

# 行政院國家科學委員會專題研究計畫 成果報告

## 新型金屬多核錯合物磁共振造影顯影劑

計畫類別：個別型計畫

計畫編號：NSC94-NU-7-009-001-

執行期間：94年01月01日至94年12月31日

執行單位：國立交通大學生物科技學系(所)

計畫主持人：張正

計畫參與人員：林志誠 蔡政憲 蕭志祥 林玉淳

報告類型：完整報告

處理方式：本計畫可公開查詢

中 華 民 國 95 年 4 月 3 日

新型金屬多核錯合物磁振造影顯影劑  
New Polynuclear Metal Cluster Complexes as Potential  
Magnetic Resonance Imaging (MRI) Contrast Agents  
(NSC94—NU-7-009-001)

張正<sup>a</sup> 林志誠<sup>ab</sup> 蔡政憲<sup>a</sup> 林玉淳<sup>a</sup>

<sup>a</sup> 國立交通大學生物科技系

<sup>b</sup> 親民技術學院化妝品應用系

## 中英文摘要、

### 中文摘要：

大環多胺基金屬螯合物具有甚高的弛緩率，所以在這篇研究中我們合成了 NO<sub>2</sub>A (1, 4-bis(carboxymethyl)-1, 4, 7-triazacyclononane) 以及新的配位子 Ph-NO<sub>2</sub>A (1-phenethyl-4, 7-bis(carboxymethyl)-1, 4, 7-triazacyclononane) 及 m-dimerNO<sub>2</sub>A (1, 3-bis(1, 4, 7-triazacyclonon-1-ylmethyl)benzene)，並利用 NMR、EA、MASS 等方法鑑定 Ligand 結構，使用自動滴定儀滴定 ligand 及 La-complex 並計算其質子化常數及穩定常數，分子模擬的結果證實了 NO<sub>2</sub>A 有 pre-organization 現象，而 Ph-NO<sub>2</sub>A 沒有 pre-organization 的現象，故推斷在與鑷系金屬形成錯合物的過程是不易進行的。

### 英文摘要：

A number of synthetic procedures involving polynuclear (i.e. di- and tetra-meric) metal chelates of linear and macrocyclic aminopolycarboxylate ligands (e.g. DO<sub>2</sub>A, NO<sub>2</sub>A, and derivatives) are proposed to prepare MRI contrast agents with enhanced relaxivity. The newly prepared polynuclear MRI contrast agents will be characterized by published physical/analytical methods to evaluate thermodynamic stability, kinetic lability, and relaxivity as pre-clinical tests for safety and imaging efficacy. In this research we had synthesized NO<sub>2</sub>A (1, 4- bis (carboxymethyl) - 1, 4, 7-triazacyclononane) and two new ligands, Ph-NO<sub>2</sub>A (1- phenethyl-4, 7- bis (carboxymethyl) - 1, 4, 7- triazacyclononane) and m-dimerNO<sub>2</sub>A (1, 3- bis (1, 4, 7-triazacyclonon-1-ylmethyl)benzene) .The structures of ligands were character by NMR,EA , MASS . The protonation constant and stability constant of ligands and La-complex were calculated by potentiometric titration. It has verified that NO<sub>2</sub>A has pre-organization phenomenon after the result of molecule simulation, and Ph-NO<sub>2</sub>A has not the phenomenon of pre-organization.

## 目錄

中英文摘要、.....	II
目錄.....	III
一、緣起與目的.....	1
二、研究方法與過程.....	10
三、主要發現與結論.....	15
四、參考文獻.....	40

## 報告內容、

### 一、緣起與目的

許多年來,人類的器官造影大部分多依賴靜脈內的使用放射性的分子作為放射性掃描或者非放射性的碘化物化學藥品作為 x 光照相術。然而,在過去的十年, magnetic resonance (MR)imaging 開始變成優先被選擇的方法。不同於放射性掃描,非核的 x 光照相術或者斷層攝影法, MR 通常依賴“對比增進劑”使增進內在的正常的和不健全的有病的組織之間的對比。in vivo 操作經由取得水的高解析,三維的分佈影像Magnetic resonance imaging (MRI) 在診斷的臨床的醫學和生物醫學的研究已經逐步形成一個最強有力的技術。醫療的 MRI 的快速擴展也促使新型的藥物學的產品的發展。這些對比劑促進縮短附近的水分子的 relaxation time, 從而提高對與背景組織比。在 1999, 大概 30%的 MRI 掃描使用對比劑, 大部分是 gadolinium complexes。現在, 或許更增加到 40 和 50%。這個結果促使 Gd-對比劑研究更加蓬勃發展。

磁振造影劑為含不成對電子的順磁性物質,可藉著減低 spin-lattice(T1)和/或(T2)弛緩時間的數值以加速水的質子在磁性環境中遲緩,由此可以使病變組織之間的訊號差異變大從而取得核磁造影。Gd (DTPA) 已經是不錯的 MRI 試劑,但是此種低分子量的 MRI 造影劑仍有許多缺點,像是沒有特異性 (specificity)、會快速由腎臟排泄、外滲以及相當低的弛緩率 (relaxivity)。

許多新開發的努力成果都集中在改進鬆弛的方法,也就是提高這些非特異性的注射劑全面的敏感度。但是,這類的試劑已經被證明即使是 relaxivity 不太大的產品也是相當貴的。因此新的 MR contrast agents 趨勢將毫無疑問地需擴展它們的效用,去測量藉由 pH 的改變或者熱的變化或者其他 in vivo 的反應而增加的對比。1997 Meade et al1.提出一個具潛力的下一代機能性造影劑,他們將 Gd(DO3A) 共價的连接,  $\beta$ -galactose 部分,藉由這樣的方法以阻塞外部的配位到中心的 gadolinium 離子,接著暴露到  $\beta$ -galactosidase 中將糖裂解,藉以打開空的配位位置以容許水直接地進入到 gadolinium 中心進行配位。與大量的溶媒交換配位水是一種主要的途徑,經過這個方式這些螯合物催化水的質子鬆弛所以控制錯合在內部球體水分子的數量以控制 relaxivity。

利用這種調整水合狀態, q, 進而改變 relaxivity 的方法也應用在與 pH、鈣和鋅離

子濃度的反應上，而且已經是用來設計顯影劑的新趨勢。2001 年 Lowe et al.<sup>2</sup> 使用一種 toluenesulfonamide 接在 Gd(DO3A) 上作為 pH 不穩定的 ligating group。當溶液 pH 降低 sulfonamide 將會被 protonated 並且從中心金屬游離。這將增加水合狀態從  $q = 1$  到  $q = 2$ ，而且 relaxivity 會相對應的增加。2004 年 A. Dean Sherry et al.<sup>3</sup> 也提出一種帶著 p-nitrophenolic ligating group 複合物具有相似的 pH-sensitive 分解。分別是 triacetate (NP-DO3A) and triamide (NP-DO3AM) (如圖 1) 的 lanthanide(III) complexes。

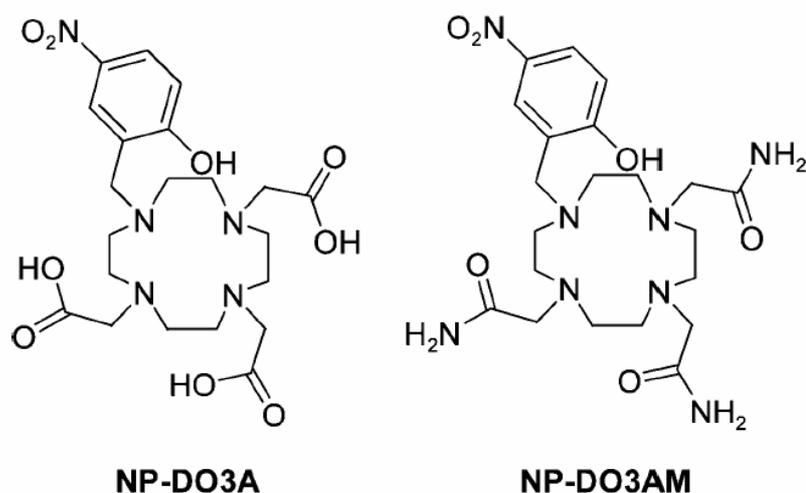


圖 1 NP-DO3A and NP-DO3AM

事實上，除了增加弛緩率，如何更有效的穩定在體內不被排斥甚至能 target 到想要顯影的組織或器官，這也是目前許多研究的重點方向。2005, Guolin Li, 等人<sup>4</sup> 將一種臨床上使用的光敏劑, 3-devinyl-3-(1-hexyloxyethyl)pyropheophorbide-a (HPPH, a chlorophyll-a derivative) 和 Gd(III)-aminobenzyl-diethylenetriaminepentaacetic acid (DTPA) 結合(圖 2). 因為 HPPH 顯示具親合力和有限的皮膚光毒性，所以研究利用 HPPH 作為一種“運載工具”運送 gadolinium complexes 到腫瘤，以發展一種既可作為 MR contrast-enhancing agent 又可作為 photosensitizer 單一的雙功能試劑，可以在臨床上利用。In vivo 反射光譜證實，腫瘤細胞攝取 HPPH-aminobenzyl-Gd(III)-DTPA conjugate 的量比 free HPPH 經由通過靜脈 (iv) 到 C3H mice 與皮下(sc)植入 radiation-induced fibrosarcoma (RIF) tumor cells 高。

