wurde die Dissoziationsreaktion von *Dotarem*[®] also im Bereich $0,9 \leq \text{pH} \leq 2,5$, wobei die pH -Inkrementen zwischen $0,1$ und $0,4\text{ pH-Einheiten}$ lagen. Zur besseren Beurteilung der Reproduzierbarkeit der Ergebnisse wurde in der Regel jede Messung doppelt oder gar dreifach ausgeführt. Die Datenauswertung erfolgte erneut auf Basis der beiden bereits besprochenen kinetischen Modelle (einseitige vs. zweiseitige Kinetik).

Auch für *Dotarem*[®] konnte in separaten Experimenten die Protonierbarkeit des Komplexes nachgewiesen werden (Tabelle 2). Es konnten zwei Protonierungskonstanten bestimmt werden ($\log K_P^{\text{Gd(HL)}} = 1,22(3)$, $\log K_P^{\text{Gd(H}_2\text{L)}} = 1,0(1)$). Aus diesem Grund wurde auch für dieses Kontrastmittel der Einfluss des mittleren Protonierungsgrades des Komplexes auf die Bestimmung der Geschwindigkeitskonstanten untersucht.

Außer der Tatsache, dass für den Komplex $\text{Gd}(\text{dota})^-$ ein anderer Inertelektrolyt, nämlich TMAMS, eingesetzt werden muss, traten bei der Datenauswertung keinerlei Besonderheiten auf. Deshalb, und weil es in diesem Fall deutlich mehr Datenpunkte gibt (kleinere pH-Inkrementen), die das qualitative Ergebnis jedoch unbeeinflusst lassen, werden in diesem Kapitel lediglich graphische Darstellungen der Dissoziationsreaktion bei den, den pH-Bereich eingrenzenden pH-Werten (pH 1.0 und 2.5) gezeigt. Alle wichtigen Messparameter sowie Resultate werden in tabellarischer Form zusammengefasst und unter den bisherigen Gesichtspunkten diskutiert und beurteilt.

Tabelle 32: Experimentelle Parameter der pH-stat Titrationen zur Bestimmung der Geschwindigkeitskonstanten k_{Obs} , k_{Hin} und $k_{\text{Rück}}$ der Dissoziation von *Dotarem*[®] bei pH 1.0 und pH 2.5.

Kontrastmittel, Komplex	<i>Dotarem</i> [®] , $\text{Gd}(\text{dota})^-$
Methode	potentiometrische Titration (pH-stat)
Titrationstyp	kontinuierlich
Inertelektrolyt	TMAMS (1.0 M)
Temperatur	37 ± 0.1 °C
Anzahl der Messungen	2 bis 3 (1.0 M HCl) pro pH
$[\text{GdL}]_0$	0.07 M
$[\text{H}^+]$, Regel-pH	100 mM, pH = 1.0 bis 3.16 mM, pH = 2.5
Regelbereich	15 mV
Maximale / minimale Dosierrate	$1.0 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$ / $15 \mu\text{l} \cdot \text{min}^{-1}$
Abstand zwischen Messpunkten	50 s bis 1 h
Messdauer	48 h bis 160 h

Aufgrund der durchweg langsamen Zerfallskinetik war es bei *Dotarem*[®] möglich, die experimentellen Parameter bei allen untersuchten pH-Werten weitgehend unverändert zu lassen. Lediglich die Abstände zwischen einzelnen Messpunkten und damit die Gesamtanzahl an Messpunkten wurden variiert. Dies hat jedoch keinen Einfluss auf die Ergebnisse der Methode. Bei diesem Makrozyklus ist es durchweg sinnvoll eine relativ niedrige minimale Dosierrate anzuwenden, da so das Regelpotential sehr exakt erreicht wird. Außerdem ist der zeitliche Verlust, der durch die langsame Einstellung des Regel-pH entsteht, im Vergleich zur Dissoziationsdauer vernachlässigbar gering.

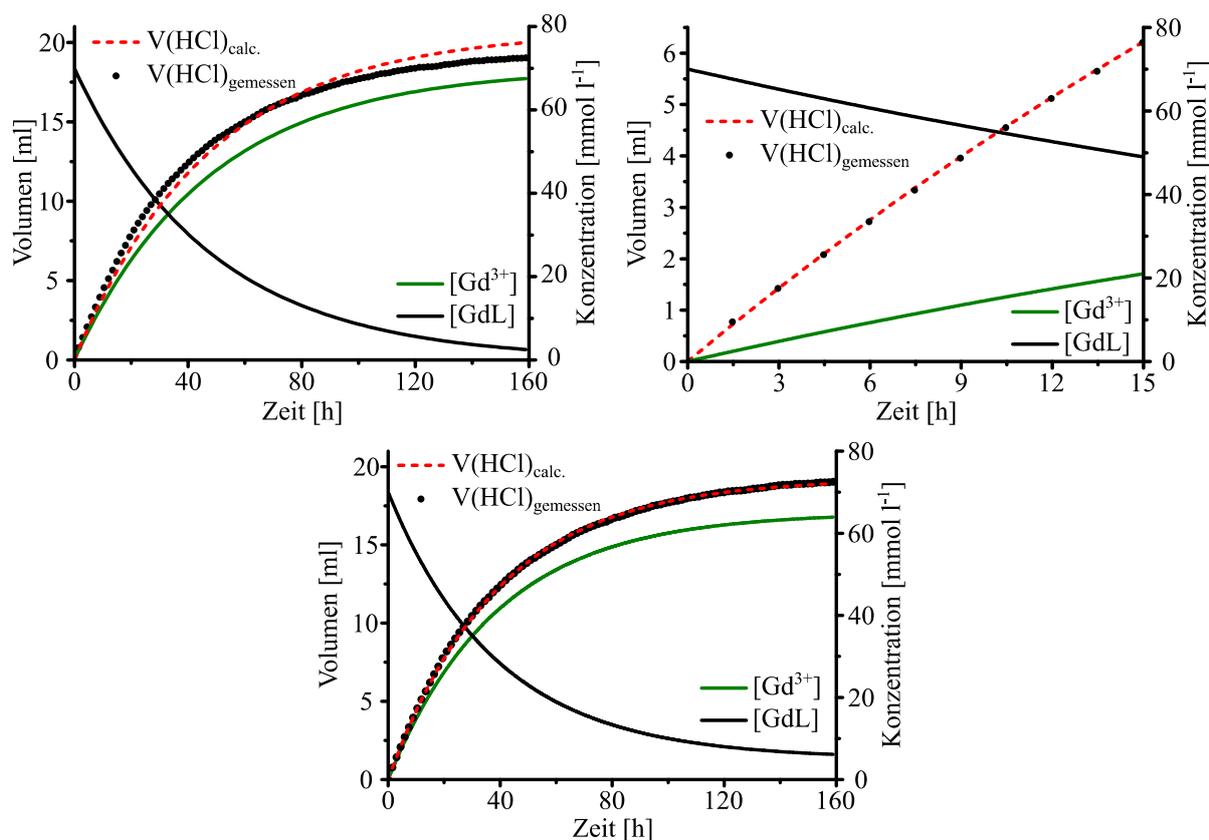


Abbildung 34: Least-Squares Fit von $V(\text{HCl})_{\text{calc.}}$ (rot gestrichelt) an $V(\text{HCl})_{\text{gemessen}}$ (schwarze Punkte) für eine 0.07 M *Dotarem*[®] Lösung (1.0 M TMAMS) bei pH 1.0. Die berechneten Konzentrationsverläufe von GdL (schwarze Linie) und Gd^{3+} (grüne Linie) sind zusätzlich dargestellt. Links: Reaktion 1. Ordnung, gesamte Messdauer, $k_{\text{Obs}} = 2.10 \cdot 10^{-2} \text{ h}^{-1}$, $t_{1/2} = 33.01 \text{ h}$; rechts: Reaktion 1. Ordnung, Vernachlässigung der Abweichung, $k_{\text{Obs}} = 2.38 \cdot 10^{-2} \text{ h}^{-1}$, $t_{1/2} = 29.15 \text{ h}$; unten: Berücksichtigung der Reversibilität, $k_{\text{Hin}} = 2.39 \cdot 10^{-2} \text{ h}^{-1}$, $k_{\text{Rück}} = 1.84 \cdot 10^{-3} \text{ h}^{-1}$, $k_{\text{Hin}}/k_{\text{Rück}} = 12.99$.

Im Vergleich zu den beiden anderen makrozyklischen Kontrastmitteln, ergibt sich bei *Dotarem*[®] ein nahezu identisches Bild. Bei pH 1.0 ist eine Kinetik 1. Ordnung zur Beschreibung des Reaktionsgeschehens immer noch relativ gut geeignet (*Abbildung 34*). Selbst bei der Betrachtung der gesamten untersuchten Zeitspanne ergibt sich zwar eine deutliche, aber dennoch akzeptable Abweichung zwischen theoretisch berechnetem und tatsächlich gemessenem Volumen. Exponentielle beziehungsweise lineare Fits liefern für einen kürzeren Zeitraum sehr gute Resultate. Dieser Sachverhalt ändert sich, wie zu erwarten, mit steigendem pH-Wert. Auch für dieses Kontrastmittel gewinnt ab ca. pH 2.0 die Rückreaktion, also die erneute Komplexbildung, an Einfluss. Dort kann das Reaktionsgeschehen nur noch für kurze Reaktionszeiträume mit einer Reaktion 1. Ordnung beschrieben werden. Die Beeinflussung durch die Rückreaktion ist bei *Dotarem*[®] erstmals so stark ausgeprägt, dass die Geschwindigkeitskonstante $k_{\text{Rück}}$ zumindest ab pH 2.1 zuverlässig bestimmbar ist.

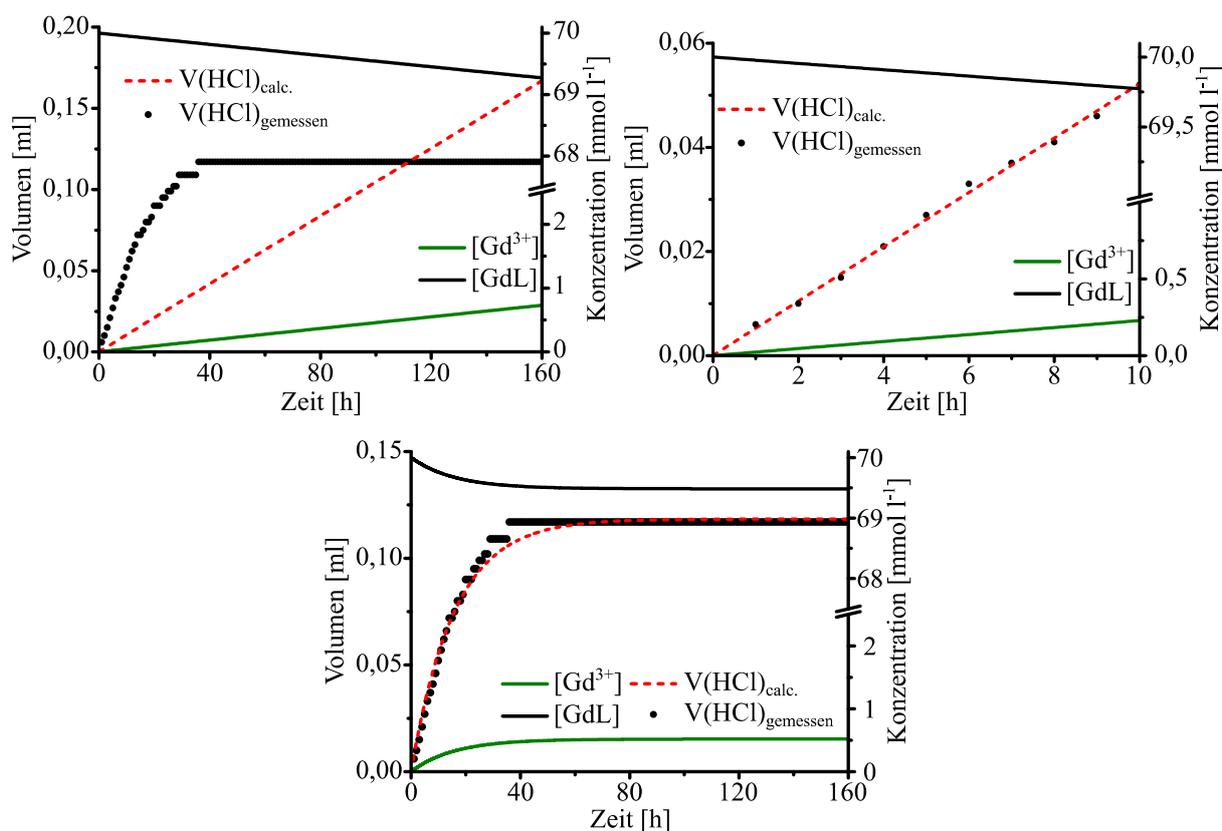


Abbildung 35: Least-Squares Fit von $V(\text{HCl})_{\text{calc.}}$ (rot gestrichelt) an $V(\text{HCl})_{\text{gemessen}}$ (schwarze Punkte) für eine 0.07 M *Dotarem*[®] Lösung (1.0 M TMAMS) bei pH 2.5. Die berechneten Konzentrationsverläufe von GdL (schwarze Linie) und Gd^{3+} (grüne Linie) sind zusätzlich dargestellt. Links: Reaktion 1. Ordnung, gesamte Messdauer, $k_{\text{Obs}} = 6.55 \cdot 10^{-5} \text{ h}^{-1}$, $t_{1/2} = 1.21 \text{ a}$; rechts: Reaktion 1. Ordnung, Vernachlässigung der Abweichung, $k_{\text{Obs}} = 3.26 \cdot 10^{-4} \text{ h}^{-1}$, $t_{1/2} = 88.53 \text{ d}$; unten: Berücksichtigung der Reversibilität, $k_{\text{Hin}} = 4.68 \cdot 10^{-4} \text{ h}^{-1}$, $k_{\text{Rück}} = 6.28 \cdot 10^{-2} \text{ h}^{-1}$, $k_{\text{Hin}}/k_{\text{Rück}} = 0.0075$.

Zur besseren Vergleichbarkeit mit *Prohance*[®] und *Gadovist*[®] erfolgte einen Test auf die Bestimmbarkeit von $k_{\text{Rück}}$ lediglich bei den ausgezeichneten pH-Werten ($1.0 \leq \text{pH} \leq 2.5$), die auch schon bei den anderen Makrozyklen untersucht wurden. Besonders interessant an diesem Resultat ist die Tatsache, dass sogar die Gleichgewichtskonzentration $[\text{GdL}]_{\infty}$ nahezu exakt mit der aus den thermodynamischen Daten berechneten Konzentration übereinstimmt. So ergibt sich z. B. bei pH 2.5 (*Abbildung 35*) eine Gleichgewichtskonzentration von 69.48 mM (Ergebnis einer Einzelmessung). Die thermodynamischen Daten (*Abbildung 15, S.49*) ergeben eine Konzentration von 69.02 mM und unterscheiden sich damit nur noch um 0.66 % von den kinetischen Daten. Dies und die besonders geringen Standardabweichungen von 4.32 % deuten darauf hin, dass die Bestimmung von $k_{\text{Rück}}$ im Falle von *Dotarem*[®] sehr exakt und gut reproduzierbar möglich ist.

Besondere Aufmerksamkeit sollte außerdem dem Umstand zukommen, der bereits in *Kapitel 2.2 e)* diskutiert wurde. In dem Fall, wie hier, dass die Rückreaktion etwa 133-mal schneller als die Hinreaktion verläuft, kommt das gesamte Reaktionsgeschehen zu einem sehr frühen Erliegen. Dies wird an den rasch abflachenden Konzentrationsverläufen von GdL und Gd^{3+} in *Abbildung 35* sehr deutlich sichtbar. Es sei noch zusätzlich erwähnt, dass der fast treppenartige Verlauf der Volumenzugabe nicht überraschend ist. Der Kurvenverlauf resultiert aus der ohnehin sehr langsamen Reaktionsgeschwindigkeit, gepaart mit dem zunehmenden Einfluss der Rückreaktion. Durch die immer langsamere Freisetzung des protonenverbrauchenden Liganden dauert es immer länger, bis eine ausreichend große pH-Änderung detektiert werden kann, auf die dann mit einer Volumenzugabe reagiert wird. So kommt es, dass bei fortschreitender Reaktionsdauer einige Zeitinkremente ohne Volumenzugabe vergehen können, wodurch die Treppenform entsteht.

Unterhalb von pH 2.0 ergeben sich keine sinnvollen Resultate für die Rückreaktion. Hier mangelt es erneut an Reproduzierbarkeit, weshalb sich enorme Standardabweichungen (bis zu 86 %) ergeben. Dieses Ergebnis deckt sich ebenfalls mit den Resultaten der anderen Kontrastmittel.

Die Datenauswertung erfolgte zusätzlich unter Berücksichtigung der Protonierungskonstanten des Komplexes. Aus diesen lässt sich der mittlere Protonierungsgrad \bar{p}_K (*Abbildung 36*) berechnen, welcher vom Protonierungsgrad des Liganden (*Abbildung 14, S. 48*) subtrahiert, den realen Protonierungsgrad ergeben sollte. Es gelten selbstverständlich wieder die Einschränkungen, die sich durch die möglicherweise fehlerbehafteten Protonierungskonstanten ergeben.

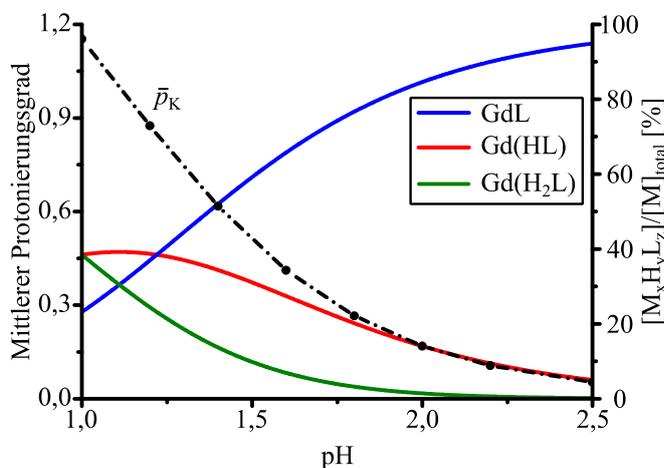


Abbildung 36: Schematische Darstellung des Verlaufs von \bar{p}_K (schwarz gepunktet) am Beispiel einer 0.07 M Gd(dota)⁻ Lösung (1.0 M TMAMS). Das mit HySS2009 berechnete Verteilungsdiagramm ist zusätzlich in bunt dargestellt. Die zugrundeliegenden log K-Werte sind in *Tabelle 2* dokumentiert.

Tabelle 33: Zusammenfassung der Resultate aller Datensätze für *Dotarem*[®] von pH 0.9 bis pH 2.5 und einer Ionenstärke von 1.0 M, Inertsalz: TMAMS, T = 37 °C. ^[a]: Vernachlässigung der Protonierbarkeit des Komplexes, ^[b]: Berücksichtigung der Protonierbarkeit des Komplexes, $\log K_P^{\text{Gd(HL)}} = 1.22(3)$, $\log K_P^{\text{Gd(H}_2\text{L)}} = 1.0(1)$.

	Einseitige Kinetik ^[a]			Zweiseitige Kinetik ^[a]				
	$k_{\text{Obs}} [\text{h}^{-1}]$	$t_{1/2} [\text{h}]$	$\sigma [\%]$	$k_{\text{Hin}} [\text{h}^{-1}]$	$\sigma [\%]$	$k_{\text{Rück}} [\text{h}^{-1}]$	$\sigma [\%]$	$k_{\text{Hin}}/k_{\text{Rück}}$
pH 0.9	$2.91 \cdot 10^{-2}$	23.85	5.06	--	--	--	--	--
pH 1.0	$2.07 \cdot 10^{-2}$	33.53	10.02	$2.24 \cdot 10^{-2}$	9.72	$2.32 \cdot 10^{-3}$	79.69	9.66
pH 1.1	$1.20 \cdot 10^{-2}$	57.82	3.66	--	--	--	--	--
pH 1.3	$6.76 \cdot 10^{-3}$	102.50	11.93	--	--	--	--	--
pH 1.5	$4.23 \cdot 10^{-3}$	163.96	14.67	$4.22 \cdot 10^{-3}$	15.17	$1.19 \cdot 10^{-3}$	85.67	3.55
pH 1.6	$3.63 \cdot 10^{-3}$	190.97	2.69	--	--	--	--	--
pH 1.7	$2.30 \cdot 10^{-3}$	301.96	9.44	--	--	--	--	--
pH 1.8	$1.86 \cdot 10^{-3}$	373.66	14.34	--	--	--	--	--
pH 2.0	$1.42 \cdot 10^{-3}$	488.99	4.21	--	--	--	--	--
pH 2.1	$9.93 \cdot 10^{-4}$	698.35	4.18	$1.22 \cdot 10^{-3}$	5.35	$1.54 \cdot 10^{-2}$	13.64	0.079
pH 2.5	$2.96 \cdot 10^{-4}$	2341.71	10.40	$4.68 \cdot 10^{-4}$	0.11	$6.02 \cdot 10^{-2}$	4.32	0.0078
	Einseitige Kinetik ^[b]			Zweiseitige Kinetik ^[b]				
	$k_{\text{Obs}} [\text{h}^{-1}]$	$t_{1/2} [\text{h}]$	$\sigma [\%]$	$k_{\text{Hin}} [\text{h}^{-1}]$	$\sigma [\%]$	$k_{\text{Rück}} [\text{h}^{-1}]$	$\sigma [\%]$	$k_{\text{Hin}}/k_{\text{Rück}}$
pH 1.0	$2.78 \cdot 10^{-2}$	24.97	15.68	$3.14 \cdot 10^{-2}$	17.03	0	0	--
pH 1.5	$4.32 \cdot 10^{-3}$	160.28	15.75	$4.61 \cdot 10^{-3}$	12.96	$9.32 \cdot 10^{-4}$	95.17	4.95
pH 2.1	$1.04 \cdot 10^{-3}$	668.30	5.11	$1.25 \cdot 10^{-3}$	5.55	$1.54 \cdot 10^{-2}$	13.64	0.081
pH 2.5	$3.20 \cdot 10^{-4}$	2165.01	2.14	$4.72 \cdot 10^{-4}$	0.08	$6.02 \cdot 10^{-2}$	4.30	0.0078

Die gesamten Ergebnisse des Kontrastmittels *Dotarem*[®] sind in *Tabelle 33* dargestellt. Wird die Protonierbarkeit des Komplexes vernachlässigt, ergeben sich Standardabweichungen zwischen 3.66 % und 14.67 %. Die Standardabweichungen folgen dabei keinem ersichtlichen Trend in Abhängigkeit des pH-Wertes. Zudem liegen die σ -Werte innerhalb einer Einzelmessung äußerst niedrig ($0.81 \% \leq \sigma \leq 9.21 \%$). Insgesamt sind die Resultate damit relativ gut reproduzierbar. Wie oben schon angesprochen, ist eine Bestimmung von $k_{\text{Rück}}$ erst ab $\text{pH} \geq 2.0$ sinnvoll. Die Fitqualität wird zwar auch bei niedrigeren pH-Werten deutlich verbessert, wenn eine zweiseitige Kinetik zugrunde liegt, die Resultate werden dadurch aber nicht sinnvoller. Dies drückt sich auch in den enorm großen σ -Werten (bis 95 %) unterhalb von pH 2.0 aus.

Eine genauere Betrachtung des allgemeinen Trends des Verhältnisses der Geschwindigkeitskonstanten von Hin- und Rückreaktion zeigt, trotz der teilweise sehr großen Standardabweichung, einen plausiblen Trend. Es ist eine generelle Zunahme des Einflusses der Rückreaktion mit steigendem pH zu beobachten.

Bei Berücksichtigung der Protonierungskonstanten des Komplexes werden die Geschwindigkeitskonstanten bei pH 1.0 und 1.5 wie erwartet etwas größer und die Halbwertszeiten dementsprechend kleiner. Dies liegt daran, dass das hinzugefügte Volumen an 1.0 M Säure nun einem insgesamt kleineren realen Protonierungsgrad gegenübersteht. Dadurch verringert sich auch das maximal notwendige Säurevolumen, das zur vollständigen Komplexdissoziation benötigt wird und die Reaktionsgeschwindigkeit erscheint dementsprechend höher (+ 25 % bei pH 1.0 und + 2.1 % bei pH 1.5). Bei pH 1.0 liegt die Neubestimmte Konstante damit deutlich außerhalb der Standardabweichung der Konstante ohne die Komplexprotonierung. Dieser Effekt wird selbstverständlich mit steigendem pH immer kleiner, was sich bereits ab pH 1.5 zeigt. Mit einem Unterschied von lediglich 2.1 % sind die Konstanten hier schon nicht mehr voneinander unterscheidbar, liegen also innerhalb ihrer σ -Werte. Das gleiche Bild ergibt sich für die Geschwindigkeitskonstante der Hinreaktion. Außer bei pH 1.0 decken sich die Ergebnisse der beiden Modelle. Die Reproduzierbarkeit ist vergleichbar. Die Standardabweichung bei Mehrfachmessungen liegt zwischen 2.1 % und 15.7 %, innerhalb einer Messung ergeben sich für die verschiedenen Auswertemethoden σ -Werte zwischen 1.0 % und 12.2 %.

Es bleibt dennoch die Frage, ob dem Modell, das die Komplexprotonierung berücksichtigt, obwohl grundsätzlich genauer, der Vorzug gewährt werden sollte. Die Protonierungskonstanten des Komplexes enthalten eine gewisse Unsicherheit, die sich bei der Bestimmung sehr saurer pK_S -Werte mit Hilfe potentiometrischer Titrations ergibt. Hinzu kommt das Bestreben des Komplexes, bei einer Titration ins Saure (so werden die $\log K_P$ -Werte bestimmt) zu zerfallen, was es noch schwieriger macht, die Gleichgewichtskonstanten genau zu bestimmen. Aus diesem Grund wird bei *Dotarem*[®], genau wie bei *Gadovist*[®], dem Modell, welches den mittleren Protonierungsgrad des Komplexes unberücksichtigt lässt, der Vorzug gewährt. Es sollte allerdings festgehalten werden, dass diese Resultate äußerst deutlich machen, dass eine erfolgreiche Bestimmung der Geschwindigkeitskonstante des säurekatalysierten Komplexzerfalls mit Hilfe eines pH-stat mit der Qualität des zugrundeliegenden Teilchenmodells steht und fällt.

2.4. Verfolgung des Komplexzerfalls durch Messung von Protonenrelaxationsraten

Die für diesen Teil der Arbeit durchgeführten Relaxationsmessungen wurden in Anlehnung an die von T. Frenzel (Bayer Pharma AG, Berlin, *Orientierende Bestimmung der Komplexbildungsgeschwindigkeiten von Gd-DTPA, Gd-DOTA und Gadobutrol durch Messung der Abnahme der T₁-Rate*^[90]) abgehaltene Studie aufgesetzt. In diesem Zusammenhang sollen zunächst die dort besprochenen Ergebnisse und die angewendete Methodik diskutiert und gleichzeitig wichtige Bezüge zu dieser Arbeit hergestellt werden.

Paramagnetisches Gd(III) beeinflusst die Relaxationsraten von Protonen. Mittels ¹H-NMR Experimenten lassen sich anhand von Relaxivitätsmessungen Rückschlüsse über die Zusammensetzung einer Probenlösung ziehen. Die Analyse der zeitlichen Änderung der Relaxationsraten ($1/T_1$ oder $1/T_2$) in Lösungen der MRT-Kontrastmittel gibt Aufschluss über die freie Gd³⁺ Konzentration (*Kapitel 1.2 bis 1.3*) und damit über die Kinetik der Komplexbildung beziehungsweise des Komplexzerfalls. Die Relaxationsraten der einzelnen Spezies werden durch mehrere Faktoren beeinflusst. Dazu zählen vor allem die Anzahl der direkt an das Gadolinium gebundenen Wassermoleküle, aber auch die mittlere Verweilzeit der Wasserliganden sowie die Tauselbewegung des gesamten Komplexes. Es ist anzunehmen, dass sowohl Bildung als auch Zerfall sequenziell über mehrere Zwischenprodukte verlaufen (*Abbildung 7, S. 25*). Freie Gd³⁺-Ionen binden in der ersten Koordinationssphäre acht Wassermoleküle^[14], wohingegen Gd(III) in den Kontrastmitteln trotz neunfacher Koordination nur noch ein Wassermolekül bindet. Die verbleibenden acht Koordinationstellen werden von den Donoratomen des Liganden besetzt. Deshalb ist es plausibel, dass während der Reaktion Zwischenprodukte mit einer intermediären Anzahl gebundener Wasserliganden durchlaufen werden. Über die Zuordnung einer spezifischen Relaxationsrate zu solchen Intermediaten würden sowohl die zeitliche Erfassung des Reaktionsgeschehens als auch Aussagen über die Struktur solcher Zwischenprodukte möglich.

An dieser Stelle setzt die Studie von T. Frenzel an. Ziel war es, die Reaktionskinetik der Komplexbildung des offenkettigen Kontrastmittels *Magnevist*[®] (Gd(dtpa)²⁻) und der beiden makrozyklischen Vertreter *Dotarem*[®] (Gd(dota)⁻) und *Gadovist*[®] (Gd(bt-do3a)) zu untersuchen. Die Messung der T₁-Rate erfolgte dabei in leicht saurer, mit Acetat oder Formiat gepufferter Lösung (pH 3 – 5) bei einer Temperatur von 37 °C. Die Gd³⁺-Konzentration betrug jeweils 1.0 mM. Den Lösungen wurde TMACl zugesetzt, sodass eine Ionenstärke von 1.0 mol·l⁻¹ vorlag.

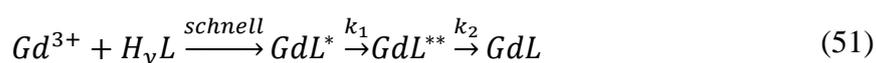
Die Relaxationszeiten wurden bei 1.41 T gemessen und die Reaktion wurde durch Zugabe von GdCl_3 zum jeweiligen Liganden gestartet.

Es sei auf einen entscheidenden Vorteil dieser Methode hingewiesen. Die Änderung der Relaxationsrate lässt sich sehr genau messen, weshalb für die Durchführung eines Experiments viel geringere Mengen an Gadolinium respektive Kontrastmittel nötig sind, als es bei der pH-stat Methode der Fall war (Relaxivity: $[\text{Gd}^{3+}]_{\text{total}}$ bzw. $[\text{GdL}]_{\text{total}} = 1.0 \text{ mmol}\cdot\text{l}^{-1}$, pH-stat: $[\text{GdL}]_{\text{total}} = 70 \text{ mmol}\cdot\text{l}^{-1}$). Dies bedeutet nicht nur eine enorme Substanzersparnis, sondern bringt noch einen weiteren Vorteil mit sich. Es ist in diesem Fall sehr einfach, eine konstante Ionenstärke zu gewährleisten. Dadurch spielen Fehler, die sich aus der Nichteinhaltung einer konstanten Ionenstärke ergeben können, keine Rolle mehr.

Die Resultate von T. Frenzels Untersuchungen zeigen das Folgende: *i)* Mit steigendem pH wird die Komplexbildung deutlich beschleunigt. Dies ist absolut plausibel, da der Protonierungsgrad der Liganden mit steigendem pH sinkt und somit eine Bindung an das Metallkation erleichtert wird. *ii)* Die Bildung von $\text{Gd}(\text{dtpa})^{2-}$ ist im untersuchten pH-Bereich so schnell, dass bereits beim ersten Messpunkt die Relaxivität des Komplexes erreicht ist. Eine Abhängigkeit vom Protonierungsgrad des Liganden HyL kann hier also nicht festgestellt werden. Die Komplexbildung ist zu schnell, um sie mit dieser Methode untersuchen zu können. *iii)* Die Bildung der beiden makrozyklischen Komplexe dauert je nach pH zwischen 90 s und 3 d, wobei $\text{Gd}(\text{dota})^-$ grundsätzlich schneller gebildet wird, als $\text{Gd}(\text{bt-do3a})^{3-}$. Dies ist ebenfalls plausibel, da der Ligand dota^{4-} einen anionischen und damit stabileren Komplex bildet, als bt-do3a^{3-} (Kapitel 1.4.1). *iv)* Sowohl bei dota^{4-} als auch bei bt-do3a^{3-} lässt sich eine im Vergleich zu freiem $\text{Gd}^{3+}_{\text{aq}}$ leicht erhöhte T_1 -Rate kurz nach Beginn der Reaktion beobachten, die dann in einem zweiphasigen Verlauf auf das Niveau des jeweiligen Komplexes absinkt. Dieser Effekt konnte bei pH 3 und 4, nicht aber bei pH 5 beobachtet werden. Dieser Sachverhalt ist insofern überraschend, als dass die Relaxationsrate mit der Anzahl der gebundenen Wasserliganden korreliert ist. Diese sollte allerdings während der Komplexbildung von acht auf eins sinken. Die unerwartet hohe Relaxationsrate unmittelbar nach Reaktionsbeginn lässt sich im Grunde nur dadurch erklären, dass in einem ersten Schritt eine Komplexbildung stattfindet, bei der nur eine geringe Anzahl an Wasserliganden substituiert werden.

Sollte in diesem Schritt bereits der Wechsel der Koordinationszahl von acht auf neun erfolgen, könnten die verbleibenden Wassermoleküle in Kombination mit einer womöglich günstigeren mittleren Verweilzeit oder Taumelbewegung zur Erhöhung der Relaxationsrate führen und den eigentlichen Wasserverlust überkompensieren. Mit der in der Literatur postulierten direkten Bildung eines ersten Zwischenproduktes, bei dem alle vier Carboxylatgruppen von dota^{4-} (respektive alle drei Carboxylatgruppen und eine alkoholische OH-Gruppe von bt-dota^{3-}) an Gd^{3+} koordinieren, lässt sich diese Beobachtung nicht vereinbaren.^[8,14]

Die beste Übereinstimmung zwischen gemessenen und berechneten Daten konnte in der Studie demnach durch das folgende kinetische Modell erreicht werden: Der beobachtete mehrphasige Verlauf deutet auf das Auftreten einzelner Intermediate hin, die sich direkt durch ihre Relaxivität unterscheiden lassen. Dieser Befund lässt sich kinetisch so interpretieren, dass in einem ersten, sehr schnellen Schritt ein initialer Komplex GdL^* gebildet wird. Dieser bindet das Gadolinium noch relativ schwach, weshalb der Ligand noch teilweise protoniert vorliegt und der Komplex relativ viel Wasser enthält. Dieser Komplex entspricht am ehesten der in Punkt *iv*) genannten Interpretation des Anstiegs der Relaxivität kurz nach Start der Messung. In einer anschließenden „Reifung“ wird Gadolinium immer intensiver an den Komplex gebunden, wobei dieser Wassermoleküle verliert. Die sich dabei bildenden, mehr oder weniger langlebigen Intermediate werden als GdL^{**} bezeichnet. Diese gehen letztlich direkt in den finalen Komplex GdL über (51).



Mit diesem Modell war es also möglich, die Zeitabhängigkeit von T_1 in guter Übereinstimmung zu reproduzieren. Die Resultate von T. Frenzels Studie sind in *Tabelle 34* zusammengefasst. Frenzel schlussfolgert, dass man, wenn auch nur mit einer gewissen Vorsicht, aus den Relaxivitäten der einzelnen Spezies ihren Wassergehalt ableiten könne. Demnach trage GdL^* noch drei und GdL^{**} nur noch ein Wassermolekül. Dies ist zwar im Sinne des Wasserverlustes während der Komplexbildung plausibel, aber anhand der einzelnen Größen nur relativ schwer nachvollziehbar.

Tabelle 34: Die von T. Frenzel erhaltenen Resultate für äquimolare Lösungen von Gd^{3+} (1 mM) und dem jeweiligen Ligand in 1 M TMAcI bei 37 °C. r : Relaxivität der jeweiligen Verbindung (Gleichung (1), S. 9).

		<i>Gd(bt-do3a)</i>	<i>Gd(bt-do3a)</i>	<i>Gd(bt-do3a)</i>	<i>Gd(dota)</i>
		pH 5	pH 4	pH 3	pH 3
k_1	[h ⁻¹]	40.9	10.2	0.413	5.19
k_2	[h ⁻¹]	6.91	1.79	0.069	1.54
r_1^*	[l·mmol ⁻¹ ·s ⁻¹]	9.9	10.2	9.2	9.5
r_1^{**}	[l·mmol ⁻¹ ·s ⁻¹]	4.5	5.4	5.6	4.8
r_1	[l·mmol ⁻¹ ·s ⁻¹]	3.5	3.6	3.7	3.1

Des Weiteren stellt die Studie eine Zunahme der Reaktionsgeschwindigkeit mit steigender Ligandkonzentration fest. Dieses Ergebnis steht allerdings im Widerspruch zur Annahme des einseitig verlaufenden ersten Reaktionsschritts, bei dem es zur raschen und vollständigen Bildung von GdL^* kommt. Eine Reaktion zweiter Ordnung ($d[GdL^*]/dt = k \cdot [Gd^{3+}] \cdot [HyL]$) würde diesen schnellen Schritt dann zwar besser beschreiben, für die anschließenden Folgeschritte, die „Reifung“, spielt die Ligandkonzentration jedoch überhaupt keine Rolle mehr. Also kann dieser Befund im Grunde nur so interpretiert werden, dass der initiale erste Schritt nicht vollständig (einseitig) abläuft. In diesem Fall ist die Rückreaktion, also der Zerfall von GdL^* zu Gd^{3+} und HyL offensichtlich schnell genug, um ein Vorgleichgewicht zu bilden. Dies ist absolut plausibel, da in dem hier diskutierten Modell davon ausgegangen wird, dass die Gd-Ligand Bindung in GdL^* ohnehin noch relativ locker ist und eine Stabilisierung dieser in Folge der „Reifung“ zustande kommt. Aufgrund der geringen Stabilität dieses Assoziats im Vergleich zum finalen Komplex geht sowohl sein Zerfall als auch seine Bildung rasch vonstatten. Zunehmende Ligandkonzentration führt dann zu einer Erhöhung von GdL^* im Vorgleichgewicht und somit auch zu einer insgesamt schnelleren Bildung des Endproduktes GdL . Ebenfalls plausibel wäre es, dass die gesamte Reaktion, wie es in erster Linie auch anzunehmen ist, nach einer Kinetik 2. Ordnung verläuft. Eine Identifikation von Zwischenprodukten ist dann nicht mehr möglich. Außerdem lässt sich die anfänglich erhöhte Relaxationsrate nicht mehr ohne weiteres erklären. Die erhöhte Reaktionsgeschwindigkeit in Abhängigkeit der Konzentration des Liganden wäre damit aber nachzuvollziehen.

2.5. Relaxivitätsexperimente

2.5.1. Bemerkungen zur Methode

In Anlehnung an T. Frenzels Studie^[90] wurde in dieser Arbeit die säurekatalysierte Dissoziation der makrozyklischen Kontrastmittel *Prohance*[®] (Gd(hp-do3a)) und *Gadovist*[®] (Gd(bt-do3a)) sowie *Dotarem*[®] (Gd(dota)⁻) verfolgt. Im Gegensatz zur pH-stat Methode konnten wesentlich kleinere Mengen der Kontrastmittel eingesetzt werden. Deshalb wurden 1 mM Kontrastmittellösungen verwendet (um den Faktor 70 verringerte Konzentration im Vergleich zur pH-stat Methode). Die Ionenstärke betrug bei allen Experimenten 1 M. Es besteht demnach nicht die Gefahr, dass die Ionenstärke während der Messung verändert wird. Als Inertsalz fand TMACl Verwendung. Dies gilt auch für *Dotarem*[®]. Solange eine kritische Komplexkonzentration nicht überschritten wird, kommt es mit TMACl nicht zur Ausfällung von $[\text{Gd}(\text{H}_2\text{dota})(\text{H}_2\text{O})]\text{Cl}\cdot\text{H}_2\text{O}$, weshalb auf die Verwendung von TMAMS verzichtet werden kann. Alle Kontrastmittel wurden im Bereich $1.0 \leq \text{pH} \leq 2.5$ in Inkrementen von 0.5 pH-Einheiten bei 37 °C durch Messung der T_1 - und T_2 -Zeiten untersucht.

Die Messung von entweder T_1 oder T_2 kann dabei durch Anregung der Protonen mit bestimmten Pulssequenzen erreicht werden. Zum besseren Verständnis des folgenden Abschnitts lohnt es sich erneut auf die Ausführungen zu *Abbildung 1, S. 7* zurückzublicken.

Die T_2 -Zeit lässt sich mit Hilfe der CPMG^[91] (Carr-Purcell-Meiboom-Gill oder einfach Spin-Echo) Sequenz ermitteln. Hierzu wird zunächst durch einen 90° Impuls eine Transversalmagnetisierung erzeugt. Nach Abschalten dieses Impulses verlieren die Protonen ihre Phasenkohärenz durch T_2 -Effekte und das Signal wird schwächer. Durch Einstrahlen eines 180° Impulses nach der Zeit $TE/2$ werden diese Protonen rephasiert. Die Transversalmagnetisierung nimmt erneut zu und erreicht bei TE (*time to echo*) ein weiteres Maximum, das sogenannte Spin-Echo. Dieser Prozess kann mehrfach wiederholt werden, wodurch eine Abnahme der Signalintensität des Spin-Echos gegen die Zeit zu beobachten ist. Diese Abschwächung des Signals resultiert daraus, dass der 180° Impuls nur konstante Magnetfeldinhomogenitäten zu neutralisieren vermag. Lokale Magnetfeldinhomogenitäten bleiben davon jedoch unbeeinflusst und sorgen dafür, dass die Rephasierung nie vollständig abläuft.

Da die Longitudinalmagnetisierung in Richtung des externen Magnetfeldes liegt, lässt diese sich nicht direkt messen. Durch Inversion der Longitudinalmagnetisierung mit einem 180° Impuls gefolgt von einer variablen Wartezeit TI (*time to inversion*) bis zur nächsten Anregung mit einem 90° Impuls, wird eine von der T_1 -Relaxation abhängige Transversalmagnetisierung generiert. Durch dieses geschickte Verfahren lässt sich die T_1 -Zeit indirekt erfassen.

Letztlich können dann beide Relaxationszeiten durch Fit einer Exponentialfunktion an die Signalintensität berechnet werden. Die verwendeten Pulssequenzen und die entsprechenden Fitfunktionen sind abschließend in *Tabelle 35* aufgeführt.

Tabelle 35: Pulssequenzen und Funktionen, die zur Ermittlung der Relaxationszeit T_i eingesetzt wurden. TI : Inversionszeit, TR : Zeit bis zur nächsten Pulsfolge, TE : Zeit zum Echo, M_0 : Magnetisierung zum Zeitpunkt $t = 0$, φ : Phasenwinkel des 180 ° Impulses, AQ : Datenerfassung.

	Pulssequenz	Fitfunktion
T_1	$[180^\circ-TI-90^\circ]_1-TR-AQ$	$M(TI) = M_0 - M_0(1 - \cos \varphi) \cdot e^{-\frac{TI}{T_1}}$ (52)
T_2	$90^\circ-TE/2-[(180^\circ-TE)_m-TE/2-AQ]_n$	$M(TE) = M_0 \cdot e^{-\frac{TE}{T_2}}$ (53)

Ab $pH \geq 2.0$ wurden die Proben zusätzlich mit Chloressigsäure (50 mM) gepuffert, um pH-Änderungen durch den Protonenverbrauch des freigesetzten Liganden zu vermeiden. Gestartet wird die Reaktion durch Mischen der Kontrastmittel ($T = 37^\circ C$) mit einer entsprechend sauren, auf $37^\circ C$ temperierten Lösung des Mediums. Da beide Lösungen bereits bei der Messtemperatur gelagert wurden, konnten die Messungen nach etwa einer Minute nach dem Mischen durchgeführt werden.

Gegenüber der pH-stat Methode zeichnet sich die in diesem Abschnitt behandelte Messmethode vor allem dadurch aus, dass sie im Grunde gänzlich ohne die Kenntnis schwer erfassbarer Größen, wie zum Beispiel sehr saurer pK_S -Werte, auskommt. So spielt der Protonierungsgrad des Liganden beziehungsweise des Komplexes für die Erfassung der Relaxivität überhaupt keine Rolle. Wie zuvor bereits erwähnt, hängt die gemessene Relaxivität maßgeblich von der Anzahl der Wassermoleküle, die an das paramagnetische Zentrum gebunden sind, ab.

Einschränkungen gelten für die Methode, genau wie für die pH-stat Methode, bezüglich der Lage des thermodynamischen Gleichgewichts. Wie in *Kapitel 2.3.1* bereits ausführlich besprochen wurde, ist der pH-Bereich nach oben dadurch beschränkt, dass die Dissoziationsreaktion ins thermodynamische Gleichgewicht hineinläuft. Dieses liegt aber ab $\text{pH} \geq 2.0$ für alle Komplexe fast ausschließlich auf der Seite des Komplexes. Aus diesem Grund wird auch bei dieser Messmethode pH 2.5 nicht überschritten.

Die untere Grenze wurde bei der pH-stat Methode noch durch die Genauigkeit der pH-Messung in Lösungen mit sehr hoher Protonenkonzentration beschränkt. So konnte dort ein pH von 1.0 nicht zuverlässig unterschritten werden. Im Falle von Relaxivitätsmessungen wird diese Begrenzung aufgehoben. Dennoch wurde aus Gründen der Vergleichbarkeit auf Messungen unterhalb von pH 1.0 verzichtet. Solche Daten wären allerdings noch eine sinnvolle Ergänzung für zukünftige Forschungsarbeiten.

2.5.2. Komplexe offenkettiger Liganden

Stellvertretend für die offenkettigen Kontrastmittel wurde *Magnevist*[®] ($\text{Gd}(\text{dtpa})^{2-}$) unter den oben beschriebenen Bedingungen bei pH 2.0 untersucht. Bereits beim ersten Messpunkt (nach ca. 1 min) wird nur noch die Relaxationsrate einer Lösung detektiert, die ausschließlich freies Gd^{3+} enthält. Es kann davon ausgegangen werden, dass alle Kontrastmittel mit offenkettigen Liganden in einem Bereich von $1.0 \leq \text{pH} \leq 2.5$ zu rasch reagieren, um deren Zerfall korrekt mit dieser Methode verfolgen zu können. Aus diesem Grund wurden solche Verbindungen im Rahmen dieser Arbeit nicht weiter untersucht.

2.5.3. Komplexe makrozyklischer Liganden

Zur Bestimmung der Relaxivität r_i ($i = 1, 2$) der beteiligten Substanzen (*Prohance*[®], *Gadovist*[®], *Dotarem*[®] und GdCl_3) wurden die Relaxationszeiten T_i in unterschiedlich konzentrierten Lösungen dieser Verbindungen gemessen. Für GdCl_3 wurden sechs Messungen in einem Konzentrationsbereich von $0 \mu\text{M}$ bis $500 \mu\text{M}$ und für die Kontrastmittel jeweils vier Messungen im Bereich von $0 \mu\text{M}$ bis $1000 \mu\text{M}$ im entsprechenden Medium durchgeführt. Die Relaxivität entspricht dabei der Änderung der Relaxationsrate T_i^{-1} als Funktion der Konzentration der paramagnetischen Substanz ($\Delta T_i^{-1} = r_i \cdot c$). Diese kann also dementsprechend durch lineare Regression aus den gemessenen T_i -Werten ermittelt werden (exemplarisch dargestellt in *Abbildung 37*).

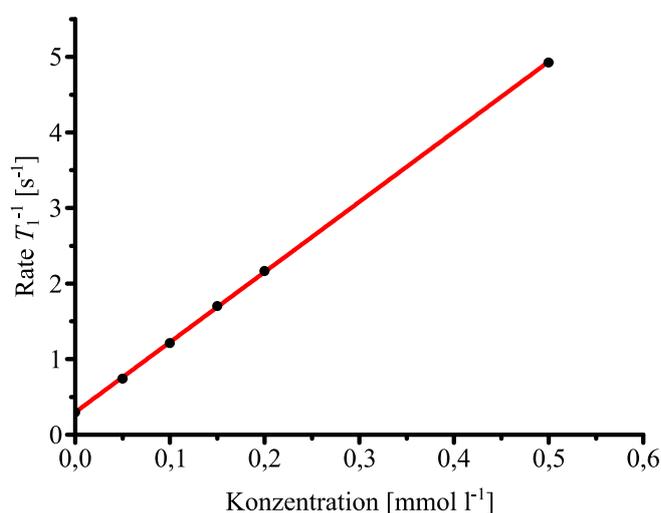


Abbildung 37: Bestimmung der Relaxivität r_1 am Beispiel einer 1 mM GdCl_3 Lösung in 1 M TMACl, gepuffert mit 50 mM Chloressigsäure bei pH 2.0 und 37 °C durch Auftragung der T_1 -Rate gegen die Konzentration der paramagnetischen Substanz ($r_1 = 9.28$, $R^2 = 0.9999$).