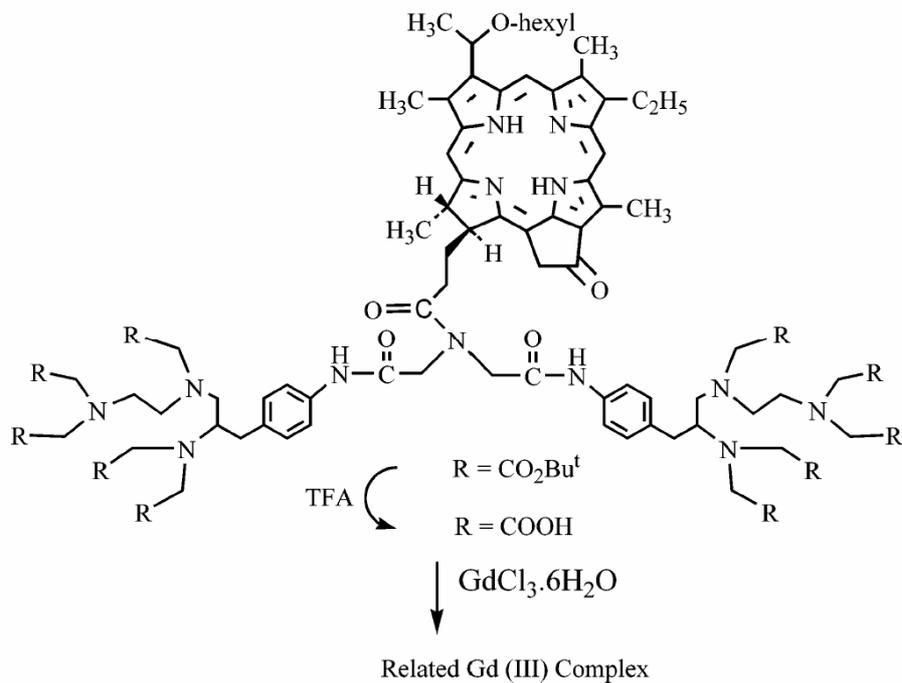


圖 2 HPPH-aminobenzyl-Gd(III)-DTPA

顯影劑的特異性除了用在疾病的辨識之外，也可以使用在糖代謝的調查。糖在生命體中扮演能量生產和貯藏的重要角色，所以尋找方法以深入的了解他在活體中的濃度和分佈變的越來越重要。種種葡萄糖的定量技術已經被報導，大部分都是哺乳動物的細胞報導，僅僅很少數提供關於糖分佈在組織的資訊。最常見的偵查方法，是經由葡萄糖氧化酵素的酵素偵測法或者經由 complexation of cis-hydroxy groups of sugars by phenylboronic acids 的 chemical sensors。這樣的互相結合可以藉由使用種種光譜學的技術偵測，包括 UV, fluorescence, circular dichroism (CD) 或者 electrochemical methods。不幸地，大部分的這些方法無法應用的到偵查活體中的糖。但是 Magnetic resonance imaging (MRI) or spectroscopy (MRS) 技術卻可以用來獲得糖新陳代謝的訊息。雖然從 1992 年後陸續有 Gruetter, R. 等人<sup>5,6</sup>利用  $^1\text{H}$  和  $^{13}\text{C}$  NMR 測試腦中的自由葡萄糖，不過方法都顯然太複雜而且困難度較高。

早在 1959 年 Lorand, J.P. 等人<sup>7</sup>就已經發現 phenylboronic acids 可以和醣類的 cis-diols 形成可逆的 cyclic ester bonds。1993 Shinkai, S. 等人<sup>8,9</sup>在一系列的研究中發現將 sensor 與糖 1:1 所形成複合物的 binding constants 和醣的 cis-diols groups

的方向有關，其大小為 D-fructose > D-galactose > D-mannose > D-glucose。

然而，如果 sensor 具有並列的兩個 phenylboronic acids 官能基，將可在糖的兩端形成分子內複合物（如圖 3a），並且會因為兩個 phenylboronic acids 官能基方位及距離的不同而影響到穩定度，因此糖的捕獲將會因為 sensor 而有所選擇。

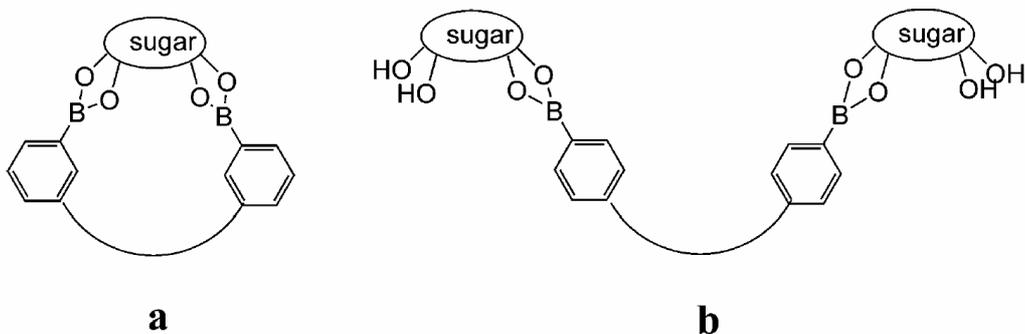


圖 3 Sensors having two phenylboronic acid functionalities in juxtaposition form intramolecular 1:1 complexes with both “ends” of a sugar molecule

這樣的結果將有助於製造出葡萄糖的 sensor 並利用 MRI 做組織代謝顯影。

2004 年 A. Dean Sherry et al.<sup>10</sup> 合成了新的 cyclen-based phenylboronate ligands (圖 4)

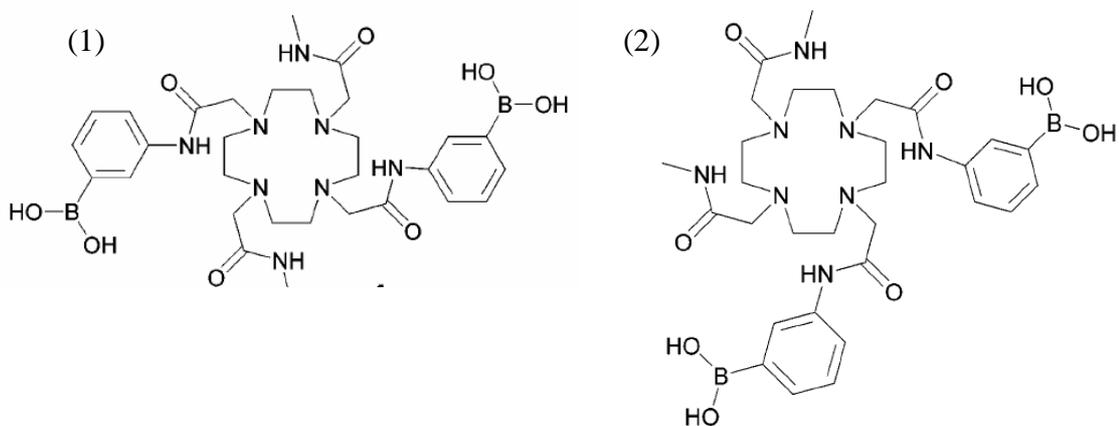


圖 4

(1) 1,7-Bis((m-dihydroxyborylphenyl)carbamoylmethyl)-4,10-bis(methyl(carbamoylmethyl))-1,4,7,10-tetraazacyclododecane.

(2) 1,4-Bis((m-dihydroxyborylphenyl)carbamoylmethyl)-7,10-bis(methylcarbamoylmethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecane.

以及 Eu<sup>3+</sup> complexes。並且用 UV、circular dichroism spectroscopy、mass spectrometry 和 CEST imaging 等..探討性質。證實這些 free ligands 對 fructose 有比較好的選擇性，不過他們的 Eu<sup>3+</sup> complexes.就正好有相反的結果。

在尋找穩定安全具效率的顯影劑及人造 DNA/RNA 切割劑上，Ln<sup>3+</sup> 與大環多胺基多酸基配位子如 DOTA、HPDO3A 等之錯合物，其穩定度與動力鈍性隨金屬電荷密度增加而增加並且通常大於線性配位子如 DTPA 已被論證出來。在 2001 年 11 我們曾經探討 Gd(III) and Y(III) 與 DOTA and HPDO3A 所形成 complexes (如圖 5)，金屬離子與配位子形成 8 配位 (4 個氮與 4 個氧原子) 而另一配位則由水所佔有。DOTA 在自由配位子與錯合物中結構是相似的例如四個酸基相對於四個氮所形成的平面是 syn 的結構。這顯示出為了與金屬錯合只有限制 DOTA 配位子重組是必須的亦即 DOTA 有預結構。另一方面相似配位子 TETA 其相鄰的兩對酸基則具反式結構。而在金屬錯合物上 TETA 配位子的構造則大大重組以致於四個酸基是 syn 結構。DOTA 和 TETA 的鑰系錯合物在順磁與反磁 NMR 研究上皆顯示在水溶液中具有非常剛性結構，而我們所做的電腦模擬計算也指出在固態中有相同發現。

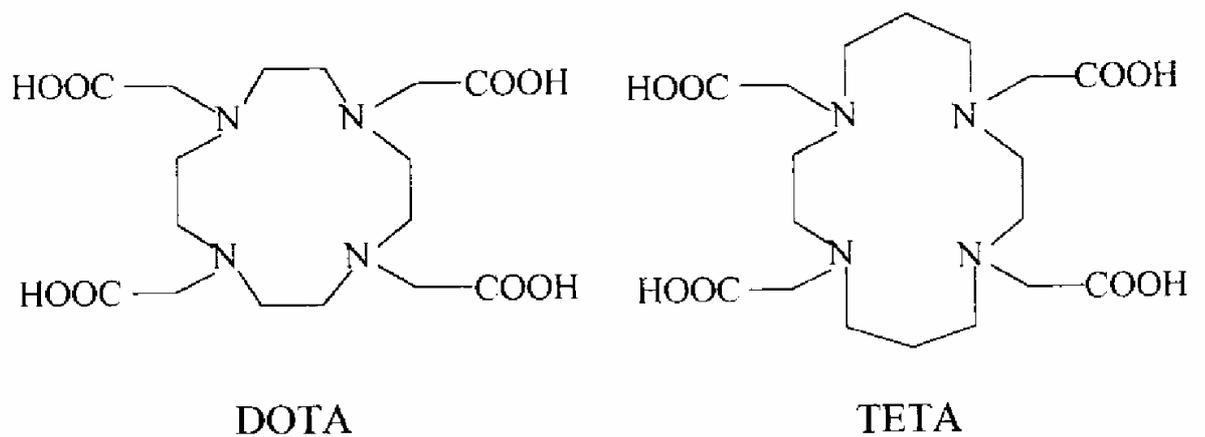


圖 5 Structural formulas of DOTA and TETA.

我們實驗室一向也是致力於找尋具有更高 relaxivity 及更好的 tissue targeting function 顯影劑，然而目前的顯影劑效果都不是很好，而這個問題可能可以藉由發展更高 (r1) 的顯影劑而獲得解決。雙體的 MRI 顯影劑擁有兩個 Gd 的離子能大幅增加 relaxivity，所以我們合成了許多的金屬雙核螯合物，更進一步去了解他們的物理化學性質，以期能找到更適合的顯影劑。例如 2004 年我們開發的兩個新的雙體配位子 12，en (DO3A)<sub>2</sub> 及 pi (DTTA)<sub>2</sub>，合成的方法及結構如圖 6 及圖 7

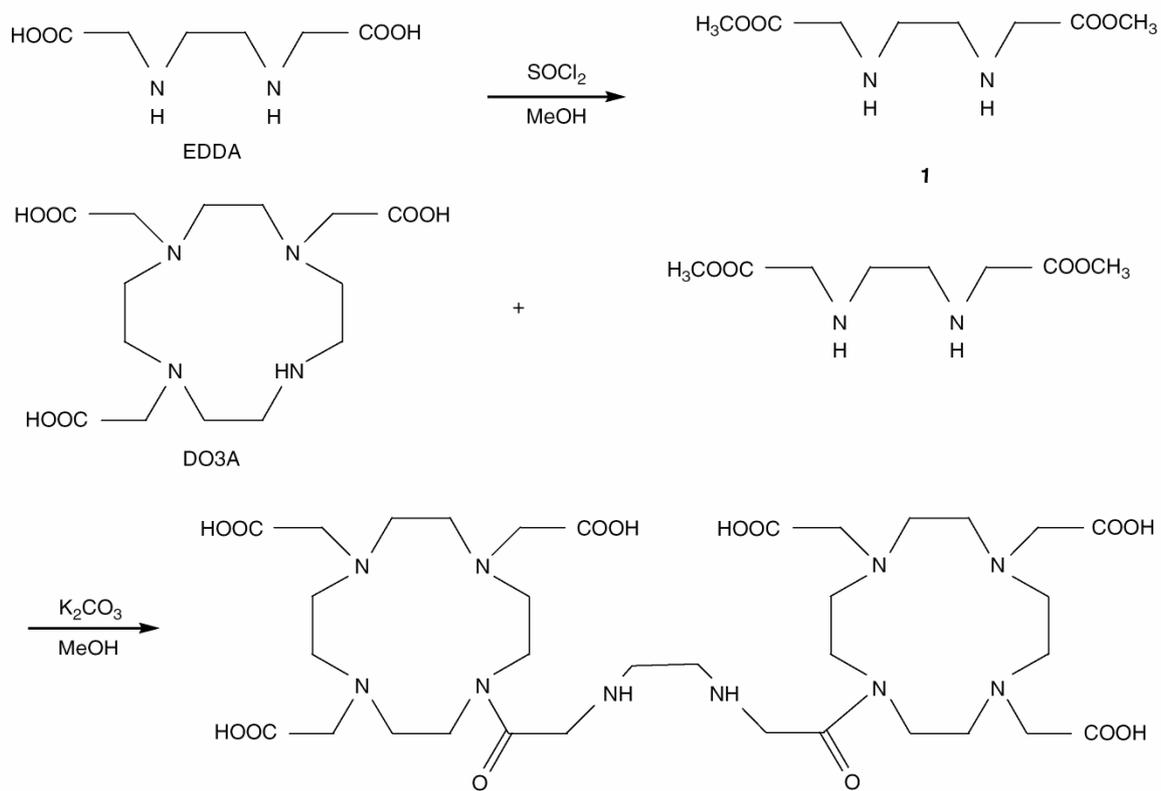


圖 6 Synthesis of en(DO3A)<sub>2</sub>.

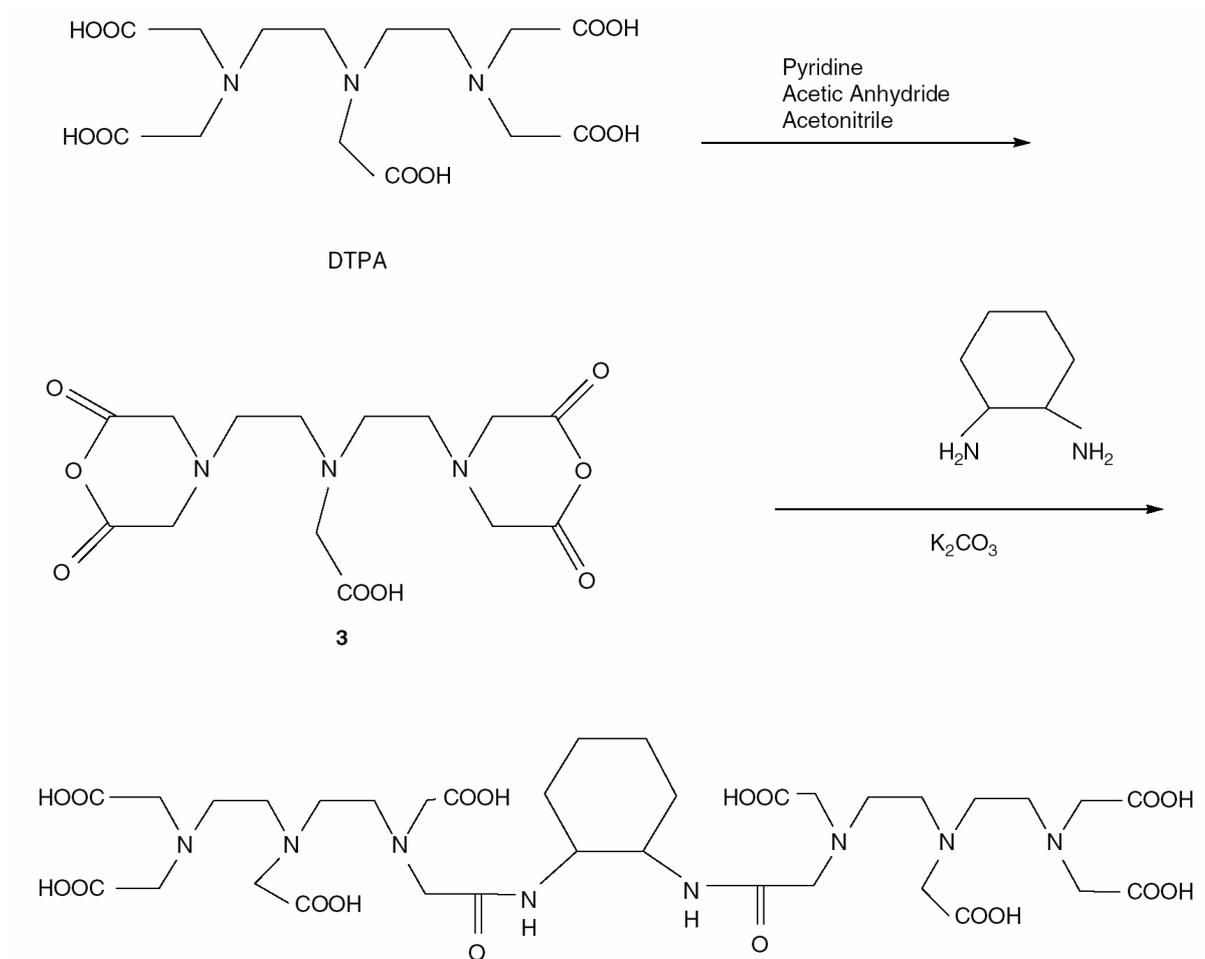


圖 7 Synthesis of pi(DTTA)2.

我們使用 17O 測量螯合物的 inner-sphere water 以及 relaxivity 的值，paramagnetic relaxivity 的加強可分成 inner-sphere 及 outer-sphere 兩方面因素

$$(1/T_i)_p = (1/T_i)_{\text{inner-sphere}} + (1/T_i)_{\text{outer-sphere}} \quad i=1,2$$

而 inner-sphere relaxivity 是由於金屬配位水對 relaxivity 加強所造成，而其貢獻可以下式說明

$$r_{1p}^{is} = C q / [55.6(T_{1M} + \tau_M)]$$

其中 C 是 Gd ( III ) complex 的濃度，q 是配位水數目，T<sub>1M</sub> 是鍵結水 longitudinal

relaxation time,  $\tau_{M298}$  則是的鍵結水 lifetime, 實驗的結果證實  $T1M \gg \tau_M$  也就是配位水的 exchange 是很快的。而  $[en\{Gd(DO3A)(H2O)\}_2]$  由於 DO3A 對金屬鍵結較不緊所以比較不會擠到周圍的水因此有較大的  $\tau_{M298}$  值。我們也證實了  $[pi\{Gd(DTTA)(H2O)\}_2]$  因為有較長的 rotational correlation time 所以比單體的  $[Gd(DTPA)]_2$  有較高的 spin-lattice relaxivity, 因此繼續修正 water-exchange lifetime,  $\tau_{M298}$ , 是我們未來再努力的方向之一。

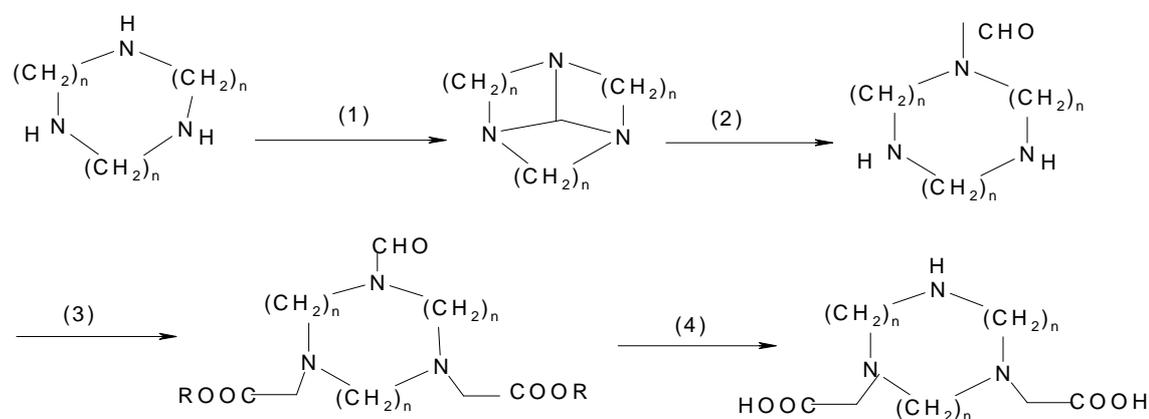
本人從 1997 年回國即著手於鑰系稀土離子之多氨基酸配位化學的研究, 由於大環配位子與金屬所生成的錯合物遠比線性配位子來的穩定許多, 本實驗室從過去到現今曾針對一系列的大環多胺多酸配位子 (TETA, K21DA, K22DA, DOTA, DO3A, DO2A, NO2A... 等) 與鑰系金屬形成之錯合物, 對其合成、動力學與熱力學的分析, 其後更引用分子模擬的技術<sup>13</sup> 進一步了解其結構及反應機構, 近幾年我們將 Eu(DO2A) 應用在人造 RNA 及 DNA 切割酶, 有著不錯的成果。結果也在 2005 年已經發表到 *Inorganic Chemistry*<sup>14</sup>, 我們希望能將這一類的化合物做更多方面的應用。大環分子的螯合物比線性分子來個剛性, 因此具有旋轉較慢增加弛緩率的優點, 而多核金屬螯合物可以增加磁振造影的強度, 所以這些都是我們未來設計的目標, 當然化合物的熱力學上的穩定性、動力學上的鈍性、可控制的排泄、安全的代謝以及較多的配位水等也都是構想的考量因素。