Die Experimente wurden bei pH 1.0 ohne die Zugabe eines Puffers und bei pH 2.0 mit Chloressigsäure (50 mM) gepuffert durchgeführt. Auf diese Weise lässt sich einerseits die pH-Unabhängigkeit der Relaxivität und andererseits ihre Unabhängigkeit von der eingesetzten Puffersubstanz, die im Grunde ein potentieller Konkurrenzligand ist, bestätigen.

Bis pH 1.5 kann auf die Zugabe eines Puffers verzichtet werden, da die Protonenkonzentration in Lösung bis dorthin ausreichend hoch ist, sodass kleinere, durch den Liganden verursachte, pH-Schwankungen nicht ins Gewicht fallen. Dies ist überaus wichtig, da die Reaktionsgeschwindigkeit der Komplexdissoziation nun einmal pH abhängig ist, weshalb dieser während der Reaktion unverändert bleiben sollte.

Der Protonierungsgrad des Liganden dota^{4-} in einer 1 mM Lösung bei pH 1.5 beträgt 5.58 (vgl. *Abbildung 14, S. 48 und Tabelle 2, S.31*). Dementsprechend können dann auch maximal $5.58 \text{ mmol}\cdot\text{l}^{-1} \text{ H}^+$ verbraucht werden. Dies entspricht einem ΔpH von etwa 0.08 pH-Einheiten über die gesamte Messdauer und ist gerade noch vertretbar. Bei pH 1.0 beträgt ΔpH sogar nur 0.03 pH-Einheiten. Da dota^{4-} der Ligand mit dem höchsten Protonierungsgrad ist, verringert sich dieser Effekt für die anderen beiden Liganden deutlich. Nichts desto trotz erscheint es deshalb sinnvoll ab pH 2.0 einen Puffer zu verwenden, der den pH konstant hält. Eine Zusammenstellung der Ergebnisse findet sich in *Tabelle 36*.

Tabelle 36: Resultate der Relaxivitätsbestimmung in 1 mM Lösungen der jeweiligen Substanz in 1 M TMAcI bei 37°C . ^[u]: ungepuffert, ^[g]: gepuffert mit 50 mM Chloressigsäure, σ : Standardabweichung.

	pH	r_1 [$\text{l}\cdot\text{mmol}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$]	\bar{r}_1	σ_{r_1} [%]	r_2 [$\text{l}\cdot\text{mmol}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$]	\bar{r}_2	σ_{r_2} [%]
Prohance [®]	1.0 ^[u]	3.47	3.42	1.61	4.18	4.09	2.33
	2.0 ^[g]	3.36			3.99		
Gadovist [®]	1.0 ^[u]	3.90	3.85	1.43	4.63	4.59	0.87
		3.79			4.55		
Dotarem [®]	1.0 ^[u]	3.45	3.48	0.72	4.06	4.10	0.85
	2.0 ^[g]	3.50			4.13		
GdCl₃	1.0 ^[u]	9.27			10.75		
	2.0 ^[u]	9.36	9.28	0.43	10.86	10.79	0.42
	2.0 ^[g]	9.28			10.82		

Die Resultate zeigen deutlich, dass weder der pH, noch der Puffer einen signifikanten Einfluss auf die Relaxivität der Substanzen haben. Da die Standardabweichungen mit 0.42 % bis 2.33 % äußerst niedrig liegen und die linearen Regressionen stets hervorragende Korrelationskoeffizienten aufweisen, wird für die Auswertung der Messungen zur Komplexdissoziation der jeweilige Mittelwert der Relaxivität herangezogen.

Nachdem die Relaxivitäten aller beteiligten Substanzen bekannt waren, konnte die Kinetik der säurekatalysierten Komplexdissoziation untersucht werden. Zunächst sollte erwähnt werden, dass für dieses Projekt nur ein Monat zur Verfügung stand. Da sich T_2 -Zeiten deutlich schneller messen lassen als T_1 -Zeiten, wurden die T_2 -Zeiten für jedes Kontrastmittel in mindestens zwei Proben gleicher Zusammensetzung gemessen.

a) Wahl des kinetischen Modells

Der Verlauf der T_i -Zeiten während der Komplexdissoziation lässt sich so interpretieren, dass während des Zerfalls eine Folge von Spezies auftritt, in denen das Gadolinium eine zunehmende Anzahl an Wassermolekülen bindet. Um den zeitlichen Verlauf der Messgröße zu beschreiben kommen drei kinetische Modelle, ausgehend von *Abbildung 7, S. 25*, zur Anwendung. Im **ersten Modell** wird der Reaktionsverlauf als anfängliche, rasche Protonierung von GdL zu Gd(HL) und Gd(H₂L) in Form eines Vorgleichgewichts und einem anschließenden direkten Zerfall zu Gd³⁺_{aq} und H_xL modelliert. Es wird angenommen, dass der Zerfall der drei unterschiedlich protonierten Spezies mit individueller Geschwindigkeit nach einer Kinetik 1. Ordnung abläuft (*Abbildung 8, S. 32*). Die drei Geschwindigkeitskonstanten sind nicht direkt messbar und werden dementsprechend zu einer Konstante zusammengefasst, die den gesamten Prozess beschreibt, k_{Obs} . Das integrierte Geschwindigkeitsgesetz folgt dann der einfachen Form einer Reaktion 1. Ordnung (Gleichung (35), S. 52). In Kombination mit Gleichung (1), S. 9 ergibt sich der für die Ausgleichsrechnung benötigte Ausdruck (54).

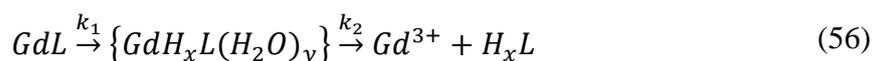
$$\frac{1}{T_i} = \frac{1}{T_{i,0}} + r_{i,\text{GdL}}[\text{GdL}]_0 e^{-k_{\text{Obs}}t} + r_{i,\text{Gd}^{3+}}([\text{GdL}]_0 - [\text{GdL}]_0 e^{-k_{\text{Obs}}t}), i = 1, 2 \quad (54)$$

Durch Minimierung der Summe der Abstandsquadrate zwischen gemessenen und berechneten T_i^{-1} -Werten wird schließlich die Geschwindigkeitskonstante k_{Obs} gefunden. Es wird der gleiche Algorithmus wie bei der pH-stat Methode verwendet. Wird der ausgewertete Messzeitraum auf entsprechend kurze Zeiträume beschränkt, nimmt GdL angenähert linear mit der Zeit ab. In diesem Fall ist es legitim, das Reaktionsgeschehen mit Hilfe einer linearen Fitfunktion zu beschreiben. Dies wurde bereits in den Ausführungen zur Anfangsgeschwindigkeit in Kapitel 2.3.3 geklärt. Daraus folgt der Ausdruck (55).

$$\frac{1}{T_i} = \frac{1}{T_{i,0}} + r_{i,\text{GdL}}([\text{GdL}]_0 - k_{\text{Obs}}t) + r_{i,\text{Gd}^{3+}}([\text{GdL}]_0 - [\text{GdL}]_0 + k_{\text{Obs}}t) \quad (55)$$

Das **erste Modell** vernachlässigt also eventuell auftretende Zwischenprodukte. Es soll jedoch in Anlehnung an Frenzels Arbeit geklärt werden, ob der Komplex über eine x -fach protonierte Zwischenstufe Gd(H_xL)(H₂O)_y* zerfällt, in welcher der Ligand nicht mehr mit allen Donoratomen an Gadolinium gebunden ist.

Die zusätzlich gebundenen Wasserliganden führen dabei zu einer Erhöhung der Relaxivität r_{1,GdL^*} der Zwischenstufe. Diese Möglichkeit soll mit dem **zweiten Modell** untersucht werden. Die Relaxivität des Intermediats ist zwar unbekannt, sie unterscheidet sich jedoch von derjenigen des Ausgangs-, beziehungsweise Endproduktes ($r_{i,GdL}$ und $r_{i,Gd^{3+}}$) und kann durch eine entsprechende Fitfunktion ermittelt werden. Unter der vereinfachenden Annahme, dass alle Reaktionsschritte einseitig ablaufen, wird die Reaktionsgleichung (56) erhalten.



Diese Vereinfachung ist völlig plausibel, da zumindest bei niedrigen pH-Werten davon ausgegangen werden darf, dass die Rückreaktion nur eine untergeordnete Rolle spielt. Diese Reaktionsfolge ist mathematisch allerdings relativ kompliziert zu handhaben. Die Konzentrationsberechnung der einzelnen Spezies ist jedoch literaturbekannt^[88], und wird deshalb an dieser Stelle nicht genauer beschrieben. Aus den dortigen Ausführungen ergibt sich die zur Ausgleichsrechnung benötigte Gleichung (57), mit deren Hilfe die Summe der Abstandsquadrate zwischen gemessenen und berechneten T_i -Werten zur Berechnung von k_1 und k_2 minimiert werden kann.

$$\begin{aligned} \frac{1}{T_i} = & \frac{1}{T_{i,0}} + r_{i,GdL}[GdL]_0 e^{-k_1 t} + r_{i,GdL^*}[GdL]_0 \frac{k_1}{k_1 - k_2} (e^{-k_2 t} - e^{-k_1 t}) \\ & + r_{i,Gd^{3+}} \left\{ [GdL]_0 - [GdL]_0 e^{-k_1 t} - [GdL]_0 \frac{k_1}{k_1 - k_2} (e^{-k_2 t} - e^{-k_1 t}) \right\} \end{aligned} \quad (57)$$

Das **dritte Modell** soll, angelehnt an die in *Kapitel 2.2 e)* und *Kapitel 2.3.3* besprochene Möglichkeit der Reversibilität, überprüfen, ob sich die Geschwindigkeitskonstanten der Hin- und Rückreaktion k_H und k_R eines zweiseitigen Reaktionsprozesses (*Tabelle 5, S. 43, Bsp. 2*) bestimmen lassen. Auch hier wird der Einfachheit halber vernachlässigt, dass die Rückreaktion im Grunde bimolekular ist. Gleichung (58) stellt die entsprechende Fitfunktion dar.

$$\begin{aligned} \frac{1}{T_i} = & \frac{1}{T_{i,0}} + [GdL]_0 \cdot r_{i,Gd^{3+}} \cdot \left(1 - \frac{k_R + k_H \cdot e^{-(k_H+k_R) \cdot t}}{k_H + k_R} \right) \\ & + [GdL]_0 \cdot r_{i,GdL} \frac{k_R + k_H \cdot e^{-(k_H+k_R) \cdot t}}{k_H + k_R} \end{aligned} \quad (58)$$

b) Auswertung der Datensätze nach dem ersten Modell

Modell 1 ist sowohl das einfachste als auch das zuverlässigste der drei Modelle. Es erlaubt in allen Fällen eine gute Beschreibung des zeitlichen Verlaufs der Abnahme von T_i . Die Übereinstimmung der Fits mit den experimentellen Daten ist ausgezeichnet. Alle drei Kontrastmittel konnten über einen Messzeitraum von maximal 250 h untersucht werden. In einigen Fällen deckt dieser Messzeitraum mehrere Halbwertszeiten ab, in anderen ist die Halbwertszeit des Zerfalls jedoch so hoch, dass dies nicht möglich ist. Ein weiterer Vorteil der Methode, welcher sich aus der vergleichsweise hohen Messgenauigkeit ergibt, ist, dass selbst bei sehr weit fortgeschrittenen Reaktionen immer noch zuverlässige Messwerte erhalten werden können. Die Geschwindigkeitskonstante k_{Obs} wurde sowohl über den gesamten Messzeitraum als auch innerhalb eines stark verkürzten Zeitraumes, in dem die Relaxationszeiten linear mit der Zeit abnehmen, berechnet. Lediglich für *Prohance*[®] war bei pH 2.5 keine Auswertung des gesamten Zeitraumes mehr möglich. Hier zeigt sich erneut sehr stark der Einfluss der Reversibilität, weshalb dieser pH-Wert nur innerhalb des linearen Anfangsbereichs untersucht werden konnte. Erstaunlicherweise ist dies aber tatsächlich das einzige Beispiel unter allen Resultaten der Relaxivitätsmessungen, das auf die Reversibilität hindeutet. Bei allen anderen pH-Werten und Kontrastmitteln ist kein frühzeitiges Abflachen der $1/T_i$ -Kurve zu beobachten. Dementsprechend gelingt der Fit an die Messpunkte im Gegensatz zur pH-stat Methode über den gesamten Messzeitraum. Egal, ob Auswertung des gesamten oder des verkürzten Messzeitraumes, die Resultate decken sich untereinander sehr gut. Da sich abgesehen, von der Abweichung bei *Prohance*[®], keine weiteren Besonderheiten bei der Auswertung nach Modell 1 ergeben haben, sollen an dieser Stelle zwei Beispiele graphisch betrachtet und diskutiert werden, die repräsentativ für alle generierten Datensätze stehen. Es sei darauf hingewiesen, dass die Auftragungen der Konzentration gegen die Zeit nahezu identisch zu den in *Kapitel 2.3.3* gezeigten Messkurven sind. Rein qualitativ unterscheiden sich die Auftragungen nur in ihrer Messgröße, weshalb auf wiederholende Abbildungen im Folgenden verzichtet wird.

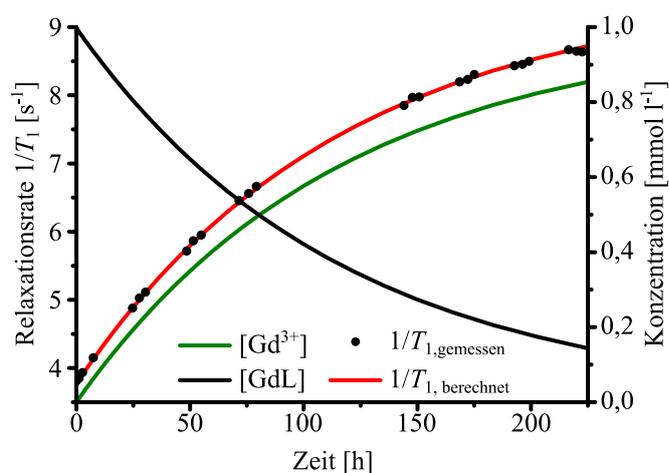


Abbildung 38: Gemessene (schwarze Punkte) und berechnete $1/T_1$ -Werte (rote Kurve) für den Zerfall von 1 mM *Dotarem*[®] bei pH 1.0. $I = 1$ M (TMACl), $T = 37$ °C. Die Daten wurden mit Modell 1 gefittet. Die Konzentration von $\text{Gd}(\text{dota})^-$ bzw. Gd^{3+} sind als schwarze bzw. grüne Linien dargestellt. $k_{\text{obs}} = 8.62 \cdot 10^{-3} \text{ h}^{-1}$, $t_{1/2} = 80.40$ h.

Abbildung 38 zeigt das Resultat einer T_1 -Messung in einer 1 mM *Dotarem*[®] Lösung. Es wird auf den ersten Blick erkennbar, dass die Übereinstimmung zwischen berechneten und gemessenen T_1 -Raten ausgezeichnet ist. Diese Situation ist bei allen anderen Messungen sehr ähnlich und verschlechtert sich erst ab $\text{pH} \geq 2.0$, da dort die Signaländerung pro Zeitinkrement, zumindest bei *Dotarem*[®], aufgrund der langsamer werdenden Reaktion natürlich kleiner wird. Dennoch ergeben sich auch hier immer noch vergleichsweise kleine Abweichungen.

Eine weitere wichtige Erkenntnis, die sich aus diesem, wie auch aus den anderen Resultaten des *ersten Modells*, ableiten lässt, ist, dass die Reaktionsgeschwindigkeit bei sonst gleichen Reaktionsbedingungen bei den Relaxivitätsmessungen deutlich geringer ist als bei der pH-stat Methode. Die Geschwindigkeitskonstante k_{obs} der oben gezeigten Dissoziation bei pH 1.0 beträgt $8.62 \cdot 10^{-3} \text{ h}^{-1}$. Dies entspricht einer Halbwertszeit von 80.40 h, im Gegensatz zu 33.53 h bei der pH-stat Messung (Tabelle 33, S. 110). Die Reaktionsgeschwindigkeit ist bei der Messung der Relaxivität von *Dotarem*[®] also in etwa um den Faktor 2.4 verringert. Auf diesen erstaunlichen Unterschied wird in Kapitel 2.6 noch genauer eingegangen. Es sei allerdings darauf hingewiesen, dass sich dieses Phänomen nicht auf *Dotarem*[®] beschränkt. Es tritt genauso auch bei *Prohance*[®] und *Gadovist*[®] in Erscheinung.

Die Gegenüberstellung der pH-Werte 2.0 und 2.5 in Abbildung 39 soll am Beispiel 1 mM *Prohance*[®] Lösungen den Einfluss der Rückreaktion demonstrieren. Die Messung bei pH 2.0 zeigt sehr deutlich, dass es zu keinerlei Abweichungen von einem einseitigen Reaktionsverlauf kommt. Dies ist erneut etwas verwunderlich, da die Rückreaktion bei der pH-stat Methode bereits ab pH 2.0 zu beobachten war, und zwar bei allen Kontrastmitteln.

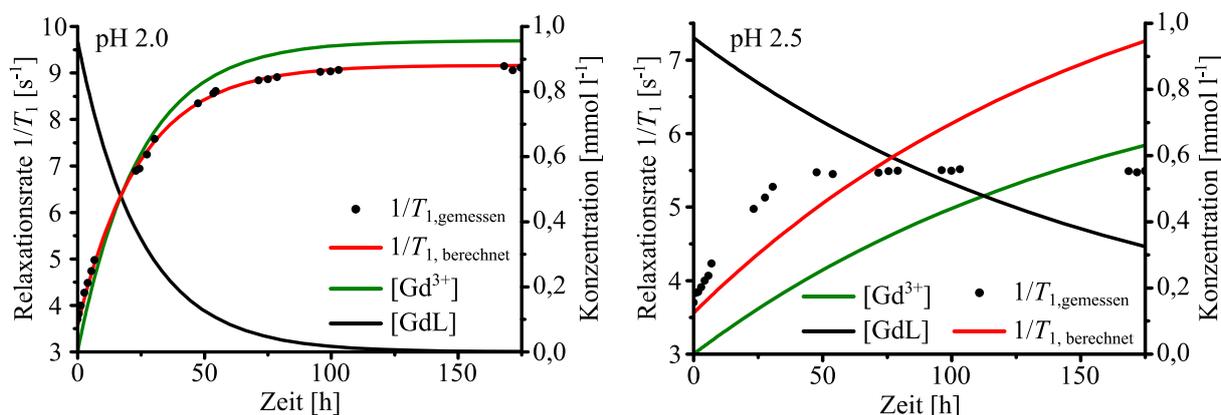


Abbildung 39: Gemessene (schwarze Punkte) und berechnete $1/T_1$ -Werte (rote Kurve) für den Zerfall von 1 mM Prohance[®] bei pH 2.0 (links) und 2.5 (rechts). $I = 1$ M (TMACl), $T = 37$ °C. Die Daten wurden mit Modell 1 gefittet. Die Konzentration von Gd(hp-do3a) bzw. Gd^{3+} sind als schwarze und grüne Linien dargestellt.

Da die Reaktionsgeschwindigkeit im Fall der Relaxivitätsmessung für Prohance[®] ebenfalls verringert ist wäre es aber denkbar, dass eine Abweichung erst bei höheren pH-Werten in Erscheinung tritt. Es ist dennoch überraschend, dass die Dissoziation des Kontrastmittels bei der pH-stat Methode bereits nahe der berechenbaren Gleichgewichtskonzentration $[GdL]_{\infty} = 24.6$ mM zum Erliegen kommt, wohingegen bei der Messung von Relaxationsraten ein vollständiger Umsatz detektiert wird.

Nichtsdestotrotz ist bei pH 2.5 (rechts) wieder eine sehr deutliche Abweichung von einer einseitig verlaufenden Kinetik zu beobachten. Das Modell 1 ist nicht mehr in der Lage, den Reaktionsverlauf zu beschreiben. In diesem Fall wird die Geschwindigkeitskonstante ausschließlich aus dem linearen Anfangsbereich berechnet. Es wird im Folgenden mit Modell 3 überprüft, ob und wie stark der Einfluss der Reversibilität der Reaktion ist.

Die mit Modell 1 erzielten Resultate sind in *Tabelle 37* aufgelistet. Die Ergebnisse der T_1 - und der T_2 -Messungen zeigen eine gute Übereinstimmung. Darüber hinaus decken sich die Geschwindigkeitskonstanten der initialen Phase mit denen des gesamten Reaktionsverlaufs. Da die Messung der T_2 -Zeiten insgesamt weniger Zeit benötigt, wurden diese Messungen in der Regel zweifach oder gar dreifach durchgeführt. In diesem Fall kann eine Standardabweichung angegeben werden. Diese liegt im Bereich $0.1 \% \leq \sigma \leq 15.5 \%$, bleibt jedoch in den allermeisten Fällen unter 10 %.

Ähnlich der pH-stat Methode lässt sich auch hier kein klarer Trend erkennen. Es ist jedoch erkennbar, dass bei besonders schnellen und besonders langsamen Reaktionen (*Prohance*[®] bei pH 1.0 und *Dotarem*[®] ab pH ≥ 2.0) eher größere Standardabweichungen resultieren. Bei schnellen Reaktionen kann dies auf Ungenauigkeiten beim Festlegen der Startzeit zurückgeführt werden, da dort ein Unterschied von einer Minute bereits relativ große Signaländerungen mit sich bringen kann.

Tabelle 37: Resultate der Relaxivitätsmessungen (nach Modell 1). T = 37 °C, [GdL]₀ = 1 mM in 1.0 M TMACl.
^[a]gesamt: Der gesamte Reaktionsverlauf wurde ausgewertet. ini: Auswertung der initialen Phase; Fit durch lineare Funktion. ^[b]Auswertung der gemessenen T₁- oder T₂-Zeit

<i>Kontrastmittel</i>		<i>Prohance</i> [®]		<i>Gadovist</i> [®]		<i>Dotarem</i> [®]	
		<i>Gd(hp-do3a)</i>		<i>Gd(bt-do3a)</i>		<i>Gd(dota)</i> ⁻	
<i>pH</i>	<i>Auswertung</i> ^[a, b]	<i>k</i> _{Obs} · 10 ⁻³ [h ⁻¹]	<i>t</i> _{1/2} [h]	<i>k</i> _{Obs} · 10 ⁻³ [h ⁻¹]	<i>t</i> _{1/2} [h]	<i>k</i> _{Obs} · 10 ⁻³ [h ⁻¹]	<i>t</i> _{1/2} [h]
1.0	<i>gesamt</i>	426	1.63	51.5	13.5	8.62	80.4
	<i>ini</i>	410	1.69	42.9	16.2	7.87	88.1
	<i>gesamt</i>	386	1.80	47.9	14.5	8.43	82.2
	<i>ini</i>	342	2.03	37.6	18.4	7.73	89.7
1.5	<i>gesamt</i>	91.1	7.61	13.9	49.9	1.58	439
	<i>ini</i>	89.9	7.71	15.3	45.3	1.56	444
	<i>gesamt</i>	95.7	7.24	13.8	50.2	1.45	478
	<i>ini</i>	98.1	7.07	13.1	52.9	1.43	485
2.0	<i>gesamt</i>	40.5	17.1	4.77	145	0.40	1733
	<i>ini</i>	32.3	21.5	4.60	151	0.38	1824
	<i>gesamt</i>	40.0	17.3	4.67	148	0.34	2039
	<i>ini</i>	30.2	23.0	4.39	158	0.34	2039
2.5	<i>gesamt</i>	12.2	56.8	1.27	546	0.093	7453
	<i>ini</i>	11.3	61.3	1.24	559	0.094	7374
	<i>gesamt</i>	11.3	61.3	1.24	559	0.092	7534
	<i>ini</i>	12.6	55.0	1.30	533	0.090	7702

Bei sehr langsamen Reaktionen ist der Grund für schlechtere σ -Werte ein anderer. Hier verhält es sich gerade umgekehrt. Zwischen einzelnen Messpunkten kommt es selbst bei großen Zeitinkrementen nur noch zu sehr kleinen Signalveränderungen, weshalb dann größere Schwankungen zwischen den Datenpunkten beobachtet werden können. Des Weiteren kann es gerade beim Ansetzen von mehreren Proben zu kleineren Volumenfehlern kommen. Unter Berücksichtigung des sehr kleinen Probenvolumens von 200 μl können sich auf diese Weise schnell Schwankungen der Startkonzentration ergeben.

Abschließend lassen sich alle Konstanten wegen ihrer guten Übereinstimmung zu einem Mittelwert pro pH zusammenfassen. Es mag zwar sein, dass T_1 - und T_2 -Zeiten zunächst unterschiedliche Messgrößen darstellen, der untersuchte kinetische Prozess bleibt jedoch bei beiden Messungen der gleiche. Aus diesem Grund ist eine Zusammenfassung aller Messergebnisse absolut legitim. Die finalen Ergebnisse zur Bestimmung von k_{Obs} nach dem ersten kinetischen Modell sind in *Tabelle 38* aufgelistet.

Tabelle 38: Mittelwerte und Standardabweichungen aller Ergebnisse der T_1 - und T_2 -Zeit Messungen nach Modell 1. $T = 37\text{ }^\circ\text{C}$, $[\text{GdL}]_0 = 1\text{ mM}$ in 1.0 M TMACl.

<i>pH</i>	<i>Prohance</i> [®] (<i>Gd</i> (<i>hp-do3a</i>))			<i>Gadovist</i> [®] (<i>Gd</i> (<i>bt-do3a</i>))			<i>Dotarem</i> [®] (<i>Gd</i> (<i>dota</i>) ⁻)		
	$k_{\text{Obs}} \cdot 10^{-3}$ [h ⁻¹]	$t_{1/2}$ [h]	σ [%]	$k_{\text{Obs}} \cdot 10^{-3}$ [h ⁻¹]	$t_{1/2}$ [h]	σ [%]	$k_{\text{Obs}} \cdot 10^{-3}$ [h ⁻¹]	$t_{1/2}$ [h]	σ [%]
1.0	391	1.77	8.10	45.0	15.4	11.7	8.16	84.9	4.56
1.5	93.7	7.40	3.56	14.0	49.4	5.69	1.51	460	4.37
2.0	35.8	19.4	12.8	4.61	150	3.02	0.37	1899	7.12
2.5	11.9	58.5	4.79	1.26	549	1.97	0.092	7514	1.60

Mit Standardabweichungen im Bereich $1.5\% \leq \sigma \leq 12.8\%$ liegen diese Resultate innerhalb eines Intervalls, das gut mit den Resultaten der pH-stat Messungen übereinstimmt. Die Reproduzierbarkeit ist insgesamt relativ hoch. Die Reaktionsgeschwindigkeit bei Relaxivitätsmessungen ist jedoch durchweg deutlich größer als bei der pH-stat Methode.

c) Auswertung der Datensätze nach dem zweiten Modell

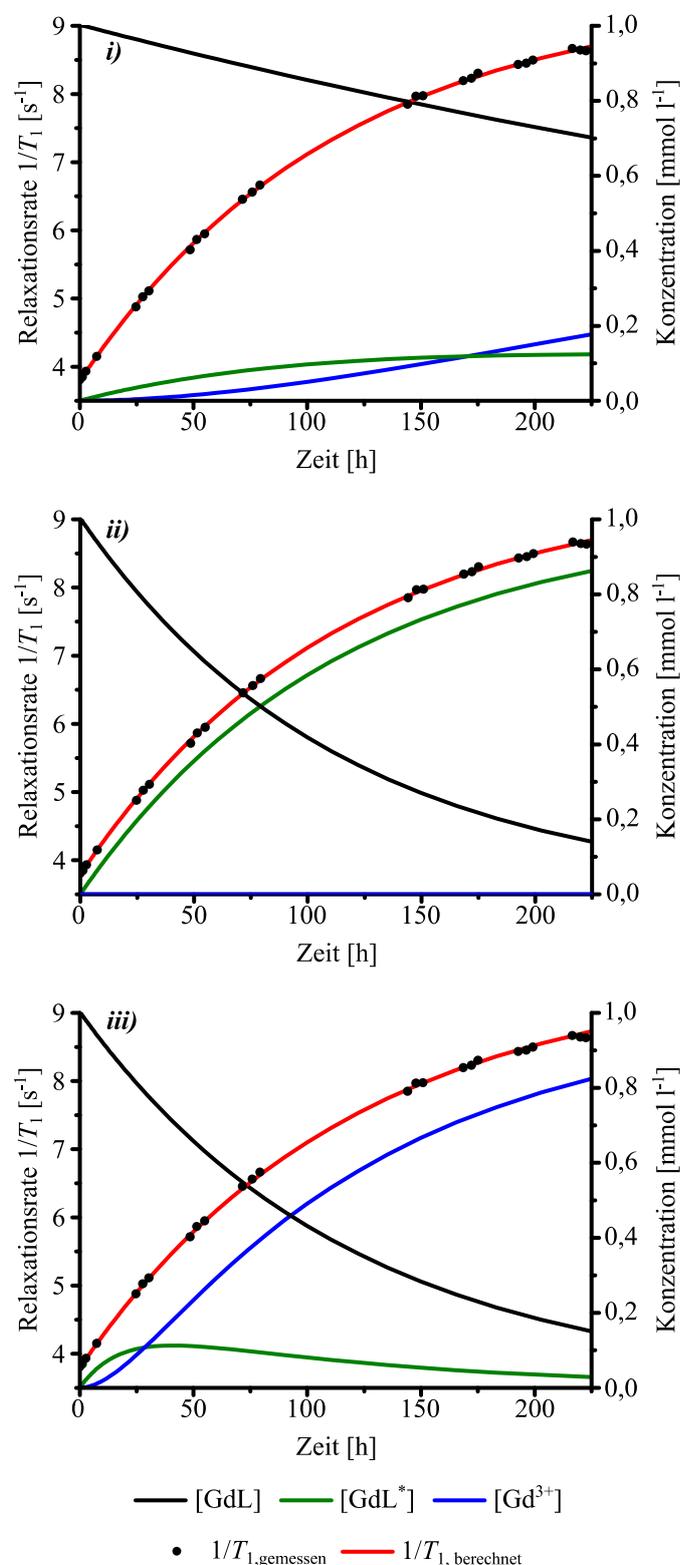


Abbildung 40: Zerfall von 1 mM *Dotarem*[®] bei pH 1.0 und 37 °C in 1.0 M TMACl. Auswertung nach Modell 2 unter Anwendung verschiedener Nebenbedingungen. i) Ohne Nebenbedingungen; ii) $r_{1,GdL} \leq r_{1,GdL^*} \leq r_{1,Gd^{3+}}$ und $k_2 \leq k_1$; iii) $r_{1,GdL} \leq r_{1,GdL^*} \leq r_{1,Gd^{3+}}$ und $k_2 \geq k_1$.

Das *zweite Modell* verspricht interessante Resultate, sollte mit ihm doch die Identifikation von eventuell auftretenden Zwischenprodukten möglich sein. Das Gegenteil ist jedoch der Fall. Es konnten keine plausiblen Hinweise auf das Auftreten eines Zwischenproduktes der Form $Gd(H_xL)(H_2O)_y^*$ gefunden werden. Ausgleichrechnungen mit diesem Modell lieferten zwar meist bessere Fits, die Verbesserung war jedoch weder signifikant noch ergaben sich dadurch sinnvolle Ergebnisse. Die Verbesserung der Fits ist dabei lediglich auf die Erhöhung der Parameteranzahl zurückzuführen, durch die es für den Algorithmus leichter wird, die Übereinstimmung zwischen theoretisch berechneten und tatsächlich gemessenen Werten zu verbessern. Besonders gravierend ist allerdings die Tatsache, dass die berechneten Parameter weder einem generellen Trend folgen noch sich sinnvoll

interpretieren lassen. *Abbildung 40* soll dies an drei verschiedenen Ansätzen verdeutlichen. Ausgewertet wurde immer eine T_1 -Messung ein und derselben *Dotarem*[®] Probenlösung.

In allen drei Fällen erfolgt eine Verfeinerung von sowohl r_{1, GdL^*} als auch den beiden Geschwindigkeitskonstanten k_1 und k_2 . Die Resultate und die Nebenbedingungen der Fälle *i)* bis *iii)* sind in *Tabelle 39* dargestellt. Bei Ansatz *i)* werden dem Algorithmus keine Einschränkungen für die Ausgleichsrechnung auferlegt.

Tabelle 39: Auswertung einer T_1 -Messung nach Modell 2: zur Verdeutlichung des Einflusses der Nebenbedingungen auf die Resultate bei der Auswertung einer 1 mM *Dotarem*[®] Lösung bei 37 °C in 1.0 M TMACl.

<i>Nebenbedingungen</i>		$r_{1, \text{Gd}^{3+}}$	r_{1, GdL^*}	$r_{1, \text{GdL}}$	k_1	k_2
		[l·mmol ⁻¹ ·s ⁻¹]			[h ⁻¹]	
<i>i)</i>	keine		34.89		$1.59 \cdot 10^{-3}$	$8.83 \cdot 10^{-3}$
<i>ii)</i>	$r_{1, \text{GdL}} \leq r_{1, \text{GdL}^*} \leq r_{1, \text{Gd}^{3+}}, k_2 \leq k_1$	9.28	9.17	3.48	$8.75 \cdot 10^{-3}$	0
<i>iii)</i>	$r_{1, \text{GdL}} \leq r_{1, \text{GdL}^*} \leq r_{1, \text{Gd}^{3+}}, k_2 \geq k_1$		9.28		$8.43 \cdot 10^{-3}$	$5.30 \cdot 10^{-2}$

Zunächst scheint das so berechnete Ergebnis plausibel. Demnach geht GdL in einem sehr langsamen Schritt in das Zwischenprodukt GdL^* (k_1) über. Das Zwischenprodukt zerfällt dann deutlich schneller in die Endprodukte Gd^{3+} (k_2) und H_xL . Dies ist nachvollziehbar, kann doch davon ausgegangen werden, dass der intermediär gebildete Komplex labiler als GdL ist, weil in ihm nicht mehr alle Carboxylate an Gd^{3+} binden. Äußerst kritisch zu betrachten ist in diesem Fall jedoch die Relaxivität des Intermediats. Diese beträgt 34.89 und ist demnach etwa 3.8-fach größer als maximal zulässig. Es ist schließlich nicht zu erwarten, dass der intermediäre Komplex, welcher noch teilweise an Gd^{3+} bindet, eine höhere Relaxivität als freies Gadolinium besitzt, da dieses deutlich mehr Wasser trägt und die Relaxivität in erster Näherung hauptsächlich vom Wassergehalt abhängig ist. Eine Möglichkeit, mit der sich eine derart hohe Relaxivität erreichen ließe, wären Komplexspezies, die mehr als nur ein Gd^{3+} enthalten. Genauso wäre es denkbar, dass die Rotation des intermediären Komplexes oder andere Faktoren begünstigt werden und so eine höhere Relaxivität erzielt wird. Dies sind jedoch nur Hypothesen. Ansatz *i)* liefert also keinen sinnvollen Hinweis auf die Existenz bzw. die Messbarkeit eines Zwischenproduktes der Form $\text{Gd}(\text{H}_x\text{L})(\text{H}_2\text{O})_y^*$.

Aus diesem Grund wurde eine neue Nebenbedingung eingeführt, die verhindert, dass r_{1, GdL^*} größer als $r_{1, \text{Gd}^{3+}}$ beziehungsweise kleiner als $r_{1, \text{GdL}}$ wird (Ansatz *ii*) und *iii*). Realisieren lässt sich dies bei der Auswertung jedoch nur durch eine weitere Nebenbedingung, nämlich $k_2 \leq k_1$ oder $k_2 \geq k_1$. Aus den eben genannten Gründen ist Letztere allerdings chemisch plausibler, da das Zwischenprodukt aller Wahrscheinlichkeit nach labilisiert ist.

Mit Hilfe von Ansatz *ii*) lässt sich auf diese Weise zwar eine leichte Verringerung der Relaxivität r_{1, GdL^*} im Vergleich zu $r_{1, \text{Gd}^{3+}}$ erzielen, ihr Wert liegt mit 9.17 aber immer noch erstaunlich nah an dem von freiem Gd^{3+} . Dieser Umstand führt bei der Ausgleichsrechnung quasi zu einer Verwechslung von Gd^{3+} und GdL^* . Dies wird besonders daran deutlich, dass k_2 nun einen Wert von 0 annimmt, was bedeuten würde, dass sich überhaupt kein Gd^{3+} bilden kann. Ein Vergleich von k_1 mit k_{Obs} (Modell 1) zeigt nun aber deutlich, dass die beiden Konstanten nahezu identisch sind, was darauf hindeutet, dass hier eigentlich gar kein GdL^* , sondern gleich Gd^{3+} gebildet wurde. Also liefert auch Ansatz *ii*) keinen Hinweis auf die Bestimmbarkeit des Zwischenproduktes.

Letztlich ist Ansatz *iii*) am Sinnvollsten, sowohl was die Wahl der Nebenbedingungen als auch was die Resultate an sich angeht. GdL geht dabei relativ zügig in GdL^* über, welches dann deutlich schneller in Gd^{3+} und H_xL zerfällt. Hierbei ist die Relaxivität des Zwischenproduktes allerdings erneut als äußerst problematisch anzusehen. Diese nimmt nun exakt den gleichen Wert wie die von freiem Gd^{3+} an. Damit wird das Zwischenprodukt ununterscheidbar vom Endprodukt. Dies ist nur ein weiterer Hinweis darauf, dass die Methode nicht in der Lage ist, ein Zwischenprodukt korrekt zu identifizieren. Die Existenz des Intermediats kann hierdurch jedoch nicht ausgeschlossen werden.

Hinzu kommt, dass die drei Ansätze je nach pH und je nach Kontrastmittel stets verschiedene Ergebnisse liefern. Es ist nicht so, dass *iii*) immer das beste Resultat erzielt. Da kein genereller Trend erkennbar ist und da die Ergebnisse ohnehin fragwürdig sind, kann es keine Empfehlung für die Verwendung des zweiten Modells geben. Eine Identifikation des Zwischenproduktes ist demnach definitiv nicht möglich.

d) Auswertung der Datensätze nach dem **dritten Modell**

Wie es bereits bei der pH-stat Methode der Fall war, ist es auch hier mit dem **dritten Modell** möglich Ausgleichsrechnungen anzustellen, wenn die Messgröße weit unterhalb des maximal zu erwartenden Messwertes verbleibt. *Abbildung 41* zeigt dies am Beispiel einer 1 mM *Prohance*[®] Lösung bei pH 2.5 (#1 in *Tabelle 40*). Verglichen mit der Auswertung nach dem ersten Modell (*Abbildung 39, rechts*) ist es auf diese Weise möglich, eine sehr gute Übereinstimmung zwischen Messwerten und berechneten Werten zu erzielen.

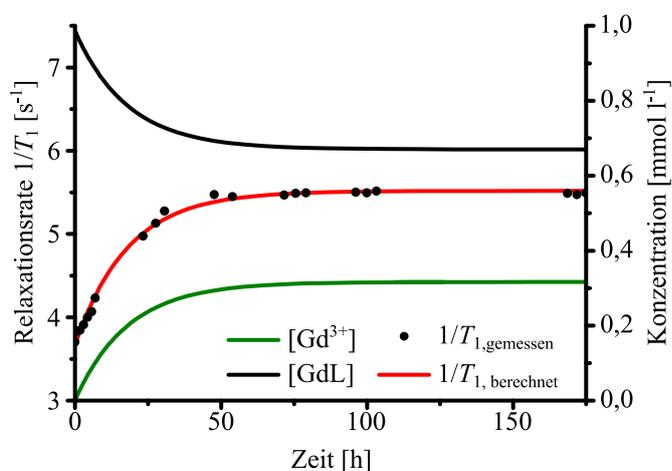


Abbildung 41: Gemessene (schwarze Punkte) und berechnete $1/T_1$ -Werte (rote Kurve) für den Zerfall von 1 mM *Prohance*[®] bei pH 2.5 $I = 1$ M (TMACl), $T = 37$ °C. Die Daten wurden mit Modell 3 gefittet. Die Konzentration von Gd(hp-do3a) bzw. Gd^{3+} sind als schwarze bzw. grüne Linien dargestellt.

Zudem zeichnet sich das Modell durch eine ausgezeichnete Reproduzierbarkeit bei diesem pH-Wert aus. Es wurden insgesamt drei identische Messungen durchgeführt, und die Resultate sind in *Tabelle 40* dargestellt.

Tabelle 40: Resultate der Auswertung des Zerfalls einer 1 mM *Prohance*[®] Lösung nach Modell 3 bei pH 2.5, 37 °C, 1.0 M TMACl.

<i>Messung</i>	k_H [h ⁻¹]	k_R [h ⁻¹]	k_H/k_R	$[GdL]_\infty$ [mmol l ⁻¹]
# 1	$1.8 \cdot 10^{-2}$	$3.8 \cdot 10^{-2}$	0.47	0.67
# 2	$1.5 \cdot 10^{-2}$	$3.5 \cdot 10^{-2}$	0.42	0.69
# 3	$1.4 \cdot 10^{-2}$	$3.2 \cdot 10^{-2}$	0.45	0.69
Mittelwert	$1.6 \cdot 10^{-2} \pm 10 \%$	$3.5 \cdot 10^{-2} \pm 7.5 \%$	$0.45 \pm 4.6\%$	$0.68 \pm 1.5 \%$

Ein Vergleich mit den entsprechenden Daten der pH-stat Methode (*Tabelle 19, S. 83*) zeigt erneut, dass die Reaktionsgeschwindigkeit bei Relaxivitätsmessungen verlangsamt ist.

Die Geschwindigkeit der Hinreaktion ist bei der Verfolgung der Protonenkonzentration etwa 1.6-mal schneller, die Rückreaktion verläuft sogar 4.8-mal so schnell. Der Einfluss der Rückreaktion bei der Relaxivitätsmessung ist scheinbar geringer. Dies erklärt auch die vergleichsweise niedrige Gleichgewichtskonzentration $[GdL]_{\infty}$ von 0.68 mM. Da der Einfluss der Rückreaktion hier offensichtlich nicht so stark ausgeprägt ist, zerfällt $[GdL]$ sozusagen ungestörter. Die Reaktion kommt deshalb erst bei 68 % von $[GdL]_0$ zum Erliegen, wohingegen die Dissoziation bei der pH-stat Messung bereits bei 86 % von $[GdL]_0$ zum Stillstand kommt. Erstaunlich ist auch die Tatsache, dass die Gleichgewichtskonzentration, die sich aus den Relaxationszeiten ergibt, weit vom thermodynamischen Gleichgewicht (0.22 mM) entfernt ist, obwohl sich diese Werte bei der pH-stat Methode sehr gut decken.

Es ist nun jedoch klar, dass die Reaktionsgeschwindigkeit beider Reaktionspfade deutlich langsamer als bei der pH-stat Methode ist. Aus diesem Grund tritt eine Rückreaktion unterhalb pH 2.0 bei *Prohance*[®] nicht mehr auf. Die Bestimmung von k_R ist dementsprechend nicht mehr möglich. Trotz Anwendung von **Modell 3** stimmen dann k_H und k_{obs} (**Modell 1**) überein. Dies bestätigt die Aussage, dass die Rückreaktion hier keine Rolle mehr spielt. Bei den beiden anderen Kontrastmitteln ist selbst bei pH 2.5 keine Abweichung von **Modell 1** zu beobachten. Auch dort findet **Modell 3** also keine Anwendung.

Die Betrachtung einer zweiseitigen Kinetik ist demnach zwar grundsätzlich auch bei Relaxivitätsmessungen möglich. Die Tatsache, dass sich die Ergebnisse jedoch nur schlecht mit denen der pH-stat Methode in Einklang bringen lassen, unterstützt nur noch mehr die Verwendung von **Modell 1**.

Aus den bisher genannten Gründen wurden die finalen Konstanten bei beiden Methoden mit Hilfe einer simplen Kinetik 1. Ordnung (**Modell 1**) ermittelt. Auf diese Weise lassen sich die zuverlässigsten und plausibelsten Daten generieren.

2.6. Bewertung und Vergleich beider Methoden

a) Vergleich der Methoden und ihrer Resultate

Die einfachste Möglichkeit, einen direkten Vergleich zwischen beiden Methoden anzustellen, liegt in einer Auftragung der Logarithmen der berechneten Geschwindigkeitskonstanten gegen den pH-Wert. Eine Gegenüberstellung aller Resultate findet sich in *Tabelle 41* sowie in *Abbildung 42*.

Tabelle 41: Gegenüberstellung der in dieser Arbeit ermittelten Geschwindigkeitskonstanten $k_{\text{Obs}} \cdot 10^{-3} [\text{h}^{-1}]$ beider Messmethoden. Alle Logarithmen sowie die Geradensteigung s tragen ein negatives Vorzeichen. Der Übersicht halber wurde der Betrag dieser Größen angegeben.

pH	<i>Prohance</i> [®]				<i>Gadovist</i> [®]				<i>Dotarem</i> [®]			
	Relaxivität		pH-stat		Relaxivität		pH-stat		Relaxivität		pH-stat	
	k	$\log k$	k	$\log k$	k	$\log k$	k	$\log k$	k	$\log k$	k	$\log k$
1.0	391	0.41	549	0.26	45.0	1.35	51.8	1.29	8.16	2.09	20.7	1.68
1.5	93.7	1.03	165	0.78	14.0	1.85	20.6	1.69	1.51	2.82	4.23	2.37
2.0	35.8	1.45	58.3	1.23	4.61	2.34	7.41	2.13	0.37	3.43	1.42	2.85
2.5	11.9	1.92	14.3	1.84	1.26	2.90	2.29	2.64	0.092	4.04	0.30	3.52
s	--	1.00	--	1.04	--	1.03	--	0.90	--	1.29	--	1.20
R^2	--	0.993	--	0.995	--	0.999	--	0.996	--	0.997	--	0.987

Aus der Auftragung lässt sich ableiten, dass *Prohance*[®] und *Gadovist*[®] hinsichtlich ihrer Zerfallsgeschwindigkeit nahezu gleich stark auf eine pH-Änderung reagieren. Die Steigung s der linearen Regression beschreibt also sozusagen die Empfindlichkeit des Zerfallsprozesses gegenüber einer Änderung des pH-Wertes.

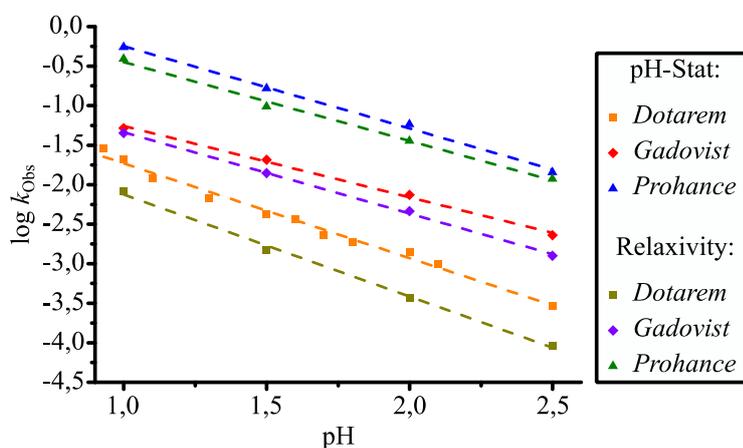


Abbildung 42: Grafische Gegenüberstellung der logarithmierten Geschwindigkeitskonstanten der beiden Messmethoden. Die pH-Abhängigkeit wurde mit linearen Regressionen modelliert (gestrichelte Linien).