## 二、研究方法與過程

(一) 有機配位子的合成及結構鑑定：

依據所提合成之構想，設計了如下圖之合成方法，再分別利用 IR、NMR、元素分析及 Mass 分析及鑑定其結構。

Synthesis of NO2A (n=2) and 1,5-di-(carbomethyl)-1,5,9-triazacyclododecane (n=3) :



n=2 or 3,

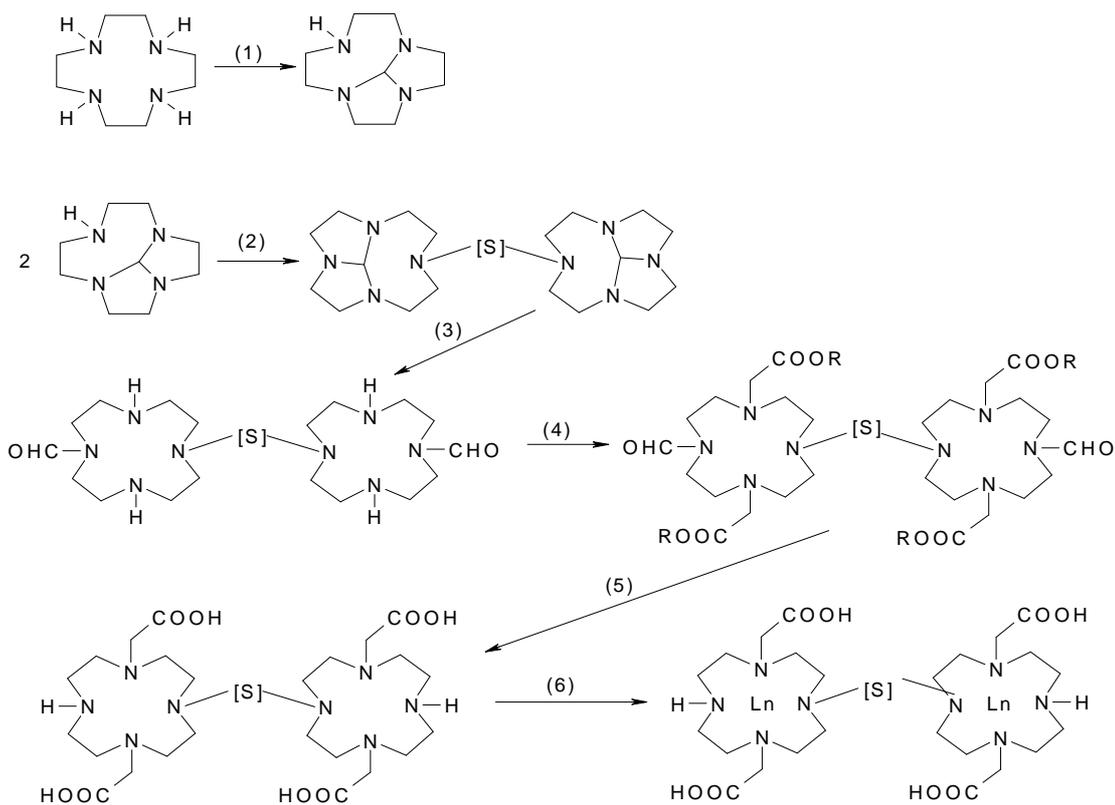
(1)  $\text{Me}_2\text{NCH}(\text{OMe})_2$ , benzene, reflux, 2-4 h (~100%)

(2)  $\text{EtOH-H}_2\text{O}$ , room temp., 2 h (70~85%)

(3)  $\text{BrCH}_2\text{COOR}'$ ,  $i\text{Pr}_2\text{NEt}$ ,  $\text{MeCN}$  (~90%)

(4)  $\text{H}^+$

Synthesis of DO2A dimer:



- (1)  $\text{Me}_2\text{NCH}(\text{OMe})_2$ , benzene, reflux, 2-4 h (~100%)      (2)  $\text{SBr}_2$ , MeCN,  $\text{NaCO}_3$   
 (3) EtOH-H<sub>2</sub>O, room temp., 2 h (70~85%)    (4)  $\text{BrCH}_2\text{COOR}'$ ,  $i\text{Pr}_2\text{NEt}$ , MeCN  
 (~90%)  
 (5)  $\text{H}^+$  4      (6)  $\text{Ln}_2\text{O}_3$  4

## (二)、電位滴定 (potentiometric titration)

配位子及配位子與金屬離子所形之金屬錯合物的電位滴定均在配有玻璃及甘汞參考電極之 pH 計 (pH meter) 下進行。PH 計的 pH 值在測定前先以標準緩衝溶液  $\text{pH}7.0 \pm 0.05$  ( $25^\circ\text{C}$ ) 及  $\text{pH}4.0 \pm 0.05$  ( $25^\circ\text{C}$ ) 校正之，離子強度 (ionic strength) 為了  $I=0.1\text{M}$  之  $(\text{CH}_3)_4\text{NNO}_3$ 。本實驗中所使用之有機配位子必須具有高純度。若配位子一些重要的官能基未能質子化，在滴定前須加入適量的酸使其質子化。再加入鹼滴定劑 ( $\text{NaOH}$ ) 時，間隔必需要小 (0.005 毫升/次)。

### (1) 藥品與儀器

1, 4-bis(carboxyl)-1, 4, 7-triazacyclononane(NO<sub>2</sub>A)等配位子自行合成，鑷系金

屬離子溶液， $(\text{CH}_3)_4\text{NOH}$ ， $(\text{CH}_3)_4\text{NCl}$ (Merck 公司 G.R 級試藥)，自動滴定儀 (Metrohme Titrino 702)，恆溫循環水槽。

## (2) 藥品的配製

### (a) 0.01M 配位子的製備

計算所需的配位量子量，秤重後溶於 20 mL 的定量瓶中加水補至刻度線。

### (b) 1.0M $(\text{CH}_3)_4\text{NOH}(\text{aq})$ 的製備

取約 10 mL 之 10%  $(\text{CH}_3)_4\text{NOH}(\text{aq})$  用定量瓶配成 100 mL 水溶液，配完後再以一級標準的 KHP(aq) 標定鹼的濃度。

### (c) 2.0M $(\text{CH}_3)_4\text{NCl}$ 的製備

秤取約 22 克的  $(\text{CH}_3)_4\text{NCl}$  用定量瓶配成 100 mL 水溶液。

## (3) 配位子的標定

配製濃度約為 0.01M 的配位量子水溶液，利用自動滴定儀來標定濃度方法與酸鹼滴定中滴定強酸溶液相同，以到達滴定終點後所用去鹼之當量數來反求配位子的真正濃度。

## (4) 實驗步驟

### (a) Protonation Constant of ligand

取約 0.01M 的配位量子水溶液 0.5 mL，2.0M  $(\text{CH}_3)_4\text{NCl}$  0.25 mL，一起加入滴定杯中，加入二次水稀釋至 5 mL(溶液中  $[\text{NO}_2\text{A}]$  約為 1mM)，控制離子強度在 0.1M，且滴定杯用有多孔的杯蓋加以覆蓋，再將滴定杯與循環水槽連接並控制溫度在  $(25 \pm 0.1)^\circ\text{C}$ ，並使整個系統狀態平衡一段時間，滴定前先用 pH=4.0 與 pH=7.0 的緩衝溶液校正電極，然後將電極與自動滴定管置入杯內，利用自動滴定儀的操作面板設定滴定參數，其中重要的設定包括 V step(取點間隔體積，mL)、equilibrium time(取點間隔時間，sec)，設定完後與電腦連線後開始滴定。實驗完成後取出數據，用 PKAS 作數據處理。

### (b) Stability Constant of Ln-complex

取標定過的配位量子水溶液，2.0M  $(\text{CH}_3)_4\text{NCl}$ ，以及金屬離子溶液一起加入滴定杯

中，加入二次水稀釋至 5 mL(配成溶液中 $[\text{NO}_2\text{A}] = 1\text{mM}$ ， $[\text{Metal}] = 1\text{mM}$ )，控制離子強度在 0.1M，且滴定杯用有多孔的杯蓋加以覆蓋，再將滴定杯與循環水槽連接並控制溫度在 $(25 \pm 0.1)^\circ\text{C}$ ，並使整個系統狀態平衡一段時間，滴定前先用  $\text{pH}=4.0$  與  $\text{pH}=7.0$  的緩衝溶液校正電極，然後將電極與自動滴定管置入杯內，利用自動滴定儀的操作面板設定滴定參數，其中重要的設定包括 V step(取點間隔體積，mL)、equilibrium time(取點間隔時間，sec)，設定完後與電腦連線後開始滴定。實驗完成後取出數據，用 BEST 作數據處理。

### (三)、質子化常數 (protonation constant) 與穩定常數 (stability constant) 之計算

有機配位子質子化常數乃利用 FORTRAN 電腦程式 PKAS20 來計算，至於金屬錯合物之穩定常數則利用電腦程式 BEST20 來計算。在 PKAS 程式中，必須輸入有機配位子的毫莫耳數，鹼滴定劑的濃度 (M)，溶液總體積 (毫升)，並預估配位子質子化常數的個數，最後輸入由電位滴定所得到之數據，即可求出質子化常數。在 BEST 程式中，所輸入的數據包含有機配位子與金屬之毫莫耳數，鹼滴定劑的濃度 (M)，溶液總體積 (毫升)，以及有機配位子的質子化常數，並預估金屬錯合物的穩定常數，最後輸入電位滴定所得到之數據。此一電腦方程式是建立再當加入鹼滴定劑時，每一區間所有存在成分之質量-平衡 (mass-balance) 方程式。由一開始所假設的平衡常數及每種物質的濃度，便可計算出每次加入鹼體積數的 Ph 值，此即  $\text{pH}_{\text{calcd}}$ 。當  $\text{pH}_{\text{calcd}}$  與電位滴定中測量的 Ph 值 ( $\text{pH}_{\text{obs}}$ ) 差距越小，亦即  $\sigma_{\text{fit}}$  ( $\sigma_{\text{fit}} = \sum (\text{pH}_{\text{calcd}} - \text{pH}_{\text{obs}})^2$ ) 愈小，即所預估之金屬錯合物的穩定常數則愈準確。

### (三) 計算方法與步驟

在多胺多酸基大環配位子之分子模擬研究中，起始結構的選擇與產生對模擬結果有很大的影響。我們主要的分子起始結構來自劍橋化學結構資料庫之結晶資料，當預測分子具有結晶結構時，採用結晶結構作為起始結構。若預測分子在結晶資料庫中沒有結晶資料，但其大環配位子部分在資料庫中可以找到相同或相似者，以結晶資料之大環配位子為主要結構，並修改其取代基部分。若預測分子結構在資料庫中完全沒有相似者，則以 3D 分子軟體產生，並經過結構最佳化來得

到一個較好的起始結構。

當 3D 結構產生之後，我們利用分子模擬軟體 (CHARMm) 指定合適的力場，以 minimize 和 dynamic 方式來模擬預測該分子在真空條件下，不同質子化位置之最佳化結構，並加以分析。本研究詳細步驟與方法如下所述：

1. 從劍橋化學結構資料庫 (Cambridge Structural Database) 將相同及相似欲預測之大環配位子結晶結構收集回來。倘若欲預測之大環配位子已有相同結晶結構時，則去除結晶結構內之其他離子及結晶水部分後，即為目標分子的初始結構。而沒有結晶結構的大環化合物其初始立體結構產生方法如下：

(1) 由相近似的結晶結構產生：當目標分子的大環部分與結晶結構之大環構成相同時，以結晶結構之大環部分為核心結構，再以 Accelrys DS viewer 修改其取代基部分，並經過初步最佳化來得到目標分子之初始結構。

(2) 由軟體產生：當目標分子大環部分沒有結晶結構可以做為參考時，以 3D 分子結構軟體產生 (本研究以 Accelrys DS viewer 畫出其立體結構，經過 clean 的動作將鍵角與鍵長調整為符合統計之合理值)，再將此立體結構經由初步最佳化產生模擬之初始結構。

2. 在 InsightII 界面下使用 CHARMm 軟體模擬初始結構在真空狀態下不同質子化位置之最佳化結構

(1) 開啟 X-Win 視窗，輸入欲連接到國家高速網路與計算中心的主機 IP，再輸入帳號及密碼，之後打開 InsightII 界面。

(2) 在 InsightII 界面下先選擇 CHARMm，之後再選擇一個適合的力場 (forcefield)，在這裡我們選擇使用 charmm.cfrc。

(3) 讀取步驟 1 中所產生的初始結構，設定其電荷和 atom types，最後設定

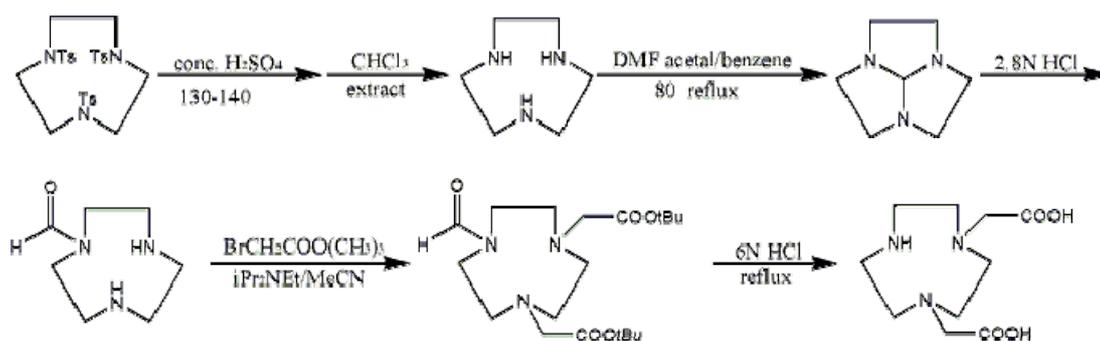
其 potentials 。

- (4) 選擇 minimize 與 dynamics 的方法及條件參數，之後儲存輸入檔並進行背景執行動作。
  - (5) 完成計算後，從國家高速網路與計算中心將做出來的數據下載回來，並分析 dynamics 的軌跡，抓取各個時間點的結構及能量變化。
3. 擷取 dynamic simulation 過程中各時間點 (time step) 結構，並找出最佳化結構加以分析。

### 三、主要發現與結論

#### (一) 合成

##### (1) NO2A 的合成 1, 4-bis(carboxymethyl)-1, 4, 7-triazacyclononane<sup>15,16</sup>



### 1. 合成 1, 4, 7-triazacyclononane

秤取 15 克的 1, 4, 7-tri(p-toluenesulfonyl)-1, 4, 7-triazacyclononane，依照一克大環約需二至三毫升濃硫酸的比例取 40ml 濃硫酸，將 3 溶於 40ml 濃硫酸中並在 130-140 度油浴中反應一天，溶液會由橙色轉為黑色。將黑色溶液倒出，用 300ml\*3 的乙醚逼出灰白色固體(需小心慢慢將乙醚倒置進黑色溶液中)，過濾取得灰白色固體，並用 100ml 二次水將固體溶解，在 80 度加熱下加活性炭脫色(也可加少許碳酸鋇去除多於硫酸)，過濾後可得澄清淡黃綠色溶液，用 12N 的氫氧化鈉水溶液將溶液的 pH 值調到 12 以上(約在 pH=11 時，溶液會轉變為紫色)。用 100ml\*3 的 choloform 作萃取，收集有機層，並加硫酸鎂去水，靜置一會後過濾得澄清淡黃綠色溶液，將溶液抽乾後得淡黃綠色油狀物約兩克。

產率：70%

EA：N 17.62(17.39), C 30.20(30.58), H 7.60(7.68)

MS(ESI)：M/Z 130.1([M+H+])

NMR(D<sub>2</sub>O, 500M HZ)：

<sup>1</sup>H：δ 3.515(-NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N-)

<sup>13</sup>C：δ 42.117(-NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N-)

PS.所有分析數據皆為 1, 4, 7-triazacyclononane trihydrochloride salt 形式

### 2.合成 1, 4, 7-triazacyclo[5, 2, 1, 04, 10]decane

秤取兩克產物 1(約 0.0155mol)，將之溶於 30mlbenzene 中，在 80 度油浴及氮氣系統下慢慢地用針筒將 1.85 克的 dimethyforamide dimethyl acetal(約 0.0155mol)打入溶有 4 的 benzene 溶液中反應。三個小時後，溶液漸漸由淡淡澄清黃綠色轉變為澄清紅橙色，將溶液抽乾後得約 1.7 克的橙色油狀物。

產率：80%

NMR(CDCI<sub>3</sub>, 300M HZ)：

<sup>13</sup>C：δ 50.045(-NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N-), δ 102.467(-NCHN-)

### 3. 合成 1-formyl-1, 4, 7-triazacyclononane

取 1.7 克產物 2(約 0.0122mol)，將之溶於 10ml 2.8N 的 HCl 溶液中，在室溫下攪拌水解 8 小時。反應完成後馬上冰浴冷卻，用 12N 的氫氧化鈉水溶液調 pH 值大

於 13，之後用 20ml\*3 的 choloform 作萃取，收集有機層，加硫酸鎂去水靜置後，過濾得澄清濾液，將濾液抽乾得澄清淡橙色油狀物 1.2 克。

產率：60%

NMR(CDCI<sub>3</sub>, 300M HZ)：

<sup>13</sup>C：δ 46.692, δ 48.248, δ 48.749, δ 49.316, δ 49.844, δ 52.722(-NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N-), δ 163.937(-CHO)

#### 4. 合成 1-formyl-4, 7-bis(tert-butoxycarbonylmethyl)-1, 4, 7-triazacyclononane

取 1.2 克產物 3(約 0.00763mol)，將之溶於 30ml acetonitrile 中，隨即秤取 2.96 克(約 0.0229mol)的 N, N-diisopropylethylamine，將之加入溶有大環的 acetonitrile 溶液中進行拔氫。在秤取 4.47 克(約 0.0229mol)的 tert-butyl bromoacetate，在氮氣系統及 40 度水浴下逐滴加入進行接酸反應。在 40 度反應 14 小時後，將水浴溫度調升到 60 度並反應 8 小時，溶液會由橙色轉為紅橙色。將溶液抽乾後加 50ml choloform 溶解固體，用 50ml\*3 的二次水進行萃取，取有機層並加硫酸鎂去水，靜置一會後過濾得橙色澄清濾液，抽乾溶液後將紅橙色油狀物通 silica gel 進行管柱層析純化，動相為純 EA，最後可得淡橙色油狀物 2.9 克。

產率：40%

NMR(CDCI<sub>3</sub>, 500M HZ)：

<sup>1</sup>H：δ 1.452, δ 1.462(s, -CH<sub>3</sub>), δ 2.665(2H, t, -NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N-), δ 2.741(2H, d, -NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N-), δ 2.974(2H, d, -NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N-), δ 3.181(2H, d, -NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N-), δ 3.284(6H, s, -NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N- and -NCH<sub>2</sub>-), δ 3.485(2H, d, -NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N-), δ 8.035(1H, s, -CHO)