Im Falle der beiden letztgenannten Kontrastmittel bedeutet dies, dass sich die Geschwindigkeit des Zerfalls mit einer pH-Erhöhung um eine pH-Einheit etwa um den Faktor 10 verringert. *Dotarem*[®] reagiert deutlich empfindlicher auf eine solche Änderung. Für dieses Kontrastmittel verlangsamt sich die Geschwindigkeit mit einer pH-Einheit um den Faktor 15 bis 20. Da es sich hierbei aber ohnehin um die stabilste der drei makrozyklischen Verbindungen handelt, ist dieser Trend nachvollziehbar. Die graphische Darstellung erlaubt weiterhin die Einstufung der Verbindungen nach ihrer kinetischen Stabilität. Je niedriger $\log k_{\text{Obs}}$ liegt, desto langsamer ist die Zerfallsreaktion. Und je langsamer das Kontrastmittel zerfällt, desto höher ist seine kinetische Stabilität. Es ergibt sich also die Stabilitätsreihenfolge: *Dotarem*[®] > *Gadovist*[®] > *Prohance*[®]. Aus dem Abstand der Messpunkte beziehungsweise der Bestgeraden (nur bei $s = 1$) zueinander lässt sich außerdem ableiten, wie viel schneller ein Kontrastmittel gegenüber einem anderen zerfällt. Bei der pH-stat Methode zerfällt *Prohance*[®] rund zehnmal so schnell wie *Gadovist*[®]. Aufgrund der unterschiedlichen Geradensteigung ändert sich der Geschwindigkeitsunterschied zwischen *Gadovist*[®] und *Dotarem*[®] in Abhängigkeit des pH-Wertes. So zerfällt *Gadovist*[®] bei pH 1.0 etwa zweieinhalbmal so schnell und bei bei pH 2.5 schon fast achtmal so schnell wie *Dotarem*[®]. Bei Messung der Relaxationszeiten bleibt die grundsätzliche Stabilitätsreihenfolge erhalten. *Prohance*[®] reagiert immer noch etwa zehnmal so schnell wie *Gadovist*[®]. Dieses reagiert wiederum fünfeinhalb bis vierzehnmal so schnell wie *Dotarem*[®]. Wie schon mehrfach erwähnt wurde, ist die scheinbare Reaktionsgeschwindigkeit bei der Messung von Relaxationszeiten grundsätzlich bei jedem Kontrastmittel verringert. Ein Vergleich ein und derselben Verbindung zwischen pH-stat und Relaxivität zeigt dann für *Dotarem*[®] eine Verringerung der Reaktionsgeschwindigkeit um Faktor 2.5 bis 3.2, für *Gadovist*[®] um Faktor 1.2 bis 1.8 und für *Prohance*[®] um Faktor 1.2 bis 1.7. Worauf dieser Geschwindigkeitsunterschied beruht ist unklar. Die Messbedingungen sind jedoch bei den beiden Methoden nicht exakt identisch. Für Relaxivitätsmessungen konnten 1 mM Lösungen der Kontrastmittel verwendet werden. Für pH-stat Messungen hingegen mussten die Verbindungen bei einer Konzentration von 70 mM eingesetzt werden, um auch im stark sauren Medium eine zuverlässige Detektion des Säureverbrauchs zu gewährleisten. Bei derart hohen Komplexkonzentrationen ist die Einhaltung einer konstanten Ionenstärke aber nur begrenzt möglich (*Kapitel 2.2 b*). Es ist jedoch bekannt, dass die Geschwindigkeitskonstante einer Reaktion stark von Ionenstärke sowie der Art des Inertelektrolyten abhängig ist.^[88,92,93] Es wäre somit denkbar, dass der beobachtete Unterschied zwischen den $\log k_{\text{Obs}}$ -Werten der beiden Methoden einen Medieneffekt darstellt.

Weiterhin sollte berücksichtigt werden, dass für die Messung von Relaxationszeiten ab pH 2.0 ein fünfzigfacher Überschuss an Chloressigsäure zugesetzt wurde, um einen konstanten pH zu gewährleisten. Es wurde zwar exemplarisch gezeigt, dass die Relaxivität von diesem Zusatz unbeeinflusst bleibt, dennoch verändert das Additiv die Zusammensetzung des Mediums im Vergleich zur pH-stat Methode. Da die Schwere und die Art von Medieneffekten kaum vorhersehbar sind, ist es also durchaus nachvollziehbar, dass auch der Puffer seinen Beitrag zu den unterschiedlichen Reaktionsgeschwindigkeiten leistet.

Andererseits sollte auch berücksichtigt werden, dass die beiden Verfahren nur indirekte Informationen über das Reaktionsgeschehen liefern. Der scheinbar schnellere Ablauf der pH-stat Experimente lässt sich auch so interpretieren, dass der mehrstufige Prozess der Protonenaufnahme bereits abgeschlossen ist, bevor sich der Ligand vollständig vom Gadolinium löst. In diesem Fall würde die pH-stat Methode den Prozess nur bis zum Ende der Protonenaufnahme abbilden, wohingegen die Messung der Relaxationszeit die Erfassung des Gesamtprozesses ermöglicht.

Nichtsdestotrotz kann die zuvor erläuterte pH-Abhängigkeit von k_{Obs} im Sinne der in *Abbildung 8*, S. 32 gezeigten Reaktionspfade (k_0 , k_1 und k_2) aufgeteilt werden. Es kann davon ausgegangen werden, dass die Spezies GdL, GdHL und GdH₂L unterschiedlich schnell zerfallen. Da ihr Gleichgewichtsanteil ebenfalls pH-abhängig ist, ergibt sich der in *Abbildung 9*, S. 34 exemplarisch dargestellte Verlauf. In Anlehnung an Brehms Forschungsarbeit (*Tabelle 3*, S. 34) wurde auch in dieser Arbeit versucht, die drei Geschwindigkeitskonstanten der einzelnen Prozesse mit Hilfe einer Ausgleichsrechnung nach Gleichung (22) abzuschätzen. Da in die Gleichung neben k_0 , k_1 und k_2 auch die beiden Protonierungskonstanten des Komplexes $K_{\text{P}}^{\text{Gd(HL)}}$ und $K_{\text{P}}^{\text{Gd(H}_2\text{L)}}$ (K_1 und K_2 in Gleichung (22)) mit einfließen, müssen insgesamt fünf Parameter bestimmt werden.

Es ist offensichtlich, dass das Daten-zu-Parameter-Verhältnis in dieser Berechnung extrem ungünstig ist. Aus diesem Grund wurde versucht K_1 und K_2 experimentell mit potentiometrischen Titrationen (*Kapitel 2.7*) zu bestimmen, um das Verhältnis ein wenig zu verbessern. Die übrigen Konstanten wurden dann dem pH-abhängigen Verlauf von k_{Obs} angepasst (*Abbildung 43*).

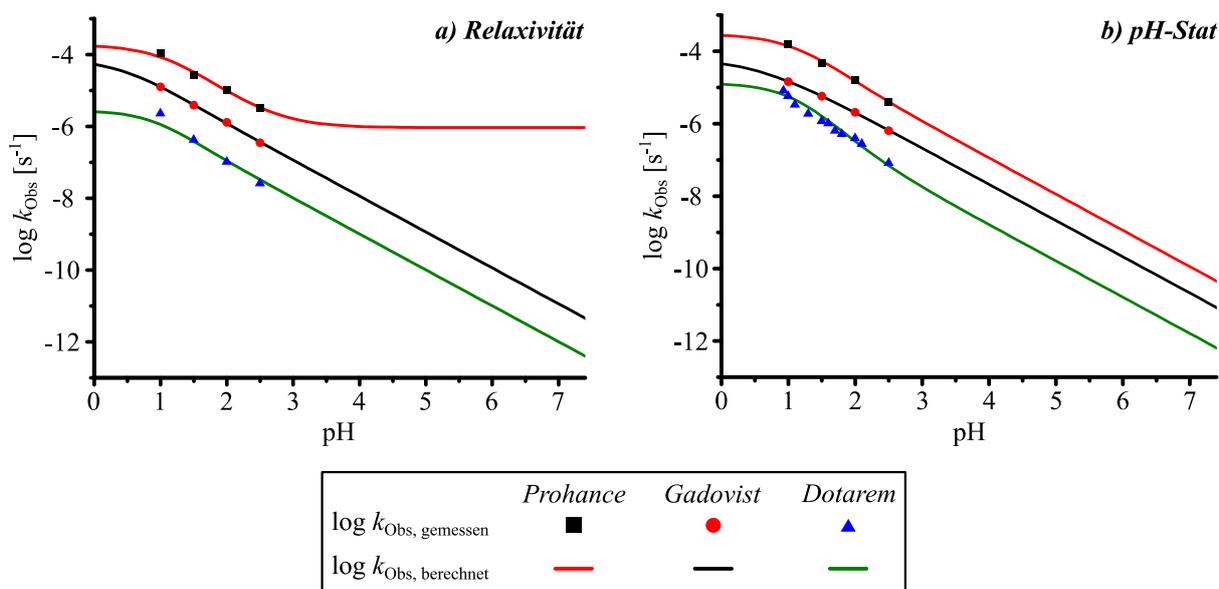


Abbildung 43: Berechnung des pH-abhängigen Verlaufs von k_{Obs} (dargestellt als Linien) nach dem in *Abbildung 8* gezeigten Reaktionsschema. 37 °C, 1 M TMACl, $[\text{GdL}]_0 = 1 \text{ mM}$ (a) bzw. 70 mM (b).

Es muss allerdings noch einmal betont werden, dass das Verfahren äußerst zweifelhaft ist. Es gibt zu viele Unbekannte und zu wenig Datenpunkte, insbesondere in Bereichen der Sättigung. Belastbare Aussagen lassen sich auf diese Weise im Grunde nicht machen. Insbesondere sei darauf hingewiesen, dass der Wert von k_0 nicht definiert ist. Dieser lässt sich über einen sehr weiten Bereich variieren, ohne die Güte des Fits auch nur im Geringsten zu beeinflussen. Gezeigt wird dies exemplarisch in der linken Abbildung für das Kontrastmittel *Prohance*[®]. Dort wurde der Wert fest auf $9.20 \cdot 10^{-7} \text{ s}^{-1}$ gesetzt. Es wird dadurch sehr deutlich, dass die Bestimmung von k_0 nur durch weitere Datenpunkte bei höheren pH-Werten möglich wäre. Diese zu generieren ist aufgrund der zunehmenden Verlangsamung der Reaktion und den daraus resultierenden, verschwindend geringen Signaländerungen aber nicht möglich. Es kann jedoch angenommen werden, dass k_0 im untersuchten pH-Bereich keinen Einfluss auf das Reaktionsgeschehen nimmt. Diese Tatsache ist absolut logisch, da die Konstante die Komplexdissoziation ohne Zutun einer Säure beschreibt. Die Reaktion verläuft demnach, wie bei niedrigen pH-Werten zu erwarten, über die beiden protonierten Komplexspezies ab.

Tabelle 42: Durch Ausgleichsrechnung (Gleichung (22)) bestimmte Geschwindigkeitskonstanten, der einzelnen Reaktionspfade. ^[a]: Messgröße aus potentiometrischer Titration.

		<i>Prohance</i> [®]		<i>Gadovist</i> [®]		<i>Dotarem</i> [®]	
		Relaxivität	pH-stat	Relaxivität	pH-stat	Relaxivität	pH-stat
k_0	[s ⁻¹]	$9.20 \cdot 10^{-7}$	0	0	0	0	0
k_1	[s ⁻¹]	$2.20 \cdot 10^{-5}$	$3.58 \cdot 10^{-5}$	$8.10 \cdot 10^{-6}$	$1.45 \cdot 10^{-5}$	$9.75 \cdot 10^{-7}$	$9.72 \cdot 10^{-7}$
k_2	[s ⁻¹]	$1.90 \cdot 10^{-4}$	$2.99 \cdot 10^{-4}$	$7.68 \cdot 10^{-5}$	$6.15 \cdot 10^{-5}$	$2.88 \cdot 10^{-6}$	$1.34 \cdot 10^{-5}$
K_1	[M ⁻¹]	32.6	31.5	14.1 ^[a]	14.1 ^[a]	16.6 ^[a]	16.6 ^[a]
K_2	[M ⁻¹]	8.3	9.3	2.1	2.1	10.0 ^[a]	10.0 ^[a]

Grundsätzlich lässt sich aus den Ergebnissen (*Tabelle 42*) ein sinnvoller Trend ableiten. Aufgrund der zunehmenden Labilisierung des Komplexes mit steigendem Protonierungsgrad sollte k_2 deutlich größer sein als k_1 . Der zweifach protonierte Komplex zerfällt also schneller als der einfach Protonierte. Diese Annahme wird von den berechneten Konstanten durchweg bestätigt. Außerhalb der Sättigung hängt $\log k_{\text{Obs}}$ für alle makrozyklischen Kontrastmittel in guter Näherung linear vom pH-Wert ab. Für *Prohance*[®] und *Gadovist*[®] verringert sich der Wert von $\log k_{\text{Obs}}$ pro pH-Einheit um 1.0 ± 0.1 . Für die beiden Liganden liegt das Verhältnis k_2/k_1 etwa bei 10, bei *Dotarem*[®] variiert es hingegen je nach Messmethode.

Für Relaxivitätsexperimente liegt es bei etwa 3 und für pH-stat Experimente bei etwa 20. Dieser Unterschied ist erstaunlich, resultiert aber daraus, dass der Fit bei den Relaxationsmessungen eine etwa fünfmal kleinere Geschwindigkeitskonstante k_2 findet als bei der pH-stat Methode. Dieses Beispiel unterstreicht erneut, dass die Methode äußerst fragwürdige Ergebnisse liefert. Es sei darauf hingewiesen, dass bei *Gadovist*[®] und *Dotarem*[®] auf die Anpassung von K_1 beziehungsweise K_1 und K_2 verzichtet wurde, da diese sich experimentell bestimmen ließen. Bei *Prohance*[®] deutet die Größe und die gute Übereinstimmung der beiden berechneten Konstanten allerdings auf sinnvolle Werte hin.

Aufgrund der insgesamt sehr hohen Unsicherheit der Resultate dieser Ausgleichsrechnungen ergibt sich auch keine gute Übereinstimmung mit den Ergebnissen von Brehm (Tabelle 3, S. 34). Ein Vergleich der beiden Datensätze (pH-stat) ist wegen stark abweichenden experimentellen Bedingungen aber ohnehin nur bedingt sinnvoll. Die beiden Arbeiten unterscheiden sich sowohl in der Art des Inertelektrolyten und der Ionenstärke als auch in der Komplexkonzentration, dem zugrundeliegenden Teilchenmodell (pK_S -Werte und Komplexbildungskonstanten) und der Temperatur. Grundsätzlich gilt für die pH-stat Methode, dass ein Vergleich mit anderen publizierten Resultaten nur schwer möglich ist, da diese Methode von sehr vielen Faktoren abhängige Ergebnisse liefert. Nichtsdestotrotz sollen im folgenden Abschnitt einige in der Literatur dokumentierte Ergebnisse zu einem Vergleich mit den Ergebnissen dieser Arbeit herangezogen werden.

b) Vergleich mit ausgewählten publizierten Geschwindigkeitskonstanten

Die Geschwindigkeitskonstante der säurekatalysierten Komplexdissoziation hängt offensichtlich stark von den gewählten experimentellen Bedingungen ab. Deshalb ist es nicht verwunderlich, dass in verschiedenen Publikationen^[37,38,56,65,77,81,83,94] mit unterschiedlichen Methoden auch verschiedene Resultate dokumentiert sind. Zu den angewandten Methoden zählen unter anderem die Spektrophotometrie, die Relaxometrie und sogar chromatographische Anwendungen auf Basis der Verwendung von ¹⁵³Gadolinium. Das Fehlen eines umfassenden vergleichenden Datensatzes unter exakt den gleichen Bedingungen gab schließlich Anlass zu den in dieser Arbeit durchgeführten Experimenten. Am einfachsten ist es die Halbwertszeiten $t_{1/2}$ der Dissoziation zu vergleichen. Eine neuere Studie^[37] versucht einen vergleichbaren Datensatz bereitzustellen. Die Ergebnisse dieser Studie sind in Tabelle 43 zusammengefasst.

Tabelle 43: Halbwertszeiten $t_{1/2}$ [h] der makrozyklischen und offenkettigen Gd(III)-haltigen MRT-Kontrastmittel.

	<i>pH 1.2^[b]</i> 37 °C	<i>pH 1.0^[b]</i> 37 °C	<i>pH 1.0^[b]</i> 25 °C	<i>pH 1.0</i> 37 °C ^[a]	
				<i>pH-stat</i>	<i>Relaxivity</i>
<i>Prohance</i> [®]	4.0	2.0	3.9	1.26	1.77
<i>Gadovist</i> [®]	18	7.9	43	13.4	15.4
<i>Dotarem</i> [®]	85	26	338	33.5	84.5
<i>Offenkettig</i>	--	--	< 5 s	< 1 min	< 1 min

^[a]: Ergebnisse dieser Dissertation, ^[b]: Arsenazo III in HCl, Spektrophotometrie ^[37,38].

Es wird direkt deutlich, dass in dieser Studie, wie auch in anderen, nur sehr wenige pH-Werte untersucht wurden. In anderen Publikationen sind des Weiteren häufig Werte bei 25 °C dokumentiert. Solche Daten sind zum Vergleich mit den in dieser Arbeit erhobenen Daten leider ungeeignet. In wieder anderen Publikationen^[65] wird lediglich die Geschwindigkeitskonstante k_1 angegeben, welche sich durch lineares Anfitzen der Auftragung der gemessenen Geschwindigkeitskonstante k_d gegen die Protonenkonzentration bei säurekatalysierten Transmetallierungen ergibt (Gleichung (17)). Die Studien vernachlässigen dabei aber, dass sich der Pfad der Dissoziation in Abhängigkeit des pH-Wertes ändern kann. Somit gilt die dort bestimmte Konstante streng genommen nur für den angegebenen pH-Bereich.

Ein Vergleich der Resultate dieser Arbeit mit den obigen Ergebnissen bestätigt nur noch mehr, dass nur bei exakt gleichen experimentellen Parametern gleiche Resultate erwartet werden dürfen. Der Datensatz der pH-stat Messungen passt aber offensichtlich am ehesten zu den Ergebnissen in *Tabelle 43*. Weitere Schlüsse sollten aus einem solchen Vergleich allerdings nicht gezogen werden. In dieser Arbeit konnte schließlich gezeigt werden, dass selbst Änderungen der Zusammensetzung des Mediums einen signifikanten Einfluss auf die Geschwindigkeitskonstante der Reaktion haben können. In diesem Zusammenhang erhebt sich die Frage nach dem Einfluss des menschlichen Organismus auf die Reaktionsgeschwindigkeit. Wenn selbst vergleichsweise kleine Veränderungen *in vitro* relativ starke Auswirkungen mit sich bringen, dann ist davon auszugehen, dass die hochkomplexen Vorgänge im menschlichen Körper die Bestimmung der tatsächlich relevanten Reaktionen und deren Geschwindigkeit extrem schwierig gestalten.

c) Abschließende Bewertung

Die Wahl einer geeigneten Methode stellt bei der Bestimmung der kinetischen Stabilität von Gd(III)-haltigen MRT-Kontrastmitteln eine prinzipielle Schwierigkeit dar. Bei der Reaktion (59) sind die relevanten Spezies GdL , Gd^{3+} sowie die verschiedenen Formen von GdH_xL und H_yL messtechnisch nur relativ schwer zu erfassen.



Wünschenswert wäre unter anderem die direkte Verfolgung der Freisetzung von Gd^{3+} . Möglich ist dies mit Hilfe gadoliniumselektiver Elektroden. Im Rahmen einer anderen wissenschaftlichen Arbeit der Arbeitsgruppe wurde versucht dieses Vorhaben umzusetzen. Aufgrund der geringen mechanischen Stabilität, mangelnder Reproduzierbarkeit und langer Ansprechzeiten hat sich die Methode jedoch nicht als praxistauglich erwiesen.

Die beiden in dieser Arbeit verwendeten Methoden setzen auf eine indirekte Bestimmung des zeitabhängigen Konzentrationsverlaufs von freiem und komplexgebundenem Gadolinium. Die Konzentrationen müssen dabei rechnerisch aus den eigentlichen Messgrößen ermittelt werden. Dies geschieht einerseits auf Basis des messbaren Protonenverbrauchs mit der pH-stat Methode (*Kapitel 2.3*) und andererseits auf Basis der Änderung von Relaxationszeiten im ^1H -NMR-Experiment (*Kapitel 2.5*) während der säurekatalysierten Komplexdissoziation. Die Methoden führen leider nicht immer zu eindeutig interpretierbaren Ergebnissen, da die oben genannte Reaktion als Kaskade abläuft, wobei sich mehrere intermediäre Formen eines "GdL"-Komplexes bilden und wiederum ineinander umwandeln können.

So liefert insbesondere die pH-stat Methode (Messung des Säureverbrauchs) nur dann eindeutige Resultate, wenn alle Grundvoraussetzungen exakt bekannt sind. Dazu zählt vor allem das zugrundeliegende Teilchenmodell (pK_s -Werte und Komplexbildungskonstanten). Eine weitere Schwierigkeit dieser Methode liegt darin begründet, dass der Komplexzerfall nur in relativ stark sauren Medien ($\text{pH} < 3.0$) in signifikanten Mengen abläuft. Um in einer derart sauren Umgebung überhaupt einen Säureverbrauch gegenüber der anfänglichen Säurekonzentration feststellen zu können, muss die Komplexkonzentration entsprechend hoch sein (hier: 70 mM). Daraus resultieren erhebliche Schwierigkeiten bei der Konstanthaltung der Ionenstärke. Diese Problematik verschärft sich mit sinkendem pH sogar noch deutlich, weshalb eine Untersuchung unterhalb von pH 1.0 nur zu fragwürdigen Ergebnissen führen kann.

Die obere pH-Grenze ergibt sich aus der zunehmenden Verlangsamung der Reaktion (immer geringer werdende Signaländerung) und der ungünstigen Gleichgewichtslage (z. B. *Abbildung 15, S. 49*). Aus diesem Grund ist die Methode auf ein sehr kleines pH-Fenster beschränkt. Die Messungen konnten dementsprechend nur von pH 1.0 bis 2.5 durchgeführt werden.

Relaxivitätsmessungen sind weniger stark von diesen Restriktionen betroffen. Zumindest die untere Grenze existiert für diese Methode nicht. Die Messungen können außerdem mit vergleichsweise geringen Komplexkonzentrationen (1 mM) durchgeführt werden.

Die Einhaltung einer konstanten Ionenstärke stellt hier also ebenfalls kein Problem mehr da. Grundsätzlich wäre eine Erweiterung des pH-Fensters bis pH 0 möglich. Solche Messungen würden interessante Informationen über die postulierten Sättigungseffekte (*Abbildung 9, S. 34, Abbildung 43, S. 136*) liefern und würden damit auch die Bestimmung der Protonierungskonstanten des Komplexes (K_1 und K_2) eindeutig ermöglichen, sofern sich diese nicht auch mit Hilfe potentiometrischer Titrations bestimmen lassen. Wegen des begrenzten Messzeitraumes im Labor der Bayer konnten solche Messungen im Rahmen dieser Arbeit bedauerlicherweise nicht durchgeführt werden. Für zukünftige Projekte wären sie allerdings äußerst sinnvoll.

Ein weiterer Vorteil der Methode ist, dass sich verschiedene Komplexspezies, die sich in ihrem Wassergehalt unterscheiden, auch anhand ihrer Relaxivität unterscheiden lassen sollten. Prinzipiell ist die Methode also auch dazu geeignet, mehrstufige Prozesse, bei denen sich die intermediären Formen ineinander umwandeln, nachzuweisen. Nichtsdestotrotz konnten keine Hinweise auf solche Intermediate gefunden werden.

Die Bestimmung von freiem Gd^{3+} mit gadoliniumselektiven Elektroden hat sich als die am wenigsten potente Methode erwiesen. Von den beiden in dieser Arbeit untersuchten Verfahren hat sich die Messung von Relaxationszeiten als die leistungsfähigste Variante dargestellt. Die pH-stat Methode ist ebenfalls ein sehr leistungsfähiges Werkzeug zur Bestimmung der Geschwindigkeitskonstanten. Aufgrund der zahlreichen Einschränkungen bleibt sie dem erstgenannten Verfahren allerdings unterlegen. Grundsätzlich zeigen jedoch die Ergebnisse beider Methoden eine sehr gute Übereinstimmung. Das einfachste kinetische Modell liefert die zuverlässigsten Ergebnisse. Dabei handelt es sich um eine Reaktion erster Ordnung, bei der die initiale Bildung von protonierten Komplexspezies als rasches Vorgleichgewicht behandelt wird.

Der anschließende Zerfall zu Gd^{3+} und H_yL wird ohne die Berücksichtigung weiterer Intermediate modelliert. Es bleibt jedoch die Frage, ob Säureverbrauch und Ligandablösung als einheitlicher Schritt betrachtet werden dürfen. Dies ist zwar eine notwendige und plausible Annahme für die pH-stat Methode, letztlich bleibt es aber nur eine Annahme und kann mit der Methode nicht nachgewiesen werden. Die mikroskopische Reversibilität verlangt zwingend, dass der umgekehrte Prozess (d. h. die Komplexbildung) über denselben Mechanismus erfolgt. Frenzel hat nun mit seinen Messungen im Bereich $3 \leq \text{pH} \leq 5$ Hinweise auf eine Reifung des Komplexes, also auf einen sequentiellen Durchlauf mehrerer Intermediate gefunden. Dies ist allerdings kein Widerspruch zu den Ergebnissen dieser Arbeit.

Das Reaktionsgeschehen ist als Ganzes sehr komplex (*Abbildung 7, S. 25*), und es muss davon ausgegangen werden, dass sich der Mechanismus in verschiedenen pH-Bereichen ändern kann. Aus diesem Grund ist es auch plausibel, dass für die Komplexbildung bei verschiedenen pH-Werten unterschiedliche Geschwindigkeitsgesetze gefunden wurden. Die Zuordnung eines Mechanismus kann deshalb nur für einen pH-Bereich erfolgen, für den auch experimentelle Daten vorliegen. Eine Extrapolation der Daten auf pH 7.4 ist daher äußerst fragwürdig. Für den hier untersuchten Zerfall in saurer Lösung können jedoch folgende Tatsachen festgehalten werden:

i) Die Komplexe der makrozyklischen Liganden dissoziieren grundsätzlich alle viel langsamer, als die der offenkettigen Liganden. Eine Beispielmessung an *Magnevist*[®] ($\text{Gd}(\text{dtpa})^{2-}$) bei pH 1.0 hat gezeigt, dass die Dissoziation bereits nach etwa einer Minute vollständig abgeschlossen ist. Beim labilsten makrozyklischen Kontrastmittel *Prohance*[®] ($\text{Gd}(\text{hp-do3a})$) dauert es immer noch gut 8 h bis der Zerfall nahezu vollständig ist. Damit zerfällt das Kontrastmittel 480-mal langsamer.

Bei den Komplexen mit makrozyklischen Liganden nimmt die Reaktionsgeschwindigkeit in der Reihe *Prohance*[®] > *Gadovist*[®] > *Dotarem*[®] ab. Für die Messung von Relaxationszeiten wird in etwa ein Geschwindigkeitsverhältnis von 100:10:1 und für die Messung des Protonenverbrauchs ein Verhältnis von 50:5:1 erhalten. *Prohance*[®] und *Gadovist*[®] dissoziieren bei der pH-stat Methode im Mittel circa 1.5-mal und *Dotarem*[®] sogar 3-mal so schnell als bei den Relaxivitätsmessungen. Dieser Geschwindigkeitsunterschied bleibt letztlich ungeklärt. Die Geschwindigkeitskonstante k_{Obs} hängt für die drei untersuchten Kontrastmittel in guter Näherung linear vom pH-Wert ab. Für die beiden schnelleren Derivate ändert sich $\log k_{\text{Obs}}$ pro pH-Einheit circa um 1.0 ± 0.1 . Lediglich *Dotarem*[®] reagiert intensiver auf eine Änderung des pH-Wertes.

ii) Die Dissoziation der Komplexe erfolgt säurekatalysiert. Die Kristallstruktur von $[\text{Gd}(\text{H}_2\text{dota})(\text{H}_2\text{O})]\text{Cl}\cdot\text{H}_2\text{O}$ (*Kapitel 2.8.1*) unterstützt den von anderen Autoren postulierten^[83,84], in *Abbildung 8, S. 32* skizzierten, zweiteiligen Ablauf mit rascher (diffusionskontrollierter) Bildung von $\text{Gd}(\text{H}_x\text{L})$ ($x = 1, 2$) und anschließendem langsamen Zerfall zu $\text{Gd}^{3+}_{\text{aq}}$ und H_yL . Der Kristall belegt für $\text{Gd}(\text{H}_2\text{dota})^+$ eine Protonierung von zwei Carboxylatgruppen, wobei diese weiterhin am Gadolinium gebunden bleiben.

Mit keiner der beiden Methoden konnten Hinweise auf das Auftreten von Zwischenprodukten gefunden werden. Dies heißt aber natürlich nicht, dass solche Intermediate nicht dennoch existieren können. Das empirische Geschwindigkeitsgesetz besteht somit aus zwei Teilen: einem raschen Vorgleichgewicht, welches durch die Protonierungskonstanten des Komplexes K_1 und K_2 beschrieben wird und dem eigentlichen Komplexzerfall, der einer Kinetik erster Ordnung in $[\text{GdL}]_t = \sum[\text{Gd}(\text{H}_x\text{L})]$ gehorcht. Die Reaktionsgeschwindigkeit der Komplexdissoziation kann insgesamt durch die pH-abhängige Geschwindigkeitskonstante k_{Obs} quantifiziert werden.

iii) Eine direkte Gegenüberstellung der Resultate für k_{Obs} (Kapitel 2.6 a)) aus Relaxivitäts- und pH-stat Messungen zeigt eine grundsätzlich gute Übereinstimmung. Lediglich ein relativ kleiner Geschwindigkeitsunterschied zwischen den beiden Methoden bleibt ungeklärt. Es ist auffällig, dass bei der pH-stat Methode generell etwas größere Werte für k_{Obs} gefunden wurden. Eine mögliche Erklärung hierfür liefert entweder ein Medieneffekt aufgrund der nicht konstanten Ionenstärke oder die Tatsache, dass der Protonenverbrauch mit der Freisetzung von Gd(III) korreliert wird, was zwar plausibel ist, aber nicht zwangsläufig der Fall sein muss. Es wäre schließlich auch denkbar, dass sich der Ligand erst vom Metallzentrum löst, nachdem die Protonierung abgeschlossen ist. Die Kristallstruktur zeigt schließlich sehr deutlich, dass es durchaus möglich ist, dass die koordinierenden Gruppen auch im protonierten Zustand weiterhin an Gadolinium binden.

Für die in der Einleitung angesprochene Gefahr der Gadoliniumablagerung in menschlichem Gewebe bei der Verwendung solcher Kontrastmittel ist die Komplexdissoziation bei pH 7.4 relevant. Die größere Inertie der makrozyklischen Komplexe ist aller Wahrscheinlichkeit nach auch unter physiologischen Bedingungen gegeben. Die Resultate dieser Arbeit sollten allerdings nicht einfach auf diese Bedingungen extrapoliert werden, da sich der Verlauf der Dissoziationsreaktion in verschiedenen pH-Bereichen ändern kann. Ein Eintrag solcher Komplexe in eine auf pH 7.4 gepufferte Lösung führt nur zu einer sehr geringen Freisetzung von Gd^{3+} (pGd, Tabelle 2). Die Konzentration ist für die hier diskutierten Verbindungen kleiner als 10^{-15} M.

Mit der konditionellen Stabilitätskonstante $K_{\text{kond.}}$ wird das Verhältnis zwischen Komplexbildung (k^a) und Zerfall (k^d) festgelegt ($K_{\text{kond.}} = k^a/k^d$). Frenzel hat in seiner Studie für den Bereich $3 \leq \text{pH} \leq 5$ Halbwertszeiten für die Komplexbildung von wenigen Minuten bis einigen Stunden gefunden.

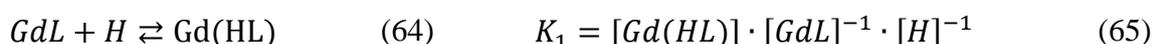
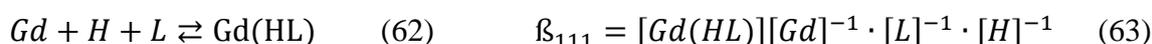
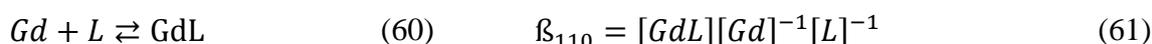
Da bei physiologischen Bedingungen die konditionelle Stabilitätskonstante für alle Makrozyklen 10^{14} M^{-1} übersteigt, darf demnach tatsächlich davon ausgegangen werden, dass der Zerfall eine Halbwertszeit im Bereich von vielen Jahren hat und damit extrem langsam ist. Nichtsdestotrotz bleibt die in der Einleitung gemachte Feststellung bestehen. In physiologischen Medien muss bei der Diskussion der Komplexdissoziation auch der Einfluss biologisch relevanter, eventuell katalytisch wirkender Lewis-Säuren und -Basen berücksichtigt und untersucht werden. Diese Studie vermag keine Auskunft über Art und Auswirkung dieses Einflusses zu geben.

2.7. Protonierung und Deprotonierung der Komplexe

Bereits in der Einleitung wurde darauf hingewiesen, dass die direkte Spaltung eines Gd(III)-haltigen MRT-Kontrastmittels (GdL) nicht beobachtbar ist (*Abbildung 5, S. 22*). Signifikante Umsätze erfolgen in wässrigen Lösungen nur in Anwesenheit einer Säure/Base. Bei hoher H^+ - beziehungsweise OH^- -Konzentration wird einerseits die Gleichgewichtslage zugunsten von Dissoziationsprodukten (Gd^{3+} , H_xL , $Gd(OH)_3$) verschoben und zudem die Zerfallsreaktion beschleunigt (Säure-/Basenkatalyse). Andererseits ist die Bildung von Protonierungs- und Deprotonierungsprodukten von $GdL(H_2O)$ möglich.

In den vergangenen Kapiteln wurde ausführlich gezeigt, dass die protonierten Formen der Gd(III)-haltigen Komplexe $Gd(H_xL)$ ($K_P^{Gd(HL)}$ und $K_P^{Gd(H_2L)}$ bzw. K_1 und K_2) Einfluss auf den pH-abhängigen Verlauf der Geschwindigkeitskonstante k_{Obs} der säurekatalysierten Komplexdissoziation nehmen. Die tatsächliche Bildung und damit auch die Relevanz solcher Spezies wird außerdem durch die Kristallstruktur von $[Gd(H_2dota)(H_2O)]Cl \cdot H_2O$ gestützt (*Kapitel 2.8.1*). Des Weiteren konnte gezeigt werden, dass die Kenntnis der Protonierungskonstanten der Reaktionen $Gd(HL) + H^+ \rightleftharpoons Gd(H_2L)$ und $GdL + H^+ \rightleftharpoons Gd(HL)$ bei pH-stat Messungen das Ergebnis für k_{Obs} direkt und signifikant beeinflussen kann. Aufgrund des äußerst nachteiligen Daten-zu-Parameter-Verhältnisses ist die Ermittlung dieser Konstanten mit Hilfe von Ausgleichsrechnungen aus den kinetischen Datensätzen jedoch äußerst kritisch zu betrachten. Eine separate Bestimmung der Konstanten durch potentiometrische Titrations wäre demnach wünschenswert. Zusätzlich können die in diesem Kapitel erhobenen Daten zur Vervollständigung der in früheren Arbeiten der Arbeitsgruppe^[31,32,82] (*Tabelle 2*) generierten Datensätze über pK_S -Werte und Stabilitätskonstanten Gd(III)-haltiger MRT-Kontrastmittel herangezogen werden. Auf diese Weise können verbleibende Lücken in den damaligen Teilchenmodellen geschlossen werden.

Die Gleichgewichtsuntersuchungen basieren auf den Gleichungen (60) bis (65). Die gesuchte Protonierungskonstante berechnet sich dann gemäß $\log K_1 = \log \beta_{111} - \log \beta_{110}$. K_2 wird ganz analog berechnet.



Zur besseren Vergleichbarkeit mit den früheren Studien wurden diese Untersuchungen bei einer Temperatur von 25 °C und einer 1.0 M Ionenstärke durchgeführt. Als Inertsalz wurde Tetramethylammoniumchlorid wegen der im Vergleich zu kaliumhaltigen Salzen geringen Neigung zur Komplexbildung mit den untersuchten Substanzen verwendet. Das Kontrastmittel *Dotarem*[®] wurde zusätzlich in Tetramethylammoniummethansulfonat (TMAMS) untersucht. Die Resultate werden mit denen des TMACl-Mediums verglichen.

In kontinuierlichen Titrations wurden 10 mM Lösungen der Komplexe mit 1.0 M HCl respektive CH₃SO₃H titriert. Dabei ist unbedingt zu beachten, dass die Komplexe bei einer Titration ins Saure zur Dissoziation neigen ($[GdL]_t = [GdL]_0 \cdot e^{-k_{Obs} \cdot t}$). Bei der Bestimmung einer Gleichgewichtskonstante ist dies natürlich von Nachteil. Deshalb müssen die Titrations relativ schnell durchgeführt werden. Um die Einstellung des Gleichgewichts zu überprüfen, werden die Lösungen direkt im Anschluss an die acidimetrische Titration alkalimetrisch mit 1.0 M KOH beziehungsweise TMAOH rücktitriert. Die vergleichsweise hohe Komplexkonzentration erlaubt dabei eine zuverlässigere Bestimmung der besonders niedrigen Protonierungskonstanten ($\log K_P < 2$). Die vom System umgesetzte Menge an H⁺ ist dadurch relativ groß. Somit bleiben pH-Änderungen im Vergleich zur hohen Protonenkonzentration in sauren Lösungen (pH < 2) für die pH-Elektrode immer noch gut messbar. Zur erfolgreichen Durchführung von Messungen in diesen kritischen pH-Bereichen liefert die Größe der pH-Änderung, bedingt durch die Protonierung des Komplexes, im Vergleich zur blanken Lösung den entscheidenden Beitrag. Diese pH-Wert-Änderung sollte dabei signifikant die Messgenauigkeit der verwendeten pH-Elektrode (± 0.01 pH) überschreiten, um die Messfehler auf den so bestimmten Konstanten möglichst gering zu halten.

Mit dieser Methode ließen sich in der Tat die Protonierungskonstanten für die beiden kinetisch relativ inerten Kontrastmittel *Gadovist*[®] und *Dotarem*[®] bestimmen. An dieser Stelle sei erwähnt, dass das Kontrastmittel *Dotarem*[®] vor der Untersuchung zunächst über einen mit TMACl konditionierten Kationenaustauscher in die Gd(dota)NMe₄ Form überführt wurde. So sollen die Messungen von eventuell in der Formulierung des Kontrastmittels vorhandenen Störeinflüssen entkoppelt werden. Bei den anderen beiden makrozyklischen Kontrastmitteln ist diese Art der Aufreinigung aufgrund der fehlenden Ladung weder möglich noch notwendig. Die Kontrastmittel *Prohance*[®] und *Gadovist*[®] wurden dementsprechend direkt titriert.

Hauptsächlich zwei Faktoren limitieren die Qualität der mit dieser Methode generierten Ergebnisse. Einerseits die Mischzeit, also die Zeit, die dem System nach Zugabe des Titrationsmittels gegeben wird, um das Gleichgewicht zu erreichen. Die Experimente haben gezeigt, dass die Titrationskurve der alkalimetrischen Rücktitration mit steigender Mischzeit zu höheren pH-Werten verschoben wird. Dies ist ein starker Hinweis auf das Einsetzen der Dissoziation der Komplexe während der acidimetrischen Hintitration. Der während der Komplexdissoziation $GdL \rightleftharpoons Gd^{3+} + HyL$ freigesetzte Ligand nimmt dann natürlich Protonen aus der Lösung auf und bewirkt bei der Rücktitration insgesamt eine leichte Erhöhung des pH-Wertes. Dies führt dazu, dass die Puffergebiete der beiden Titrationskurven nicht mehr übereinstimmen. Interpretieren lässt sich diese Tatsache letztlich nur so, dass die Einstellung des thermodynamischen Gleichgewichtes, wenn überhaupt, nur durch Wahl einer geeigneten Mischzeit erreicht werden kann. Dementsprechend wurde die Mischzeit für die drei makrozyklischen Komplexe individuell optimiert. Die Bestimmung der Protonierungskonstanten darf nur dann erfolgen, wenn Hin- und Rücktitration wirklich zur Deckung kommen. Andererseits limitiert die pH-Änderung die Bestimmbarkeit der Konstanten. Wie vorhin schon erwähnt sollte ΔpH zwischen der Titrationskurve einer starken Säure und der tatsächlich gemessenen Kurve deutlich größer als die Messgenauigkeit der pH-Elektrode sein. Für die durchgeführten Messungen ist diese Differenz etwa um den Faktor 5 bis 8 größer als die Messgenauigkeit. Dies ist zwar immer noch signifikant, aber trotzdem nicht sehr viel. Aus diesem Grund ergibt sich generell ein gewisser Fehler auf den so bestimmten Protonierungskonstanten. Die beiden Einflüsse werden exemplarisch in *Abbildung 44* für eine 10 mM *Prohance*[®]-Lösung dargestellt.

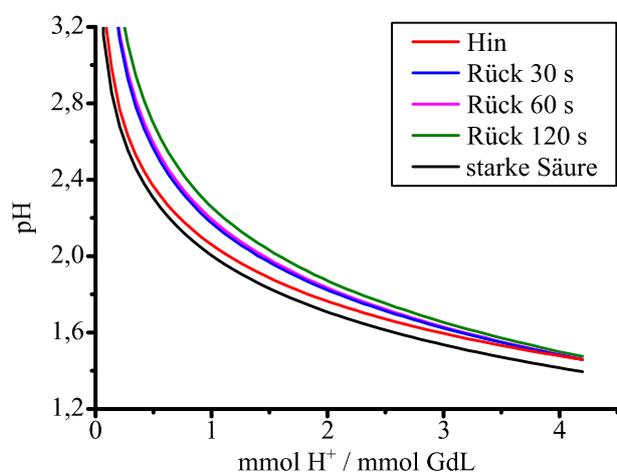


Abbildung 44: Einfluss der Mischzeit auf die Gleichgewichtseinstellung bei der acidimetrischen Titration einer 10 mM *Prohance*[®] Lösung in 1.0 M TMAcI mit 1.0 M HCl bei 25 °C. Hin: pH-Verlauf der acidimetrischen Hintitration, rück: pH-Verlauf während der alkalimetrischen Rücktitration.

An diesem Beispiel wird die Problematik sehr deutlich. Die Titrationskurve der eigentlichen Hintitration (rot) liegt sehr nah an der Titrationskurve der entsprechenden starken Säure. Es ist jedoch noch ein deutlicher Unterschied zwischen den Puffergebieten der beiden Kurven vorhanden ($\Delta\text{pH} \approx 0.05$). Dieser Unterschied ist zwar gering, er liegt aber immer noch um den Faktor 5 über der Elektrodengenauigkeit. Wäre dies der einzige zu berücksichtigende Faktor, wäre es durchaus legitim, Protonierungskonstanten aus diesem Datensatz zu berechnen. Die Abbildung zeigt allerdings auch das Verhalten des Systems bei steigender Mischzeit. Selbst bei einer Mischzeit von 30 s ist die Titrationskurve der Rücktitration deutlich zu höheren pH-Werten verschoben. Dieser Trend verschlimmert sich mit steigender Mischzeit. Es muss also davon ausgegangen werden, dass in keinem der drei Fälle das thermodynamische Gleichgewicht erreicht wird. Auf Basis dieser Tatsache wäre die Berechnung von K_1 und K_2 nun sehr fragwürdig. Die zuverlässige Bestimmung von Gleichgewichtskonstanten setzt schließlich auch das tatsächliche Vorliegen eines Gleichgewichtes voraus. Aus diesem Grund war es nicht möglich, die Protonierungskonstanten des Kontrastmittels *Prohance*[®] mit Hilfe potentiometrischer Titrationen zu ermitteln.

Aufgrund der größeren Inertie der beiden Komplexe $\text{Gd}(\text{bt-d03a})$ (*Gadovist*[®]) und $\text{Gd}(\text{dota})\text{NMe}_4$ (stellvertretend für *Dotarem*[®]) kamen die acidimetrische und die alkalimetrische Titrationskurve bei einer Mischzeit von 30 s respektive 120 s zur Deckung. Für den erst genannten Komplex wurde lediglich eine Konstante für die erste Protonierungsstufe gefunden. Im Falle von *Dotarem*[®] konnten sowohl K_1 als auch K_2 bestimmt werden. Die erhöhte Mischzeit bei $\text{Gd}(\text{dota})\text{NMe}_4$ ist aufgrund der viel langsameren Dissoziationsgeschwindigkeit der Verbindung immer noch vertretbar. Die exakten Messbedingungen für beide Komplexe sind in *Tabelle 44* dargestellt.

Im Zusammenhang mit den Resultaten sollte allerdings weiterhin bedacht werden, dass in den Titrationsen der Anteil der protonierten Spezies im Vergleich zu GdL relativ klein sein kann, je höher der Protonierungsgrad des Komplexes ist. Weiterhin ist K_1 von den Bruttobildungskonstanten β_{110} und β_{111} abhängig. Das heißt, dass sich deren Fehler auf K_1 übertragen. Gleiches gilt umso mehr für K_2 , da dessen Anteil noch geringer ist. Dieser Sachverhalt schlägt sich schließlich in den immer größer werdenden Fehlern (schon etwa 10 % bei K_2) auf den Konstanten nieder. Da diese sich aber dennoch auf einem absolut akzeptablen Niveau befinden, kann davon ausgegangen werden, dass die Konstanten mit dieser Methode relativ sicher bestimmt werden können.

Tabelle 44: Titrationsparameter und Ergebnisse der Titrationsen zur Bestimmung von K_1 und K_2 für die beiden Komplexe Gd(bt-do3a) und Gd(dota)NMe₄ bei 25 °C.

Methode	potentiometrische Titration		
	kontinuierlich		
Titrationstyp			
Komplex	Gd(bt-do3a)	Gd(dota)NMe ₄	
Inertelektrolyt	TMACl (1.0 M)	TMACl (1.0 M)	TMAMS (1.0 M)
Messungen	6	6	4
[GdL] _t [mM]	10	10	10
Messpunkte	60	60	60
Zugabe je Messpunkt [ml]	0.035	0.035	0.035
V(Titrationsmittel) [ml]	2.1	2.1	2.1
pH-Bereich	1.43 – 6.99	1.45 – ca. 7.0	1.45 – ca. 7.0
Mischzeit [s]	30	120	120
Maximale Wartezeit [s]	60	120	120
Titrationsmittel	HCl (1.0 M)	HCl (1.0 M)	CH ₃ SO ₃ H (1.0 M)
pK _w	14.0 ^[a]	14.0 ^[a]	14.0 ^[a]
log K _P ^{Gd(HL)} (log K ₁)	1.15(1)	1.22(2)	1.24(6)
log K _P ^{Gd(H₂L)} (log K ₂)	--	1.0(1)	1.1(1)
σ	0.83	1.04	1.81

^[a]: Mittelwert aus den experimentell ermittelten pK_w-Werten. Die in Klammern angegebenen Fehler entsprechen dem dreifachen Wert der mit Hyperquad berechneten Standardabweichung.

Bei der Abschätzung der Konstanten durch eine Datenanpassung an den pH-abhängigen Verlauf von k_{Obs} ergeben sich allerdings ähnliche Probleme. Die Reaktionsgeschwindigkeit wird dort bei festem pH durch die Produkte $k_1 \cdot K_1 \cdot [\text{H}^+]$ und $k_2 \cdot K_1 \cdot K_2 \cdot [\text{H}^+]^2$ festgelegt. Bei der Datenanpassung besteht also die Möglichkeit, einen kleineren Wert k_i durch einen größeren Wert K_i zu kompensieren. Explizite Werte können nur durch den pH-Verlauf der Reaktionsgeschwindigkeit bestimmt werden. Der zur Verfügung stehende pH-Bereich ist jedoch recht eng und somit ist auch hier die Unsicherheit auf K_1 und K_2 groß. Im Vergleich dazu liefert die direkte Messung dieser Konstanten mit Hilfe der potentiometrischen Titration wesentlich präzisere und zuverlässigere Resultate.

Zur Veranschaulichung der so erhaltenen Messergebnisse werden diese in Form der Verteilungsdiagramme (Abbildung 45) der beiden Komplexe dargestellt.

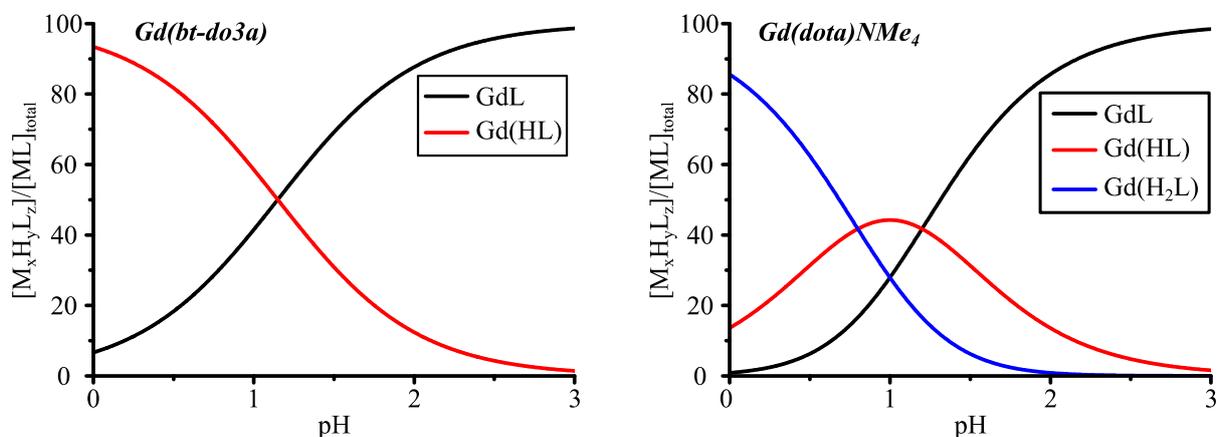


Abbildung 45: Mit HySS2009 simulierte Verteilungsdiagramme für die einzelnen Protonierungsstufen der Komplexe Gd(bt-do3a) (*Gadovist*[®]) und Gd(dota)NMe₄ (*Dotarem*[®]). [GdL]_t = 10 mM, 1.0 M TMACl, 25 °C.