<sup>13</sup>C：δ 28.099(-CH<sub>3</sub>), δ 47.031, δ 50.122, δ 53.809, δ 54.466, δ 54.756, δ 57.832 (-NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N-), δ 58.397, δ 58.847(-NCH<sub>2</sub>-), δ 80.786, δ 80.916(-C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), δ 163.702(-CHO), δ 171.122, δ 171.259(-COOtBu)

#### 5. 1, 4-bis(carboxymethyl)-1, 4, 7-triazacyclononane

配製 6N HCl 水溶液約 40ml，將產物 4 溶於 6N HCl 溶液中並 reflux 一天，水解完後將溶液抽乾得橙色鹽類固體，隨即通陽離子交換樹脂純化。

EA：N 13.21(12.91), C 37.74(37.88), H 6.65(6.66)

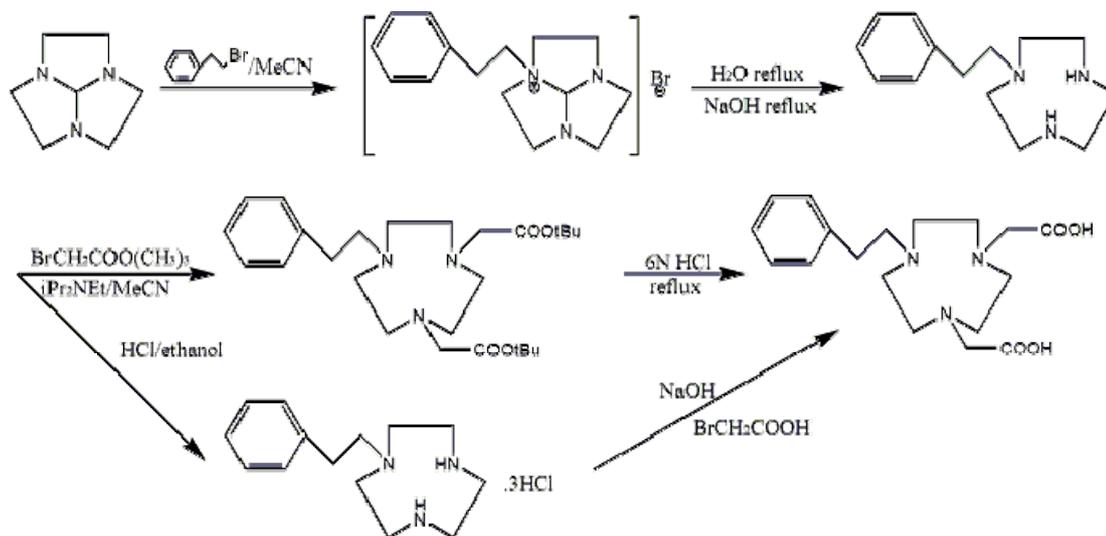
MS(ESI) : M/Z 246.2([M+H+])

NMR(D<sub>2</sub>O, 500M HZ) : (圖 8, 圖 9)

<sup>1</sup>H : δ 3.277, δ 3.410, δ 3.448(-NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N-), δ 3.843(-NCH<sub>2</sub>-)

<sup>13</sup>C : δ 41.443, δ 48.756, δ 49.436(-NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N-), δ 55.367(-NCH<sub>2</sub>-), δ 171.000(-COOH)

(2) 1-phenethyl-4, 7-bis(carboxymethyl)-1, 4, 7-triazacyclononane 的合成<sup>17,18,19</sup>



## 6. 1-phenethyl-1, 4, 7-triazacyclononane

秤取 0.0144mol 約兩克的產物 2，將之溶於 30ml 的 acetonitrile 中，隨即秤取 0.0144mol 約 2.66 克的 2-phenylethyl bromide，在室溫及氮氣系統下將 2-phenylethyl bromide 慢慢打入溶有 5 的溶液中與之反應。反應 24-36 小時後將溶液抽乾，用 50ml 的二次水將油狀物溶解，接著用 50ml\*2 的乙醚作萃取，取水層後直接 reflux 十二小時，之後再加氫氧化鈉將溶液調配成 2N NaOH 的水溶液後繼續 reflux 一天。靜置冷卻後用 50ml\*3 的 choloform 進行萃取，收集有機層並加硫酸鎂去水，靜置一會後過濾抽乾得澄清淡橙色油狀物約 1.34 克。

產率：40%

NMR(CDCl<sub>3</sub>, 300M HZ) :

<sup>13</sup>C : δ 34.032, δ 58.204(ArCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N-), δ 46.118, δ 46.238, δ

52.147(-NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N-), δ 125.797, δ 128.147, δ 128.394, δ 140.333(aromatic carbon)

### 7. 1-phenethyl-1, 4, 7-triazacyclononane trihydrochloride salt

依照 12N HCl : ethanol = 1 : 2 比例配置 75ml 混合溶液，將產物 6 溶於此混合溶液中並在室溫下攪拌 3 小時，會有白色沉澱析出，過濾白色固體後再用 ethanol 清洗一下並乾燥，將固體刮下後再乾燥一次後得約 1.5 克白色粉末。

產率：70%

熔點：200 度

EA : N 11.83(12.05), C 47.32(47.25), H 7.77(7.70)

MS(ESI) : M/Z 234.2([M+H+])

NMR(D<sub>2</sub>O, 500M HZ) :

<sup>1</sup>H : δ 2.777, δ 2.910(ArCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-), δ 2.983, δ 3.201, δ 3.420(-NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N-), δ 7.162, δ 7.177, δ 7.190, δ 7.205, δ 7.241, δ 7.256, δ 7.271(aromatic hydrogen)

<sup>13</sup>C : δ 30.300, δ 43.384(ArCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-), δ 41.957, δ 47.338, δ 56.064(-NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N-), δ 126.544, δ 128.804, δ 128.865, δ 139.491(aromatic carbon)

### 8. 1-phenethyl-4, 7-bis(tert-butoxycarbonylmethyl)-1, 4, 7-triazacyclononane

秤取 0.00574mol 約 1.34 克的產物 6 及大環兩倍當量的 iPr<sub>2</sub>NEt，將兩者混合溶於 20ml 的 acetonitrile 中，隨即秤取約為大環 1.5 倍當量的 tert-butyl bromoacetate，在氮氣系統及 40 度的水浴下將 tert-butyl bromoacetate 慢慢打入溶液中與大環反應 14 小時，隨即升溫到 60 度再攪拌反應 8 小時，此時容易會由橙色轉變為紅橙色。將溶液抽乾並加 50ml 的 choloform 將固體溶解

，用 50ml\*3 二次水作萃取清洗，取有機層並加硫酸鎂去水，靜置一會後過濾抽乾濾液得紅橙色油狀物，將此油狀物通 silica gel，動相為 EA : MeOH = 9 : 1，最後可得 0.78 克橙色油狀物。

產率：30%

NMR(CDCl<sub>3</sub>, 300M HZ) :

<sup>13</sup>C : δ 26.981(-CH<sub>3</sub>), δ 29.993, δ 55.533(ArCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N-), δ 46.378, δ 49.690, δ 51.340 (-NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N-), δ 55.967(-NCH<sub>2</sub>-), δ 80.365(-OC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), δ 125.910, δ 127.626, δ 127.967, δ 135.392(aromatic hydrogen), δ 169.513(-COO-)

### 9. 1-phenethyl-4, 7-bis(carboxymethyl)-1, 4, 7-triazacyclononane

配製 6N HCl 水溶液 30ml，將產物 8 溶於 30ml 6N HCl 溶液中 reflux 一天，將溶液抽乾後得橙色鹽類固體，將固體溶於少量二次水中通陽離子交換樹脂進行純化，最後可得約 0.6 克的白色固體。

產率：80%

取 0.00438mol 約 1.5 克的產物 7 及大環三倍當量的 bromoacetate，將兩者混合溶於 25ml 的二次水中，用 6N 的氫氧化鈉水溶液維持反應溶液的 pH 值在 10.5-11 之間，並在 70 度的油浴下反應三天。三天後用 6N HCl 將溶液的 pH 值調到 3 左右，將溶液抽乾後得到橙色固體，用 50ml 甲醇將固體清洗溶解，過濾得橙色濾液並將其抽乾得橙色固體，將橙色固體溶於少量二次水後通陽離子交換樹脂純化，最後可得約 1.1 克白色固體。

EA：N 9.17(9.27), C 47.16(47.16), H 7.27(7.20)

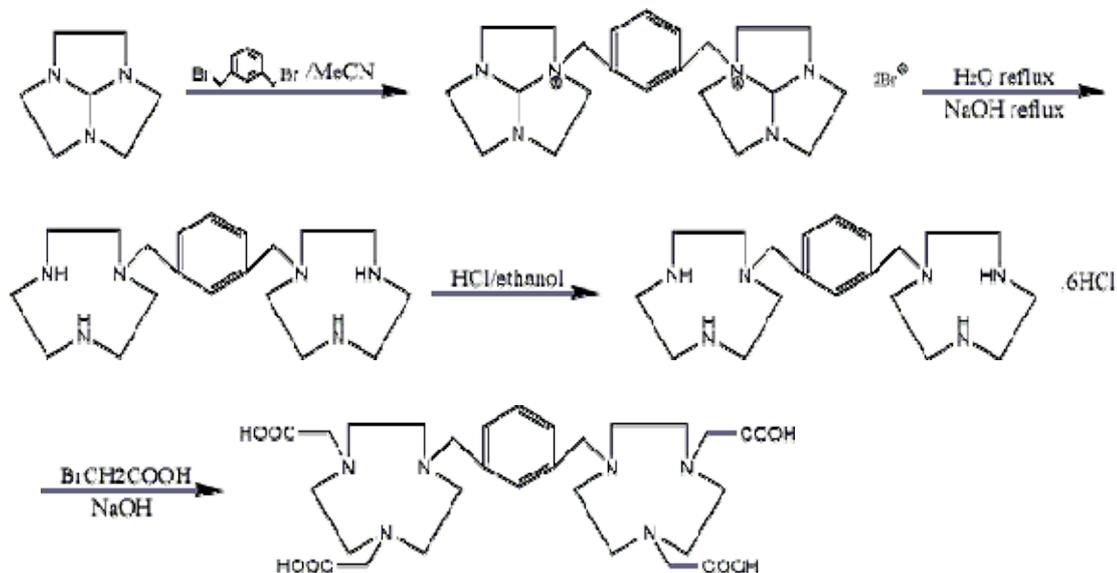
MS(ESI)：M/Z 350.2([M+H<sup>+</sup>])

NMR(D<sub>2</sub>O, 500M HZ)：(圖 10, 圖 11)

<sup>1</sup>H：δ 3.074, δ 3.314, δ 3.535(-NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N-), δ 3.237, δ 3.622(ArCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N-), δ 7.247, δ 7.262, δ 7.312, δ 7.327, δ 7.342(aromatic hydrogen)

<sup>13</sup>C：δ 27.337, δ 53.924(ArCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N-), δ 45.978, δ 47.497, δ 48.497(-NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N-), δ 55.444(-NCH<sub>2</sub>-), δ 124.901, δ 126.184, δ 126.519, δ 133.237(aromatic carbon), δ 171.000(-COOH)

(3) 1, 3-bis(1, 4, 7-triazacyclonon-1-ylmethyl)benzene 的合成：方法一<sup>20,21,22,23</sup>



#### 10. 1, 3-bis(1, 4, 7-triazacyclonon-1-ylmethyl)benzene

將 0.0108mol 約 1.5 克的產物 2 溶於 50ml 的 acetonitrile 中，隨即秤取約為大環 0.425 當量的 m-xylene dibromide，並將之溶於 5ml 的 acetonitrile，在氮氣系統及室溫下慢慢將 m-xylene dibromide 打入 acetonitrile 溶液中與 5 反應。攪拌反應 3 小時後有白色固體產生，過濾取得白色固體並用乙醚沖洗兩三次，將白色固體溶於 100ml 二次水中並 reflux 10 小時，接著用氫氧化鈉將水溶液調成 2N NaOH 水溶液繼續 reflux 一天。水解完後用 100ml\*3 的 chloroform 作萃取，收集有機層並加硫酸鎂去水，靜置一會後過濾得濾液並將溶液抽乾得澄清淡橙色油狀物。配置 HCl : ethanol = 1 : 2 的混合溶液 120ml，將油狀物溶於此溶液中攪拌 3 小時會有白色沉澱析出，過濾後用 ethanol 清洗固體，經乾燥後得白色粉末約兩克。

產率：35%

NMR(D<sub>2</sub>O, 300M HZ) :

<sup>1</sup>H : δ 2.901, δ 3.095, δ 3.507(-NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N-), δ 3.804(-ArCH<sub>2</sub>N-), δ 7.324(aromatic hydrogen)

<sup>13</sup>C : δ 42.321, δ 43.784, δ 47.623(-NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N-), δ 58.781(-ArCH<sub>2</sub>N-), δ 129.379, δ 130.240, δ 132.116, δ 135.929(aromatic carbon)

PS. 依照相同方法可得 1, 2-bis(1, 4, 7-triazacyclonon-1-ylmethyl)benzene

EA : N 13.46(13.23), C 38.47(38.60), H 7.59(7.82)

MS(ESI) : M/Z 361.3([M+H<sup>+</sup>])

NMR(D<sub>2</sub>O, 500M HZ) :

<sup>1</sup>H : δ 2.291, δ 3.104, δ 3.593(-NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N-), δ 3.947(-ArCH<sub>2</sub>N-), δ 7.362, δ 7.496(aromatic hydrogen)

<sup>13</sup>C : δ 42.781, δ 44.430, δ 48.850(-NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N-), δ 56.132(-ArCH<sub>2</sub>N-), δ 128.575, δ 131.491, δ 135.590(aromatic carbon)

#### 11. 1, 3-bis[4, 7-bis(carboxymethyl)-1, 4, 7-triazacyclon-1-ylmethyl]benzene

將 0.00346mol 約 2 克的產物 10 及大環六倍當量的 bormoacetate 一起溶於 30ml 的二次水中，用 6N 的氫氧化鈉水溶液維持反應溶液的 pH 值在 10.5-11 之間，並在 70 度的油浴下反應三天。三天後用 6N HCl 將溶液的 pH 值調到 3 左右，將溶液

抽乾後得到橙色固體，用 50ml 甲醇將固體清洗溶解，過濾得橙色濾液並將其抽乾得橙色固體，將橙色固體溶於少量二次水後通陽離子交換樹脂純化，最後可得約 1.6 克白色固體。

EA : N 9.93(9.88), C 39.72(40.03), H 7.14(7.21)

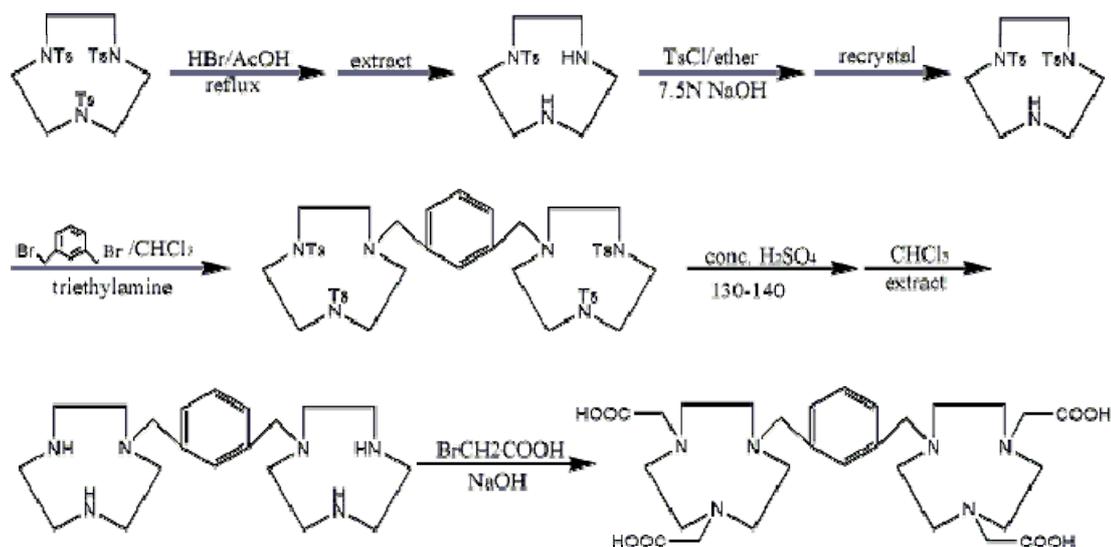
MS(ESI) : M/Z 593.2([M+H<sup>+</sup>])

NMR(D<sub>2</sub>O, 500M HZ) :

<sup>1</sup>H : δ 3.094, δ 3.470(-NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N-), δ 3.622(-NCH<sub>2</sub>-), δ 4.454(-ArCH<sub>2</sub>N-), δ 7.527, δ 7.608, δ 7.659(aromatic hydrogen)

<sup>13</sup>C : δ 46.390, δ 47.688, δ 48.123(-NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N-), δ 54.016(-NCH<sub>2</sub>-), δ 57.512 (-ArCH<sub>2</sub>N-), δ 127.947, δ 128.245, δ 130.206, δ 130.932(aromatic carbon), δ 171.000 (-COOH)

(3) 1, 3-bis(1, 4, 7-triazacyclonon-1-ylmethyl)benzene 的合成：方法二<sup>24</sup>



## 12. 1-(p-toluenesulfonyl)-1, 4, 7-triazacyclononane

秤取 0.0507mol 約 30 克的 1, 4, 7-tri(p-toluenesulfonyl)-1, 4, 7-triazacyclononane，將之溶於 400ml 的 HBr/AcOH 溶液中油浴 reflux 36 小時，之後過濾溶液得固體，用乙醚沖洗固體得白色粉末。將粉末溶於 100ml

1N 的氫氧化鈉水溶液中，用 100ml\*3 的 chloroform 進行萃取，收集有機層並加硫酸鎂去水，靜置一會後過濾得淡橙色濾液，抽乾溶液得淡黃色固體約 10 克。

產率：70%

熔點：90 度

### 13. 1, 4-bis(p-toluenesulfonyl)-1, 4, 7-triazacyclononane

秤取 0.0355mol 約 10 克的產物 12，將之懸浮於 10ml 7.5N 的氫氧化鈉溶液中，隨即秤取 0.0318mol 約 6.06 克的 p-toluenesulfonyl chloride(稍微少量一點點，避免難纏副產物出現)，將 p-toluenesulfonyl chloride 溶於 100ml 的乙醚中，在室溫下逐滴滴入溶有 15 的氫氧化鈉溶液中攪拌反應，滴完後再攪拌 3 小時，過濾得白色粉末，用二次水及 ethanol 清洗白色粉末。將剩餘的白色粉末溶於 100ml 的 choloform 中，並用 100ml\*2 的二次水清洗萃洗，取有機層並加硫酸鎂去水，靜置一會後過濾得澄清濾液，將溶液抽乾得白色固體，最後再用 hot ethanol 做再結晶，得白色針狀固體 10.8 克。

產率：70%

熔點：225 度

EA：N 9.60(9.44), C 54.89(54.93), H 6.22(6.31)

MS(ESI)：M/Z 438.2([M+H+])

NMR(CDCI<sub>3</sub>, 500M HZ)：

<sup>1</sup>H：δ 2.429(-CH<sub>3</sub>), δ 3.184, δ 3.196, δ 3.441(-NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N-), δ 7.299, δ 7.315, δ 7.648, δ 7.665(aromatic hydrogen)

<sup>13</sup>C：δ 21.489(-CH<sub>3</sub>), δ 48.931, δ 53.046, δ 53.893(-NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N-), δ 127.183, δ 129.794, δ 135.099, δ 143.611(aromatic carbon)