Die gemessenen Konstanten stimmen gut miteinander überein. Aufgrund der ähnlichen Struktur der beiden Komplexe ist es schließlich auch nicht zu erwarten, dass einer der beiden Komplexe signifikant saurer reagiert als der andere. Auch zwischen den beiden Medien TMAMS und TMACl ergeben sich keine großen Abweichungen. Beide Komplexe lassen sich in sauren Medien protonieren. Sie reagieren als sehr schwache Basen. Die auf diese Weise bestimmten Protonierungskonstanten wurden beim Fit an den pH-abhängigen Verlauf von k_{Obs} fest vorgegeben, um das Daten-zu-Parameter-Verhältnis zu verbessern.

In der Literatur sind zahlreiche Werte für die Protonierungskonstanten dokumentiert [z. B. 95,96]. Diese wurden in einem ausführlichen Übersichtsartikel zusammengetragen.^[97] Auffällig ist dabei vor allem, dass sie sich teilweise um mehr als eine ganze Zehnerpotenz voneinander unterscheiden. Sie erstrecken sich damit über den Bereich $1.1 \leq \log K_{\text{P}}^{\text{Gd}(\text{H}_x\text{L})} \leq 2.8$. Darüber hinaus unterscheiden sich häufig die Messmethoden sowie die Ionenstärke und die Art des Inertelektrolyten. Eine Zusammenfassung der Daten findet sich in *Tabelle 45*. Diese Umstände gestalten den Vergleich der Daten sehr schwierig. Vom Standpunkt dieser Arbeit aus betrachtet, sind vor allem die Konstanten > 2.0 kritisch einzustufen. Nach den hier angewendeten Teilchenmodellen und der Führung der potentiometrischen Titrationskurven hätten diese Spezies sehr einfach detektierbare Puffergebiete in den Titrationskurven ergeben müssen. Schließlich ist die Bestimmung von Protonierungskonstanten oberhalb pH 2.0 selbst bei niedrigen Ligand- beziehungsweise Komplexkonzentrationen ohne Probleme möglich. Solche Puffergebiete konnten allerdings in keiner der durchgeführten Messungen bei keinem Komplex gefunden werden.

Tabelle 45: Literaturbekannte Protonierungskonstanten $\log K_P^{\text{Gd}(\text{H}_x\text{L})^{x+}}$ der Komplexe makrozyklischer Gd(III)-haltiger MRT-Kontrastmittel bei einer Temperatur von 25 °C.

	$\log K_P^{\text{Gd}(\text{HL})}$				$\log K_P^{\text{Gd}(\text{H}_2\text{L})}$			
Gd(hp-do3a) <i>Prohance</i> [®]	2.4	<i>Sp.</i>	0.1 M NaCl	[⁹⁷]	--	--	--	--
	1.1	<i>Pot.</i>	0.1 M NaCl	[⁹⁵]	--	--	--	--
	--	--	1.0 M TMACl	[a]	--	--	--	--
Gd(bt-do3a) <i>Gadovist</i> [®]	1.24	<i>Pot.</i>	0.1 M NaCl	[97]	--	--	--	--
	1.15	<i>Pot.</i>	1.0 M TMACl	[a]	--	--	--	--
Gd(dota) ⁻ <i>Dotarem</i> [®]	2.8	<i>Sp.</i>	0.1 M NaCl	[⁹⁷]	--	--	--	--
	2.3	<i>Pot.</i>	0.1 M KCl	[⁹⁶]	--	--	--	--
	1.35	<i>Pot.</i>	0.1 M NaCl	[⁹⁸]	--	--	--	--
	1.22	<i>Pot.</i>	1.0 M TMACl	[a]	1.0	<i>Pot.</i>	1.0 M TMACl	[a]
	1.24	<i>Pot.</i>	1.0 M TMAMS	[a]	1.1	<i>Pot.</i>	1.0 M TMACl	[a]

$K_P^{\text{Gd}(\text{H}_x\text{L})^{x+}} = [\text{Gd}(\text{H}_x\text{L})] \cdot [\text{Gd}(\text{H}_{x-1}\text{L})]^{-1} \cdot [\text{H}^+]^{-1}$, *Pot.*: potentiometrische Titration, *Sp.*: Spektrophotometrie, [a]: Ergebnisse dieser Arbeit.

Dementsprechend ist die Gültigkeit derart hoher Protonierungskonstanten äußerst zweifelhaft.

Kontrastmittel mit offenkettigen Liganden lassen sich aufgrund ihrer hohen kinetischen Labilität in sauren Medien nicht untersuchen. Wenn selbst beim makrozyklischen *Prohance*[®] schon kein Gleichgewicht erreicht werden kann, so wird dieses bei den offenkettigen Derivaten erst recht nicht der Fall sein. Die Bestimmung von Gleichgewichtskonstanten macht dann keinen Sinn.

Zu Anfang des Kapitels wurde die Möglichkeit der Reaktion der Komplexe $\text{GdL}(\text{H}_2\text{O})$ mit der Lewis-Base OH^- erwähnt. Der $\text{p}K_s$ -Wert des komplexgebundenen Wassers lässt sich ganz analog zu den vorherigen Experimenten aus einer simplen alkalimetrischen Titration gemäß den Gleichungen (66) und (67) berechnen.



Grundvoraussetzung für die Sinnhaftigkeit der so erhobenen Konstante ist natürlich, dass der Komplex im basischen nicht signifikant dissoziiert (*Abbildung 6 b*).

Für kontinuierliche alkalimetrische Titrations der makrozyklischen Verbindungen wurden die Kontrastmittel *Prohance*[®] und *Gadovist*[®] direkt auf die Messkonzentration von 10 mM verdünnt und mit 1.0 M KOH titriert. So kann die Deprotonierung des komplexgebundenen Wassers direkt und sehr schnell ausgehend von der neutralen Lösung des Kontrastmittels untersucht werden. Um sicherzustellen, dass der Ligand tris (Tris(hydroxymethyl)-aminomethan), welcher in beiden Kontrastmitteln enthalten ist, keinen störenden Einfluss auf die Titration hat, wurde dessen pK_S -Wert zunächst im 1.0 M TMACl Medium bestimmt und in weiteren Auswertungen konstant vorgegeben.

Tabelle 46: Titrationsparameter und Ergebnisse der Titrations zur Bestimmung der pK_S -Werte von tris und den Komplexen [Gd(hp-do3a)(H₂O)], [Gd(bt-do3a)(H₂O)] und [Gd(dota)(H₂O)]⁻ bei 25 °C.

Methode	potentiometrische Titration			
	Titrationstyp	kontinuierlich		diskontinuierlich
Ligand/Komplex	tris	<i>Prohance</i> [®]	<i>Gadovist</i> [®]	dota ⁴⁻
Inertelektrolyt		TMACl (1.0 M)		TMAMS (1.0 M)
Messungen	4	4	4	2
[L] _t bzw. [GdL] _t [mM]	10	10	10	10
Messpunkte	40	40	40	40
Zugabe je Messpunkt [ml]	0.028	0.030	0.030	0.020
V(Titrationsmittel) [ml]	1.12	1.20	1.20	0.80
pH-Bereich	3.82 – 12.11	6.38 – 12.21	6.48 – 12.19	1.74 – 11.68
Mischzeit	60 s	60 s	60 s	22 d
Maximale Wartezeit [s]	180	180	180	--
Titrationsmittel		KOH (1.0 M)		TMAOH (1.0 M)
pK_W		14.0 ^[a]		14.0 ^[a]
pK_S	8.21(1)	11.20(1)	9.39(2)	11.4(3)
σ	1.19	1.02	1.31	1.69

^[a]: Mittelwert aus den experimentell ermittelten pK_W -Werten. $pK_S = -\log K_S$. Die in Klammern angegebenen Fehler entsprechen dem dreifachen Wert der mit Hyperquad berechneten Standardabweichung.

Stellvertretend für *Dotarem*[®] wurde eine diskontinuierliche Batch-Titration des Liganden dota⁴⁻ mit Gd³⁺ verwendet, um den pK_S -Wert zu bestimmen. In diesem Fall war es sinnvoll, den Wert auf diese Weise zu bestimmen, da die Batch-Titration ohnehin notwendig war, um die Konstanten im TMAMS-Medium neu zu bestimmen.

Es wäre nicht sinnvoll gewesen, das extrem zeitaufwendige Verfahren auch für die beiden anderen Komplexe anzuwenden. Die Resultate und die exakten Messbedingungen der Titrations sind in *Tabelle 46* aufgelistet. Für monoanionisches $[\text{Gd}(\text{dota})(\text{H}_2\text{O})]^-$ ist in alkalischen Medien eine Deprotonierung nachweisbar ($\text{p}K_{\text{S}} = 11.4(3)$). Gestützt wird dieses Ergebnis weiterhin durch einen Vergleich mit den in früheren Studien der Arbeitsgruppe generierten Datensätzen im TMACl-Medium. Dort wird für die Konstante ein Wert von 11.7 gefunden^[32]. Dieser Wert ist mit einem relativ großen Fehler versehen, da in der damaligen Batch-Titration gerade im alkalischen Bereich nur sehr wenige Messpunkte zur Verfügung standen. Unter Berücksichtigung der Standardabweichung im TMAMS-Medium wird jedoch klar, dass beide Werte im Grunde identisch sind. Die neue Messung sichert damit den ursprünglichen Messwert ab.

Das nicht-ionische Kontrastmittel *Prohance*[®] ($[\text{Gd}(\text{hp-do3a})(\text{H}_2\text{O})]$) reagiert im Vergleich nur minimal saurer ($\text{p}K_{\text{S}} = 11.2$). *Gadovist*[®] ($[\text{Gd}(\text{bt-do3a})(\text{H}_2\text{O})]$) hingegen übersteigt die Säurestärke des letztgenannten Kontrastmittels sogar um zwei Größenordnungen ($\text{p}K_{\text{S}} = 9.4$). Dieses Ergebnis ist recht überraschend. Es scheint zunächst nicht plausibel, warum sich die Acidität des komplexgebundenen Wassermoleküls bei den strukturell eng verwandten Verbindungen so stark unterscheiden soll. Eine plausible Erklärung könnte darin bestehen, dass die koordinierte alkoholische OH-Gruppe anstatt des Wassermoleküls deprotoniert wird (*Abbildung 46*).

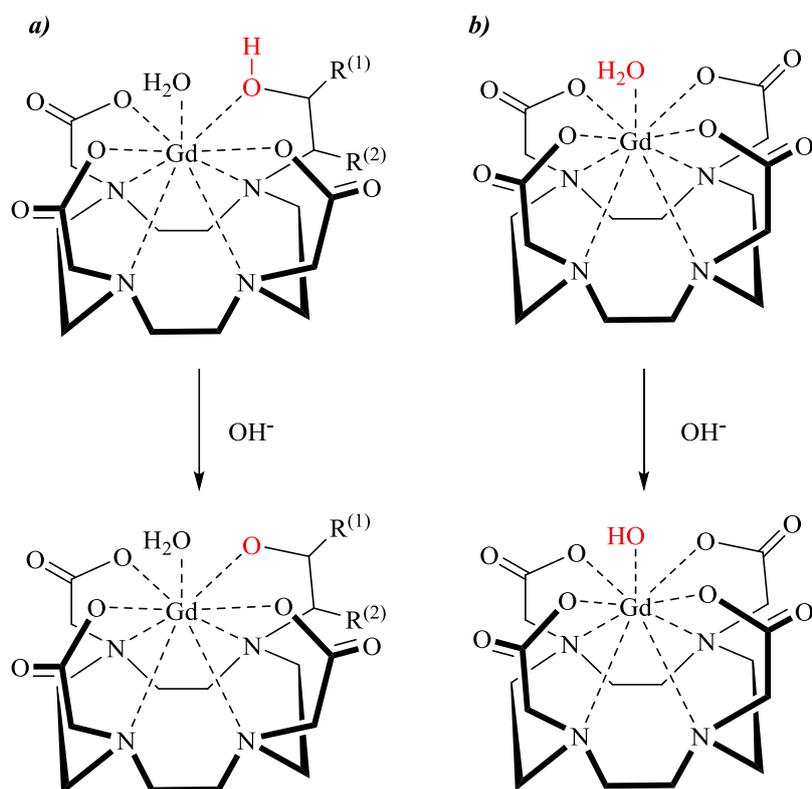


Abbildung 46: Deprotonierung von a) *Prohance*[®]/*Gadovist*[®] und b) *Dotarem*[®].

In der Regel ist ein aliphatischer Alkohol zwar weniger acide als Wasser. Es ist allerdings bekannt, dass die Acidität bei protischen Chelatliganden eine Steigerung um mehrere Größenordnungen im Vergleich zu ihren monodentaten Analoga erfährt.

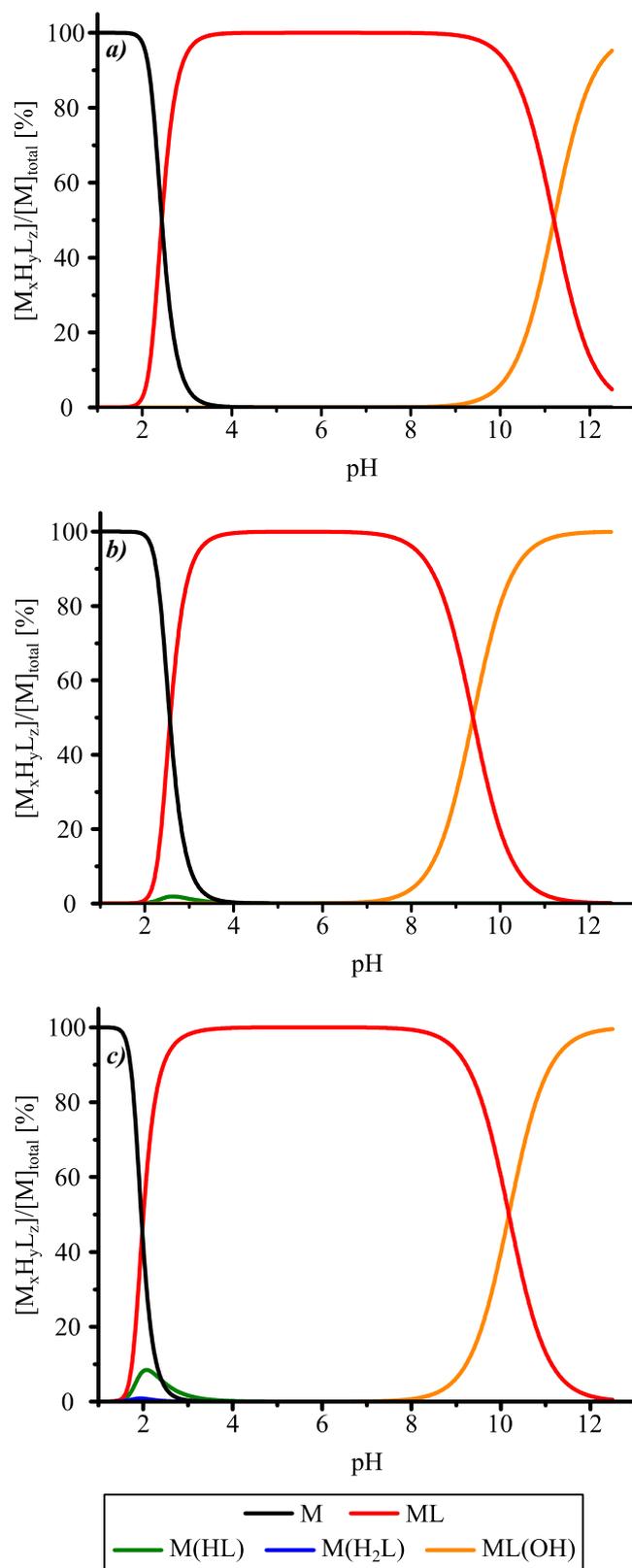


Abbildung 47: Mit HySS2009 berechnete Verteilungsdiagramme auf Basis des nun vollständigen Teilchenmodells mit Gd^{3+} als Grundkomponente. a) $Gd(hp\text{-do3a})$ (*Prohance*[®]), b) $Gd(bt\text{-do3a})$ (*Gadovist*[®]), c) $Gd(dota)NMe_4$ (*Dotarem*[®]). $[Gd^{3+}]_t = [L]_t = 10 \text{ mM}$, 1.0 M TMACI/TMAMS, 25 °C.

Der pK_s des koordinierten Wassermoleküls im Komplex $Co^{III}(en)_2(NH_3)(OH_2)^{3+}$ beträgt zum Beispiel 6.0, wohingegen die koordinierte OH-Gruppe im Komplex $Co^{III}(en)_2(NH_2-CH_2-CH_2-OH)^{3+}$ einen pK_s -Wert von nur noch 3.5 hat.^[99] Die Hypothese der Deprotonierung eines aliphatischen Alkohols wird weiterhin durch die Literatur gestützt.^[95] Dort wurden nahezu identische pK_s -Werte mit Hilfe potentiometrischer Titrations bei 25 °C in 0.1 M NaCl Medium für die beiden neutralen Komplexe gefunden ($pK_s = 11.36$ für $[Gd(hp\text{-do3a})(H_2O)]$ und $pK_s = 9.48$ für $[Gd(bt\text{-do3a})(H_2O)]$). Demnach ist es absolut plausibel, dass in den Kontrastmitteln *Prohance*[®] und *Gadovist*[®] die alkoholische Hydroxygruppe und nicht das Wassermolekül deprotoniert wird. Die größere Acidität der letzteren Verbindung resultiert dabei aus den zusätzlichen OH-Gruppen im Polyalkohol. Ein Beispiel für die Bekanntheit dieses Effektes

stellt Xylit dar, welches etwa einhundert Mal acider reagiert ($pK_s = 13.8(2)$)^[100], als ein einwertiger aliphatischer Alkohol ($pK_s = 16 - 17$). Ein Vergleichswert für den Komplex $[Gd(dota)(H_2O)]^-$ konnte in der Literatur nicht gefunden werden.

Dementsprechende alkalimetrische Titrations der Komplexe mit den offenkettigen Liganden (dtpa⁵⁻, eob-dtpa⁵⁻, dtpa-bma³⁻, dtpa-bmea³⁻) lieferten keine Hinweise auf die untersuchte Deprotonierung. Der entsprechende pK_s-Wert kann somit auf > 13 eingegrenzt werden.

Besonders interessant war dabei das Verhalten der beiden Diamide dtpa-bma³⁻/bmea³⁻. Dort kann bereits während der Titration die Bildung von festem Gd(OH)₃ beobachtet werden. Die initiale Deprotonierung des komplexgebundenen Wassers verursacht offensichtlich eine Labilisierung der Komplexe, die zur raschen Freisetzung von Gd³⁺ und in der Folge zur Fällung von Gadoliniumhydroxid führt. Es ist naheliegend, die Beobachtung als Auswirkung einer Basenkatalyse zu interpretieren. Die Fällung von Gd(OH)₃ findet bei Erreichen des kritischen pH-Wertes von 9.4 statt. Die beobachtete basenkatalytische Labilisierung der Komplexe durch Deprotonierung eines protischen Liganden wurde für viele Metallkomplexe nachgewiesen. Es sollte nun eine Überlegung wert sein, ob ein solcher Mechanismus auch für *Gadovist*[®] relevant sein könnte. Die Acidität der koordinierenden OH-Gruppe des Polyolsubstituenten ist im Vergleich zu den anderen Kontrastmitteln deutlich erhöht (pK_s = 9.4). Bei physiologischem pH liegt also immerhin 1 % des Komplexes in der deprotonierten Form Gd(H₋₁L)(H₂O) vor. Es stellt sich nun die Frage, ob die leichte Deprotonierbarkeit dieses Komplexes dazu führt, dass dieser unter physiologischen Bedingungen deutlich labiler als die anderen Kontrastmittel reagiert.

In *Abbildung 47* sind die Verteilungsdiagramme auf Basis der nun vervollständigten Teilchenmodelle (*Tabelle 2*) für die Komplexe makrozyklischer Liganden dargestellt. An der Grafik wird deutlich, dass der Anteil der protonierten Spezies sehr gering ist, wenn als Grundkomponente das Gd³⁺ des vollständig dissoziierten Komplexes verwendet wird. Dies ist leicht nachvollziehbar. Wird für das Teilchenmodell davon ausgegangen, dass das Gleichgewicht im sauren Medium hauptsächlich auf der Seite von Gd³⁺ und H_xL liegt, so muss der Gleichgewichtsanteil der protonierten Komplexspezies M(H_xL) entsprechend gering ausfallen, da der Gleichgewichtsanteil des Komplexes ebenfalls sehr gering ist. Diese Darstellung verdeutlicht also noch einmal, warum die Bestimmung der Protonierungskonstanten des Komplexes (*K*₁ und *K*₂) am besten aus einer neutralen Komplexlösung durch acidimetrische Titration erfolgen sollte. Bei einer alkalimetrischen Titration sind die Gleichgewichtsanteile der entsprechenden Spezies viel zu gering, um zuverlässige Aussagen über die Lage des Gleichgewichtes machen zu können. Die obige Darstellung dient also tatsächlich nur der Veranschaulichung der Teilchenverteilung unter Berücksichtigung aller auftretender Spezies.

Zu Anfang des Kapitels wurde bereits erwähnt, dass die pK_s -Werte und Komplexbildungskonstanten des Liganden dota^{4-} mit Gd^{3+} im 1.0 M TMAMS-Medium erneut bestimmt wurden, um sicherzustellen, dass sich dort keine signifikanten Abweichungen vom bisherigen Teilchenmodell ergeben.

Die Verwendung von TMAMS ist gerade bei pH-stat Messungen essenziell, da bei hohen Komplexkonzentrationen (70 mM) im TMACl Medium ein Feststoff der Form $[\text{Gd}(\text{H}_2\text{dota})(\text{H}_2\text{O})]\text{Cl}\cdot\text{H}_2\text{O}$ ausfällt und so die Messung stört. Zur besseren Vergleichbarkeit erfolgten die Messungen exakt unter denselben Bedingungen wie in meiner Master-Arbeit.^[32] Bei den Messungen ergaben sich kaum Auffälligkeiten. Die Messparameter finden sich in *Tabelle 47*.

Tabelle 47: Titrationsparameter und Ergebnisse der Titrations zur Neubestimmung der pK_s -Werte und Stabilitätskonstanten von dota^{4-} bei 25 °C

Methode	potentiometrische Titration
Titrationstyp	Kontinuierlich/diskontinuierlich
Ligand	dota^{4-}
Inertelektrolyt	TMAMS (1.0 M)
Messungen	8 (pK_s)/2 (Komplexbildung)
$[\text{L}]_t$, $[\text{Gd}]_t$ [mM]	10 mM, 10 mM
$[\text{H}^+]_t$ [mM]	70 mM/70 mM
Messpunkte	120/40
Zugabe je Messpunkt [ml]	0.038/0.02
V(Titrationsmittel) [ml]	4.56/0.78
pH-Bereich	1.77 – 12.51/1.71 – 11.68
Mischzeit	120 s/22 d
Maximale Wartezeit	120 s/--
Titrationmittel	TMAOH (1.0 M)
pK_w	14.0 ^[a]

^[a]: Mittelwert aus den experimentell ermittelten pK_w -Werten.

Ein Vergleich der Ergebnisse (*Tabelle 48*) in den beiden Medien zeigt eine sehr gute Übereinstimmung der Konstanten. Lediglich der basischste pK_S -Wert liegt im TMAMS-Medium um etwa 0.5 log K -Einheiten über dem im TMAcI-Medium. Der höhere Fehler auf dieser Konstante resultiert aus ihrer Höhe. Der Wert ist so basisch, dass das Teilchen im untersuchten pH-Bereich zu weniger als 20 % vorliegt. Unter Berücksichtigung des extrem niedrigen ΔpH (0.02) zwischen Messkurve und der durch den pK_W definierten oberen pH-Grenze wird klar, dass der Fehler relativ groß sein muss. Der Grund für die Erhöhung dieses pK_S -Wertes ist nicht bekannt. Es ist jedoch naheliegend, dass die Veränderung durch eine Wechselwirkung mit dem Inertsalz hervorgerufen wird.

Tabelle 48: Vergleich der log K -Werte und Komplexbildungskonstanten von dota^{4-} bzw. $\text{Gd}(\text{dota})(\text{H}_2\text{O})$ in den beiden Medien 1.0 M TMAMS^[a] (diese Arbeit) und 1.0 M TMAcI^[b] (Master-Arbeit^[32]) bei 25 °C mit den Literaturwerten in 0.1 M TMAcI^[8].

Spezies	log $K(\text{Gd}_x\text{H}_y\text{L}_z)^{[a]}$	log $K(\text{Gd}_x\text{H}_y\text{L}_z)^{[b]}$	log $K(\text{Gd}_x\text{H}_y\text{L}_z)^{[8]}$
Hdota³⁻	13.23(6)	12.74(1)	11.45(2)
H₂dota²⁻	9.58(1)	9.66(1)	9.64(1)
H₃dota⁻	4.59(1)	4.60(1)	4.60(1)
H₄dota	4.12(1)	4.15(1)	4.11(1)
H₅dota⁺	2.33(1)	2.36(1)	2.29(2)
H₆dota²⁺	1.79(2)	1.78(2)	--
Gd(dota)⁻	26.49(4)	26.26(5)	25.58(5)
Gd(Hdota)	1.24(6)	1.22(3)	--
Gd(H₂dota)⁺	1.1(1)	1.0(1)	--
Gd(dota)⁻(H₂O)	11.4(3)	--	--

$$K_P^{\text{Gd}(\text{H}_x\text{L})^{x+}} = [\text{Gd}(\text{H}_x\text{L})] \cdot [\text{Gd}(\text{H}_{x-1}\text{L})]^{-1} \cdot [\text{H}^+]^{-1}, K_P^{\text{GdL}(\text{H}_2\text{O})} = [\text{GdL}(\text{H}_2\text{O})] \cdot [\text{GdL}(\text{OH})]^{-1} \cdot [\text{H}^+]^{-1}, K_i = [\text{LH}_i] \cdot [\text{LH}_{i-1}]^{-1} \cdot [\text{H}^+]^{-1}, K_{\text{GdL}} = [\text{GdL}] \cdot [\text{Gd}^{3+}]^{-1} \cdot [\text{L}]^{-1}.$$

Es ist zum Beispiel bekannt, dass intramolekulare N-H...O Wasserstoffbrücken zwischen dem Proton einer Aminogruppe und einem Sauerstoff einer benachbarten Aminoacetatgruppe zur Erhöhung des basischsten pK_S -Wertes der Makrozyklen führen können.^[101–103] Es wäre durchaus denkbar, dass die Methansulfonatgruppe H_3CSO_3^- anstelle der Aminoacetatgruppe zu einer weiteren Stabilisierung der H-Brücke und damit zu der beobachteten Erhöhung des pK_S führt. Letztlich kann aber anhand der Datenlage keine sichere Erklärung festgemacht werden.

Es kann jedoch mit Sicherheit gesagt werden, dass ein derart hoher pK_S -Wert überhaupt keinen Einfluss auf den mittleren Protonierungsgrad des Liganden hat, welcher letztlich für die Auswertung bei der pH-stat Methode entscheidend ist. Die Verwendung der Konstanten aus den verschiedenen Medien führt also zur Berechnung identischer Geschwindigkeitskonstanten k_{obs} . Der Übersicht halber wird an dieser Stelle die Teilchenverteilung für die Spezies dota^{4-} bis $\text{H}_6\text{dota}^{2+}$ abgebildet. Das Verteilungsdiagramm für die verbleibenden Spezies findet sich in *Abbildung 47 c*), S. 154. Entsprechende Werte sind in der Literatur für 1.0 M Medien nicht bekannt. Ein Vergleich ist deshalb nur mit Konstanten aus dem 0.1 M TMACl Medium möglich. Die Deprotonierungskonstanten $pK_{S,2}$ bis $pK_{S,5}$ stimmen gut miteinander überein (*Tabelle 48*).

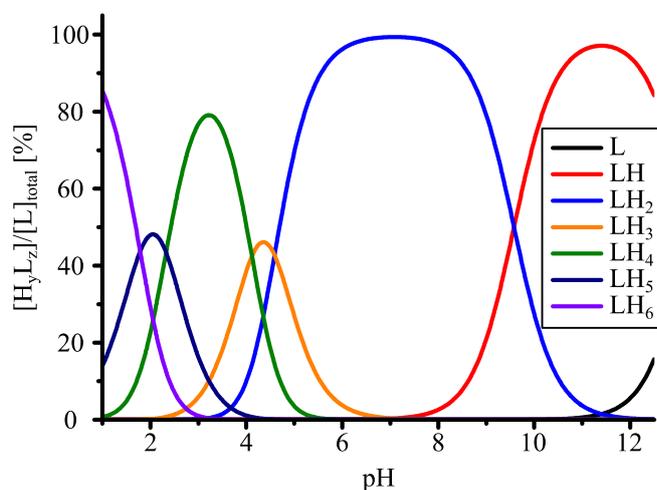


Abbildung 48: Mit HySS2009 berechnetes Verteilungsdiagramm des Liganden dota^{4-} auf Basis der neuen pK_S -Werte im TMAMS-Medium. $[\text{L}]_t = 10 \text{ mM}$, 1.0 M TMAMS, 25 °C.

Der Grund dafür, dass $pK_{S,6}$ im 0.1 M Medium deutlich niedriger ist, liegt in der verwendeten Base. Diese ist, passend zur Ionenstärke, ebenfalls nur 0.1 M. Deshalb werden am Ende der Titration insgesamt niedrigere pH-Werte erreicht. Letztlich kann dies dazu führen, dass der basischste pK_S -Wert fälschlicherweise zu niedrig liegt. In der Folge ist auch die Komplexbildungskonstante in diesem Medium in etwa eine $\log K$ -Einheit niedriger. Für die Protonierungskonstanten der drei makrozyklischen Komplexe sowie für die Deprotonierung des komplexgebundenen Wassermoleküls konnten keine entsprechenden Resultate in der Literatur gefunden werden.

Abschließend sollen noch einige Punkte bezüglich des Vorgehens und der Wahl der Titrationsparameter näher erläutert werden.

i) Titrations zur Bestimmung der Protonierungskonstanten der makrozyklischen Spezies $\text{Gd}(\text{H}_x\text{L})$ können aufgrund der in der Regel raschen Gleichgewichtseinstellung bei Protonenreaktionen kontinuierlich acidimetrisch durchgeführt werden. Als Kriterium für die Einstellung des Gleichgewichtes wird die Überlagerung einer alkalimetrischen und einer acidimetrischen Titration ein und derselben Probenlösung herangezogen. Kommen beide Kurven zur Deckung, wird das thermodynamische Gleichgewicht bei der gegebenen Mischzeit erreicht.

ii) Titrations zur Bestimmung des $\text{p}K_{\text{S}}$ -Wertes des komplexgebundenen Wassers $\text{GdL}(\text{H}_2\text{O})$ können ganz analog kontinuierlich alkalimetrisch durchgeführt werden. Alternativ ist die Bestimmung dieses Wertes auch durch alkalimetrische Titration einer Lösung aus Gd^{3+} und L^y möglich. Dann muss allerdings auf ein diskontinuierliches Batchverfahren zurückgegriffen werden, da die Gleichgewichtseinstellung der Komplexbildung mehrere Tage bis Wochen dauern kann. Auch hierbei dient eine zeitabhängige Potentialmessung als Maß für die Gleichgewichtseinstellung.

iii) Sowohl für Titrations ins stark Saure (K_1 und K_2 , $\text{Gd}(\text{H}_x\text{L})$) als auch ins stark Basische ($\text{p}K_{\text{S}}^{\text{GdL}(\text{H}_2\text{O})}$) hat sich eine erhöhte Komplex- bzw. Metall- und Ligandkonzentration (in diesem Fall 10 mM) als hilfreich erwiesen. In sauren Medien führt dies einerseits dazu, dass pH-Änderungen ($\Delta\text{pH} > 0.01$) im Vergleich zur ohnehin hohen Protonenkonzentration in Lösung stärker ins Gewicht fallen, was die Bestimmung besonders niedriger $\text{p}K_{\text{S}}$ -Werte erleichtert und zuverlässiger gestaltet. Andererseits ist es möglich zu Beginn einer alkalimetrischen Titration einen tieferen pH-Wert zu erreichen.

Dies ist deshalb so wichtig, weil gerade thermodynamisch sehr stabile Komplexe, wie es die Makrozyklen nun einmal sind, nur bei ausreichend tiefem pH in signifikanten Mengen dissoziiert vorliegen. Etwas Ähnliches gilt auch für den basischen pH-Bereich. Durch Erhöhung der Konzentration der zu untersuchenden Spezies können auch höher konzentrierte Laugen verwendet werden, ohne die Ionenstärke zu ändern. Dadurch werden gegen Ende einer alkalimetrischen Titration insgesamt höhere pH-Werte erreicht. Damit wird auch die Bestimmung von besonders hohen $\text{p}K_{\text{S}}$ -Werten ($\text{p}K_{\text{S}} > 12$) möglich.

iv) Bereits in früheren Studien hat sich herausgestellt, dass der pK_W , also der negative dekadische Logarithmus des Ionenproduktes von Wasser, einen relativ starken Einfluss auf die Bestimmung hoher pK_S -Werte ($pK_S > 12$) hat.^[31,32,57] Da die Berechnungen für alle weiteren pK_S -Werte auf dem höchsten Wert beruhen, ist die genaue Kenntnis des pK_W von essenzieller Bedeutung für die Bestimmung von Bildungskonstanten. Gerade im TMAcI Medium erstrecken sich die literaturbekannten Werte für den pK_W über einen relativ großen Bereich. Über einen Konzentrationsbereich von 0.1 M bis 5.5 M TMAcI wurden pK_W -Werte von 13.73 bis 16.23 dokumentiert. Des Weiteren unterscheiden sich die Methoden im experimentellen Vorgehen zur Bestimmung der Werte.^[104] Aus diesen Gründen wurde in dieser Arbeit stets der experimentell ermittelte pK_W verwendet.

2.8. Strukturaufklärung im Festkörper

Im Laufe dieser Arbeit wurde bereits mehrfach darauf hingewiesen, dass vor allem der Ligand dota^{4-} bzw. sein Komplex $\text{Gd}(\text{dota})^-$ (*Dotarem*[®]) außergewöhnliche komplexchemische Eigenschaften besitzt. Seine Fähigkeit, besonders stabile Komplexe zu bilden, führt offensichtlich zu einer signifikanten Komplexierung auch anderer Ionen als Gd^{3+} . Dabei ist seine Selektivität bezüglich Gadolinium nicht sehr stark ausgeprägt. Während den Experimenten dieser Studie kam es deswegen immer wieder zur Fällung störender Festkörper, in denen die Ionen des Hintergrundmediums komplexiert wurden. Vor allem auch aufgrund der Tatsache, dass die Existenz protonierter Komplexspezies ($\text{Gd}(\text{H}_x\text{L})$) zwar in der Literatur bekannt ist, ein struktureller Beweis aber bisher fehlte, war die Aufklärung der Struktur der Festkörper von besonderem Interesse.

2.8.1. Strukturaufklärung von $[\text{Gd}(\text{H}_2\text{dota})(\text{H}_2\text{O})]\text{Cl}\cdot\text{H}_2\text{O}$

Die Fällung eines weißen Feststoffes störte zunächst die pH-stat Titration des Kontrastmittels *Dotarem*[®] (70 mM). Die Niederschlagsbildung tritt bei Messungen in sauren, TMACl-haltigen (1.0 M) Medien ($\text{pH} < 2.5$) leicht verzögert nach der Einstellung (> 10 min) des Regel-pH auf. Es sei erwähnt, dass vor allem auch die Totalkonzentration $[\text{GdL}]_t$ einen entscheidenden Einfluss darauf hat, ob die kritische Konzentration zur Fällung überhaupt überschritten wird oder nicht. In 10 mM Lösungen der Kontrastmittel konnte keine Niederschlagsbildung beobachtet werden. Da die Bildung bereits kurz nach Reaktionsbeginn auftrat, lag die Vermutung nahe, dass es sich bei dem Feststoff um den ursprünglich eingesetzten, noch weitgehend undissoziierten Komplex handelt. Dieser musste allerdings so modifiziert sein, dass die Löslichkeit im Vergleich zu *Dotarem*[®] signifikant verringert wird. Eine plausible Modifikation des Komplexes in derart sauren Medien wäre schließlich die in der Literatur häufig erwähnte Protonierung.^[66,67,73,105] Zunächst wurde die Annahme, dass es sich um eine intakte Gd(III)-haltige Spezies handelt, mit Hilfe von ^1H -NMR-Spektren überprüft. Dazu wurde ein Spektrum des reinen Liganden H_4dota mit dem des zuvor filtrierten und getrockneten, unbekanntem Feststoffs überlagert (*Abbildung 49*). Die deutlich sichtbare Linienverbreiterung deutet darauf hin, dass die unbekannte Verbindung tatsächlich Gd^{3+} enthält. Es ist literaturbekannt, dass paramagnetische Metalle zu einer Linienverbreiterung in NMR-Spektren führen.^[106,107] Anhand der Spektren lässt sich zwar mit Sicherheit sagen, dass der unbekannte Festkörper Gd(III) enthalten muss, seine strukturelle Beschaffenheit lässt sich mit Hilfe der NMR-Spektroskopie jedoch nicht aufklären.

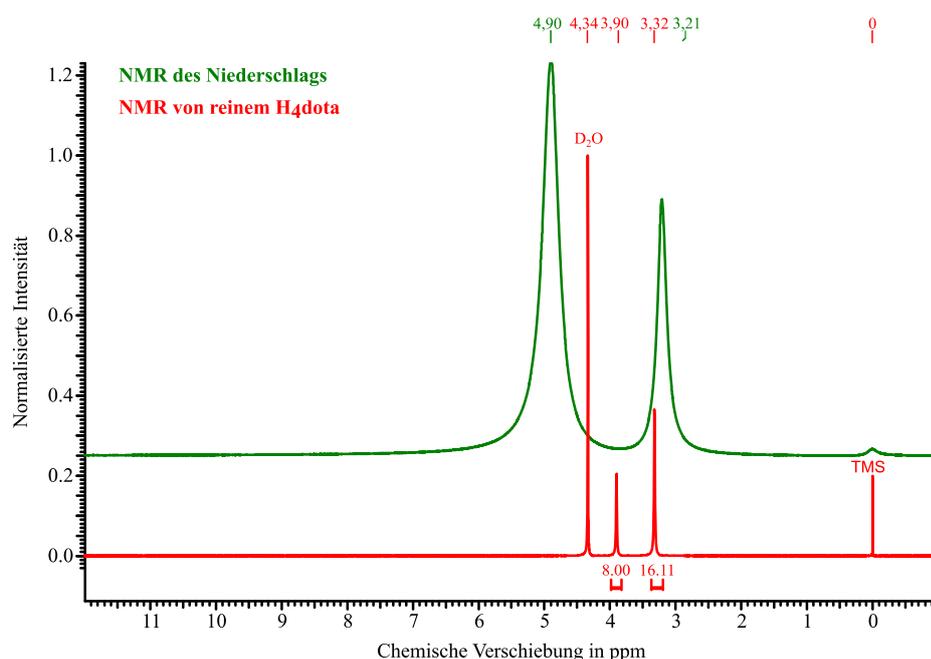


Abbildung 49: Überlagerung der ¹H-NMR-Spektren (400 MHz) von H₄dota (rot) und dem unbekanntem Feststoff (grün), jeweils in D₂O gelöst.

Zur endgültigen Aufklärung der Struktur wurden aus dem Feststoff Kristalle hergestellt. Dazu wurde der getrocknete, schlecht wasserlösliche Feststoff in wenig Wasser suspendiert und schließlich durch gelindes Erwärmen aufgelöst. Während des langsamen Abkühlens auf Raumtemperatur bildeten sich transparente, stäbchenförmige Kristalle, die zur Kristallstrukturanalyse geeignet waren. Die Kristalle sind von hoher Qualität ($R = 4.23\%$, $wR2 = 9.21\%$) und besitzen die Zusammensetzung $[\text{Gd}(\text{H}_2\text{dota})(\text{H}_2\text{O})]\text{Cl}\cdot\text{H}_2\text{O}$. Die Verbindung kristallisiert in der chiralen, orthorhombischen Raumgruppe $P 2_1 2_1 2_1$. Dementsprechend verfügt sie über drei Schraubenachsen entlang der kristallographischen Hauptachsen (a , b , c). Die Symmetrioperationen bestehen jeweils aus einer Drehung um 180° gekoppelt mit einer Parallelverschiebung um $a/2$, $b/2$ beziehungsweise $c/2$. Die Gestalt der Gd(dota)-Einheit folgt einem wohl bekannten Muster. Das Gd(III)-Ion wird dabei von vier Ringstickstoffatomen und von vier Carboxylaten koordiniert. Der Makrozyklus liegt in der (3,3,3,3)-B Konformation^[108] vor. Die verbleibende neunte Koordinationsstelle wird von einem Wassermolekül besetzt. Die Annahme, der Komplex läge in einer protonierten Form vor, konnte mit Hilfe der Röntgenbeugungsdaten bestätigt werden. Pro Gd(dota)-Einheit sind zwei direkt benachbarte Carboxylatgruppen jeweils am nicht koordinierenden Ketosauerstoffatom³ protoniert (H5O und H7O). Die beiden funktionellen Gruppen binden jedoch weiterhin an Gd^{3+} .

³ Die genaue Lage des Protons ist nicht exakt bestimmbar. Die Position des Protons wurde lediglich anhand der Lage von Wasserstoffbrückenbindungen festgemacht. Der besseren Nachvollziehbarkeit halber wird allerdings auch im weiteren Verlauf der Arbeit von protonierten Ketosauerstoffen gesprochen, wohlwissend, dass die Protonierung wahrscheinlich zu einer Delokalisierung der Ladung führt, weshalb strenggenommen kein doppelt gebundenes Sauerstoffatom mehr vorliegen muss.

Dieser Befund war zunächst überraschend, geht man in der Komplexchemie doch eigentlich davon aus, dass nur vollständig deprotonierte Carboxylatgruppen eine Bindung mit dem Zentralkation eingehen. In der Literatur ist dieses Verhalten allerdings bekannt. Es wurde unter anderem für den dimeren $[\text{Ni}(\text{dota})]$ -Komplex beschrieben.^[109] In *Abbildung 50* ist ein Ausschnitt der Kristallstruktur dargestellt, der eine solche $\text{Gd}(\text{dota})$ -Einheit zeigt.

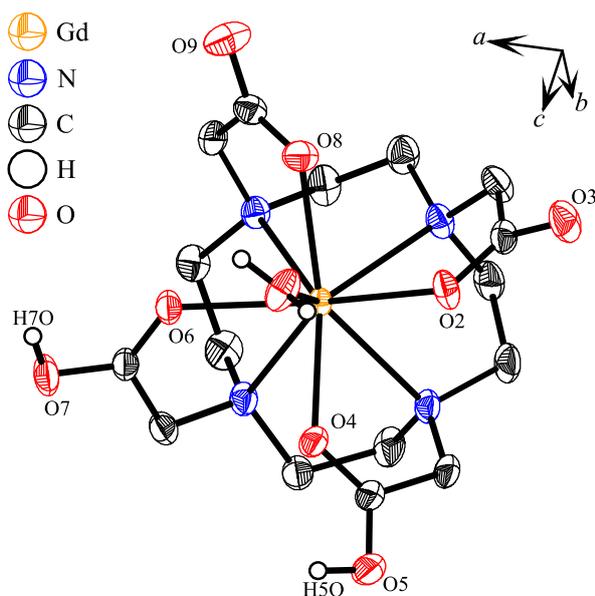


Abbildung 50: Ortep-Darstellung einer einzelnen, zweifach protonierten $[\text{Gd}(\text{H}_2\text{dota})(\text{H}_2\text{O})]^+$ Einheit. Die Schwingungsellipsoide entsprechen 50 % der Aufenthaltswahrscheinlichkeit. Kohlenstoffgebundene Wasserstoffatome wurden der Übersichtlichkeit halber weggelassen.

Die Stickstoff- und Sauerstoffatome bilden jeweils eine N_4 respektive O_4 Ebene (*Abbildung 51*). Die Sauerstoffebene ist von einem Wassermolekül überkappt. Die beiden Ebenen sind planar, aber offensichtlich nicht exakt parallel zueinander. Der Winkel zwischen ihnen beträgt 0.49° . Für zwei Parallelen müsste sich ein Winkel von 0° ergeben. Da diese Abweichung äußerst gering ist, wurde der Abstand d der beiden Ebenenmittelpunkte berechnet.

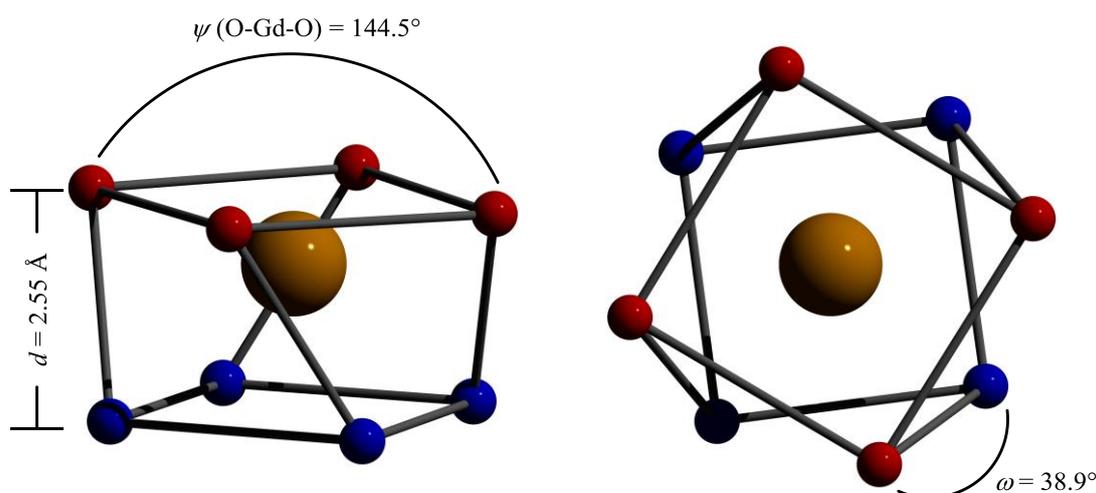


Abbildung 51: Schematische Darstellung des Koordinationspolyeders (TSA) der hier vorliegenden $\text{Gd}(\text{H}_2\text{dota})$ -Einheit. Sauerstoffatome sind in rot, Stickstoffatome in blau und $\text{Gd}(\text{III})$ in gelb dargestellt. Das koordinierende Wassermolekül oberhalb der O_4 -Ebene wurde der Übersicht halber weggelassen. Abbildung in Anlehnung an [110].

Dieser beträgt 2.55 Å, liegt damit im Bereich der für leichtere Lanthanide (La(III) und Cer(III)) gemessenen Abstände und spricht eigentlich für das Vorliegen des TSA (twisted square-antiprismatic) Isomers.^[14,110] Der Torsionswinkel zwischen der N₄ und der O₄ Ebene ω beträgt allerdings 38.9° und liegt damit sehr nah am idealen Torsionswinkel des SA (square-antiprismatic, 45°) Isomers, welches auch das am häufigsten in Lösung vorliegende Diastereoisomer darstellt. Der Öffnungswinkel ψ zwischen Gd(III) und zwei gegenüberliegenden Sauerstoffatomen beträgt 144.5°. Damit liegt er im erwarteten Bereich für nonakoordinierte (hydratisierte) Ln(III)-Komplexe.^[14] Die quadratisch-antiprismatische Geometrie impliziert das Auftreten zweier verschiedener Helizitäten, eine den Ring (rechts-/linkshändig: δ , λ) und eine die Ausrichtung der Acetatarme (rechts-/linkshändig: Δ , Λ) betreffend. Da der hier vorliegende Komplex enantiomerenrein kristallisiert, stellt sich nun die Frage, welches der vier möglichen, paarweise enantiomeren, Diastereoisomere^[111] vorliegt. Die *skew line convention* der IUPAC^[112] erlaubt eine genaue Bestimmung der vorliegenden Konformation. Alle CH₂-Atome des makrozyklischen Ringes befinden sich in der *gauche*-Konformation und können sich in ihrer Drehrichtung relativ zur Gd(III)-N-N Ebene unterscheiden. In der hier diskutierten Struktur ergibt sich eindeutig die $\delta\delta\delta\delta$ -Ringkonformation (Abbildung 52). Die schematisch dargestellten rot gestrichelten Linien definieren dabei die Helix. Da die abgebildeten, *schiefen* Linien nicht orthogonal sind, haben sie genau eine Normale gemeinsam. Die Linie AA beschreibt die Achse der Helix auf einem Zylinder, dessen Radius gleich der Länge der Normalen zu AA und BB ist.

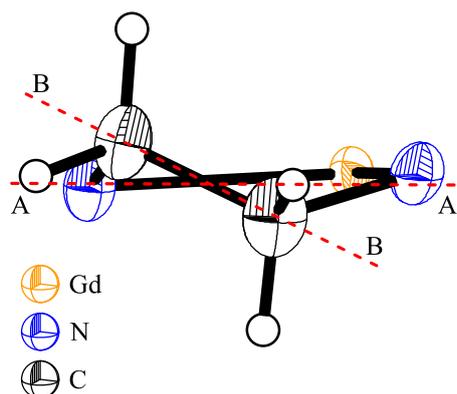


Abbildung 52: Bestimmung der $\delta\delta\delta\delta$ -Ringkonformation nach IUPAC. AA (rot): Achse der Helix, BB (rot): Tangente an der Helix zur Beschreibung ihrer Krümmung (rechts oder links).

BB hingegen steht für die Tangente an der Helix im Schnittpunkt von BB und der Normalen. Sie gibt ihre Drehrichtung an. Der hier gezeigte Fall entspricht einer rechtshändigen Helix des makrozyklischen Ringes und wird nach den Regeln der IUPAC mit einem δ bezeichnet.^[112] Es sei darauf hingewiesen, dass das hier auf der rechten Seite liegende N-Atom direkt an einen der protonierten Acetatarme bindet und, dass dies keinen konformativen Unterschied zu den Helices in Nachbarschaft nicht protonierter Acetatarme macht. Die Helizität der Acetatarme lässt sich am besten *Abbildung 50* entnehmen.

Die Schraubung um die c -Achse lässt sich in der Abbildung besonders einfach an der Lage der Gd(III)-gebundenen Wassermoleküle und des Makrozyklus erkennen, welche im Abstand einer Gitterkonstante c immer wieder dieselbe Orientierung einnehmen. Gleiches gilt für die b -Richtung. Die Vernetzung entlang b entsteht durch zwei Wasserstoffbrücken, die jeweils zwei Komplexeinheiten über ihre Gd(III)-gebundenen Wassermoleküle (H-O1-H) sowie ein weiteres Wassermolekül und ein Chloridion verbinden. Eine indirekte Vernetzung wird hingegen über H7O und O3 realisiert. Als Akzeptor für H7O dient das Sauerstoffatom eines Wassermoleküls (H-O11-H). Dieses Wassermolekül fungiert gleichzeitig als Akzeptor für ein weiteres Wasserproton (H-O10-H) sowie als Donor für O3 und ein Chloridion des offensichtlich nicht vollständig inerten Hintergrundelektrolyten (TMACl). Mit dem Wassermolekül H-O10-H, dem komplexgebundenen Wasser (H-O1-H) und einem weiteren Chloridion entsteht schließlich die indirekte Vernetzung der Gd(H₂dota)-Einheiten entlang der kristallographischen Blickrichtung a über ein Netzwerk aus kondensierten Zwölfringen.

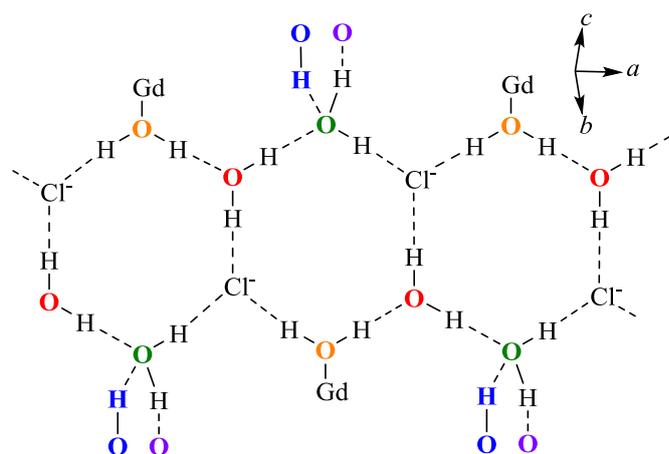


Abbildung 54: Schematische Darstellung aller intermolekularen Wasserstoffbrückenbindungen der Verbindung $[\text{Gd}(\text{H}_2\text{dota})(\text{H}_2\text{O})]\text{Cl}\cdot\text{H}_2\text{O}$. Der Übersicht halber wurden die Atomnummern der an H-Brücken beteiligten Sauerstoffatome durch einen Farbcode ersetzt (orange: O1, violett: O3, blau: O7, rot: O10, grün: O11). H-Brücken sind gestrichelt dargestellt.

Am Einfachsten lässt sich dieses Wasserstoffbrückenmuster mit Hilfe von *Abbildung 54* nachvollziehen. Die zwölfgliedrigen, kondensierten Ringe sind, anders als im Schema dargestellt, nicht planar. Ein einzelner Ring besteht immer aus sechs Donoren und vier Akzeptoren und wird nach Etter^[114] als $R_6^4(12)$ bezeichnet. Die Chloridionen werden trigonal planar von Wassermolekülen koordiniert. Die Position der Cl^- -Ionen veranschaulicht dabei besonders deutlich die zweizählige Schraubenachse 2_1 in a -Richtung, wodurch die Dreiecksfläche, in der sie liegen, alle $a/2$ um 180° um a gedreht erneut auftaucht. Die Komplexeinheiten sind selbst kein Teil der Ringstruktur, bis auf das komplexgebundene Wassermolekül.

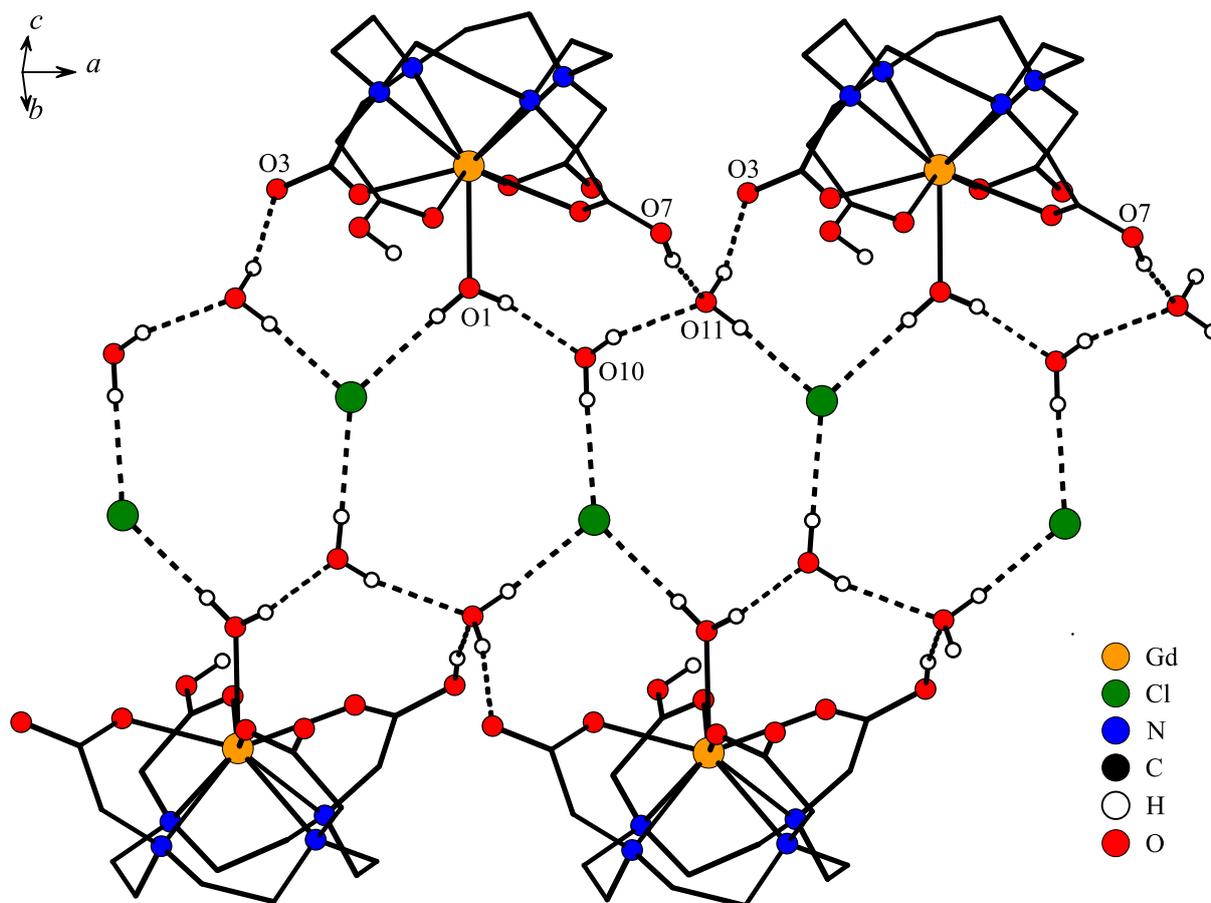


Abbildung 55: Indirekte Verknüpfung von Gd(H₂dota)-Einheiten durch ein H-Brückennetzwerk in *a*-Richtung. Der Übersicht halber wurde auf die Darstellung von Schwingungselipsoiden verzichtet. H-Brücken sind schwarz gestrichelt dargestellt

Deshalb wird diese Vernetzung als *indirekt* bezeichnet. Ein Ausschnitt aus der Kristallstruktur, welcher dieses Netzwerk zeigt, ist in *Abbildung 55* dargestellt. Die gedachte Verbindung zwischen zwei schräg gegenüberliegenden, komplexgebundenen Wassermolekülen zeigt auch in dieser Abbildung die Richtung der Vernetzung in *b* an. Alle Vernetzungsrichtungen zusammen genommen ergibt sich ein schichtartiger Aufbau der Gd(H₂dota)-Einheiten in allen drei Raumrichtungen. In der Praxis lässt sich die Bildung dieses Festkörpers bei pH-stat Titrations durch die Verwendung von TMAMS unterbinden. Das Methansulfonat-Anion H₃CSO₃⁻ verfügt über einen tetraedrischen Bau sowie eine andere Größe als Cl⁻ und ist damit schlichtweg ungeeignet für die hier gezeigte trigonal-planare Koordination. Dies genügt offensichtlich, um die Bildung des Festkörpers zu verhindern. Abschließend sollen nun noch die wichtigsten Bindungslängen und Winkel dokumentiert und diskutiert werden.

a) Wasserstoffbrücken

Tabelle 49: Wasserstoffbrücken im Kristall $[\text{Gd}(\text{H}_2\text{dota})(\text{H}_2\text{O})]\text{Cl}\cdot\text{H}_2\text{O}$. Donor-Akzeptor-Abstand $D^{[a]}$, Bindungslänge $d(\text{O}-\text{H}\cdots\text{A})^{[b]}$ und Bindungswinkel $\theta^{[c]}$.

Verknüpfung		$D^{[a]}$ [Å]	$d^{[b]}$ [Å]	$\theta^{[c]}$	$D-d$
Komplex	O3 \cdots H10O—O10	2.618	1.799	163.93°	0.819
	O5—H5O \cdots O9'	2.430	1.659	151.26°	0.771
	O7 \cdots H11O—O11	2.498	1.665	169.01°	0.833
Ring	O1—H1O \cdots Cl	3.121	2.307	166.18°	0.814
	O1—H1O \cdots O10	2.719	1.910	162.99°	0.809
	O10—H10O \cdots O11	2.904	2.097	164.03	0.807
	O10—H10O \cdots Cl	3.166	2.340	173.81	0.826
	O11—H11O \cdots Cl	3.010	2.172	174.22°	0.838

Wasserstoffbrücken lassen sich nach dem Winkel θ zwischen den beteiligten Atomen, der Bindungslänge $d(\text{O}-\text{H}\cdots\text{A})$ und dem Donor-Akzeptor-Abstand D kategorisieren.^[113] Im Bereich $1.5 \text{ Å} \leq d \leq 2.2 \text{ Å}$ und $130^\circ \leq \theta \leq 170^\circ$ liegen demnach mittelstarke H-Brücken vor. Der Donor-Akzeptor-Abstand D beträgt dort 2.5 Å bis 3.2 Å . Starke Wasserstoffbrücken liegen in einem Bereich von $1.2 \text{ Å} \leq d \leq 1.5 \text{ Å}$, $170^\circ \leq \theta \leq 180^\circ$ und $2.2 \text{ Å} \leq D \leq 2.5 \text{ Å}$. Schwache Wasserstoffbrückenbindungen zeichnen sich durch deutlich größere Abstände zwischen Proton und Akzeptor aus ($d > 2.2 \text{ Å}$). Der Bindungswinkel liegt dann oberhalb von 90° und der Donor-Akzeptor-Abstand über 3.2 Å . Nach dieser Einteilung liegen die vom Komplex ausgehenden Wasserstoffbrücken (Tabelle 49) im moderaten bis starken Bereich. Gerade die H-Brücken im Ring haben relativ große Donor-Akzeptor-Abstände (bis zu 3.2 Å). Außerdem sind auch die Bindungslängen d größer. Dies spricht insgesamt für eine Schwächung der Bindung. Die Bindungslängen bewegen sich jedoch immer noch im typischen Bereich mittelstarker H-Brücken. Die Bindungswinkel hingegen sind relativ groß. Dies spricht wiederum eher für eine starke Bindung. Die Differenz aus Donor-Akzeptor-Abstand und Bindungslänge $D-d$ ist jedoch bei allen Bindungen sehr ähnlich. Eine eindeutige Einordnung der Ring-Wasserstoffbrücken nach ihrer Stärke ist auf diese Weise weder möglich noch notwendig. Es ist jedoch klar, dass alle H-Brücken den allgemeinen Kriterien genügen.

b) Ausgewählte Bindungslängen innerhalb des Festkörpers

Tabelle 50: Vergleich ausgewählter Bindungslängen des Festkörpers $[\text{Gd}(\text{H}_2\text{dota})(\text{H}_2\text{O})]\text{Cl}\cdot\text{H}_2\text{O}$ mit der Literatur.

	Gd(III)—O _{Wasser}	Gd(III)—O _{Carboxylat}	Gd(III)—N _{Amin}
	[Å]	[Å]	[Å]
$[\text{Gd}(\text{H}_2\text{dota})(\text{H}_2\text{O})]\text{Cl}\cdot\text{H}_2\text{O}$	2.394	2.321 – 2.402	2.615 – 2.673
$\text{Na}[\text{Gd}(\text{dota})(\text{H}_2\text{O})]^{[12]}$	2.458	2.362 – 2.370	2.648 – 2.679
$\text{Na}[\text{Eu}(\text{dota})(\text{H}_2\text{O})]^{[115]}$	2.480	2.247 – 2.511	2.519 – 2.900
$\text{Na}[\text{Y}(\text{dota})(\text{H}_2\text{O})]^{[116]}$	2.435	2.316 – 2.327	2.633 – 2.666

Die Bindungslängen entscheidender Verknüpfungen innerhalb der $[\text{Gd}(\text{H}_2\text{dota})(\text{H}_2\text{O})]\text{Cl}\cdot\text{H}_2\text{O}$ -Einheit (Tabelle 50) stimmen gut mit in der Literatur beschriebenen Werten anderer Ln(III)(dota)-Komplexe überein. Kleinere Unterschiede sind sicherlich der Geometrie des H-Brücken-Netzwerks geschuldet. Interessant ist allerdings noch die Frage, wie sich die Protonierung des nicht koordinierenden Sauerstoffatoms der Carboxylatgruppen auf die Bindungslängen der Carboxylatsauerstoffe auswirkt. Für eine Bindung mit Doppelbindungscharakter sollte eine kürzere Bindungslänge gefunden werden, als für eine mit Einfachbindungscharakter. Dieser Umstand ist wohlbekannt und am Beispiel von Natriumacetat-trihydrat belegt.^[117] Dort liegen die C-O-Bindungslängen bei 1.23 Å und 1.31 Å. Die hier gemessenen Bindungslängen (Tabelle 51) decken sich gut mit der kürzeren Bindung, was eher für den Erhalt des Doppelbindungscharakters spricht. Verglichen mit den C-O-Abständen von Sauerstoffatomen, die an Gd^{3+} gebunden sind, kann jedoch eine leichte Verlängerung der Bindung festgestellt werden, wenn das Sauerstoffatom entweder als H-Brücken-Donor oder Akzeptor fungiert. Die Unterschiede fallen jedoch gering aus und machen sich erst auf der zweiten Nachkommastelle bemerkbar. Die sehr ähnlichen Bindungslängen lassen sich am ehesten durch eine Delokalisierung der Ladung über die beiden Carboxylatsauerstoffe erklären.

Tabelle 51: C-O-Abstände der Carboxylate in $[\text{Gd}(\text{H}_2\text{dota})(\text{H}_2\text{O})]\text{Cl}\cdot\text{H}_2\text{O}$. ^[a]: Sauerstoff koordiniert an Gd^{3+} . ^[b]: Sauerstoff fungiert als H-Brücken-Akzeptor. ^[c]: Sauerstoff fungiert als H-Brücken-Donor.

	O2 ^[a]	O3 ^[b]	O4 ^[a]	O5 ^[c]	O6 ^[a]	O7 ^[c]	O8 ^[a]	O9 ^[b]
$d(\text{O}_i\text{—C})$ [Å]	1.253	1.253	1.245	1.260	1.230	1.288	1.243	1.273

Die Struktur des Festkörpers $[\text{Gd}(\text{H}_2\text{dota})(\text{H}_2\text{O})]\text{Cl}\cdot\text{H}_2\text{O}$ ist damit abschließend geklärt. Sie verfügt über ein interessantes H-Brückennetzwerk, in dem einzelne $\text{Gd}(\text{H}_2\text{dota})(\text{H}_2\text{O})$ -Einheiten jeweils von vier weiteren Einheiten in allen drei Raumrichtungen umgeben sind. Dadurch entsteht ein übergeordnetes, dreidimensionales Strukturmotiv aus polymeren Komplexketten. Einerseits belegen die Resultate des Röntgenbeugungsexperiments die Existenz der in der Literatur postulierten protonierten Komplexspezies $\text{Gd}(\text{H}_x\text{L})$ in Lösung und andererseits geben sie direkte Auskunft über Art und Ort der Protonierung.

2.8.2. Strukturaufklärung kaliumhaltiger Komplexe mit H_4dota

Bereits während den Studien zur Bestimmung von pK_S -Werten und Stabilitätskonstanten Gd(III)-haltiger MRT-Kontrastmittel^[31,32,82] kam es zur Fällung eines weißen, störenden Feststoffes beim Mischen wässriger Lösungen des Liganden H_4dota und dem Inertelektrolyten KCl. Was damals durch den Verzicht auf die Verwendung kaliumhaltiger Hintergrundmedien umgangen werden konnte, sorgte im Zuge dieser Untersuchungen für erneutes Interesse.

2.8.2.1. Strukturaufklärung von $[\text{CsK}_2(\text{H}_4\text{dota})_4]\text{Cl}_3$

Es hat sich zunächst als äußerst schwierig herausgestellt, entsprechende Kristalle aus dem angesprochenen Festkörper zu züchten. Nach den gängigen Verfahren kam es immer wieder zu einer erneuten und sehr plötzlichen Fällung des Feststoffes. Aus diesem Grund wurde die Kristallisation über die Sättigung einer KCl-Lösung mit CsCl versucht. Auf diese Weise konnte die Dichte der Lösung so stark erhöht werden, dass sie mit einer mäßig konzentrierten H_4dota Lösung langsam innerhalb einer abgeschmolzenen Pasteurpipette überschichtet werden konnte. An der Phasengrenze bildeten sich so letztlich relativ zügig stäbchenförmige, transparente Kristalle, die rasch analysiert werden mussten. Bei zu langer Wartezeit bildete sich ansonsten erneut ein amorpher Feststoff, der die Kristalle zunehmend umschloss und ihre Untersuchung unmöglich machte. Wegen der hohen Geschwindigkeit, mit der die Kristalle entstehen, wurde offensichtlich viel Wasser ungeordnet in ihrer Struktur eingelagert. Es konnten 15 Wassermoleküle in der asymmetrischen Einheit gefunden werden. Diese wurden isotrop verfeinert. Es verbleibt eine hohe Restelektronendichte ($> 4 \text{ e}\text{\AA}^{-3}$), was auf weitere fehlgeordnete Wassermoleküle in der Struktur hindeutet. Die Abweichung zwischen gemessenen und berechneten Intensitäten bei der Kristallstrukturverfeinerung ist dementsprechend hoch ($R = 10.45 \%$, $wR2 = 34.28 \%$).

In der Folge wurde die gesamte Elektronendichte des Kristallwassers von insgesamt 29 Wassermolekülen pro Formeleinheit mit dem Programm *Platon SQUEEZE*^[118,119] von der Elektronendichte subtrahiert. Dadurch sanken die *R*-Werte zwar signifikant auf *R* = 5.83 % und *wR2* = 18.95 %. Das Ergebnis deutet jedoch auf eine geringe Qualität der Kristalle hin, insbesondere wegen der Gegenwart von Cs, welches nicht fehlgeordnet ist und einen beachtlichen Anteil der Elektronendichte dieser Struktur beinhaltet. Nichtsdestotrotz lassen sich der Kristallstruktur einige interessante Informationen entnehmen. Die Kristalle liegen in der monoklinen Raumgruppe *P* 1 2/n 1 vor. In Richtung der kristallographischen *b*-Achse liegt eine zweizählige Drehachse mit einer senkrecht dazu liegenden Gleitspiegelebene mit diagonaler Gleitrichtung.

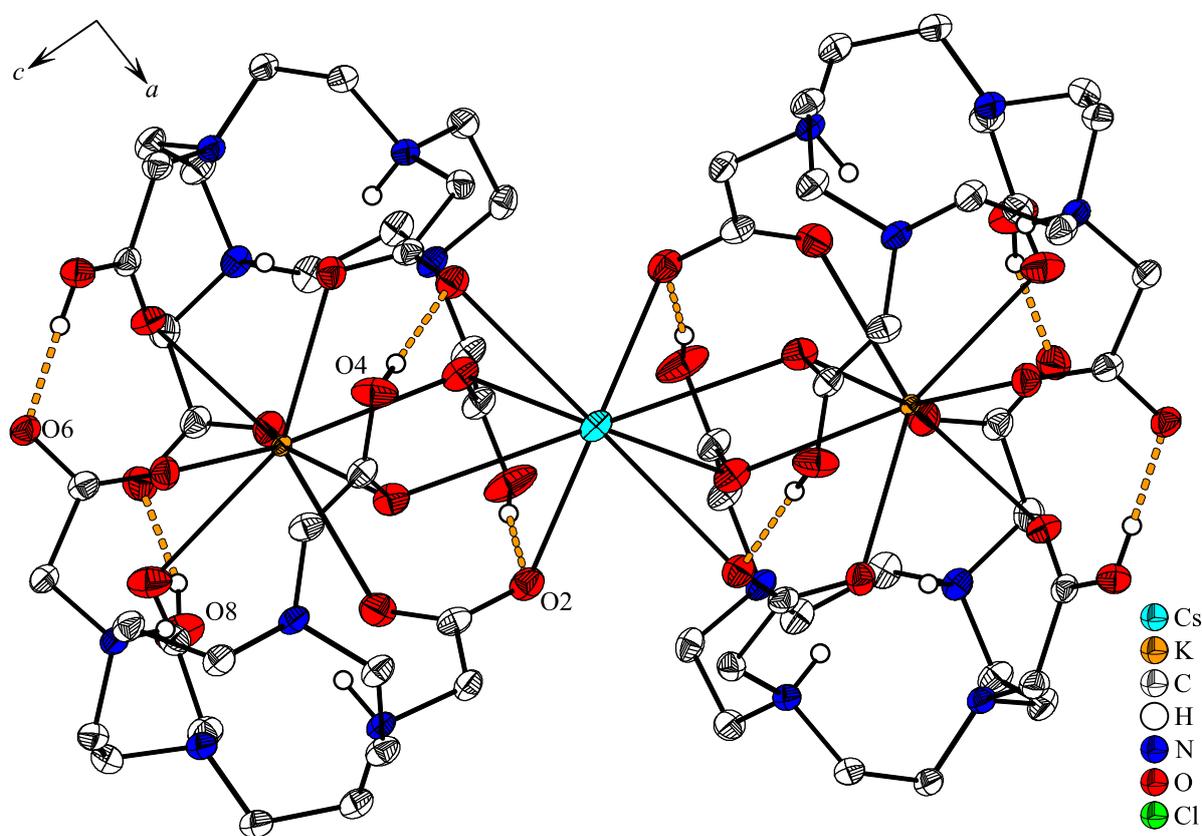


Abbildung 56: Ortep-Darstellung des Tetramers $[\text{CsK}_2(\text{H}_4\text{dota})_4]^{3+}$. Die Schwingungsellipsoide entsprechen 50 % der Aufenthaltswahrscheinlichkeit. Kohlenstoffgebundene Wasserstoffatome wurden der Übersichtlichkeit halber weggelassen.

Da der Ligand in der vierfach protonierten Form LH_4 eingesetzt wurde, legt dies auch das Vorliegen dieser Ligandspezies im Festkörper nahe. Es bildet sich ein Tetramer aus zwei *Doppelkomplexen* (Abbildung 56). Ein *Doppelkomplex* besteht wiederum aus zwei vierfach protonierten Ligandeneinheiten.

Der Ligand ist an zwei gegenüberliegenden Stickstoffatomen (N1 und N3) und an zwei gegenüberliegenden Acetatarmen (O4 und O8) protoniert. Auch in dieser Struktur trägt der nicht koordinierende Ketosauerstoff der Carboxylate das Proton. Jeweils zwei Liganden koordinieren mit allen Carboxylaten an ein Kaliumion. Kalium hat dementsprechend die Koordinationszahl 8, was einer typischen Koordination für Kaliumkomplexe entspricht.^[120] Die beiden Liganden sind zusätzlich über insgesamt vier Wasserstoffbrücken zwischen den Carboxylaten miteinander verknüpft. Als Donor fungieren dabei jeweils die protonierten Ketosauerstoffe (H4O und H8O), als Akzeptor fungieren die nicht protonierten Ketosauerstoffe (O2 und O6). Die beiden Akzeptoren koordinieren zusätzlich an ein Cäsium, was schließlich den Kontakt zu einem weiteren Doppelkomplex herstellt und das Tetramer vervollständigt. Cäsium ist ebenfalls achtfach koordiniert. Die zweizählige Drehachse in Richtung b liegt direkt im Cäsium und überführt die beiden Einheiten ineinander. Ähnlich zu $[\text{Gd}(\text{H}_2\text{dota})(\text{H}_2\text{O})]\text{Cl}\cdot\text{H}_2\text{O}$ bilden sich eine N_4 und eine O_4 Ebene. Alle CH_2 -Gruppen des Makrozyklus nehmen die *gauche*-Konformation ein. Keines der vier Stickstoffatome ist an einer Metallkoordination beteiligt. Die beiden O_4 -Ebenen eines Doppelkomplexes bilden mit Kalium als Zentralion ein quadratisches Antiprisma (SA). Die Ebenen sind leicht gegeneinander gekippt. Der Diederwinkel zwischen ihnen beträgt 0.82° . Die Abstandsberechnung erfolgt demnach wie zuvor über die Ebenenmittelpunkte und beträgt 3.60 \AA . Der Abstand der Ebenen ist damit deutlich größer, als im zuvor diskutierten Kristall. Dies ist auf die unterschiedlichen Ionenradien^[121] von Gadolinium und Kalium zurückzuführen. K^+ hat einen Ionenradius von 1.52 \AA , wohingegen Gd^{3+} mit 0.94 \AA deutlich kleiner ist, genau wie der Abstand der beiden Ebenen. In diesem Zusammenhang fällt auch der Öffnungswinkel ψ zwischen K^+ und zwei gegenüberliegenden Sauerstoffatomen wesentlich spitzer aus und beträgt $\sim 105^\circ$. Die O_4 -Ebenen sind gegeneinander um $\omega = 38.6^\circ$ verdreht. Dies spricht ebenfalls für das Vorliegen der SA Form. Der Koordinationspolyeder des Cäsium-Kations ist ein doppelt überkapptes trigonales Prisma. Diese Tatsache ist äußerst interessant, sind für die Familie achtfach koordinierter Metallzentren doch mehrere Koordinationspolyeder bekannt^[122], von denen in dieser Struktur zwei direkt aneinandergelinkt sind. Die drei möglichen Koordinationspolyeder (D_{2d} -Dodecaeder, D_{4d} -quadratisches Antiprisma und C_{2v} -doppelt überkapptes trigonales Prisma) können dabei durch Berechnung der Diederwinkel δ' zwischen ausgezeichneten Kanten im Molekül voneinander unterschieden werden.^[123]

In allen drei Polyedern existieren vier *b*-Kanten. Solche Kanten verbinden zwei *B*-Atome miteinander. In einem *B*-Atom laufen fünf Kanten zusammen. In *A*-Atomen laufen jeweils nur vier Kanten zusammen. Eine Illustration der entsprechenden Kanten in den beiden relevanten idealisierten (oben) und den real im Kristall vorliegenden (unten) Körpern ist in *Abbildung 57* dargestellt.

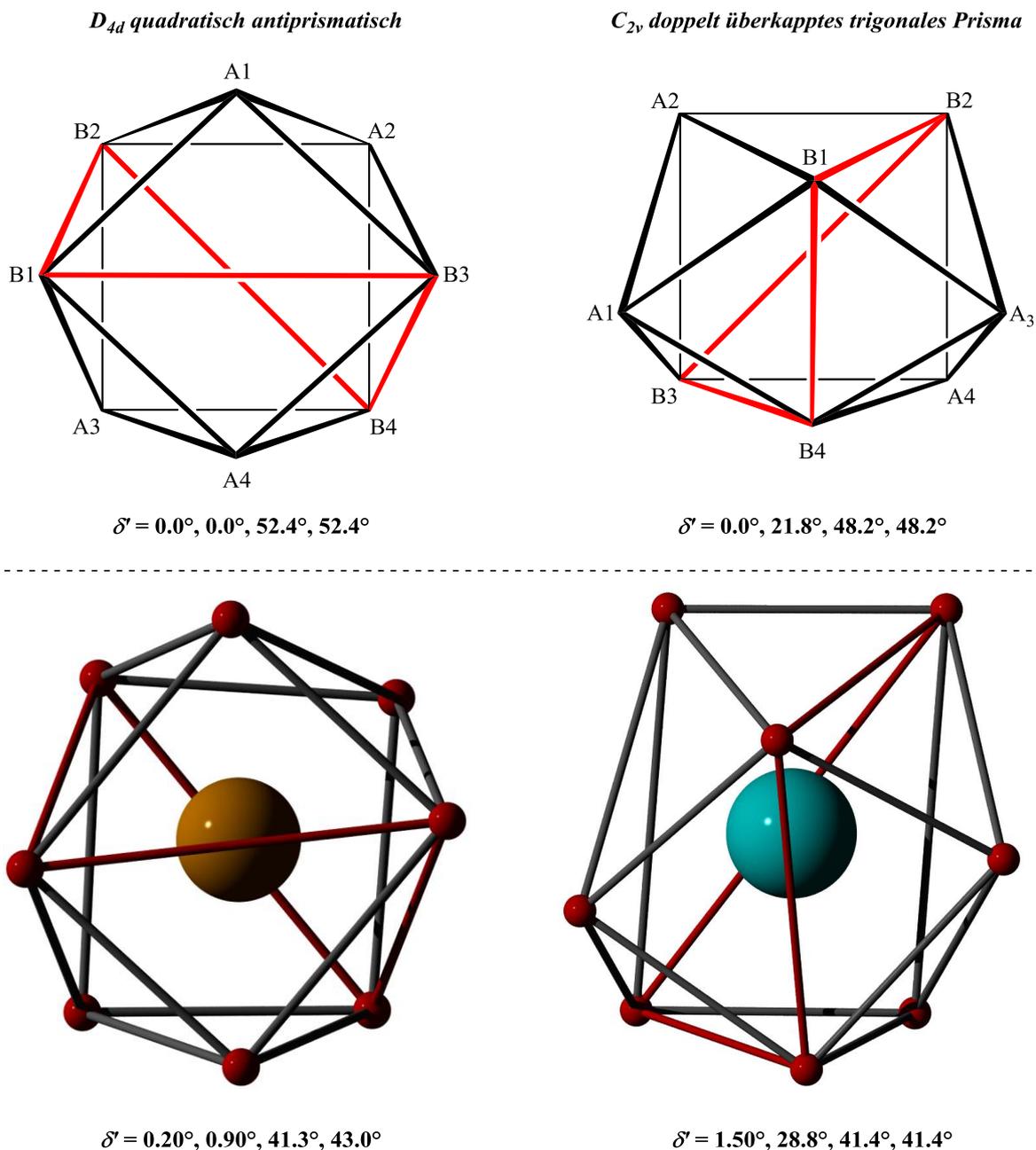


Abbildung 57: Darstellung der *b*-Kanten (rot) im idealisierten (oben) sowie im in der Kristallstruktur real vorliegenden (unten) quadratischen Antiprisma (links) und im doppelt überkappten trigonalen Prisma (rechts). Die Diederwinkel δ' aus [122] wurden zum Vergleich mit dem idealisierten Körper mit angegeben.

Zur Berechnung der Winkel δ' wurden jeweils die Normalenvektoren der beiden Dreiecksflächen, die die B-Atome bilden, ermittelt. Der Winkel δ' ist dann der Schnittwinkel zwischen den beiden Geraden. Ein Vergleich der in der Kristallstruktur gemessenen Winkel mit den Literaturwerten belegt, dass Cäsium eindeutig in einem doppelt überkappten trigonalen Prisma liegt. Die Verzerrung gegenüber dem idealisierten Körper ist gering. Die quadratisch-antiprismatische Koordination des Kaliums ist ebenfalls unbestritten. Auch hier ist die Abweichung vom idealisierten Polyeder vergleichsweise gering. Innerhalb der Kristallstruktur sind beide Polyeder über die *B1*, *B2*-Kante des doppelt überkappten trigonalen Prismas um Cäsium miteinander verbunden. Diese entspricht der *A3*, *A4*-Kante des quadratischen Antiprismas.

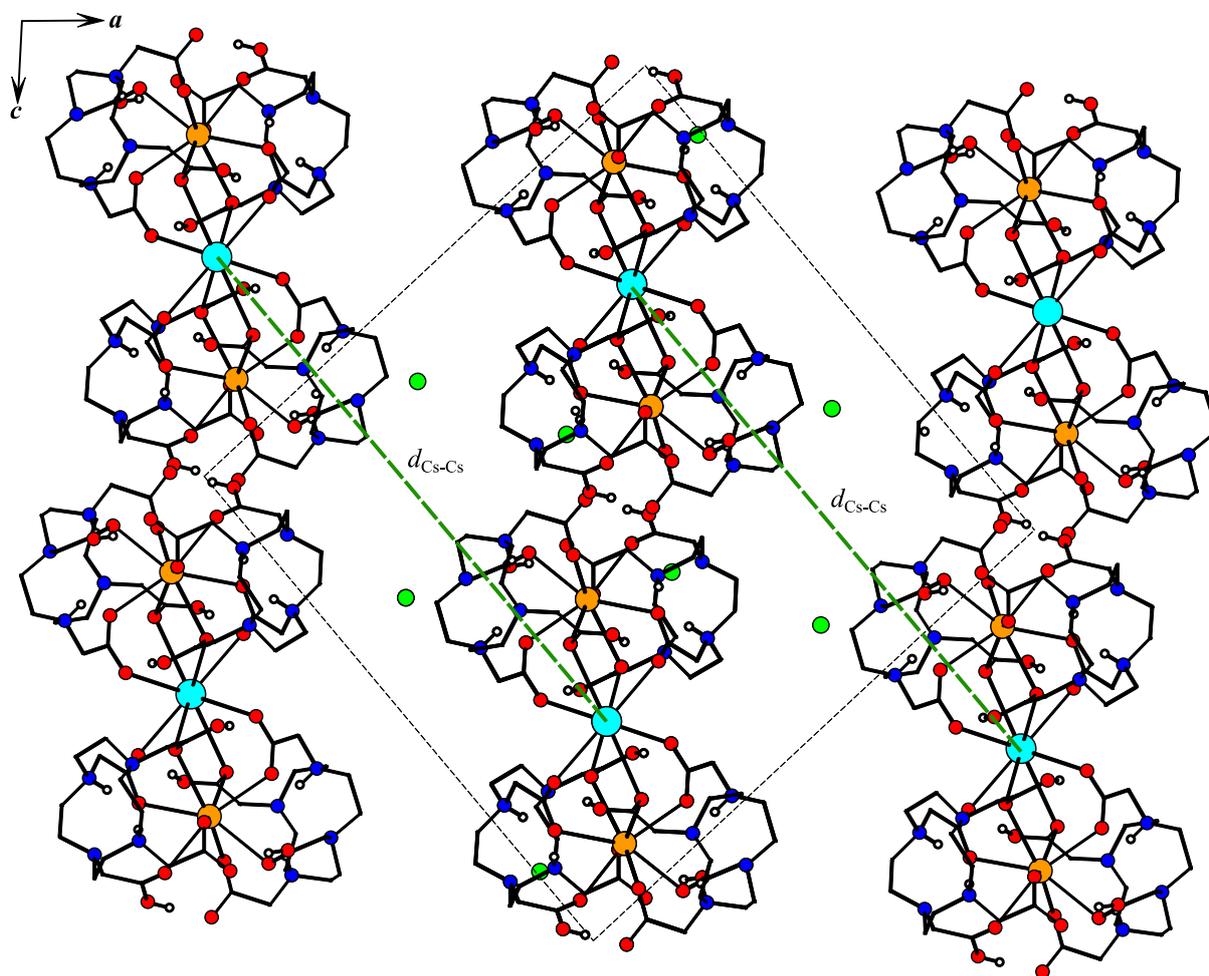


Abbildung 58: Darstellung der Inselstruktur des Kristalls der Zusammensetzung $[\text{CsK}_2(\text{H}_4\text{dota})_4]\text{Cl}_3$. Der Übersicht halber wurde auf die Verwendung von Schwingungselipsoiden verzichtet. Der Abstand $d_{\text{Cs-Cs}}$ entspricht exakt der Länge des Translationsvektors der Gleitspielebene mit diagonaler *ac*-Gleitrichtung.

Da die Wasserstoffbrücken einen in sich geschlossenen Satz von Bindungen bilden, liegen die $[\text{CsK}_2(\text{H}_4\text{dota})_4]^{3+}$ -Tetramere in der Struktur als Inseln, isoliert voneinander vor (*Abbildung 58*). Es ist bekannt, dass die oben diskutierten Dreiecksflächen das dominierende Strukturmotiv in solchen Inselstrukturen darstellen.^[123] Die Gestalt zweier Doppelkomplexe erinnert stark an einen Schmetterling. Da das Tetramer dreifach positiv geladen ist, liegen in der Struktur pro Tetramer drei Chloridionen vor. Die Inseln bilden entlang der *ac*-Ebene eine elongierte Kettenstruktur. Zusätzlich zur zweizähligen Drehachse in *b*-Richtung wird in der obigen Abbildung die senkrecht zu *b* liegende Gleitspiegelebene mit diagonaler *ac*-Gleitrichtung deutlich sichtbar. Der Abstand $d_{\text{Cs-Cs}}$ entspricht exakt der Länge $(0.5 \cdot (\vec{a} + \vec{c})) = 22.9 \text{ \AA}$ des Translationsvektors der Gleitspiegelebene mit diagonaler *ac*-Gleitrichtung. Spiegelung an der *ac*-Ebene überführt schließlich eine oberhalb und eine unterhalb dieser Ebene liegende Insel ineinander. Diese liegen in Richtung *b* übereinander geschichtet vor. In der obigen Abbildung wurden die bereits diskutierten Wasserstoffbrücken der Übersicht halber ausgeblendet. Nichtsdestotrotz sollen abschließend noch einige ausgewählte Bindungslängen und Winkel mit gängigen Literaturwerten verglichen werden (*Tabelle 52 und Tabelle 53*).

Tabelle 52: Wasserstoffbrücken im Kristall $[\text{CsK}_2(\text{H}_4\text{dota})_4]\text{Cl}_3$. Donor-Akzeptor-Abstand $D^{[a]}$, Bindungslänge $d(\text{O-H}\cdots\text{A})^{[b]}$ und Bindungswinkel $\theta^{[c]}$.

Verknüpfung	$D^{[a]}$ [Å]	$d^{[b]}$ [Å]	$\theta^{[c]}$
O2 \cdots H4O c -O4 c	2.481	1.658	165.66
O6 \cdots H8O c -O8 c	2.531	1.703	168.34
O4-H4O \cdots O2 c	2.532	1.724	160.65
O8-H8O \cdots O6 c	2.524	1.713	161.65

Alle Wasserstoffbrücken innerhalb der tetrameren Inselstruktur liegen im typischen Bereich mittelstarker Bindungen (siehe auch 2.8.1 a)).^[113] Es gibt keine weiteren Auffälligkeiten.

Tabelle 53: Vergleich ausgewählter Bindungslängen des Festkörpers $[\text{CsK}_2(\text{H}_4\text{dota})_4]\text{Cl}_3$ mit der Literatur.

	$\text{K}^+ - \text{O}_{\text{Carboxylat}}$ [Å]	$\text{Cs}^+ - \text{O}_{\text{Carboxylat}}$ [Å]
$[\text{CsK}_2(\text{H}_4\text{dota})_4]\text{Cl}_3$	2.792 – 2.983	3.125 – 3.321

Auch die Kalium-Carboxylatsauerstoff-Abstände liegen in einem gewöhnlichen Bereich. So wurden z. B. für eine Komplexierung von Kalium durch 18-Krone-6 Abstände zwischen Sauerstoff und Kalium im Bereich 2.73 Å bis 3.02 Å gefunden.^[124]

In einem anderen Komplex mit Catecholdiacetat liegen die Abstände zwischen 2.78 Å und 2.96 Å.^[125] Für die Cäsium-O-Abstände gilt das gleiche. So wurden für verschiedene 24-Krone-8 Komplexe Cs-O-Bindungslängen von 3.19 Å bis 3.44 Å dokumentiert.^[126]

Damit ist auch die Struktur von $[\text{CsK}_2(\text{H}_4\text{dota})_4]\text{Cl}_3$ abschließend geklärt. Trotz der geringen Qualität der Kristalle konnte ein sinnvolles Wasserstoffbrückenmuster zwischen H_4dota -Einheiten, die um Kalium und Cäsium koordinieren, gefunden werden. Mit seinen drei Chlorid-Gegenionen liegt der Komplex insgesamt elektrisch neutral vor. Die Koordination um Kalium kann durch ein quadratisches Antiprisma beschrieben werden, wohingegen Cäsium innerhalb eines doppelt überkappten trigonalen Prismas liegt. Damit liegen in der Struktur zwei von drei möglichen^[122,123] Koordinationspolyedern achtfach koordinierter Metallzentren vor. Die Struktur gibt zwar Einblicke in die Verknüpfung der Atome im Festkörper, enthält aber Cäsium. Da dies bei den eigentlichen potentiometrischen Titrationsen, bei denen sich ein Festkörper mit Kalium und H_4dota bildete, nicht zum Einsatz kam, wurden weitere Anstrengungen unternommen, um einen Kristall zu züchten, der nur aus Kalium und H_4dota besteht.

2.8.2.2. Strukturaufklärung von $[\text{K}_2(\text{H}_4\text{dota})_2]\text{Cl}_2$

Zur Herstellung der Verbindung wurde eine 10 mM H_4dota Lösung mit KCl versetzt (1.0 M). Der sich bildende Feststoff konnte nach Aufarbeitung bei 90 °C in H_2O gelöst werden. Die Lösung wurde dann innerhalb von 7 Tagen auf 70 °C abgekühlt. Es bildeten sich schließlich flache, transparente Kristalle, die zur Röntgenstrukturanalyse geeignet waren. Die Kristalle haben die Zusammensetzung $[\text{K}_2(\text{H}_4\text{dota})_2]\text{Cl}_2$. Sie liegen in der monoklinen Raumgruppe $P 1 2/c 1$ vor. Demnach existiert ähnlich wie im vorherigen Kristall eine zweizählige Drehachse in b -Richtung und senkrecht dazu eine Gleitspiegelebene mit Gleitrichtung entlang der c -Achse. Die Abweichung zwischen gemessenen und berechneten Intensitäten ist auch für diese Struktur relativ groß ($R = 6.91 \%$, $wR2 = 21.64 \%$). Dies deutet auf Kristalle minderer Qualität hin. Nichtsdestotrotz ergeben sich wertvolle strukturelle Informationen. Jeweils zwei H_4dota Liganden koordinieren mit allen vier Carboxylaten an ein Kalium. Die beiden Einheiten gehen durch Drehung um 180° um die b -Achse ineinander über (*Abbildung 59*). Genau wie in der Kristallstruktur von $[\text{CsK}_2(\text{H}_4\text{dota})_4]\text{Cl}_3$ ist jeder Ligand an zwei gegenüberliegenden Stickstoffen (H5N , H7N) und an zwei gegenüberliegenden Acetatresten (H12O , H16O) protoniert. Da die Carboxylate weiterhin an Kalium koordinieren, sitzen die Protonen am nicht koordinierenden Ketosauerstoff.

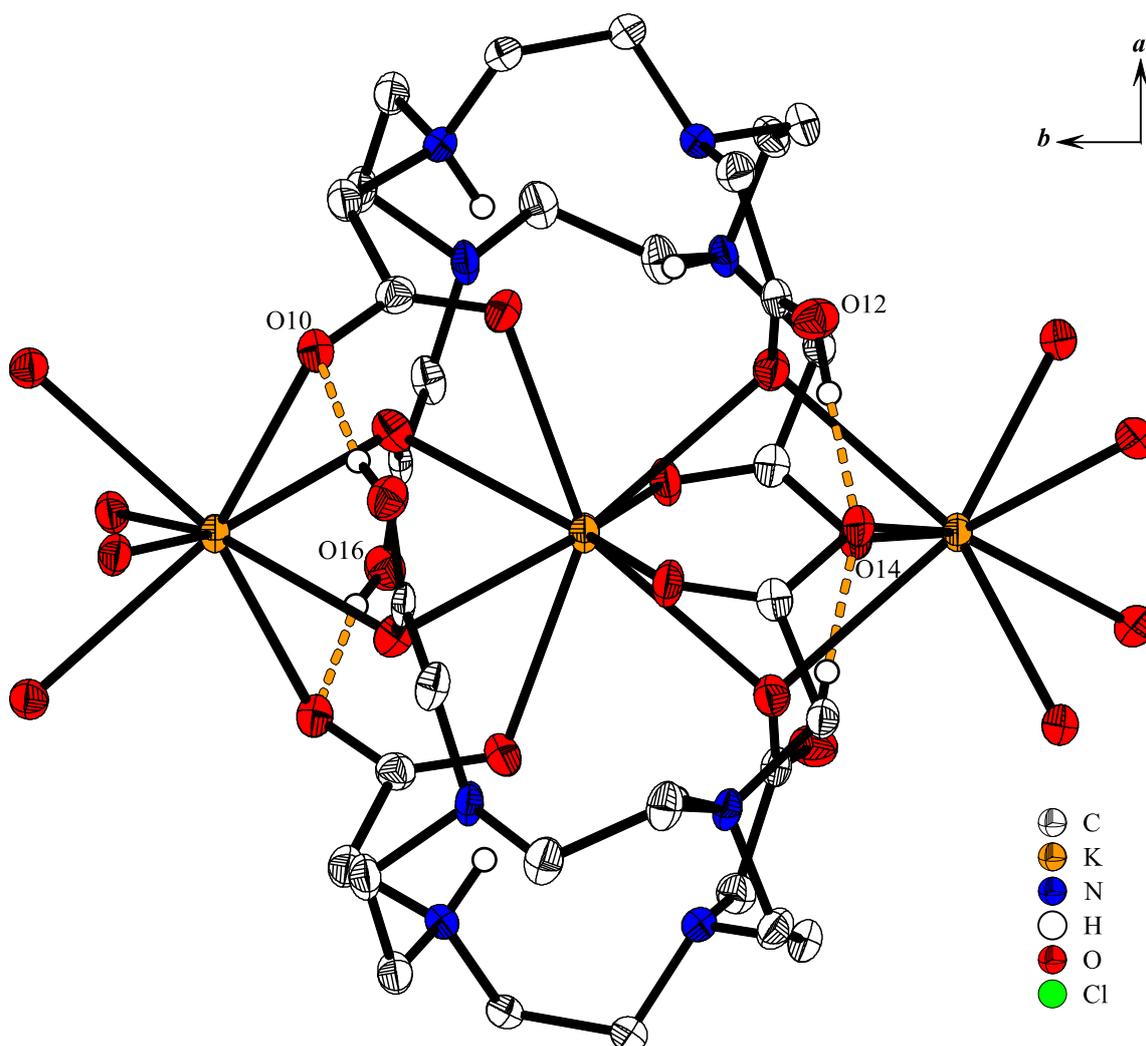


Abbildung 59: Ortep-Darstellung eines Ausschnitts aus der polymeren Struktur von $[K_2(H_4dota)_2]Cl_2$ entlang der b -Achse. Die Schwingungsellipsoide entsprechen 50 % der Aufenthaltswahrscheinlichkeit. Kohlenstoffgebundene Wasserstoffatome wurden der Übersichtlichkeit halber weggelassen.

Diese beiden Sauerstoffatome fungieren auch in dieser Struktur als Protonendonoren und bilden mit den unprotonierten Ketosauerstoffen einer weiteren H_4dota -Einheit Wasserstoffbrücken aus (Tabelle 54) und (und umgekehrt).

Tabelle 54: Wasserstoffbrücken im Kristall $[K_2(H_4dota)_2]Cl_2$. Donor-Akzeptor-Abstand $D^{[a]}$, Bindungslänge $d(O-H \cdots A)^{[b]}$ und Bindungswinkel $\theta^{[c]}$.

Verknüpfung	$D^{[a]}$ [Å]	$d^{[b]}$ [Å]	$\theta^{[c]}$
O10 \cdots H16O c -O16 c	2.493	1.680	162.33
O14 \cdots H12O c -O12 c	2.452	1.603	167.92
O12-H12O \cdots O14 c	2.452	1.603	167.92
O16-H16O \cdots O10 c	2.493	1.680	162.33

Die Wasserstoffbrücken sind symmetrieäquivalent. Außerdem liegen sie am oberen Ende des typischen Bereichs für mittelstarke H-Brücken-Bindungen.^[113] Die Ketosauerstoffe der beiden unprotonierten Carboxylate einer jeden H₄dota-Einheit koordinieren zusätzlich an ein weiteres Kaliumion, welches die Verknüpfung zu einem weiteren Doppelkomplex in *b*-Richtung herstellt. Diese Verknüpfung resultiert in polymeren Ketten entlang der kristallographischen *b*-Achse. Da der Ligand in seiner vierfach protonierten Form elektrisch neutral ist und jedem Liganden ein Kaliumion zugeordnet wird, enthält die Struktur zusätzlich zwei Chloridionen pro Doppelkomplex. Die Koordination um Kalium (*Abbildung 60*) lässt sich nach den im vorigen Kapitel diskutierten Strukturprinzipien für eine achtatomige Komplexierung als quadratisch antiprismatisch (SA) beschreiben. Der Abstand zwischen den Kaliumionen und den koordinierenden Sauerstoffatomen liegt im typischen Bereich^[124,125] $2.79 \text{ \AA} \leq d \leq 2.86 \text{ \AA}$.

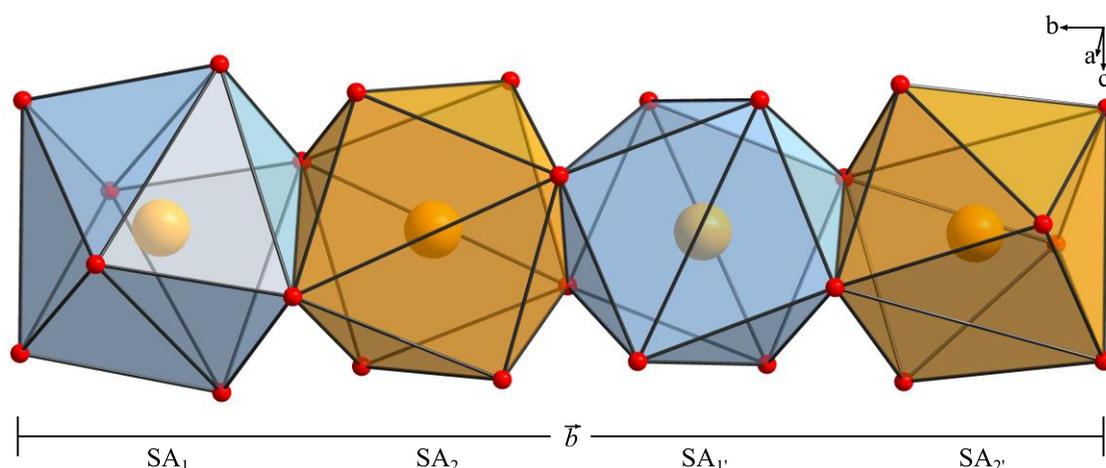


Abbildung 60: Koordinationspolyeder um die Kaliumionen entlang der kristallographischen *b*-Achse. Hellblau: Kalium liegt im Zentrum zweier H₄dota Liganden. Gelb: Kalium verbrückt zwei [K(H₄dota)₂]⁺ Komplexe

Innerhalb einer Gitterkonstanten *b* liegen exakt vier solcher Polyeder. Diese sind alle kantenverknüpft. Sie unterscheiden sich durch ihre relative Lage zu den Liganden. Zwei Koordinationspolyeder enthalten ein Kaliumion, das von zwei Liganden eingeschlossen ist und zwei Polyeder enthalten ein Kaliumion, welches zwei Doppelkomplexe miteinander verbrückt. Ersteres Ion wird von leicht verzerrten quadratischen Antiprismen umgeben (SA₁, SA_{1'}). Die beiden rechteckigen Flächen sind leicht gewölbt. Die Diederwinkel liegen allerdings recht nah an denen des idealisierten Körpers (*Abbildung 57*). Letztgenanntes Kaliumion (SA₂, SA_{2'}) wird von stark verzerrten Polyedern umgeben. Durch die Verzerrung nähern sich die Strukturen wieder an die des idealisierten Dodecaeders ($\delta' = 29.5^\circ, 29.5^\circ, 29.5^\circ, 29.5^\circ$) an. Eine Auflistung der Diederwinkel δ' der vier Koordinationspolyeder ist in *Tabelle 55* gegeben.

Tabelle 55: Auflistung der Diederwinkel δ' der vier sich innerhalb einer Gitterkonstanten b wiederholenden quadratisch antiprismatischen Koordinationspolyeder.

	SA ₁	SA _{1'}	SA ₂	SA _{2'}
δ'	2.65°	2.77°	17.84°	18.59°
	2.65°	2.77°	17.84°	18.59°
	49.10°	50.24°	37.13°	37.69°
	51.99°	51.35°	41.15°	41.18°

Entsprechend der in 2.8.2.1 eingeführten Kantennomenklatur, lässt sich die Kantenverknüpfung folgendermaßen beschreiben: SA₁(B3, B4)—SA₂(B1, B2)—SA_{1'}(B3, B4)—SA_{2'}(B1, B2). Diese Verknüpfung führt dazu, dass jede [K(H₄dota)₂]⁺ Einheit zu einer weiteren Einheit um 57.2° bis 59.7° um die b -Achse gedreht ist.

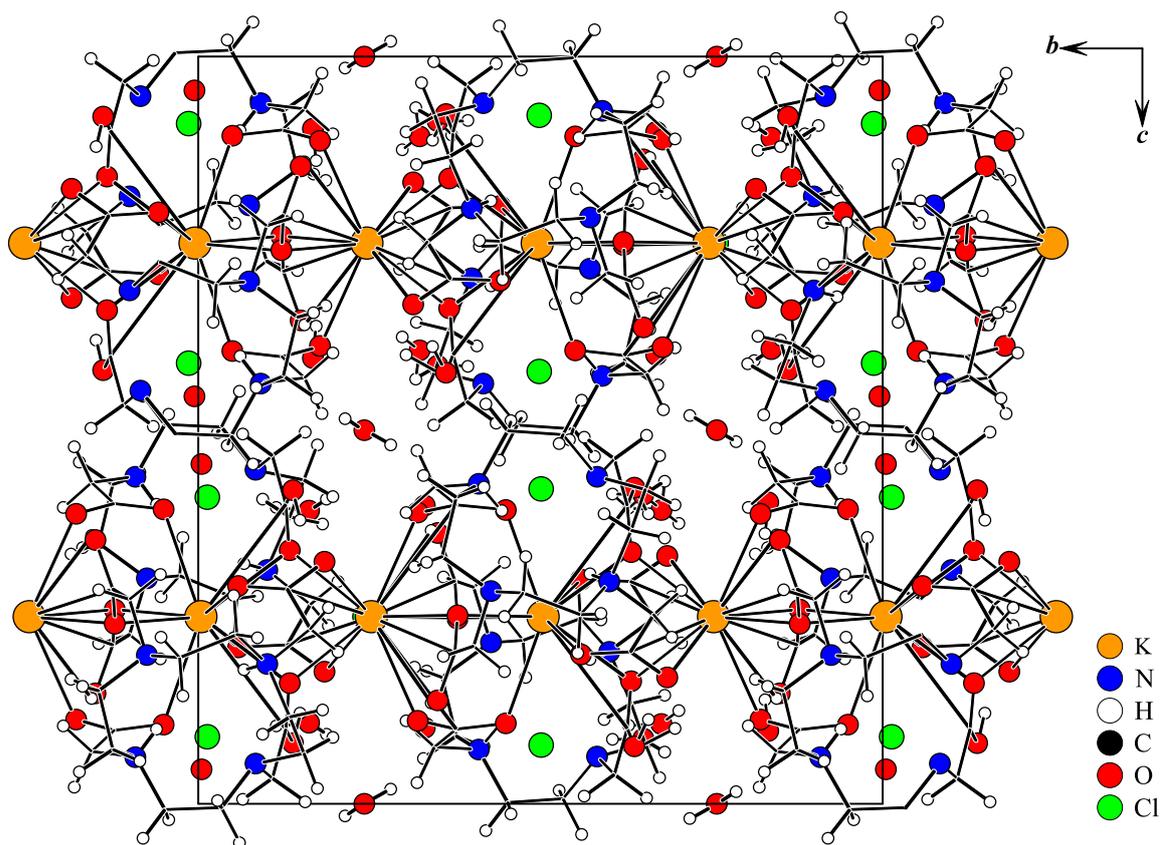


Abbildung 61: Darstellung der Kettenstruktur des Kristalls der Zusammensetzung [K₂(H₄dota)₂]Cl₂. Der Übersicht halber wurde auf die Verwendung von Schwingungselipsoiden und die Darstellung der H-Brücken verzichtet.

Ein Blick in die Einheitszelle (*Abbildung 61*) verdeutlicht noch einmal die polymere Kettenstruktur und die Lage der Chloridgegenionen. Im Abstand von $\vec{b}/4$ kommen jeweils Kaliumionen zum Liegen. Der Abstand zwischen zwei K^+ in c -Richtung beträgt exakt $1/2\vec{c}$. Diese Strecke entspricht dem Translationsvektor der Gleitspiegelebene senkrecht zu \vec{b} . Die Struktur enthält zusätzlich noch einige fehlgeordnete Wassermoleküle (H_2O19A und H_2O19B). Der Besetzungsgrad in A beträgt 65.9 % und in B dementsprechend 34.1 %.

Die Struktur der Kaliumkomplexe, die sich beim Mischen von KCl- mit H_4dota -Lösungen bildet, ist damit abschließend geklärt. Es konnte ebenfalls ein sinnvolles H-Brücken-Muster gefunden werden. Ähnlich wie bei den anderen beiden Kristallen bildet sich ein räumlich ausgedehntes Wasserstoffbrückennetzwerk aus. Die Liganden liegen innerhalb dieser Struktur vierfach protoniert vor. Dies ist plausibel, da bereits beim Herstellen der Kristalle die H_4L Form eingesetzt wurde und da der pH nicht verändert wurde. Außerdem ist die Lage der Protonen zusätzlich über den $O\cdots H-O$ Abstand ihrer H-Brücken abgesichert.

3. Experimenteller Teil

3.1. Liganden und Chemikalien

Alle handelsüblichen Chemikalien wurden in größtmöglicher Reinheit bezogen und ohne weitere Aufreinigung verwendet. Die verwendeten Liganden wurden entweder pulverförmig von Bayer Healthcare zur Verfügung gestellt, käuflich erworben oder aus den jeweiligen Kontrastmitteln isoliert. Die Liganden H₅dtpa (≥ 99 %, Fluka Analytical) und H₄dota (98 %, abcr und Waterstone Technology) sind kommerziell erhältlich. Der offenkettige Ligand H₅eob-dtpa und die beiden Makrozyklen H₃hp-do3a und H₃bt-do3a wurden von Bayer bereitgestellt. Die offenkettigen Liganden H₃dtpa-bma (*Omniscan*[®]), H₃dtpa-bmea (*Optimark*[®]) wurden aus ihren Kontrastmitteln isoliert. Tris(hydroxymethyl)-aminoethan (*tris*, ≥ 99.9 %) konnte von Sigma Aldrich bezogen werden. Als Inertsalze wurden Tetramethylammoniumchlorid (TMACl, ≥ 99 %, Sigma Aldrich) und Tetramethylammoniummethansulfonat (TMAMS) verwendet. Letzteres wurde dabei selbst in einer Neutralisationsreaktion hergestellt.

Hierzu wurden 1000 ml Tetramethylammoniumhydroxid-Lösung (TMAOH, 25 Gew.-%, 2787 mmol) in einem 2000 ml Dreihalskolben unter Eiskühlung vorgelegt und ständig mit Stickstoff überspült. Die Lösung wurde unter Rühren langsam mit 267.82 g CH₃SO₃H (≥ 99.5 %, 1 Äquivalent) neutralisiert. Zur Kontrolle wurde der pH-Wert der resultierenden TMAMS-Lösung mit einer pH-Elektrode (Ω Metrohm) überprüft und falls nötig exakt auf pH 7.0 eingestellt. Die neutrale Lösung wurde anschließend am Rotationsverdampfer eingeeengt und für mindestens 72 h im Hochvakuum getrocknet. Es resultieren 467.62 g N(CH₃)₄SO₃CH₃ (2763 mmol, 99.1 %) als weißer, feinpulvriger, nicht hygroskopischer Feststoff. C,H,N,S-Analyse (%): Berechnet für C₅H₁₅N₃OS (169.24 g/mol) C 35.48, H 8.93, N 8.28, S 18.95; gefunden C 35.65, H 8.61, N 8.38, S 18.73. ¹H-NMR (400 MHz, D₂O): 2.80 (s, 3 H), 3.19 (s, 12 H). ¹³C-NMR (100 MHz, D₂O): 41.28, 57.97.

Für potentiometrische Titrations wurden KOH (1.0 M, Merck Titripur[®]) und HCl (1.0 M, Merck Titripur[®]) sowie verdünnte Lösungen von Methansulfonsäure (≥ 99.5 %, Carl Roth) und TMAOH (1.0 M ± 0.02 M, Sigma Aldrich) als Titrationsmittel verwendet. Zur Bestimmung des Chloridgehalts kam AgNO₃ Lösung von Merck (Titripur[®]) zum Einsatz.

Gadolinium(III)-Stammlösungen wurden aus festem $\text{GdCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (99 %, Sigma Aldrich) hergestellt. Zur Fällung von Gd^{3+} aus den Kontrastmitteln fand Oxalsäure Dihydrat (≥ 99 %, Carl Roth) Verwendung. Die Aufreinigung der Liganden erfolgte über das Kationenaustauscherharz Dowex[®] 50 WX2 (100 – 200 mesh) der Firma Acros Organics mit Hilfe verdünnter Lösungen konzentrierter Salzsäure (37 %, Bernd Kraft). Zur Herstellung von TMAMS wurde Tetramethylammoniumhydroxid-Lösung (25 Gew.-% in H_2O) von Sigma Aldrich verwendet. Zur Pufferung der Probenlösung und zur Messung der Protonen-Relaxation wurde Chloressigsäure (≥ 99 %, Sigma-Aldrich) zugesetzt. Für die NMR-Spektroskopie wurden D_2O (99.9 %) und gegebenenfalls NaOD (30 % in D_2O) der Firma Deutero sowie die interne Referenzsubstanz TMSP- d_4 (98 Atom % D) von Sigma Aldrich verwendet. Alle für diese Arbeit verwendeten Lösungen von Chemikalien wurden grundsätzlich immer mit vollständig entionisiertem Wasser ($0.5 \mu\text{S cm}^{-1}$ bei 25 °C) aus einem Synergy[®] Millipore Wasseraufbereitungssystem von Merck hergestellt.

3.2. Potentiometrische Titration

Sofern nicht anders angegeben, wurden alle Liganden sowie Gd^{3+} mit einer Totalkonzentration von $[\text{L}]_t = [\text{Gd}^{3+}]_t = 10 \text{ mM}$ eingesetzt. Alle Messungen wurden pH-metrisch in 1.0 M TMACl oder TMAMS bei einer Temperatur von 25 °C durchgeführt und dabei kontinuierlich mit Stickstoff, welcher mit dem jeweiligen Inertsalz befeuchtet wurde, überspült. Bei der Auswahl der Inertsalze ist besonders auf deren Reinheit zu achten, da gerade Verunreinigungen durch Metalle wegen des hohen Inertsalzüberschusses im Vergleich zum komplexierenden Liganden die Reaktionen nachteilig beeinflussen können. Die Liganden konnten unter Berücksichtigung der mittels CHN-Analyse ermittelten H_2O bzw. HCl Gehalte pulverförmig eingewogen werden. Aufgrund des hygroskopischen Charakters von $\text{GdCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ wurden 0.1 M Gadolinium(III)-Stammlösungen hergestellt, deren Gd^{3+} -Gehalt mittels ICP-MS überprüft wurde. Diese Lösungen wurden durch Ansäuern mit HCl vor der Aufnahme von CO_2 aus der Luft und vor der Fällung von $\text{Gd}(\text{OH})_3$ geschützt. Zur Untersuchung der Protonierungs- bzw. Deprotonierungskonstanten der makrozyklischen Gd(III)-Komplexe wurde in einigen Fällen direkt das Kontrastmittel auf die Sollkonzentration von 10 mM verdünnt und anschließend potentiometrisch titriert. Dieses Vorgehen wird in *Kapitel 2* ausführlich diskutiert. Potentialmessungen wurden ausschließlich mit einer Schott IoLine (SI Analytics) Glaselektrode mit internem Iod/Iodid Referenzsystem und einem auf das Medium anpassbaren Brückenelektrolyten durchgeführt. Vor und nach jeder Messung wurde die Elektrode mit einer standardisierten Eichsäure (20 mM HCl oder $\text{CH}_3\text{SO}_3\text{H}$ in 1.0 M TMACl oder TMAMS) durch Titration eben dieser mit 1.0 M KOH kalibriert. Zur Auswertung der so erhaltenen Messdaten wurde das Programm *Elektrodenkalibrierung*^[127] verwendet und das Standardelektrodenpotential E^0 in mV sowie das experimentelle $\text{p}K_w$ ermittelt. Die Bestimmung von Deprotonierungs-/Protonierungskonstanten erfolgte aufgrund der in der Regel schnell verlaufenden Gleichgewichtseinstellung mittels kontinuierlicher, pH-metrischer Titration von jeweils 50 ml Ligandlösung. Sofern notwendig, wurden die Liganden zuvor durch Zugabe 1.0 M HCl protoniert. In der Regel wurden vier bis sechs Messungen pro Medium (TMACl oder TMAMS) und pro Ligand beziehungsweise Komplex durchgeführt. Als Titriermittel fanden, je nach untersuchter Reaktion, KOH, HCl, TMAOH oder TMAH (jeweils 1.0 M) Anwendung.

Der Eintrag von Kalium-Ionen durch Verwendung K^+ -haltiger Medien ist jedoch unbedingt zu vermeiden, da der große Überschuss des Inertsalzes zu merklicher Kaliumkomplexierung führt. Der vergleichsweise geringe Kaliumeintrag durch die Verwendung eines kaliumhaltigen Titrationsmittels hat jedoch in der Regel keinen signifikanten negativen Einfluss. Titrationsmittel von H_4dota und seinen Komplexen erforderten allerdings die Verwendung von einem kaliumfreien Titrationsmittel, in diesem Fall $N(CH_3)_4OH$ (1.0 M). Der Ligand würde sonst aufgrund seiner sehr guten Komplexbildungseigenschaften einen wasserunlöslichen Niederschlag mit den Kalium-Ionen des Titrationsmittels bilden. Darüber hinaus war es bei der Bestimmung von Komplexbildungskonstanten makrozyklischer Komplexe (kinetisch inert) grundsätzlich notwendig, diskontinuierliche, pH-metrische Titrations (Batch-Verfahren) anzuwenden. Der Grund hierfür liegt in der vergleichsweise langsamen Gleichgewichtseinstellung bei den makrozyklischen Liganden. Hierfür wurden jeweils 10 ml der 10 mM Ligand-Metall-Lösung in einzelnen thermostatisierten Gefäßen (ein Gefäß pro Titrationspunkt) vorgelegt und unter kontinuierlichem Stickstoffstrom mit 1.0 M Lauge in äquidistanten Schritten bis zur vollständigen Neutralisation aller in Lösung befindlicher Protonen versetzt und luftdicht verschlossen. In vier Kontrollgefäßen wurde über mehrere Wochen hinweg die charakteristische pH-Absenkung während der Komplexierung verfolgt, um die vollständige Einstellung des thermodynamischen Gleichgewichts und damit einhergehend die Vollendung der Komplexbildung festzustellen. Die Datenaufzeichnung während des Batch-Verfahrens erfolgte manuell mit Hilfe von Ω Metrohm 713/780 pH-Metern. Bei allen offenkettigen Liganden (kinetisch labil) war die Anwendung dieses Verfahrens aufgrund der raschen Gleichgewichtseinstellung nicht notwendig und es konnte, wie oben beschrieben, kontinuierlich titriert werden. Hierbei erfolgte die Zugabe des Titrationsmittels computergesteuert mit Hilfe der Software *Messlabor*^[128] und mit vollautomatischen Kolbenbüretten der Typen 765/665 Dosimat mit 5 ml Zylindervolumen der Firma Ω Metrohm. Ausreichende Misch- und Wartezeiten zur Gleichgewichtseinstellung während der kontinuierlichen Titration wurden pro Ligand bzw. Komplex durch alkalimetrische Hintitration der zu untersuchenden Substanz mit 1.0 M KOH, direkt gefolgt von einer acidimetrischen Rücktitration mit 1.0 M HCl, ermittelt.

Die abschließende, numerische Bestimmung der pK_S -Werte und Komplexbildungskonstanten erfolgte mit Hilfe der Software *Hyperquad2008*^[129]. Die Software bestimmt die gesuchten Werte nach dem Least-Squares-Verfahren über die Minimierung der Summe der Residuen zwischen gemessenem und berechnetem pH durch Variation der $\log\beta$ -Werte.

Hierfür wurden alle generierten Datensätze einer Verbindung kombiniert und gemeinsam ausgewertet. Die jeweils in Klammern hinter $\log \beta$ - bzw. $\log K$ -Werten angegebenen Fehler entsprechen dem dreifachen der von *Hyperquad2008* berechneten Standardabweichung. Diese Angabe sollte jedoch nicht mit der Angabe des σ -Wertes der jeweiligen Titrationskurven verwechselt werden. Dieser relative Wert ist interessant um die Güte des Fits zu bewerten, weil er neben den Residuen auch die als konstant angenommenen Fehler bei der Potentialmessung $\sigma_E = 0.3 \text{ mV}$ und der Volumenzugabe $\sigma_V = 0.005 \text{ ml}$, die für die in dieser Arbeit verwendeten Elektroden und Dosiereinheiten realistisch sind, berücksichtigt. Der pH-Wert wird dabei durch den negativen dekadischen Logarithmus der Protonenkonzentration definiert. Aus Gründen, die in *Kapitel 2* näher beleuchtet werden, wurde der pK_W in den jeweiligen Medien experimentell bestimmt und für die Auswertung verwendet. Auf die Verfeinerung kritischer Parameter wie Ligand-, Metall- und Protonenkonzentration wurde, sofern nicht anders gekennzeichnet, verzichtet.

3.3. Untersuchung des Komplexzerfalls mittels eines pH-stat

a) Bestimmung der Zerfallsgeschwindigkeit

Zur Verfolgung der pH-abhängigen Zerfallsreaktion Gd(III)-haltiger MRT-Kontrastmittel kam eine pH-stat Methode zum Einsatz. Alle Messungen wurden pH-metrisch in 1 M Medien aus $N(CH_3)_4Cl$ (*Prohance*[®] und *Gadovist*[®]) oder $N(CH_3)_4SO_3CH_3$ (*Dotarem*[®]) bei einer Temperatur von $37\text{ °C} \pm 0.1\text{ °C}$ innerhalb eines pH-Intervalls von 1.0 bis 2.5 durchgeführt und mindestens einmal wiederholt. Mehrfachmessungen wurden in direkter zeitlicher Abfolge und aus der gleichen Probenlösung durchgeführt. Die zu untersuchenden Lösungen wurden durch Verdünnung der jeweiligen Kontrastmittel auf eine Totalkonzentration von $[L]_t = [Gd^{3+}]_t = 70\text{ mM}$ erhalten. Die Gadolinium(III)-Konzentration der Kontrastmittel konnte mittels ICP-MS bestimmt werden. Zur Untersuchung von *Dotarem*[®] ($Gd(dota)^-$) musste TMAMS als Medium eingesetzt werden, um die Fällung eines Feststoffes während der Messung zu vermeiden. Zur Bestimmung von E^0 und dem experimentellen pK_w wurde die verwendete Schott IoLine Elektrode ebenfalls, wie in *Kapitel 3.2* beschrieben, kalibriert. Die pH-stat Messung wurde schließlich in jeweils 50 ml der Probenlösung durch kontinuierliche pH-Messung und Ausgleich der beim Komplexzerfall ($GdL + xH^+ \rightleftharpoons Gd^{3+} + LH_y$) vom freiwerdenden Liganden verbrauchten Protonen mit 1.0 M HCl, bei definiertem Regel-pH, durchgeführt. In Abhängigkeit der Zerfallsgeschwindigkeit des jeweiligen Kontrastmittels und dem zu untersuchenden pH-Wert mussten die minimale und die maximale Zugaberate [$ml \cdot min^{-1}$] des Titrationsmittels optimiert werden. Zur Ansteuerung des Regel-pH beziehungsweise des Regelpotentials [mV] wurde die Probenlösung mit einer definierten Menge konzentrierter HCl oder CH_3SO_3H versetzt und nach kurzer Wartezeit (1 min) durch die pH-stat Routine auf den Regelwert eingestellt. Der Reaktionsverlauf wurde dabei, sofern möglich, bis zum Erreichen des thermodynamischen Gleichgewichts (Sättigung) verfolgt. Um Verdunstung möglichst zu vermeiden, musste die Messzelle mit Parafilm luftdicht verschlossen werden. Die pH-stat Regelung, inklusive Datenaufzeichnung, wurde mit Hilfe eines Ω Metrohm Titrand 902, gesteuert von der Software Ω Metrohm *tiamo*TM 2.4 light, durchgeführt. Die Zugabe des jeweiligen Titrationsmittels erfolgte mit Hilfe von Ω Metrohm Dosino 800 Dosiereinheiten mit 10 ml Zylindervolumen. Der Temperaturverlauf wurde während der gesamten Messung mit einem Ω Metrohm Platin 1000-Temperaturfühler überwacht.

Die Untersuchung des offenkettigen Liganden dtpa^{5-} in Form seines Gd(III)-Komplexes erfolgte unter den gleichen Bedingungen, allerdings aufgrund der kinetischen Labilität der Komplexe offenkettiger Liganden bei einer Temperatur von 0 °C. Trotz der Bemühungen, die Zerfallsgeschwindigkeit soweit zu verlangsamen, dass die Reaktion pH-metrisch verfolgbar wird, blieben die Untersuchungen wegen der immer noch sehr hohen Reaktionsgeschwindigkeit ohne Erfolg. Die abschließende, numerische Ermittlung von Geschwindigkeitskonstanten erfolgte dann entweder durch logarithmische Auftragung des Verbrauchs von GdL gegen die Zeit und Bestimmung der Steigung für eine angenommene Reaktion pseudo-erster Ordnung, oder durch Entwicklung von Fits auf Basis der Methode der kleinsten Fehlerquadrate für kinetisch sinnvolle Reaktionsabläufe mit Hilfe des *Generalized Reduced Gradient*^[89] (GRG2) Algorithmus und *Microsoft Excel Solver* (Microsoft, Frontline Systems und Optimal Methods, USA).

b) Bestimmung der Anfangsgeschwindigkeit

Analog zur Bestimmung von Zerfallsgeschwindigkeiten (*Kapitel 3.3 a*) wurden die Experimente zur Bestimmung der Reaktionsordnung nach der Methode der Anfangsgeschwindigkeiten^[88] durchgeführt. Alle experimentellen Rahmenbedingungen und Gerätschaften blieben dabei unverändert. Einzig die Konzentration der zu untersuchenden Lösungen musste angepasst werden. Es wurde die Reaktionsordnung für die Kontrastmittel *Prohance*[®], *Gadovist*[®] und *Dotarem*[®] ermittelt. Dazu wurden jeweils 50 ml der Probelösung steigender Komplexkonzentration (50 mM bis 300 mM) in 1 M TMACl- oder TMAMS-Medium mit konzentrierter Säure versetzt und anschließend auf den gewünschten Regel-pH eingestellt. Der einzustellende pH-Wert richtete sich dabei maßgeblich nach der abgeschätzten Halbwertszeit des untersuchten Kontrastmittels. Je schneller die Reaktionsgeschwindigkeit, desto höher war der Regel-pH. Dieser lag jedoch stets innerhalb des Regel-Intervalls von pH 1.0 bis 2.5. Alle Messungen wurden mindestens einmal aus dem gleichen Ansatz wiederholt. Der Protononenverbrauch während der Messung wurde dabei über einen deutlich kürzeren Zeitraum, jedoch wenigstens eine Halbwertszeit, verfolgt, da für diese Methode der Gesamtumsatz ohnehin verschwindend gering sein sollte ($\leq 10\%$). Die Bestimmung der Reaktionsordnung erfolgte letztlich durch Auftragung der logarithmierten Anfangsgeschwindigkeit v_0 [$\text{mol l}^{-1} \text{s}^{-1}$] gegen die logarithmierte Anfangskonzentration c_0 [mol l^{-1}], wobei die Steigung der Bestgeraden die Reaktionsordnung ergibt.

3.4. Untersuchung des Komplexzerfalls mittels Messung der Protonenrelaxation

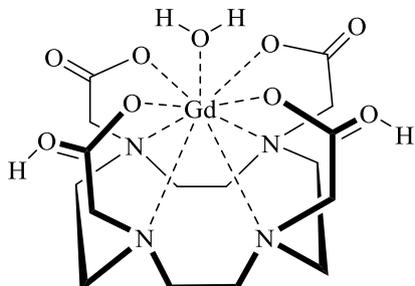
Die Protonenrelaxation wurde spektroskopisch mit Hilfe eines NMR-Analyzers der Serie Minispec mq60 von Bruker bei einer magnetischen Flussdichte von 1.41 T und einer Arbeitsfrequenz von 60 MHz untersucht. Alle Proben wurden für die Dauer der Experimente bei einer Temperatur von 37 °C inkubiert. Eventuell gebildetes Kondenswasser musste vor jeder Messung durch gründliches Mischen der Proben entfernt werden. Nach dem Mischvorgang wurden die Proben für weitere 5 bis 10 Minuten bei 37 °C in einem Wasserbad gelagert, damit sich das gesamte Volumen im unteren Bereich des Messröhrchens sammeln und somit Volumenänderungen während der Messung vermieden werden konnten. Es wurden jeweils 1 mM Lösungen der Kontrastmittel *Prohance*[®], *Gadovist*[®] und *Dotarem*[®] innerhalb eines pH-Intervalls von 1.0 bis 2.5 in Schritten von 0.5 pH-Einheiten untersucht. Um pH-Änderungen während der Messung zu vermeiden, musste bei den pH-Werten 2.0 und 2.5 ein fünfzigfacher Überschuss an Chloressigsäure zugesetzt werden. Bei pH 1.0 und 1.5 war dies aufgrund der hohen Protonenkonzentration in Lösung nicht notwendig. Das Gesamtvolumen der Proben beträgt 200 µl, da so der homogene Bereich der Empfängerspule optimal gefüllt ist. Alle Prüflösungen wurden durch entsprechende Verdünnung 10 mM Stammlösungen der Kontrastmittel oder GdCl₃·6H₂O hergestellt. Die Konzentration der Stammlösungen wurden mittels ICP-MS überprüft. Zur Erstellung der Prüflösungen war es zudem notwendig, vier separate Hintergrundmedien (1 M TMAcI) anzusetzen und direkt auf den Prüf-pH (1.0, 1.5, 2.0, 2.5) mit 2.0 M HCl einzustellen. Bei pH 2.0 und 2.5 enthielt das Medium zusätzlich 50 mM Chloressigsäure.

Letztlich wurden je 2 ml der 1 mM Prüflösungen durch Mischen der Stammlösungen mit dem entsprechenden Medium bei einer Temperatur von 37 °C hergestellt. Das Mischen der Lösungen hat das sofortige Einsetzen der Zerfallsreaktion zur Folge, weshalb die Relaxationszeiten T_1 und T_2 der Proben (je 200 µl) direkt im Anschluss erstmalig vermessen wurden. Jede Einzelmessung wurde dabei wenigstens einmal wiederholt. Zu Beginn der Reaktion wurden Messpunkte in möglichst kurzer zeitlicher Abfolge generiert. Je weiter die Reaktion fortgeschritten war, desto größer wurden auch die Zeitintervalle zwischen den einzelnen Messpunkten.

Die Bestimmung der Relaxivität der beteiligten Substanzen erfolgte unter den gleichen Bedingungen wie oben angegeben. Allerdings wurden hierfür die Relaxationszeiten der Kontrastmittel und $\text{GdCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ in direkter Abhängigkeit ihrer Konzentration untersucht. Hierzu wurden jeweils 200 μl Prüflösungen von *Prohance*[®], *Gadovist*[®], *Dotarem*[®] sowie Gd^{3+} steigender Konzentration ($0 \mu\text{M} \leq [\text{GdL}]_t \leq 1000 \mu\text{M}$) in 1 M TMAcI bei pH 1.0 und 2.0 erstellt. Der Einfluss von Chloressigsäure auf die Relaxivität wurde zusätzlich überprüft, indem die T_1 - und T_2 -Werte bei pH 2.0 einmal mit Zusatz von 50 mM Chloressigsäure und einmal ohne durchgeführt wurden. Durch Auftragung der reziproken Relaxationszeiten lässt sich über den linearen Zusammenhang zwischen Konzentration und Relaxationszeit $\Delta T_i^{-1} = r_i \cdot [c]$ die Relaxivität r_i ($i = 1, 2$) der jeweiligen Verbindung ermitteln.

3.5. Metallkomplexsynthesen

3.5.1. Synthese von $[\text{Gd}(\text{H}_2\text{dota})(\text{H}_2\text{O})]\text{Cl}\cdot\text{H}_2\text{O}$



50 ml einer 70 mM Lösung von *Dotarem*[®] in 1 M TMACl wurden rasch mit 1 M HCl auf pH 1.0 bei einer Temperatur von 37 °C eingestellt. Dabei wurde der pH kontinuierlich gemessen und die Säurezugabe von einem Ω Metrohm Titrand 902 mit aufgesetzter 10 ml Dosino 800 Dosiereinheit durchgeführt. Innerhalb kurzer Zeit trat in der Lösung

eine intensive Trübung auf, die sich auch nach längerem Warten nicht wieder auflöste. Die Suspension wurde filtriert und der Rückstand dreimal mit je 10 ml H₂O gewaschen. Der Filterkuchen wurde vom restlichen Lösemittel befreit und im Hochvakuum getrocknet. 120 mg des schlecht wasserlöslichen Feststoffes wurden dann durch kurzes Aufkochen (ca. 5 min) in 2 ml H₂O gelöst. Während des langsamen Abkühlens der Lösung auf Raumtemperatur bildeten sich transparente, stäbchenförmige Kristalle, die zur Kristallstrukturanalyse verwendet werden konnten.

Elementaranalyse⁴: C₁₆H₃₂ClGdN₄O₁₁, M = 649.15 g/mol

	Kohlenstoff [%]	Wasserstoff [%]	Stickstoff [%]
Berechnete Werte	29.60	4.97	8.63
Gemessene Werte	30.20	5.11	8.63

IR [cm⁻¹]: 3482 (br.), 3330 (br.), 3172, 1628 (br.), 1466, 1423, 1401, 1319, 1282, 1240, 1080, 998, 938, 899, 830 (br.), 716, 601 (br.).

⁴ Aufgrund der starken Signalverbreiterung durch den Einfluss paramagnetischer Metalle, insbesondere Gd³⁺, in der NMR-Spektroskopie, ist eine Auswertung der NMR-Spektren selbst bei drastisch erhöhter Scan-Anzahl nicht möglich.

3.5.2. Synthese von $[\text{CsK}_2(\text{H}_4\text{dota})_4]\text{Cl}_3$

In einer zuvor abgeschmolzenen Pasteurpipette wurde 1 ml einer 1 M KCl Lösung, gesättigt mit Cäsiumchlorid, vorgelegt. Mit Hilfe einer Spritze wurde die Lösung vorsichtig mit einer 100 mM Lösung von H_4dota überschichtet. Im Laufe einer Stunde bildeten sich an der Phasengrenzfläche sehr kleine Kristalle, die innerhalb eines Tages zu, für die Röntgenstrukturanalyse geeigneten, stäbchenförmigen transparenten Kristallen heranwuchsen. Längere Wartezeiten (> 2 d) führten zu zunehmender Verwachsung und schließlich zur Ausbildung eines amorphen, weißen Feststoffes, welcher die Kristalle vollständig umschloss. Die Elementaranalyse unterstreicht noch einmal den hohen im Kristall gefundenen Wassergehalt, deckt sich jedoch nicht perfekt mit den Daten der Kristallstrukturanalyse⁵.

Elementaranalyse: $\text{C}_{64}\text{H}_{112}\text{Cl}_3\text{CsK}_2\text{N}_{16}\text{O}_{32}\cdot 23 \text{H}_2\text{O}$, $M = 2349.48 \text{ g/mol}$

	Kohlenstoff [%]	Wasserstoff [%]	Stickstoff [%]
Berechnete Werte	32.72	6.78	9.54
Gemessene Werte	32.85	6.56	9.39

IR [cm^{-1}]: 3364 (br.), 3094, 2853, 2481 (br.), 1679 (br.), 1459, 1435, 1349, 1312, 1288, 1242, 1214, 1154, 1086, 1004, 978, 961, 929, 909, 880, 827, 766, 685, 619.

⁵ Die Diskrepanz des Wassergehalts kann so interpretiert werden, dass die kristalline Verbindung leicht Wasser verliert.

3.5.3. Synthese von $[K_2(H_4dota)_2]Cl_2$

In einem 110 ml Maßkolben wurden 8.201 g KCl (0.11 mol, 1 mol/l) vorgelegt und gelöst. Zu dieser Lösung wurde eine Lösung aus 444.86 mg H_4dota (1.1 mmol, 10 mmol/l) gegeben, wobei es zur sofortigen Fällung eines weißen Niederschlags kam. Nach Auffüllen des Kolbens auf die Eichmarke wurde dieser für 24 h bei Raumtemperatur dicht verschlossen gelagert, um dem System eine Gleichgewichtseinstellung zu ermöglichen. Der Feststoff wurde anschließend filtriert und dreimal mit jeweils 10 ml H_2O gewaschen. Der Filterkuchen wurde dann im Hochvakuum getrocknet (siehe Elementaranalyse). Daraufhin wurden 100 mg der feinpulvrigen, weißen Substanz in 2 ml H_2O suspendiert und auf 90 °C erwärmt und so lange gerührt, bis eine klare Lösung entstand. Diese wurde erneut über einen Spritzenfilter filtriert und innerhalb von 7 Tagen von 90 auf 70 °C abgekühlt. Dabei bildeten sich flache, transparente Kristalle, die zur Röntgenstrukturanalyse geeignet waren. Auch bei diesem Kristall gibt es eine Diskrepanz zwischen den molaren Massen aus der Elementaranalyse des getrockneten Feststoffes und der Kristallstrukturanalyse. Im Kristall finden sich drei H_2O mehr als im amorphen Feststoff. Dies ist jedoch nicht weiter verwunderlich, da die Wassermoleküle aller Wahrscheinlichkeit nach bei der Trocknung im Hochvakuum verloren gegangen sind.⁶

Elementaranalyse: $C_{32}H_{56}Cl_2K_2N_8O_{16} \cdot 3 H_2O$, $M = 1011.98$ g/mol

	Kohlenstoff [%]	Wasserstoff [%]	Stickstoff [%]
Berechnete Werte	37.98	6.18	11.07
Gemessene Werte	38.01	6.23	10.87

IR [cm^{-1}]: 3386 (br.), 3094, 2851, 1677 (br.), 1460, 1351, 1312, 1290, 1255, 1213, 1155, 1087, 1072, 979, 963, 928, 910, 881, 829, 768, 687, 622.

⁶ In den Abschnitten 3.5.2 und 3.5.3 wurde jeweils auf eine schematische Abbildung der Verbindungen verzichtet. Die Strukturen sind sehr komplex, weshalb ihre Darstellung an dieser Stelle nicht sinnvoll wäre. Detaillierte Informationen und Abbildungen finden sich in der Diskussion der Kristallstrukturen (Kapitel 2.8.2).

3.6. Isolation der Liganden beziehungsweise Komplexe

Zur Isolation der Liganden wurden diese in Form ihrer Kontrastmittel mit ca. 100 ml vollentsalztem Wasser in einem ausreichend großen Rundkolben vorgelegt. Die gerührte Lösung wurde anschließend mit einer Lösung aus 3 Äquivalenten Oxalsäure Dihydrat, ebenfalls ca. 100 ml, versetzt. Im Falle der offenkettigen Liganden zeigte eine sofort auftretende Trübung das Ausfallen von festem $\text{Gd}_2(\text{C}_2\text{O}_4)_3$ an. Bei den makrozyklischen Liganden trat diese Trübung aufgrund der hohen kinetischen Stabilität erst wesentlich später auf. Zur Vervollständigung der Fällungsreaktion wurden die Suspensionen mindestens 24 h bei Raumtemperatur (offenkettige, kinetisch labile Liganden) bzw. 72 h bei 50 °C (makrozyklische, kinetisch inerte Liganden) gerührt und anschließend bei Raumtemperatur filtriert. Der Rückstand wurde zweimal mit jeweils 50 ml Wasser gewaschen und die mit dem Filtrat vereinigten Waschlösungen am Rotationsverdampfer eingengt. Das so erhaltene Rohprodukt wurde im Folgenden mit Hilfe eines Kationenaustauschers (Dowex[®] 50 WX2, 100 – 200 mesh) von verbliebenen kationischen Verunreinigungen befreit. Dazu musste das Rohprodukt an dem zuvor vollständig mit Protonen beladenen Ionenaustauscherharz adsorbiert und mit Wasser sowie wässriger Salzsäure steigender Konzentration (0.5 M, 1.0 M, 3.0 M, 6.0 M) eluiert werden. Die reinen Liganden konnten in fester Form direkt aus der 1 M bzw. 3 M Fraktion durch vollständiges Entfernen des Lösemittels als Hydrochloride erhalten werden.

Zur Isolation des Komplexes $[\text{Gd}(\text{dota})\text{N}(\text{CH}_3)_4]$ aus *Dotarem*[®] konnte das verdünnte Kontrastmittel direkt auf einen zuvor mit 1 M TMACl-Lösung konditionierten Kationenaustauscher (Dowex[®] 50 WX2, 100 – 200 mesh) gegeben werden. Das neutrale Produkt wurde mit Wasser eluiert und im Anschluss vollständig vom Lösemittel befreit (Gd(III)-Gehalt mittels ICP-MS überprüft). C,H,N,Gd-Analyse (%): Berechnet für $\text{C}_{20}\text{H}_{36}\text{GdN}_5\text{O}_8 \cdot 1,6 \text{ H}_2\text{O}$ (660.60 g/mol) C 36.36, H 5.98, N 10.60, Gd^{3+} 23.80; gefunden C 36.40, H 6.01, N 10.50, Gd^{3+} 23.61.

3.7. Charakterisierung relevanter Substanzen

Alle Liganden, verwendete Chemikalien sowie kristalline Metallkomplexe wurden, sofern möglich, hinsichtlich ihrer Reinheit mittels NMR-Spektroskopie untersucht. Außerdem wurden routinemäßig Elementaranalysen durchgeführt, gerade wenn NMR-Spektren keine aussagekräftigen Daten lieferten (Gd(III)-haltige Proben). NMR-Spektren wurden mit einem Avance Ultrashield 400 NMR-Gerät der Firma Bruker aufgenommen. Die Resonanzfrequenz für ^1H -Spektren betrug 400.20 MHz, für ^{13}C -Spektren 100.63 MHz. Alle Messungen wurden in D_2O mit TMS- d_4 als interne Referenz durchgeführt. Chemische Verschiebungen δ in ppm wurden dabei auf die Referenzsubstanz bezogen. In manchen Fällen wurde den Proben NaOD zur Erhöhung der Löslichkeit zugesetzt. NMR-Signale wurden mit Hilfe der gängigen Symbolik beschrieben (s = Singulett, br. s = breites Singulett, d = Dublett, t = Triplett, q = Quartett, m = Multipllett). Die Elementaranalysen wurden von Frau Harling am Servicezentrum für Elementanalytik der anorganischen und allgemeinen Chemie an der Universität des Saarlandes mit einem Vario Micro Cube der Firma Elementar angefertigt. Der Kohlenstoff-, Stickstoff- und Wasserstoffgehalt, in manchen Fällen auch der Schwefelgehalt der Substanzen wurde jeweils zweifach bestimmt. Solange Abweichung zwischen gemessenen und theoretisch berechneten Werten kleiner als 0.5 % war, musste keine Anpassung vorgenommen werden. In diesen Fällen konnte die theoretisch berechnete molare Masse direkt verwendet werden. Sauerstoffbestimmungen wurden von Frau Jung am Institut für neue Materialien im Bereich Chemische Analytik mit einem rapid OXY cube der Firma Elementar bei einer Pyrolysetemperatur von 1450 °C jeweils dreifach durchgeführt. IR-Spektren der kristallinen Metallkomplexe wurden an einem Vertex 70 Spektrometer der Firma Bruker mit ATR-Einheit gemessen und mit der Software *OPUS NT 3.1* ausgewertet. Die Proben wurden in einem Wellenzahlenbereich von 4500 cm^{-1} bis 600 cm^{-1} mit einer Auflösung von 4 cm^{-1} untersucht. Es erfolgten jeweils 16 Probenscans und 16 Scans des Hintergrundes. Die Lage der Banden wird in Wellenzahlen [cm^{-1}] angegeben und im Falle breiter Banden wird die zusätzliche Bezeichnung br. verwendet. Metallgehalte (Gd^{3+} und K^+) wurden von Frau Dr. Hein am Institut für Anorganische Festkörperchemie der Universität des Saarlandes an einem induktiv gekoppelten Plasma-Massenspektrometer des Typs 7500cx der Firma Agilent durchgeführt. In manchen Fällen wurde zusätzlich der Chloridgehalt mit Hilfe potentiometrischer Titrations der zu untersuchenden Substanz mit 0.1 M AgNO_3 Lösung und einer Ag/AgCl-Elektrode von Ω Metrohm bestimmt.

Kristallstrukturanalysen wurden von Dr. Volker Huch am Institut für Anorganische Chemie der Universität des Saarlandes auf einem Bruker APEX-II CCD Diffraktometer durchgeführt. Die Strukturen wurden von Dr. Bernd Morgenstern gelöst und verfeinert. Zur Strukturlösung wurde das Programm *SHELXS-97*^[130] und zur Verfeinerung der Datensätze die Programme *SHELLXL-97*^[131] oder *SHELLXL-2014*^[132] verwendet. Die Röntgenstrukturanalysen wurden jeweils nach der Direkt-Methode gelöst und gegen F^2 verfeinert. In der Regel wurden alle Nichtwasserstoffatome anisotrop verfeinert. Mit Hilfe des Riding-Modells konnten die Positionen aller CH-Wasserstoffatome berechnet werden. Auf einer Differenz-Fourier-Karte konnten die NH- und OH-Wasserstoffatome lokalisiert und anschließend isotrop verfeinert werden. Aufgrund der hohen Restelektronendichte in der Röntgenstrukturanalyse von $[\text{CsK}_2(\text{H}_4\text{dota})_4\text{Cl}_3]$ sowie der jeweiligen Vernetzung zweier Ligandeneinheiten über Wasserstoffbrücken und der offensichtlichen Protonierung zweier Stickstoffatome pro Ligand wurden 1.5 Chloridionen als Gegenionen auf der Elektronendichtekarte den höchsten Elektronendichten zugeordnet. Zudem wurde eine weitere Zuordnung von 15 Wassermolekülen (alle isotrop verfeinert) in der asymmetrischen Einheit vorgenommen. Die größte verbleibende Restelektronendichte ($4.79 \text{ e}^- \text{ \AA}^{-3}$) wurde nicht weiter zugeordnet ($RI = 10.45 \%$, $wR2 = 34.28 \%$ für F^2 über alle Daten). Im Anschluss wurde das Programm *SQUEEZE*^[118] aus der Software *Platon*^[119] verwendet, um die Lösemittelmoleküle aus der Struktur herauszurechnen. Es wurden 59 Wassermoleküle gefunden, was umgerechnet auf die asymmetrische Einheit 14.75 Wasser pro Formeleinheit entspricht. Durch die getätigten Anpassungen konnte die Konsistenz der gemittelten Daten erheblich verbessert werden ($RI = 5.83 \%$, $wR2 = 18.95 \%$ für F^2 über alle Daten). Die graphische ORTEP-Darstellung der Strukturen erfolgte mit dem Programm *Diamond 4.0*^[133].

3.8. Weitere Analysenergebnisse

a) *H₅dtpa*

Elementaranalyse: C₁₄H₂₃N₃O₁₀, M = 393.35 g/mol

	Kohlenstoff [%]	Wasserstoff [%]	Stickstoff [%]
Berechnete Werte	42.75	5.89	10.68
Gemessene Werte	43.11	5.61	10.46

¹H-NMR (400 MHz, D₂O): δ [ppm] = 2.55–2.61 (m, 8 H), 3.08 (s, 2 H), 3.12 (s, 8 H).

¹³C-NMR (100 MHz, D₂O): δ [ppm] = 54.4, 54.6, 61.3, 61.7, 182.4, 182.5.

b) *H₃dtpa-bma*

Elementaranalyse: C₁₆H₂₉N₅O₈·2 H₂O, M = 455.46 g/mol

	Kohlenstoff [%]	Wasserstoff [%]	Stickstoff [%]
Berechnete Werte	42.19	7.30	15.38
Gemessene Werte	42.41	7.27	14.94

¹H-NMR (400 MHz, D₂O): δ [ppm] = 2.79 (s, 6 H), 3.31 (tr, *J* = 6 Hz, 4 H), 3.39 (tr, *J* = 6 Hz, 4 H), 3.73 (s, 2 H), 3.76 (s, 4 H), 3.88 (s, 4 H).

¹³C-NMR (100 MHz, D₂O): δ [ppm] = 28.8, 54.4, 57.6, 59.6, 59.8, 172.2, 175.2, 175.6, 193.0.

c) *H₃dtpa-bmea***Elementaranalyse:** C₂₀H₃₇N₅O₁₀·3 HCl·2 H₂O, M = 652.95 g/mol

	Kohlenstoff [%]	Wasserstoff [%]	Stickstoff [%]
Berechnete Werte	36.79	6.79	10.73
Gemessene Werte	36.71	6.65	10.37

¹H-NMR (400 MHz, D₂O): δ [ppm] = 3.22 (br. s, 4 H), 3.36 (s, 6 H), 3.45–3.48 (m, 4 H), 3.55–3.59 (m, 8 H), 3.70 (s, 2 H), 4.16–4.18 (m, 8 H).

¹³C-NMR (100 MHz, D₂O): δ [ppm] = 42.0, 52.5, 56.2, 56.6, 58.2, 59.2, 60.9, 72.9, 168.9, 171.8, 176.3.

d) *H₅eob-dtpa***Elementaranalyse:** C₂₃H₃₃N₃O₁₁·3.8 H₂O, M = 595.98 g/mol

	Kohlenstoff [%]	Wasserstoff [%]	Stickstoff [%]
Berechnete Werte	46,35	6.87	7.05
Gemessene Werte	46,41	6,82	6,90

¹H-NMR (400 MHz, D₂O): δ [ppm] = 1.37 (tr, *J* = 7 Hz, 3 H), 2.10–2.16 (m, 2 H), 2.23–2.38 (m, 2 H), 2.44–2.50 (m, 3 H), 2.69–2.78 (m, 2 H), 2.87–3.03 (m, 5 H), 3.10–3.26 (m, 5 H), 4.07 (q, *J* = 7 Hz, 2 H), 6.94 (d, *J* = 8.7 Hz, 2 H), 7.15 (d, *J* = 8.6 Hz, 2 H).

¹³C-NMR (100 MHz, D₂O): δ [ppm] = 16.8, 33.3, 53.2, 56.0, 61.4, 61.9, 63.5, 67.0, 117.6, 133.0, 135.4, 158.8, 182.0, 182.3, 182.4, 188.2.

e) *H₄dota*

Elementaranalyse: C₁₆H₂₈N₄O₈·1.7 H₂O, M = 435.04 g/mol

	Kohlenstoff [%]	Wasserstoff [%]	Stickstoff [%]
Berechnete Werte	44.17	7.28	12.88
Gemessene Werte	44.22	7.06	12.94

¹H-NMR (400 MHz, D₂O): δ [ppm] = 3.32 (s, 16 H), 3.90 (s, 8 H).

¹³C-NMR (100 MHz, D₂O): δ [ppm] = 52.9, 58.8, 173.9.

f) *H₃bt-do3a*

Elementaranalyse: C₁₈H₃₄N₄O₉·0.3 H₂O, M = 455,89 g/mol

	Kohlenstoff [%]	Wasserstoff [%]	Stickstoff [%]
Berechnete Werte	47.42	7.65	12.29
Gemessene Werte	47.47	7.66	11.95

¹H-NMR (400 MHz, D₂O): δ [ppm] = 3.37 (br. s, 16 H), 3.59–3.86 (m, 12 H).

¹³C-NMR (100 MHz, D₂O): δ [ppm]⁷ = 46.5, 46.8, 48.8, 50.1, 50.2, 50.6, 51.1, 52.3, 52.5, 52.8, 53.8, 54.3, 54.9, 55.7, 58.8, 62.4, 64.5, 65.6, 66.7, 71.9, 168.7, 169.0, 171.3, 173.9, 174.8, 180.8..

⁷ Aufgrund der Rotationsdynamik der Verbindung war es nicht möglich ein klar interpretierbares ¹³C-Spektrum zu generieren. Die NMR-Spektren dienen allerdings weniger der genauen Charakterisierung der Substanzen, sondern vor allem zur Überprüfung ihrer Reinheit. Da das ¹H-Spektrum und die CHN-Analyse jedoch keine Hinweise auf eine Verunreinigung geben, kann davon ausgegangen werden, dass die Substanz rein vorliegt.

g) *H₃hp-do3a*

Elementaranalyse: C₁₇H₃₂N₄O₇·3 HCl·1 H₂O, M = 531.86 g/mol

	Kohlenstoff [%]	Wasserstoff [%]	Stickstoff [%]
Berechnete Werte	38.39	7.01	10.53
Gemessene Werte	38.51	7.33	10.31

¹H-NMR (400 MHz, D₂O): δ [ppm] = 1.26 (d, *J* = 6.1 Hz, 3 H), 2.97–3.75 (m, 22 H), 4.12–4.28 (m, 3 H).

¹³C-NMR (100 MHz, D₂O): δ [ppm] = 23.2, 49.6, 50.2, 51.7, 51.8, 52.9, 54.2, 54.3, 55.0, 55.7, 55.8, 58.0, 62.3, 64.7, 171.9, 177.0, 177.1.

h) *tris*

¹H-NMR (400 MHz, D₂O): δ [ppm] = 3.51 (s, 6 H).

¹³C-NMR (100 MHz, D₂O): δ [ppm] = 59.1, 65.9.

4. Literaturverzeichnis

- (1) Lauffer, R. B. Paramagnetic Metal Complexes as Water Proton Relaxation Agents for NMR Imaging: Theory and Design. *Chem. Rev.* **1987**, *87* (5), 901–927.
- (2) Lohrke, J.; Frenzel, T.; Endrikat, J.; Alves, F. C.; Grist, T. M.; Law, M.; Lee, J. M.; Leiner, T.; Li, K. C.; Nikolaou, K.; et al. 25 Years of Contrast-Enhanced MRI: Developments, Current Challenges and Future Perspectives. *Adv. Ther.* **2016**, *33* (1), 1–28.
- (3) James, A. P.; Dasarathy, B. V. Medical Image Fusion: A Survey of the State of the Art. *Inf. Fusion* **2014**, *19* (1), 4–19.
- (4) IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. *Ionizing Radiation, Part 1: X- and Gamma (γ)-Radiation, and Neutrons*; **2000**.
- (5) Roobottom, C. A.; Mitchell, G.; Morgan-Hughes, G. Radiation-Reduction Strategies in Cardiac Computed Tomographic Angiography. *Clin. Radiol.* **2010**, *65* (11), 859–867.
- (6) Bloch, F. Nuclear Induction. *Phys. Rev.* **1946**, *70* (7–8), 460–474.
- (7) Bloembergen, N.; Purcell, E. M.; Pound, R. V. Relaxation Effects in Nuclear Magnetic Resonance Absorption. *Phys. Rev.* **1948**, *73* (7), 679–712.
- (8) Moreau, J.; Guillon, E.; Pierrard, J.-C.; Rimbault, J.; Port, M.; Aplincourt, M. Complexing Mechanism of the Lanthanide Cations Eu^{3+} , Gd^{3+} and Tb^{3+} with 1,4,7,10-Tetrakis(Carboxymethyl)-1,4,7,10-Tetraazacyclododecane (Dota)—Characterization of Three Successive Complexing Phases: Study of the Thermodynamic and Structural Properties Of. *Chem. - A Eur. J.* **2004**, *10* (20), 5218–5232.
- (9) Hendee, W. R.; Morgan, C. J. Magnetic Resonance Imaging. Part I--Physical Principles. *West. J. Med.* **1984**, *141* (4), 491–500.
- (10) Pykett, I. L.; Newhouse, J. H.; Buonanno, F. S.; Brady, T. J.; Goldman, M. R.; Kistler, J. P.; Pohost, G. M. Principles of Nuclear Magnetic Resonance Imaging. *Radiology* **1982**, *143* (1), 157–168.
- (11) Schild, H. H. *MRI Made Easy*, 2. Edition.; Schering AG: Berlin, **1990**.
- (12) Caravan, P.; Ellison, J. J.; McMurry, T. J.; Lauffer, R. B. Gadolinium(III) Chelates as MRI Contrast Agents: Structure, Dynamics, and Applications. *Chem. Rev.* **1999**, *99* (9), 2293–2352.
- (13) Werner, E. J.; Datta, A.; Jocher, C. J.; Raymond, K. N. MRI-Kontrastmittel mit hoher Relaxivität: Komplexchemie im Dienste medizinischer Bildgebung. *Angew. Chemie* **2008**, *120* (45), 8696–8709.

- (14) *The Chemistry of Contrast Agents in Medical Magnetic Resonance Imaging*; Merbach, A., Helm, L., Tóth, É., Eds.; John Wiley & Sons, Ltd: Chichester, United Kingdom, **2013**.
- (15) Rohrer, M.; Bauer, H.; Mintorovitch, J.; Requardt, M.; Weinmann, H. J. Comparison of Magnetic Properties of MRI Contrast Media Solutions at Different Magnetic Field Strengths. *Invest. Radiol.* **2005**, *40* (11), 715–724.
- (16) De León-Rodríguez, L. M.; Martins, A. F.; Pinho, M. C.; Rofsky, N. M.; Sherry, A. D. Basic MR Relaxation Mechanisms and Contrast Agent Design. *J. Magn. Reson. Imaging* **2015**, *42* (3), 545–565.
- (17) Laurent, S.; Forge, D.; Port, M.; Roch, A.; Robic, C.; Vander Elst, L.; Muller, R. N. Magnetic Iron Oxide Nanoparticles: Synthesis, Stabilization, Vectorization, Physicochemical Characterizations, and Biological Applications. *Chem. Rev.* **2008**, *108* (6), 2064–2110.
- (18) Biederer, S. *Magnet-Partikel-Spektrometer*; Vieweg+Teubner Verlag: Wiesbaden, **2012**.
- (19) Corot, C.; Robert, P.; Idee, J.; Port, M. Recent Advances in Iron Oxide Nanocrystal Technology for Medical Imaging☆. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2006**, *58* (14), 1471–1504.
- (20) Kumar, K.; Tweedle, M. F. Macrocyclic Polyaminocarboxylate Complexes of Lanthanides as Magnetic Resonance Imaging Contrast Agents. *Pure Appl. Chem.* **1993**, *65* (3), 515–520.
- (21) Caravan, P. Strategies for Increasing the Sensitivity of Gadolinium Based MRI Contrast Agents. *Chem. Soc. Rev.* **2006**, *35* (6), 512.
- (22) Bloembergen, N. Proton Relaxation Times in Paramagnetic Solutions. *J. Chem. Phys.* **1957**, *27* (2), 572–573.
- (23) Bloembergen, N. Spin Relaxation Processes in a Two-Proton System. *Phys. Rev.* **1956**, *104* (6), 1542–1547.
- (24) Bloembergen, N.; Morgan, L. O. Proton Relaxation Times in Paramagnetic Solutions. Effects of Electron Spin Relaxation. *J. Chem. Phys.* **1961**, *34* (3), 842–850.
- (25) Solomon, I. Relaxation Processes in a System of Two Spins. *Phys. Rev.* **1955**, *99* (2), 559–565.
- (26) Solomon, I.; Bloembergen, N. Nuclear Magnetic Interactions in the HF Molecule. *J. Chem. Phys.* **1956**, *25* (2), 261–266.
- (27) Idée, J.-M.; Port, M.; Raynal, I.; Schaefer, M.; Le Greneur, S.; Corot, C. Clinical and Biological Consequences of Transmetallation Induced by Contrast Agents for Magnetic Resonance Imaging: A Review. *Fundam. Clin. Pharmacol.* **2006**, *20* (6), 563–576.

- (28) Lansman, J. B. Blockade of Current through Single Calcium Channels by Trivalent Lanthanide Cations. Effect of Ionic Radius on the Rates of Ion Entry and Exit. *J. Gen. Physiol.* **1990**, 95 (4), 679–696.
- (29) European Medicines Agency. *EMA's Final Opinion Confirms Restrictions on Use of Linear Gadolinium Agents in Body Scans Recommendations Conclude EMA's Scientific Review of Gadolinium Deposition*; **2017**.
- (30) European Medicines Agency. *Ablavar (Gadofosveset) - Withdrawal of the Marketing Authorisation in the European Union*; **2011**.
- (31) Klein, A. E. Einheitliche Neubestimmung Der Stabilitätskonstanten kommerzieller MRT-Kontrastmittel auf Gd(III)-Basis und Synthese und Charakterisierung neuartiger Gd(III)-Komplexe für die potentielle Anwendung als MRT-Kontrastmittel, Universität des Saarlandes, **2017**.
- (32) Scharding, T. Über den Einfluss der Ionenstärke und die Art des Inertelektrolyten in der potentiometrischen Titration zur Bestimmung von pK_S -Werten und Stabilitätskonstanten Gadolinium(III)-haltiger MRT-Kontrastmittel, Universität des Saarlandes, **2014**.
- (33) Weinmann, H.; Brasch, R.; Press, W.; Wesbey, G. Characteristics of Gadolinium-DTPA Complex: A Potential NMR Contrast Agent. *Am. J. Roentgenol.* **1984**, 142 (3), 619–624.
- (34) van der Molen, A. J.; Bellin, M.-F. Extracellular Gadolinium-Based Contrast Media: Differences in Diagnostic Efficacy. *Eur. J. Radiol.* **2008**, 66 (2), 168–174.
- (35) Caravan, P.; Cloutier, N. J.; Greenfield, M. T.; McDermid, S. A.; Dunham, S. U.; Bulte, J. W. M.; Amedio, J. C.; Looby, R. J.; Supkowski, R. M.; Horrocks, W. D. W.; et al. The Interaction of MS-325 with Human Serum Albumin and Its Effect on Proton Relaxation Rates. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, 124 (12), 3152–3162.
- (36) Frenzel, T.; Lengsfeld, P.; Schirmer, H.; Hütter, J.; Weinmann, H. J. Stability of Gadolinium-Based Magnetic Resonance Imaging Contrast Agents in Human Serum at 37 Degrees C. *Invest. Radiol.* **2008**, 43 (12), 817–828.
- (37) Idée, J. M.; Port, M.; Robic, C.; Medina, C.; Sabatou, M.; Corot, C. Role of Thermodynamic and Kinetic Parameters in Gadolinium Chelate Stability. *J. Magn. Reson. Imaging* **2009**, 30 (6), 1249–1258.
- (38) Port, M.; Idée, J. M.; Medina, C.; Robic, C.; Sabatou, M.; Corot, C. Efficiency, Thermodynamic and Kinetic Stability of Marketed Gadolinium Chelates and Their Possible Clinical Consequences: A Critical Review. *BioMetals* **2008**, 21 (4), 469–490.
- (39) Brücher, E.; Tircsó, G.; Baranyai, Z.; Kovács, Z.; Sherry, A. D. Stability and Toxicity of Contrast Agents. In *The Chemistry of Contrast Agents in Medical Magnetic Resonance Imaging*; Merbach, A., Helm, L., Tóth, É., Eds.; John Wiley & Sons, Ltd: Chichester, UK, **2013**; pp 157–208.

- (40) Chang, C. A. Lanthanide Macrocyclic Complexes: Structure, Thermodynamics, Kinetics, and Applications. In *Handbook on the Physics and Chemistry of Rare Earths*; Bünzli, J.-C. G., Pecharsky, V. K., Ed.; Elsevier: Amsterdam, **2017**; pp 169–299.
- (41) Cowper, S. E.; Robin, H. S.; Steinberg, S. M.; Su, L. D.; Gupta, S.; LeBoit, P. E. Scleromyxoedema-like Cutaneous Diseases in Renal-Dialysis Patients. *Lancet* **2000**, *356* (9234), 1000–1001.
- (42) Grobner, T. Gadolinium—a Specific Trigger for the Development of Nephrogenic Fibrosing Dermopathy and Nephrogenic Systemic Fibrosis? *Nephrol. Dial. Transplant.* **2006**, *21* (6), 1745–1745.
- (43) Marckmann, P. Nephrogenic Systemic Fibrosis: Suspected Causative Role of Gadodiamide Used for Contrast-Enhanced Magnetic Resonance Imaging. *J. Am. Soc. Nephrol.* **2006**, *17* (9), 2359–2362.
- (44) Balogh, E.; Tripier, R.; Fousková, P.; Reviriego, F.; Handel, H.; Tóth, É. Monopropionate Analogues of DOTA⁴⁻ and DTPA⁵⁻: Kinetics of Formation and Dissociation of Their Lanthanide(III) Complexes. *Dalt. Trans.* **2007**, No. 32, 3572.
- (45) Sherry, A. D.; Caravan, P.; Lenkinski, R. E. Primer on Gadolinium Chemistry. *J. Magn. Reson. Imaging* **2009**, *30* (6), 1240–1248.
- (46) Pálinkás, Z.; Baranyai, Z.; Brücher, E.; Rózsa, B. Kinetics of the Exchange Reactions between Gd(DTPA)²⁻, Gd(BOPTA)²⁻ and Gd(DTPA-BMA) Complexes, Used As MRI Contrast Agents, and the Triethylenetetraamine-Hexaacetate Ligand. *Inorg. Chem.* **2011**, *50* (8), 3471–3478.
- (47) Baranyai, Z.; Brücher, E.; Uggeri, F.; Maiocchi, A.; Tóth, I.; Andrási, M.; Gáspár, A.; Zékány, L.; Aime, S. The Role of Equilibrium and Kinetic Properties in the Dissociation of Gd[DTPA-Bis(Methylamide)] (Omniscan) at near to Physiological Conditions. *Chem. - A Eur. J.* **2015**, *21* (12), 4789–4799.
- (48) Thomsen, H. S.; Morcos, S. K.; Almén, T.; Bellin, M. F.; Bertolotto, M.; Bongartz, G.; Clement, O.; Leander, P.; Heinz-Peer, G.; Reimer, P.; et al. Nephrogenic Systemic Fibrosis and Gadolinium-Based Contrast Media: Updated ESUR Contrast Medium Safety Committee Guidelines. *Eur. Radiol.* **2013**, *23* (2), 307–318.
- (49) Bennett, C. L.; Qureshi, Z. P.; Sartor, A. O.; Norris, L. B.; Murday, A.; Xirasagar, S.; Thomsen, H. S. Gadolinium-Induced Nephrogenic Systemic Fibrosis: The Rise and Fall of an Iatrogenic Disease. *Clin. Kidney J.* **2012**, *5* (1), 82–88.
- (50) Girardi, M.; Kay, J.; Elston, D. M.; LeBoit, P. E.; Abu-Alfa, A.; Cowper, S. E. Nephrogenic Systemic Fibrosis: Clinicopathological Definition and Workup Recommendations. *J. Am. Acad. Dermatol.* **2011**, *65* (6), 1095–1106.

- (51) Kanda, T.; Fukusato, T.; Matsuda, M.; Toyoda, K.; Oba, H.; Kotoku, J.; Haruyama, T.; Kitajima, K.; Furui, S. Gadolinium-Based Contrast Agent Accumulates in the Brain Even in Subjects without Severe Renal Dysfunction: Evaluation of Autopsy Brain Specimens with Inductively Coupled Plasma Mass Spectroscopy. *Radiology* **2015**, *276* (1), 228–232.
- (52) Prybylski, J. P.; Maxwell, E.; Coste Sanchez, C.; Jay, M. Gadolinium Deposition in the Brain: Lessons Learned from Other Metals Known to Cross the Blood–brain Barrier. *Magn. Reson. Imaging* **2016**, *34* (10), 1366–1372.
- (53) Ersoy, H.; Rybicki, F. J. Biochemical Safety Profiles of Gadolinium-Based Extracellular Contrast Agents and Nephrogenic Systemic Fibrosis. *J. Magn. Reson. Imaging* **2007**, *26* (5), 1190–1197.
- (54) Thomsen, H. S. Is NSF Only the Tip of the “Gadolinium Toxicity” Iceberg? *J. Magn. Reson. Imaging* **2008**, *28* (2), 284–286.
- (55) Sieber, M. A.; Lengsfeld, P.; Frenzel, T.; Golfier, S.; Schmitt-Willich, H.; Siegmund, F.; Walter, J.; Weinmann, H.-J.; Pietsch, H. Preclinical Investigation to Compare Different Gadolinium-Based Contrast Agents Regarding Their Propensity to Release Gadolinium in Vivo and to Trigger Nephrogenic Systemic Fibrosis-like Lesions. *Eur. Radiol.* **2008**, *18* (10), 2164–2173.
- (56) Kumar, K. Macrocyclic Polyamino Carboxylate Complexes of Gd(III) as Magnetic Resonance Imaging Contrast Agents. *J. Alloys Compd.* **1997**, *249* (1–2), 163–172.
- (57) A. E. Martell; Motekaitis, R. J. *Determinations and Use of Stability Constants*; VCH Verlagsgesellschaft: Weinheim, **1992**.
- (58) Harris, W. R.; Raymond, K. N.; Weitzel, F. L. Ferric Ion Sequestering Agents. 6. The Spectrophotometric and Potentiometric Evaluation of Sulfonated Triccatecholate Ligands. *J. Am. Chem. Soc.* **1981**, *103* (10), 2667–2675.
- (59) Cacheris, W. P.; Quay, S. C.; Rocklage, S. M. The Relationship between Thermodynamics and the Toxicity of Gadolinium Complexes. *Magn. Reson. Imaging* **1990**, *8* (4), 467–481.
- (60) Hancock, R. D.; Martell, A. E. Ligand Design for Selective Complexation of Metal Ions in Aqueous Solution. *Chem. Rev.* **1989**, *89* (8), 1875–1914.
- (61) Meyer, D.; Schaefer, M.; Bonnemain, B. Gd-DOTA, A Potential MRI Contrast Agent; Current Status of Physicochemical Knowledge. *Invest. Radiol.* **1988**, *23*, S232–S235.
- (62) Kumar, K.; Jin, T.; Wang, X.; Desreux, J. F.; Tweedle, M. F. Effect of Ligand Basicity on the Formation and Dissociation Equilibria and Kinetics of Gd³⁺ Complexes of Macrocyclic Polyamino Carboxylates. *Inorg. Chem.* **1994**, *33* (17), 3823–3829.

- (63) Tse, P. K.; Powell, J. E. Study of Structural Influence on the Formation Constants of Lanthanide-Polyamino Polycarboxylate Complexes. *Inorg. Chem.* **1985**, *24* (18), 2727–2730.
- (64) Desreux, J. F. Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy of Lanthanide Complexes with a Tetraacetic Tetraaza Macrocycle. Unusual Conformation Properties. *Inorg. Chem.* **1980**, *19* (5), 1319–1324.
- (65) Baranyai, Z.; Pálincás, Z.; Uggeri, F.; Maiocchi, A.; Aime, S.; Brücher, E. Dissociation Kinetics of Open-Chain and Macrocyclic Gadolinium(III)-Aminopolycarboxylate Complexes Related to Magnetic Resonance Imaging: Catalytic Effect of Endogenous Ligands. *Chem. - A Eur. J.* **2012**, *18* (51), 16426–16435.
- (66) Brücher, E. Kinetic Stabilities of Gadolinium(III) Chelates Used as MRI Contrast Agents. In *Topics in Current Chemistry*; Springer Berlin Heidelberg, **2002**; Vol. 221, pp 103–122.
- (67) Tei, L.; Baranyai, Z.; Gaino, L.; Forgács, A.; Vágner, A.; Botta, M. Thermodynamic Stability, Kinetic Inertness and Relaxometric Properties of Monoamide Derivatives of Lanthanide(III) DOTA Complexes. *Dalt. Trans.* **2015**, *44* (12), 5467–5478.
- (68) Zak, O.; Aisen, P. Spectroscopic and Thermodynamic Studies on the Binding of Gadolinium(III) to Human Serum Transferrin. *Biochemistry* **1988**, *27* (3), 1075–1080.
- (69) Pilkington, K. A.; Staples, P. J. Acid-Catalyzed Reactions of Transition Metal Complexes. VII. Acid-Catalyzed Hydrolysis of Some Dinitrodiamineplatinum(II) Compounds. *Inorg. Chem.* **1968**, *7* (7), 1421–1423.
- (70) Tobe, M. L. Base Hydrolysis of Octahedral Complexes. *Acc. Chem. Res.* **1970**, *3* (11), 377–385.
- (71) Baranyai, Z.; Pálincás, Z.; Uggeri, F.; Brücher, E. Equilibrium Studies on the Gd^{3+} , Cu^{2+} and Zn^{2+} Complexes of BOPTA, DTPA and DTPA-BMA Ligands: Kinetics of Metal-Exchange Reactions of $[Gd(BOPTA)]^{2-}$. *Eur. J. Inorg. Chem.* **2010**, *2010* (13), 1948–1956.
- (72) Blackmond, D. G. “Wenn Schweine Fliegen Könnten”: Zum Prinzip Der Mikroskopischen Reversibilität. *Angew. Chemie* **2009**, *121* (15), 2686–2693.
- (73) Brücher, E.; Lázár, I.; Tóth, I. Kinetics of Formation and Dissociation of Lanthanide(III)-DOTA Complexes. *Inorg. Chem.* **1994**, *33* (18), 4070–4076.
- (74) Wang, X.; Jin, T.; Comblin, V.; Lopez-Mut, A.; Merciny, E.; Desreux, J. F. A Kinetic Investigation of the Lanthanide DOTA Chelates. Stability and Rates of Formation and of Dissociation of a Macrocyclic Gadolinium(III) Polyaza Polycarboxylic MRI Contrast Agent. *Inorg. Chem.* **1992**, *31* (6), 1095–1099.

- (75) Laurent, S.; Vander Elst, L.; Copoix, F.; Muller, R. N. Stability of MRI Paramagnetic Contrast Media. *Invest. Radiol.* **2001**, *36* (2), 115–122.
- (76) Cai, H.-Z.; Kaden, T. A. Metal Complexes with Macrocyclic Ligands. Part XXXVI. Thermodynamic and Kinetic Studies of Bivalent and Trivalent Metal Ions with 1,4,7,10-Tetraazacyclododecane-1,4,7-Triacetic Acid. *Helv. Chim. Acta* **1994**, *77* (1), 383–398.
- (77) Schmitt-Willich, H. Stability of Linear and Macrocyclic Gadolinium Based Contrast Agents. *Br. J. Radiol.* **2007**, *80* (955), 581–582.
- (78) Brehm, M. *Interner Bericht, APC 34/95*; Berlin, **1995**.
- (79) Brehm, M. *Interner Bericht, APC 71/95, Study No. 93/194*; Berlin, **1995**.
- (80) Tweedle, M. F. Gadolinium Deposition: Is It Chelated or Dissociated Gadolinium? How Can We Tell? *Magn. Reson. Imaging* **2016**, *34* (10), 1377–1382.
- (81) Pulukkody, K. P.; Norman, T. J.; Parker, D.; Royle, L.; Broan, C. J. Synthesis of Charged and Uncharged Complexes of Gadolinium and Yttrium with Cyclic Polyazaphosphinic Acid Ligands for in Vivo Applications. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* **1993**, No. 4, 605.
- (82) Jochem, A.-R. Y. L. Vereinheitlichte Neubestimmung thermodynamischer und kinetischer Parameter kommerzieller MRT-Kontrastmittel auf Gd(III)-Basis, Universität des Saarlandes, **2012**.
- (83) Kumar, K.; Chang, C. A.; Tweedle, M. F. Equilibrium and Kinetic Studies of Lanthanide Complexes of Macrocyclic Polyamino Carboxylates. *Inorg. Chem.* **1993**, *32* (5), 587–593.
- (84) Toth, E.; Brucher, E.; Lazar, I.; Toth, I. Kinetics of Formation and Dissociation of Lanthanide(III)-DOTA Complexes. *Inorg. Chem.* **1994**, *33* (18), 4070–4076.
- (85) Debye, P.; Hückel, E. The Theory of Electrolytes I. The Lowering of The Freezing Point and Related Occurrences. *Phys. Zeitschrift* **1923**, *24*, 185–206.
- (86) Outhwaite, C. W. Extension of the Debye–Hückel Theory of Electrolyte Solutions. *J. Chem. Phys.* **1969**, *50* (6), 2277–2288.
- (87) Lewis, G. N.; Randall, M. The Activity Coefficient of Strong Electrolytes. *J. Am. Chem. Soc.* **1921**, *43* (5), 1112–1154.
- (88) Frost; Pearson. *Kinetik Und Mechanismen Homogener Chemischer Reaktionen*, 1. unverän.; Helfferich, F., Schwindewolf, U., Eds.; John Wiley & Sons, Inc., New York: New York, **1964**.
- (89) Lasdon, L. S.; Waren, a. D.; Jain, a.; Ratner, M. Design and Testing of a Generalized Reduced Gradient Code for Nonlinear Programming. *ACM Trans. Math. Softw.* **1978**, *4* (1), 34–50.

- (90) Frenzel, T. *Orientierende Bestimmung Der Komplexbildungsgeschwindigkeiten von Gd-DTPA, Gd-DOTA Und Gadobutrol Durch Messung Der Abnahme Der T1-Rate, Persönliche Mitteilung*; Berlin, **2015**.
- (91) Meiboom, S.; Gill, D. Modified Spin-Echo Method for Measuring Nuclear Relaxation Times. *Rev. Sci. Instrum.* **1958**, *29* (8), 688–691.
- (92) Laidler, K. J.; Eyring, H. The Effect of Solvents on Reaction Rates. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **1939**, *39* (1), 303–340.
- (93) Amis, E. S.; Jaffé, G. The Derivation of a General Kinetic Equation for Reaction Between Ions and Dipolar Molecules. *J. Chem. Phys.* **1942**, *10* (9), 598–604.
- (94) Takács, A.; Napolitano, R.; Purgel, M.; Bényei, A. C.; Zékány, L.; Brücher, E.; Tóth, I.; Baranyai, Z.; Aime, S. Solution Structures, Stabilities, Kinetics, and Dynamics of DO3A and DO3A–Sulphonamide Complexes. *Inorg. Chem.* **2014**, *53* (6), 2858–2872.
- (95) Tóth, É.; Király, R.; Platzek, J.; Radüchel, B.; Brücher, E. Equilibrium and Kinetic Studies on Complexes of 10-[2,3-Dihydroxy-(1-Hydroxymethyl)-Propyl]-1,4,7,10-Tetraazacyclododecane-1,4,7-Triacetate. *Inorganica Chim. Acta* **1996**, *249* (2), 191–199.
- (96) Clarke, E. T.; Martell, A. E. Stabilities of Trivalent Metal Ion Complexes of the Tetraacetate Derivatives of 12-, 13- and 14-Membered Tetraazamacrocycles. *Inorganica Chim. Acta* **1991**, *190* (1), 37–46.
- (97) Bianchi, A.; Calabi, L.; Corana, F.; Fontana, S.; Losi, P.; Maiocchi, A.; Paleari, L.; Valtancoli, B. Thermodynamic and Structural Properties of Gd(III) Complexes with Polyamino-Polycarboxylic Ligands: Basic Compounds for the Development of MRI Contrast Agents. *Coord. Chem. Rev.* **2000**, *204* (1), 309–393.
- (98) Desreux, J. F. *Bull. Cl. Sci. Acad. R. Belg.* **1978**, *64*, 814.
- (99) Bennett, L. E.; Lane, R. H.; Gilroy, M.; Sedor, F. A.; Bennett, J. P. Enhanced Acidity of Protic Chelate Complexes. *Inorg. Chem.* **1973**, *12* (5), 1200–1203.
- (100) Norkus, E.; Vaičiuniene, J.; Vuorinen, T.; Gaidamauskas, E.; Reklaitis, J.; Jääskeläinen, A. S.; Crans, D. C. Cu(II) Complex Formation with Xylitol in Alkaline Solutions. *Carbohydr. Res.* **2004**, *339* (3), 599–605.
- (101) Carr, J. D.; Swartzfager, D. G. Kinetics of the Ligand Exchange and Dissociation Reactions of Calcium-Aminocarboxylate Complexes. *J. Am. Chem. Soc.* **1975**, *97* (2), 315–321.
- (102) Lian, P.; Hu, Q.-S.; Xie, Y.-R.; Guo, H.-X. Trans-N,N,N',N'-Tetrakis(Carboxymethyl)-Cyclohexane-1,2-Diammonium Tetrachloridocadmium(II) Tetrahydrate. *Acta Cryst. Sect. E Struct. Reports Online* **2009**, *65* (1), m32–m33.

- (103) Thuéry, P. Uranyl–Organic Assemblies with Acetate-Bearing Phenyl- and Cyclohexyl-Based Ligands. *Cryst. Growth Des.* **2011**, *11* (1), 347–355.
- (104) Sipos, P.; Bódi, I.; May, P. M.; Hefter, G. T. The Ionic Product of Water in Concentrated Tetramethylammonium Chloride Solutions. *Talanta* **1997**, *44* (4), 617–620.
- (105) Sarka, L.; Burai, L.; Király, R.; Zékány, L.; Brücher, E. Studies on the Kinetic Stabilities of the Gd^{3+} Complexes Formed with the N-Mono(Methylamide), N'-Mono(Methylamide) and N,N''-Bis(Methylamide) Derivatives of Diethylenetriamine-N,N,N',N'',N''-Pentaacetic Acid. *J. Inorg. Biochem.* **2002**, *91* (1), 320–326.
- (106) Becker, E. D. *High Resolution NMR; Theory and Chemical Applications*, 3. Edition.; Academic Press: San Diego, **2000**.
- (107) McEwen, I. Broadening of 1H NMR Signals in the Spectra of Heparin and OSCS by Paramagnetic Transition Metal Ions. The Use of EDTA to Sharpen the Signals. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2010**, *51* (3), 733–735.
- (108) Meyer, M.; Dahaoui-Gindrey, V.; Lecomte, C.; Guillard, R. Conformations and Coordination Schemes of Carboxylate and Carbamoyl Derivatives of the Tetraazamacrocycles Cyclen and Cyclam, and the Relation to Their Protonation States. *Coord. Chem. Rev.* **1998**, *178–180*, 1313–1405.
- (109) Weeks, J. M.; Taylor, M. R.; Wainwright, K. P. Formation Constants for Complexes of 1,4,7,10-Tetraazacyclododecane-1,7-Diacetic Acid and the Crystal Structure of Its Nickel(II) Complex. *J. Chem. Soc. Dalt. Trans.* **1997**, No. 3, 317–322.
- (110) Hermann, P.; Kotek, J.; Kubiček, V.; Lukeš, I. Gadolinium(III) Complexes as MRI Contrast Agents: Ligand Design and Properties of the Complexes. *Dalt. Trans.* **2008**, 9226 (23), 3027.
- (111) Aime, S.; Botta, M.; Fasano, M.; Marques, M. P. M.; Geraldes, C. F. G. C.; Pubanz, D.; Merbach, A. E. Conformational and Coordination Equilibria on DOTA Complexes of Lanthanide Metal Ions in Aqueous Solution Studied by 1H -NMR Spectroscopy. *Inorg. Chem.* **1997**, *36* (10), 2059–2068.
- (112) IUPAC. Coordination Compounds (IR-9). *Nomencl. Inorg. Chem.* **2004**, No. April, 1–69.
- (113) Steiner, T. The Hydrogen Bond in the Solid State. *Angew. Chemie Int. Ed.* **2002**, *41* (1), 48–76.
- (114) Etter, M. C. Encoding and Decoding Hydrogen-Bond Patterns of Organic Compounds. *Acc. Chem. Res.* **1990**, *23* (4), 120–126.

- (115) Spirlet, M. R.; Rebizant, J.; Desreux, J. F.; Loncin, M. F. Crystal and Molecular Structure of Sodium Aqua(1,4,7,10-Tetraazacyclododecane-1,4,7,10-Tetraacetato)Europate(III) Tetrahydrate $\text{Na}^+(\text{EuDOTA}\cdot\text{H}_2\text{O})\cdot 4\text{H}_2\text{O}$, and Its Relevance to NMR Studies of the Conformational Behavior of the Lanthanide Complexes Formed by The. *Inorg. Chem.* **1984**, 23 (3), 359–363.
- (116) Chang, C. A.; Francesconi, L. C.; Malley, M. F.; Kumar, K.; Gougoutas, J. Z.; Tweedle, M. F.; Lee, D. W.; Wilson, L. J. Synthesis, Characterization, and Crystal Structures of $\text{M}(\text{DO3A})$ ($\text{M} = \text{Iron, Gadolinium}$) and $\text{Na}[\text{M}(\text{DOTA})]$ ($\text{M} = \text{Fe, Yttrium, Gd}$). *Inorg. Chem.* **1993**, 32 (16), 3501–3508.
- (117) Cameron, T. S.; Mannan, K. M.; Rahman, M. O. The Crystal Structure of Sodium Acetate Trihydrate. *Acta Crystallogr. Sect. B Struct. Crystallogr. Cryst. Chem.* **1976**, 32 (1), 87–90.
- (118) Spek, A. L. PLATON SQUEEZE: A Tool for the Calculation of the Disordered Solvent Contribution to the Calculated Structure Factors. *Acta Crystallogr. Sect. C Struct. Chem.* **2015**, 71, 9–18.
- (119) Spek, A. L. Structure Validation in Chemical Crystallography. *Acta Crystallogr. Sect. D Biol. Crystallogr.* **2009**, 65 (2), 148–155.
- (120) Doxsee, K. M.; Wierman, H. R.; Weakley, T. J. R. Unusual Coordination Number and Geometry in a Potassium 18-Crown-6 Complex. *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, 114 (13), 5165–5171.
- (121) Shannon, R. D. Revised Effective Ionic Radii and Systematic Studies of Interatomic Distances in Halides and Chalcogenides. *Acta Crystallogr. Sect. A* **1976**, 32 (5), 751–767.
- (122) Muetterties, E. L.; Guggenberger, L. J. Idealized Polytopal Forms. Description of Real Molecules Referenced to Idealized Polygons or Polyhedra in Geometric Reaction Path Form. *J. Am. Chem. Soc.* **1974**, 96 (6), 1748–1756.
- (123) Porai-Koshits, M. A.; Aslanov, L. A. Some Aspects of the Stereochemistry of Eight-Coordinate Complexes. *J. Struct. Chem.* **1972**, 13 (2), 244–253.
- (124) Riche, C.; Pascard-Billy, C.; Cambillau, C.; Bram, G. 18-Crown-6–potassium–ethyl Acetoacetate Enolate. X-Ray Structure Determination. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1977**, 0 (6), 183–184.
- (125) Green, E. A.; Duax, W. L.; Smith, G. M.; Wudl, F. Coordination Complexes of Groups 1 and 2. Potassium $\text{O,O}'$ -Catecholdiacetate. *J. Am. Chem. Soc.* **1975**, 97 (23), 6689–6692.
- (126) Bryan, J. C.; Kavallieratos, K.; Sachleben, R. A. Unusual Ligand Coordination for Cesium. *Inorg. Chem.* **2000**, 39 (7), 1568–1572.

-
- (127) Basters, M. Elektrodenkalibrierung, Arbeitskreis Prof. Dr. Hegetschweiler, Universität des Saarlandes; unveröffentlicht. Saarbrücken **2012**.
- (128) ScienTec GmbH, MESSLABOR. ScienTec GmbH: Saarbrücken **2002**.
- (129) Gans, P.; Sabatini, A.; Vacca, A. Investigation of Equilibria in Solution. Determination of Equilibrium Constants with the HYPERQUAD Suite of Programs. *Talanta* **1996**, *43* (10), 1739–1753.
- (130) Sheldrick, G. M. SHELXS-97: Program for Crystal-Structure Solution. University of Göttingen, Germany: Göttingen **1997**.
- (131) Sheldrick, G. M. SHELXL-97: Program for Crystal-Structure Refinement. University of Göttingen, Germany: Göttingen **1997**.
- (132) Sheldrick, G. M. Crystal Structure Refinement with SHELXL. *Acta Crystallogr. Sect. C Struct. Chem.* **2015**, *71* (1), 3–8.
- (133) Putz, H.; Brandenburg, K. Diamond 4.0 - Crystal and Molecular Structur Visualization. Crystal Impact - Dr. H. Putz & Dr. K. Brandenburg GbR, Bonn.

5. Anhang

5.1. NMR-Spektren

a) H_5dpta

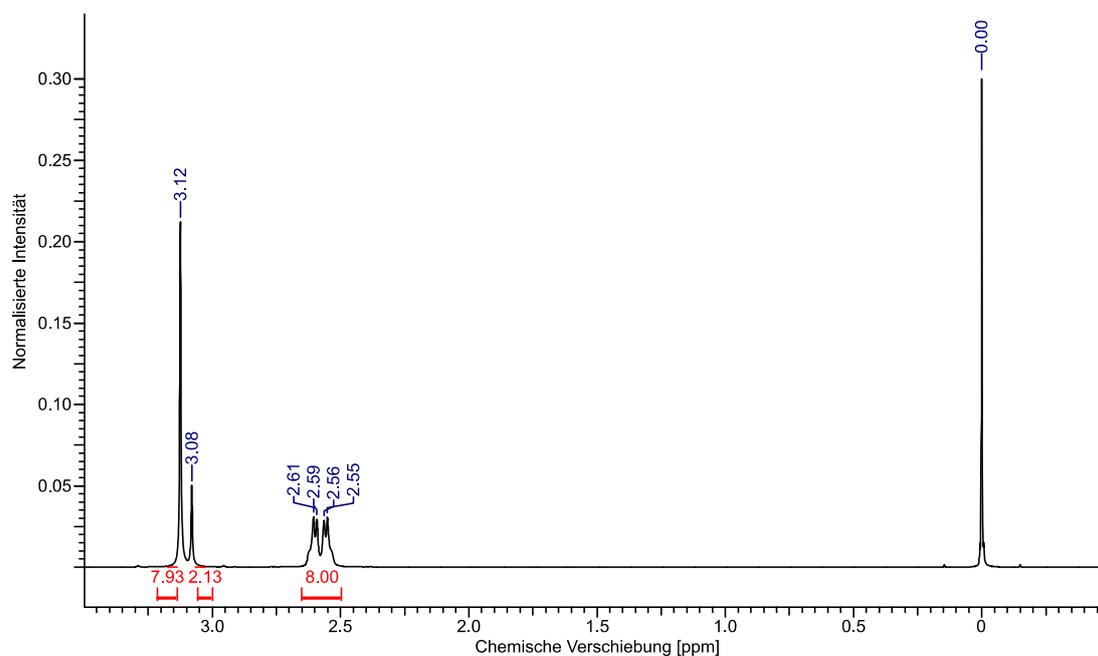


Abbildung 62: ^1H -NMR (400 MHz) von H_5dpta in D_2O mit NaOD.

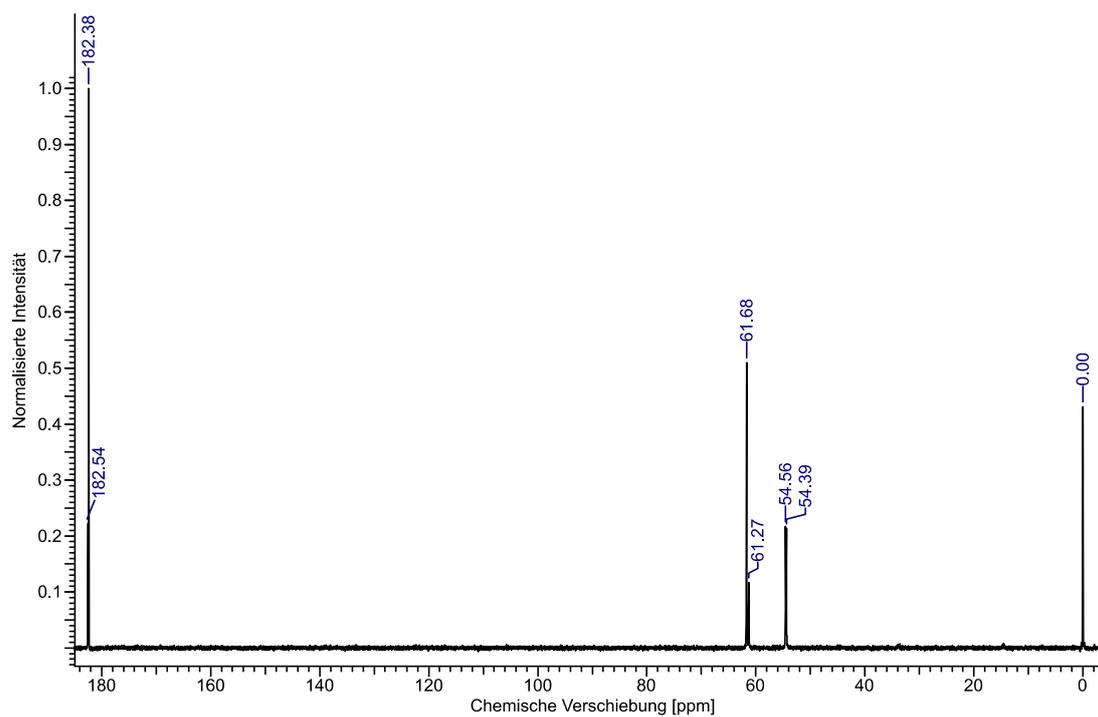
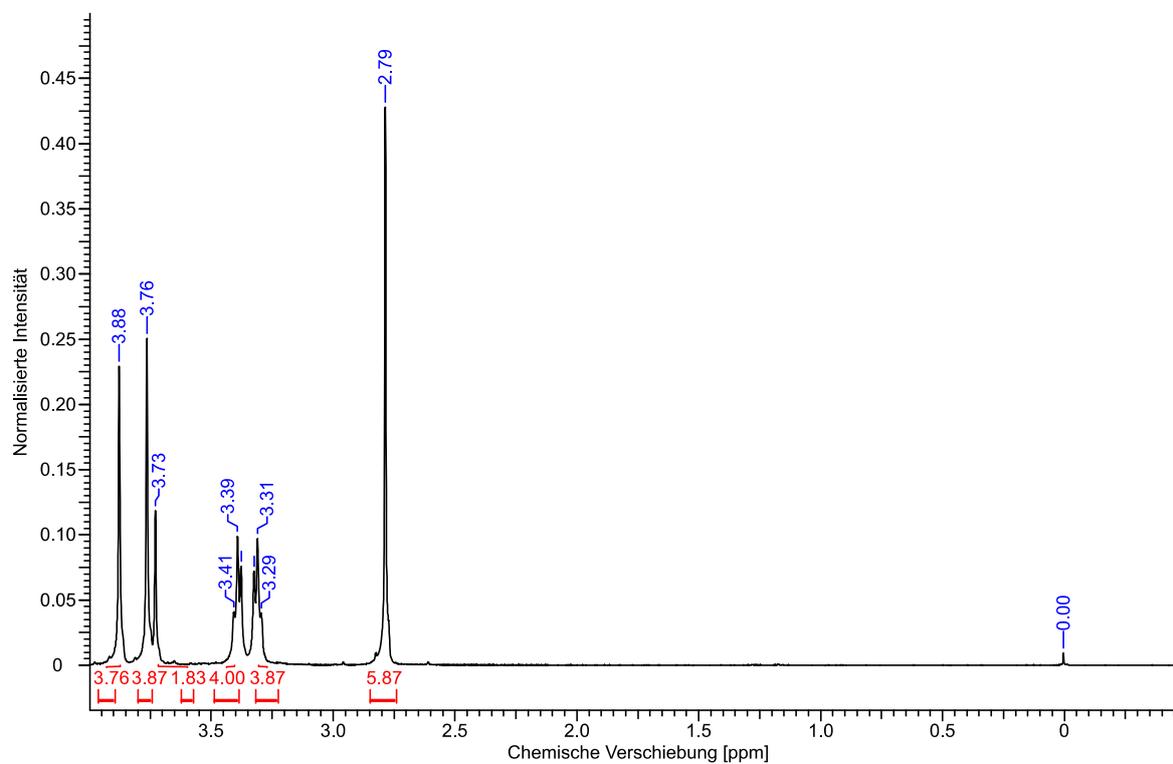
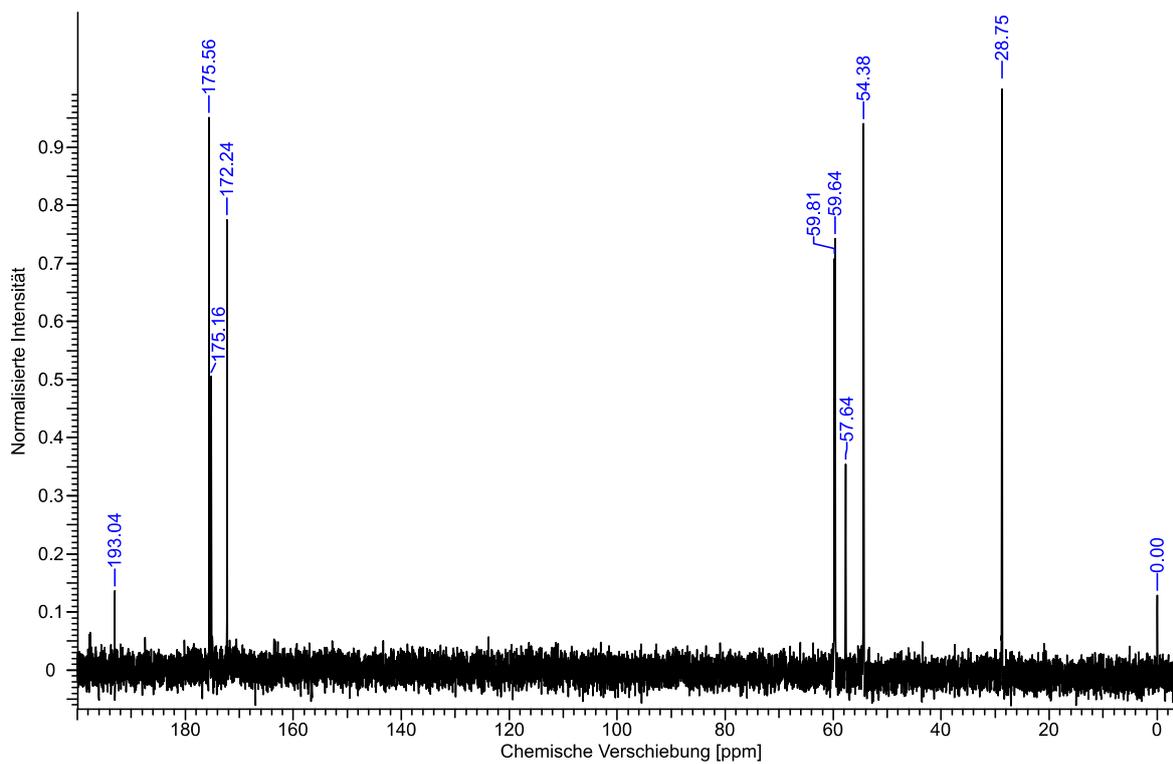


Abbildung 63: ^{13}C -NMR (100 MHz) von H_5dpta in D_2O mit NaOD.

b) *H₃dtpa-bma*Abbildung 64: ¹H-NMR (400 MHz) von *H₃dtpa-bma* in D₂O.Abbildung 65: ¹³C-NMR (100 MHz) von *H₃dtpa-bma* in D₂O.

c) *H₃dtpa-bmea*

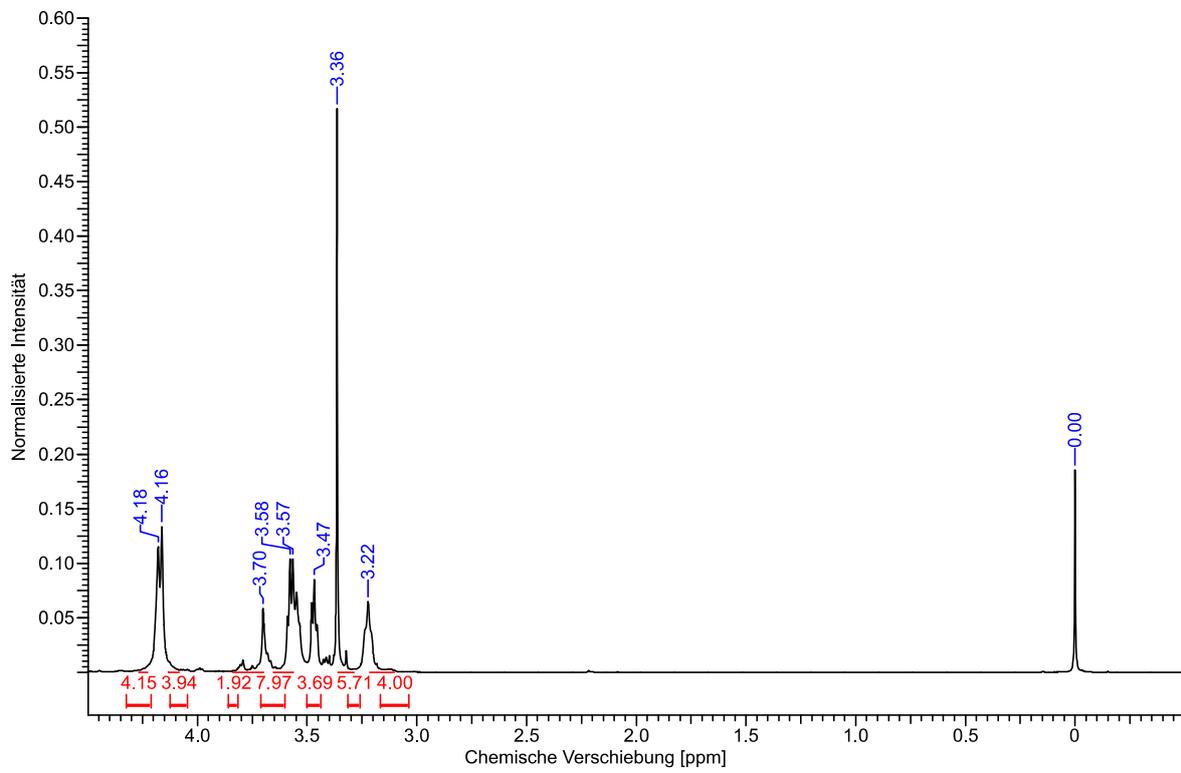


Abbildung 66: ¹H-NMR (400 MHz) von *H₃dtpa-bmea* in D₂O.

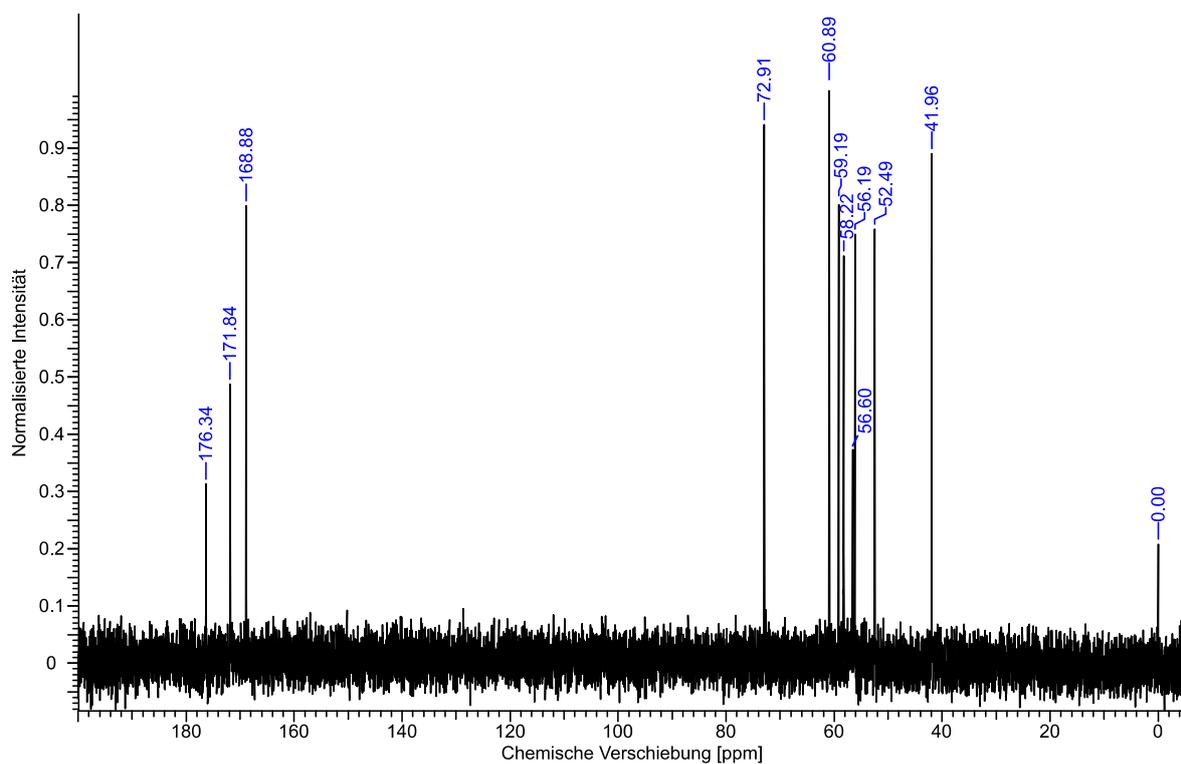


Abbildung 67: ¹³C-NMR (100 MHz) von *H₃dtpa-bmea* in D₂O.

d) *H₅eoB-dtpa*

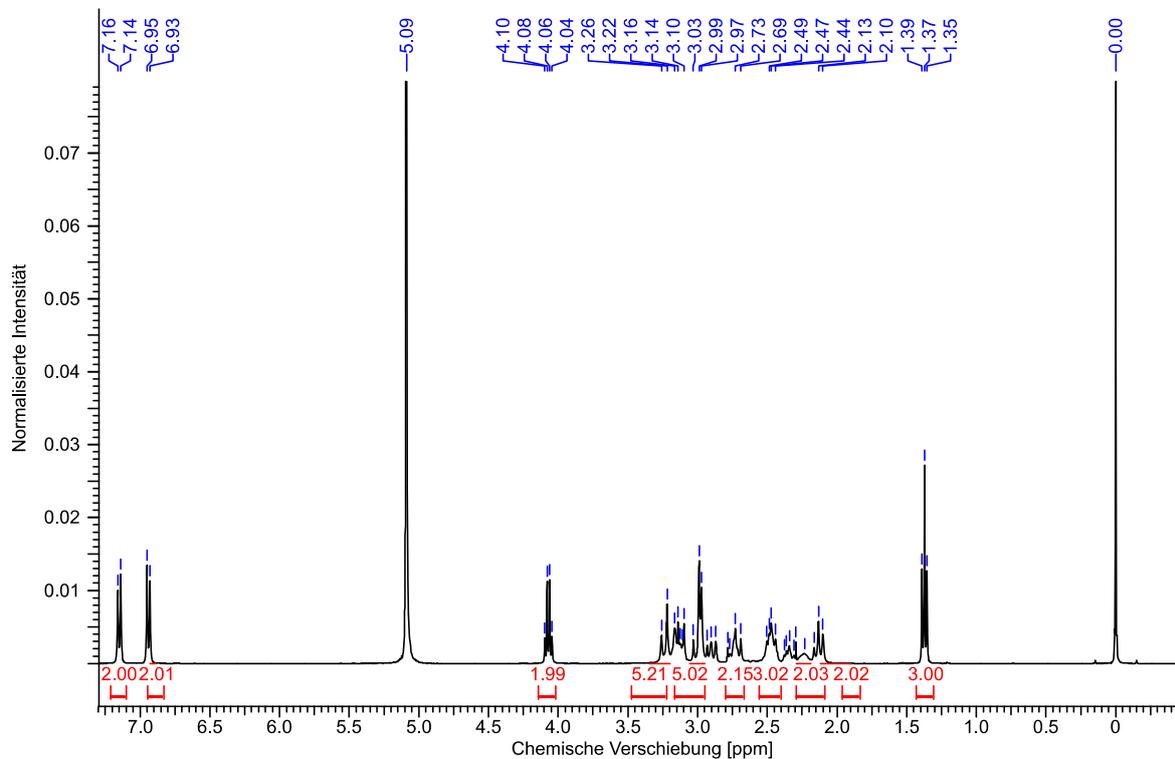


Abbildung 68: ¹H-NMR (400 MHz) von *H₅eoB-dtpa* in D₂O.

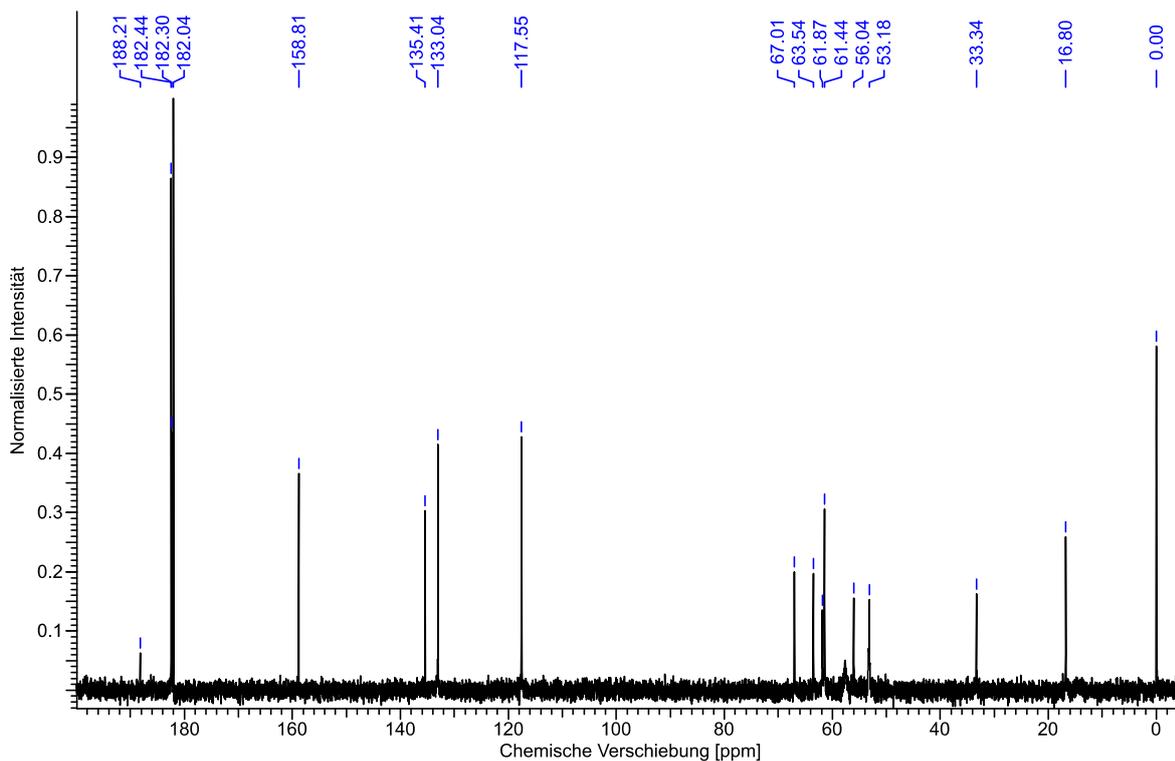
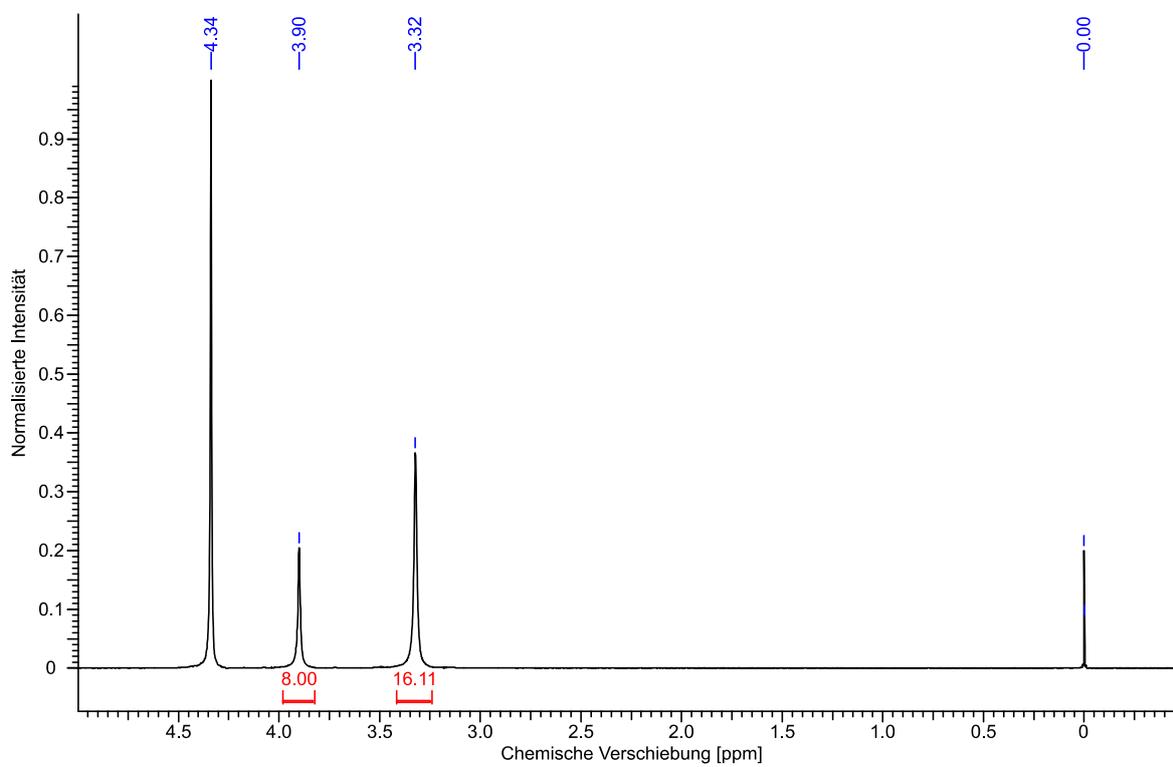
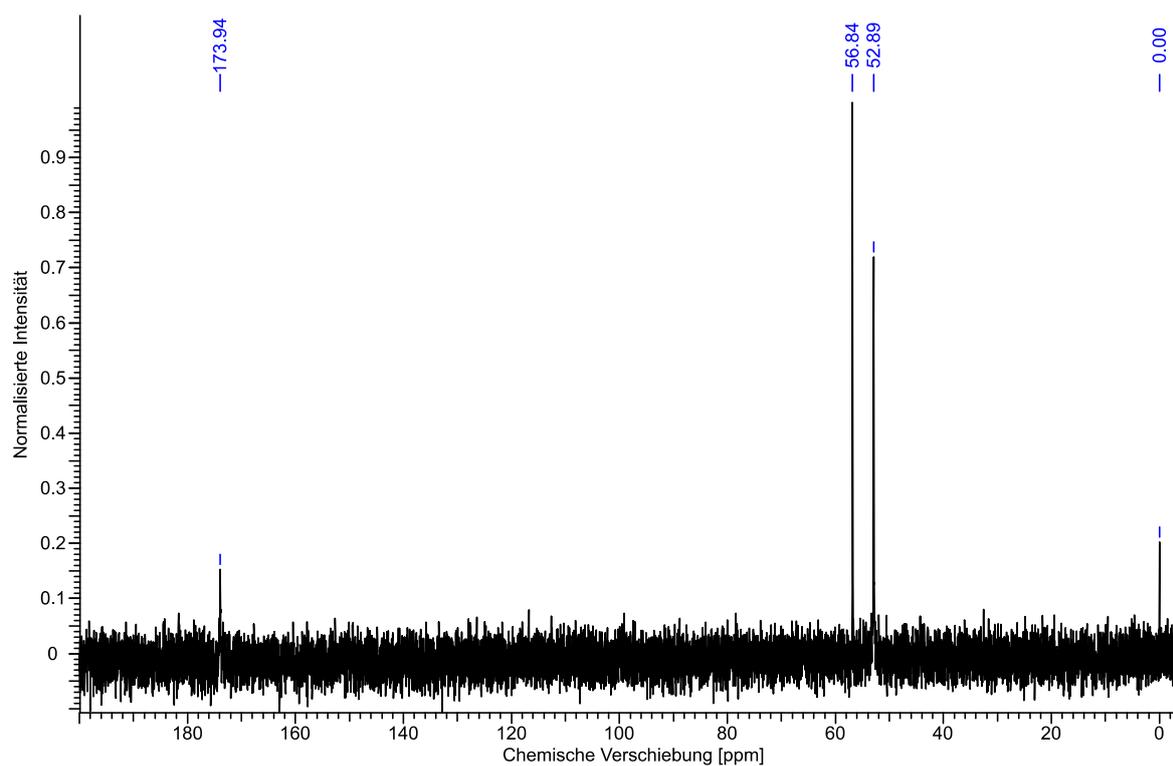


Abbildung 69: ¹³C-NMR (100 MHz) von *H₅eoB-dtpa* in D₂O.

e) *H₄dota*Abbildung 70: ¹H-NMR (400 MHz) von H₄dota in D₂O bei 343 K.Abbildung 71: ¹³C-NMR (100 MHz) von H₄dota in D₂O bei 343 K.

f) *H₃bt-do3a*

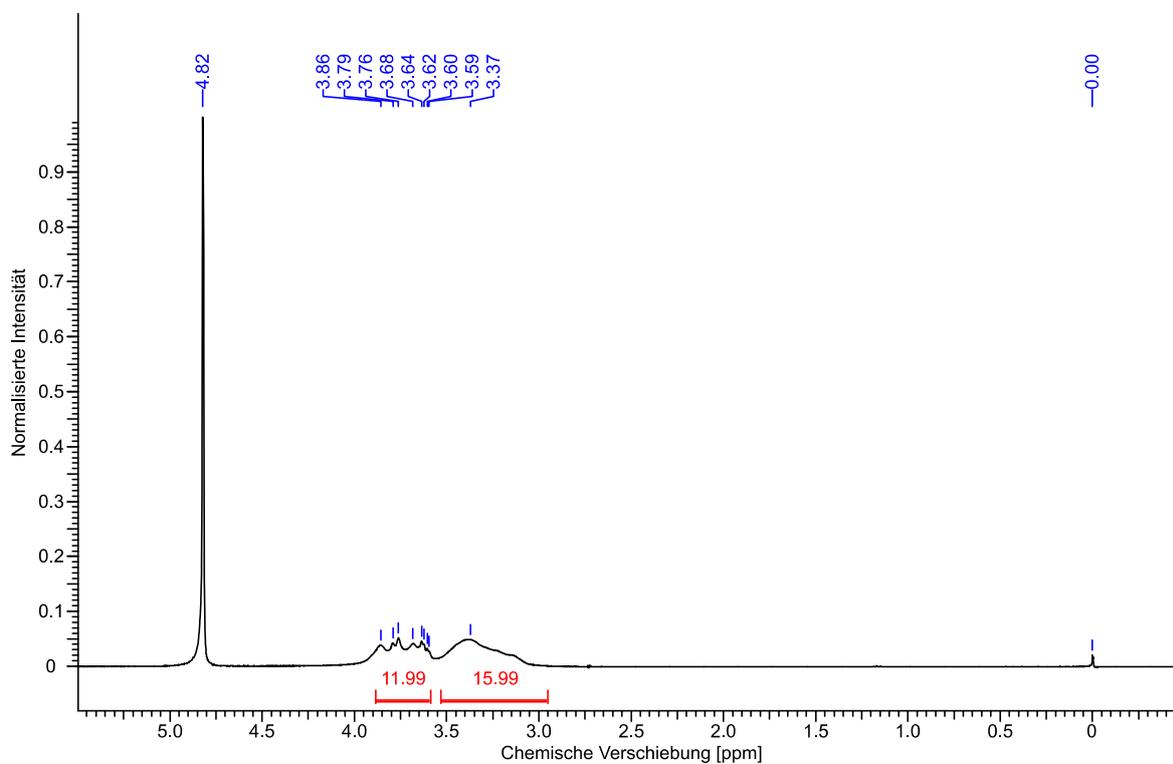


Abbildung 72: ¹H-NMR (400 MHz) von *H₃bt-do3a* in D₂O.

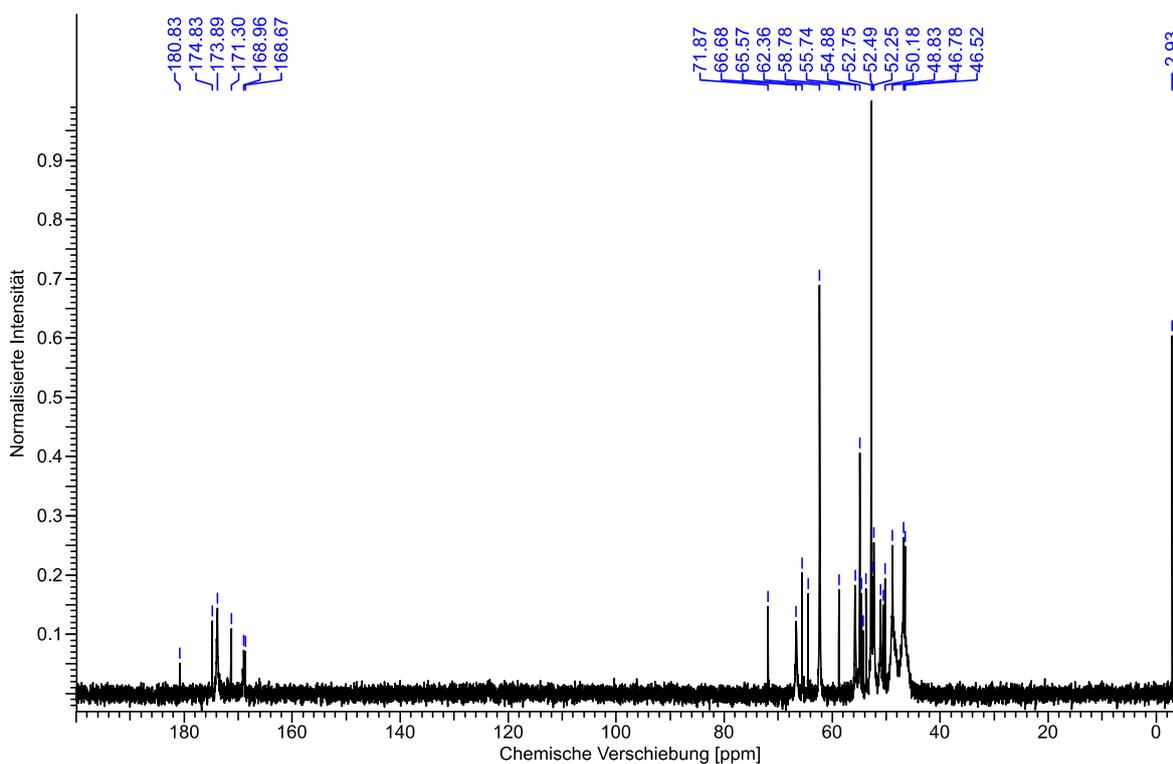


Abbildung 73: ¹³C-NMR (100 MHz) von *H₃bt-do3a* in D₂O.

g) *H₃hp-do3a*

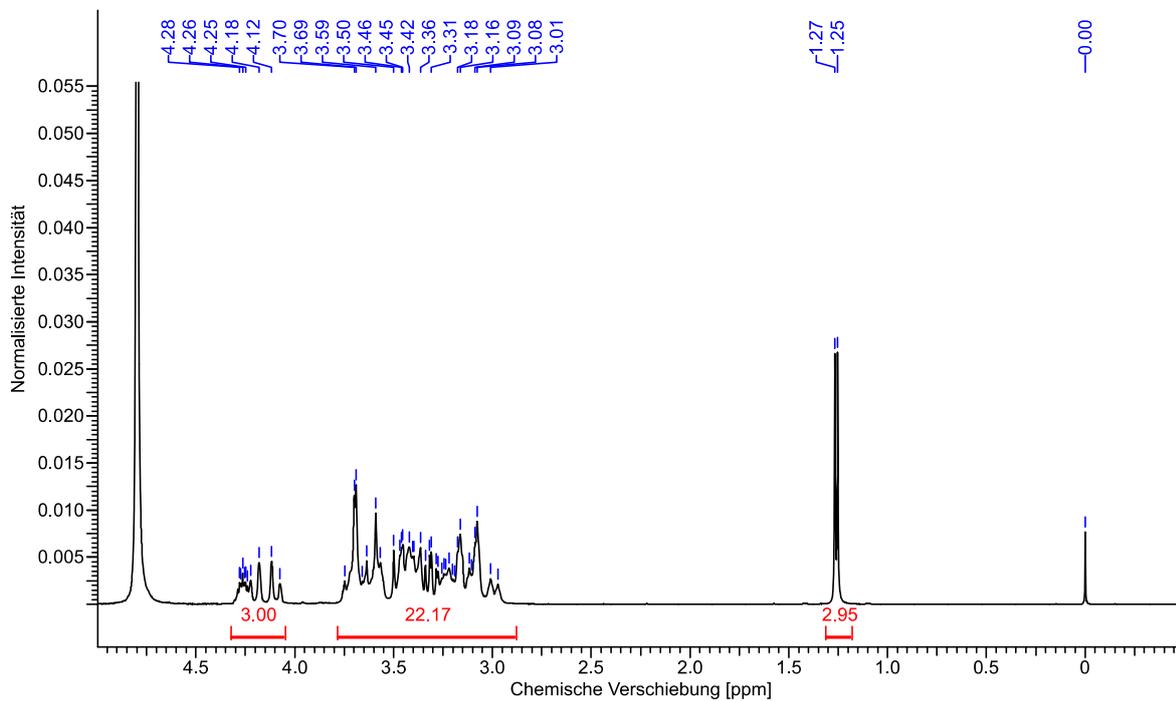


Abbildung 74: ¹H-NMR (400 MHz) von *H₃hp-do3a* in D₂O.

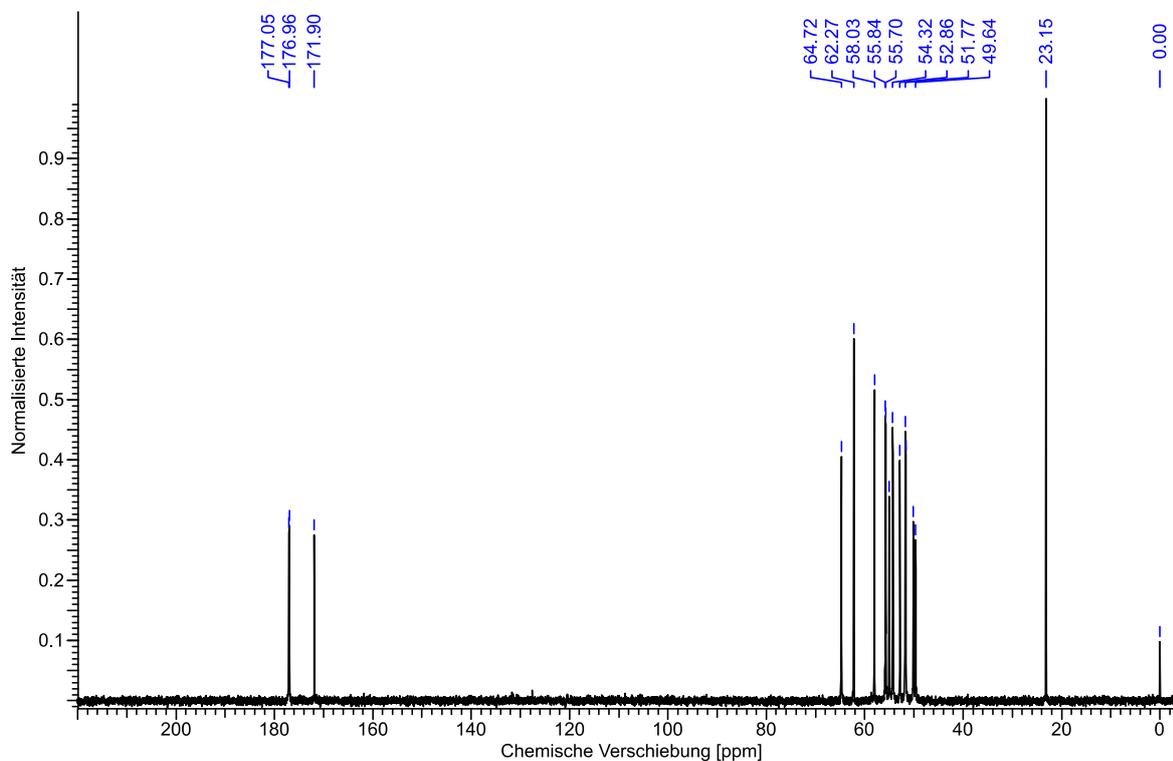
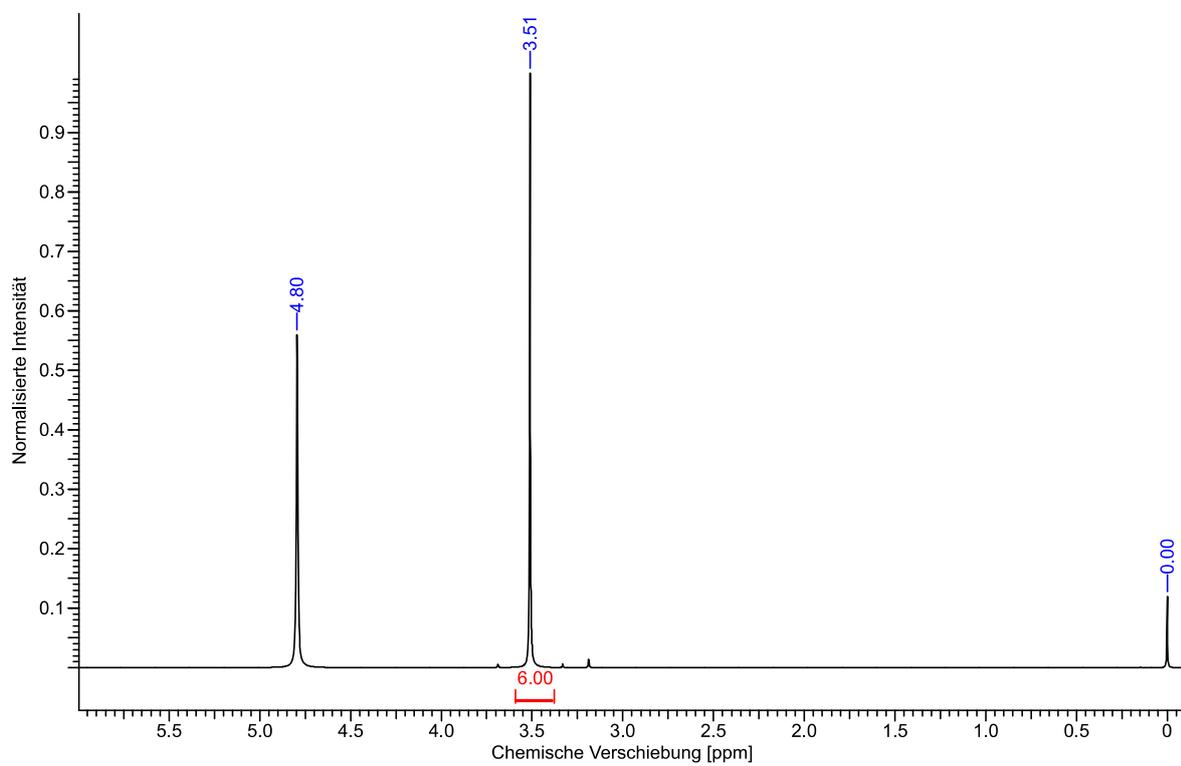
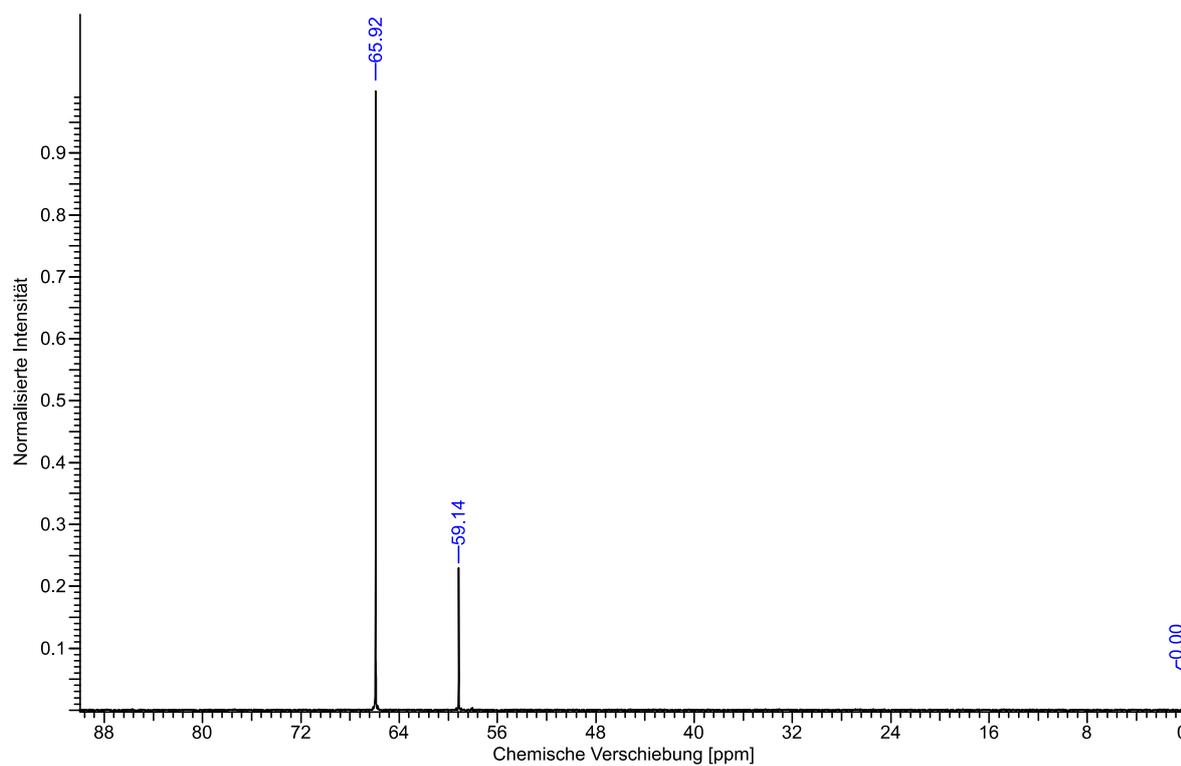
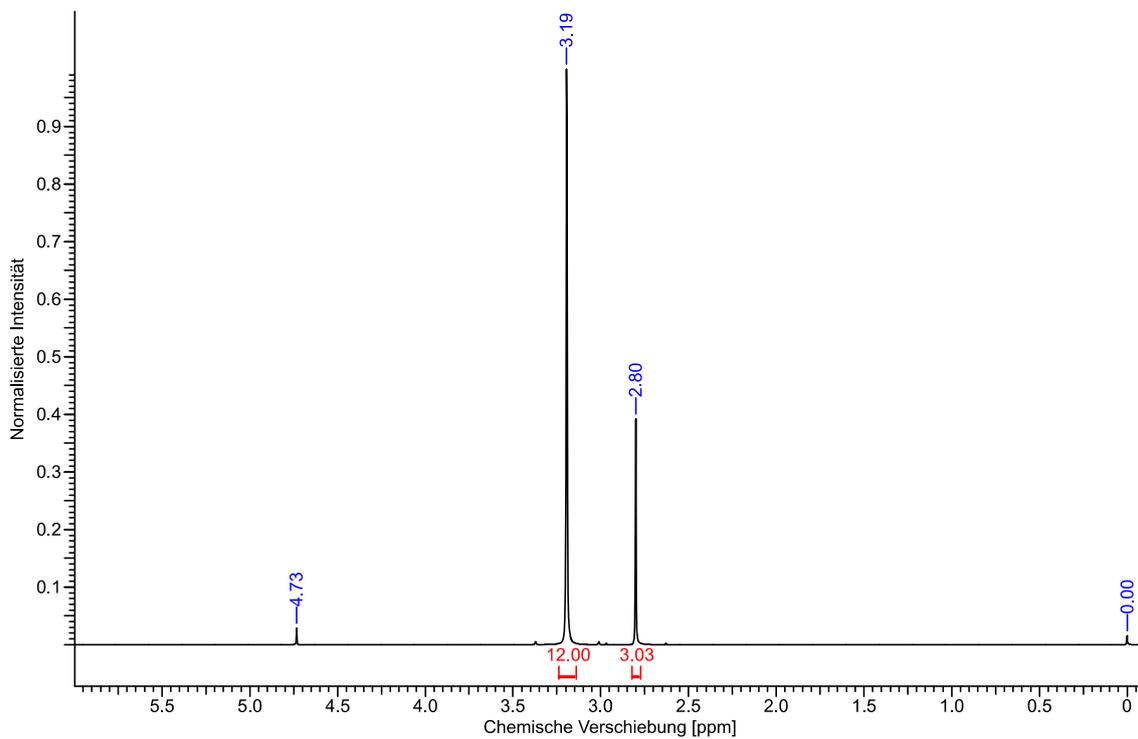
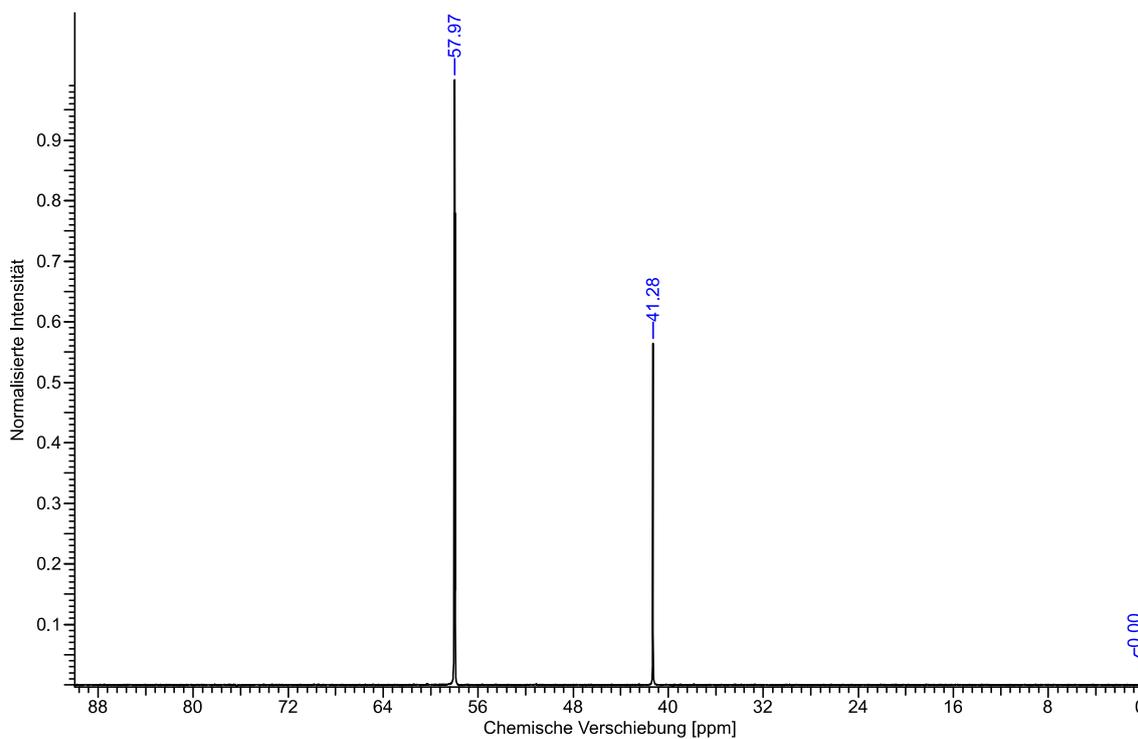


Abbildung 75: ¹³C-NMR (100 MHz) von *H₃hp-do3a* in D₂O.

h) tris**Abbildung 76:** $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz) von tris in D_2O .**Abbildung 77:** $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz) von tris in D_2O .

i) *TMAMS*Abbildung 78: $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz) von TMAMS in D_2O .Abbildung 79: $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz) von TMAMS in D_2O .

5.2. Kristallographischer Anhang⁸

a) [Gd(H₂dota)(H₂O)]Cl·H₂O (sh3630)

Operator	Dr. V. Huch, Dr. Bernd Morgenstern	
Diffraktometer	Bruker Apex II CCD	
Summenformel	C ₁₆ H ₃₂ ClGdN ₄ O ₁₁	
Molmasse	649.16 g·mol ⁻¹	
Temperatur	296 K	
Wellenlänge	0.71073 Å	
Kristallsystem	Monoklin	
Raumgruppe	P 2 ₁ 2 ₁ 2 ₁	
Zellkonstanten	a = 9.1797(5) Å	α = 90°
	b = 15.8842(10) Å	β = 90°
	c = 15.9075(10) Å	γ = 90°
Zellvolumen	2313.7(2) Å ³	
Z	4	
Dichte (berechnet)	1.864 g·cm ⁻³	
Absorptionskoeffizient	3.046 mm ⁻¹	
F(000)	1300	
Kristallgröße	0.32 x 0.22 x 0.16 mm ³	
Theta-Bereich	1.81° bis 37.54°.	
hkl-Bereich	-15 ≤ h ≤ 14, -27 ≤ k ≤ 26, -26 ≤ l ≤ 26	
Gemessene Reflexe	78720	
Unabhängige Reflexe	12046 [R(int) = 0.0666]	
Vollständigkeit bis Theta = 37.54	98.7 %	
Absorptionskorrektur	semi-empirisch aus Äquivalenten	
max. und min. Transmission	0.635 und 0.439	
Verfeinerungsmethode	Full-matrix least-squares on F ²	
Daten / Beschränkung / Parameter	12046 / 8 / 330	
Güte des Fits von F ²	1.182	
R-Werte [I > 2σ(I)]	RI = 0.0423, wR2 = 0.890	
R-Werte (alle Daten)	RI = 0.0523, wR2 = 0.0921	
Restelektronendichte/größte Lücke	1.745 und -2.625 e·Å ⁻³	

⁸ Alle weiteren kristallographischen Daten finden sich auf der beigelegten DVD in tabellarischer Form.

b) [CsK₂(H₄dota)₄]Cl₃ (sh3768p)

Operator	Dr. V. Huch, Dr. Bernd Morgenstern	
Diffraktometer	Bruker Apex II CCD	
Summenformel	C ₆₄ H ₁₇₁ Cl ₃ CsK ₂ N ₁₆ O _{61.5}	
Molmasse	2466.62 g·mol ⁻¹	
Temperatur	143 K	
Wellenlänge	0.71073 Å	
Kristallsystem	Monoklin	
Raumgruppe	P 1 2/n 1	
Zellkonstanten	a = 22.7627(7) Å	α = 90°
	b = 10.9825(3) Å	β = 93.374(1)°
	c = 22.9029(6) Å	γ = 90°
Zellvolumen	5715.6(3) Å ³	
Z	2	
Dichte (berechnet)	1.433 g·cm ⁻³	
Absorptionskoeffizient	0.569 mm ⁻¹	
F(000)	2606	
Kristallgröße	0.72 x 0.44 x 0.27 mm ³	
Theta-Bereich	1.23° bis 31.31°	
hkl-Bereich	-33 ≤ h ≤ 33, -12 ≤ k ≤ 16, -28 ≤ l ≤ 33	
Gemessene Reflexe	74260	
Unabhängige Reflexe	18676 [R(int) = 0.0283]	
Vollständigkeit bis Theta = 31.31	99.8 %	
Absorptionskorrektur	semi-empirisch aus Äquivalenten	
max. und min. Transmission	0.746 und 0.660	
Verfeinerungsmethode	Full-matrix least-squares on F ²	
Daten / Beschränkung / Parameter	18676 / 8 / 561	
Güte des Fits von F ²	1.081	
R-Werte [I > 2σ(I)]	RI = 0.0583, wR2 = 0.1798	
R-Werte (alle Daten)	RI = 0.0706, wR2 = 0.1895	
Restelektronendichte/größte Lücke	2.612 und -2.260 e·Å ⁻³	

c) [K₂(H₄dota)₂]Cl₂ (sh3905a)

Operator	Dr. V. Huch, Dr. Bernd Morgenstern	
Diffraktometer	Bruker Apex II CCD	
Summenformel	C ₁₆ H _{67.46} Cl ₂ K ₂ N ₈ O _{21.73}	
Molmasse	1061.18 g·mol ⁻¹	
Temperatur	152 K	
Wellenlänge	0.71073 Å	
Kristallsystem	Monoklin	
Raumgruppe	P 1 2/c 1	
Zellkonstanten	a = 14.9545(7) Å	α = 90°
	b = 16.7799(8) Å	β = 90.357(3)°
	c = 18.4487(9) Å	γ = 90°
Zellvolumen	4629.3(4) Å ³	
Z	4	
Dichte (berechnet)	1.523 g·cm ⁻³	
Absorptionskoeffizient	0.409 mm ⁻¹	
F(000)	2245	
Kristallgröße	0.31 x 0.17 x 0.06 mm ³	
Theta-Bereich	1.10° bis 27.80°.	
hkl-Bereich	-19 ≤ h ≤ 19, -19 ≤ k ≤ 21, -24 ≤ l ≤ 23	
Gemessene Reflexe	70871	
Unabhängige Reflexe	10661 [R(int) = 0.0719]	
Vollständigkeit bis Theta =	99.3 %	
Absorptionskorrektur	semi-empirisch aus Äquivalenten	
max. und min. Transmission	0.7455 und 0.6374	
Verfeinerungsmethode	Full-matrix least-squares on F ²	
Daten / Beschränkung / Parameter	10661 / 33 / 670	
Güte des Fits von F ²	1.037	
R-Werte [I > 2σ(I)]	RI = 0.0691, wR2 = 0.1858	
R-Werte (alle Daten)	RI = 0.1110, wR2 = 0.2164	
Restelektronendichte/größte Lücke	1.160 und -0.622 e.Å ⁻³	