### 14. 1, 3-bis[4, 7-bis(p-toluenesulfonyl)-1, 4, 7-triazacyclonon-1-ylmethyl]benzene

秤取 0.0091mol 約 4 克的產物 13 及 0.0137mol 約 1.39 克的 triethylamine，將兩者混合溶入 25ml 的 choloform 中，隨即秤取 0.00389mol 的 m-xylylene dibromide 並將之溶於 5ml 的 choloform 中，在氮氣系統及室溫下慢慢將 m-xylylene dibromide 滴入溶液中與大環反應。攪拌兩天後，用 30ml\*2 的二次水進行萃取，取有機層並加硫酸鎂去水，靜置一會後過濾得澄清濾液，將濾液抽乾得白色固體，將固體溶於少量二氯甲烷並通 silica gel 做純化，最後可得白色固體約 2 克。

產率：45%

EA : N 8.50(8.46), C 58.30(58.20), H 6.12(6.04)

MS(ESI) : M/Z 489.5([M+2H<sup>+</sup>])

#### 15. 1, 3-bis(1, 4, 7-triazacyclonon-1-ylmethyl)benzene

秤取 0.0021mol 約 2 克的產物 14 並將之溶於 10ml 的濃硫酸中，在 130-140 度油浴下反應一天，待溶液冷卻後用乙醚逼出白色固體，過濾取得白色固體後將之溶於少量二次水中，在 80 度加熱下加活性炭脫色(也可加少許碳酸鋇去除多於硫酸)，過濾後可得澄清無色濾液，用 12N 的氫氧化鈉水溶液將溶液的 pH 值調到 13 以上。用 30ml\*3 的 choloform 作萃取，收集有機層，並加硫酸鎂去水，靜置一會後過濾得澄清無色濾液，將溶液抽乾後得淡白黃色油狀物約 0.65 克。

產率：90%

NMR(CDCI<sub>3</sub>, 300M HZ) : (圖 12, 圖 13)

<sup>13</sup>C : δ 45.904, δ 46.151, δ 52.147(-NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N-), δ 61.068(-ArCH<sub>2</sub>N-), δ 127.146, δ 127.613, δ 129.062, δ 139.245(aromatic carbon)

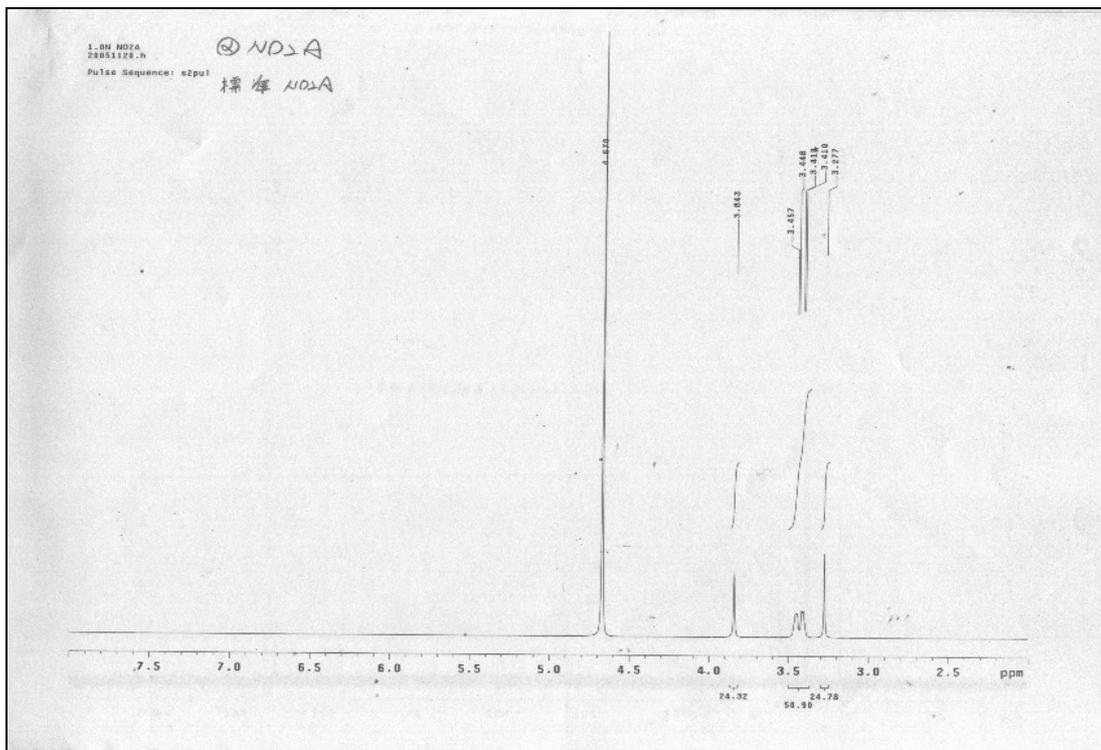


圖 8 NO2A 1H-NMR

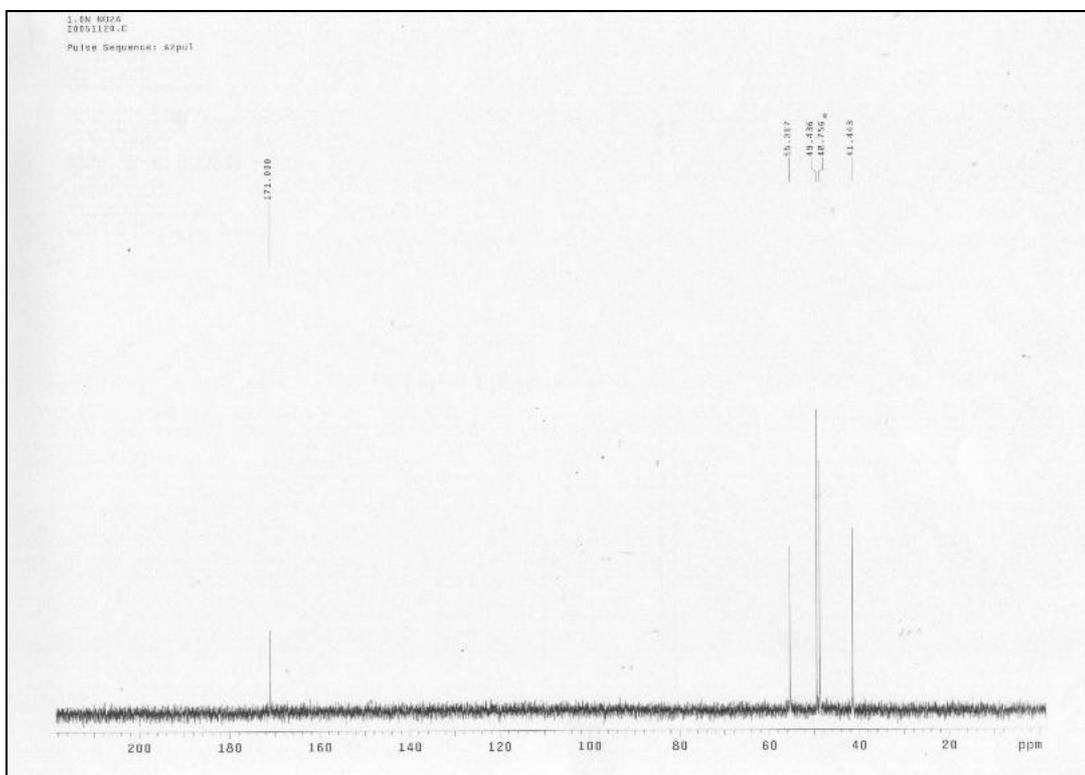


圖 9 NO2A 13C-NMR

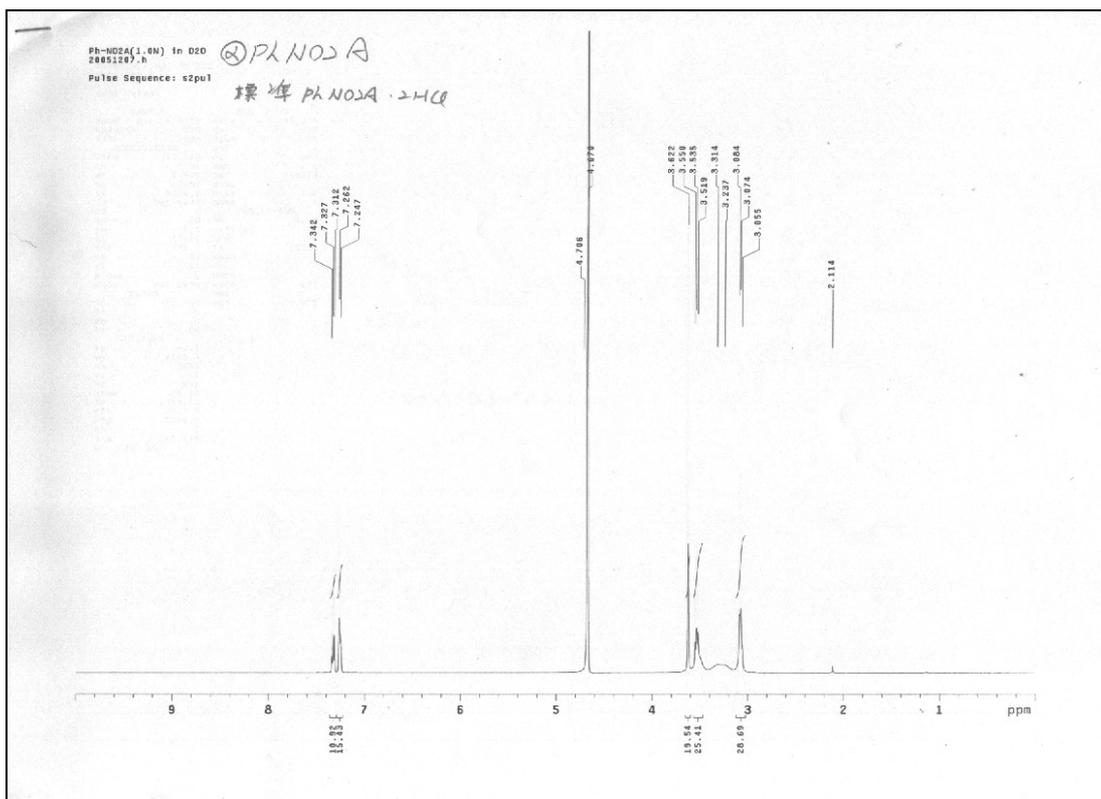


圖 10 1-phenethyl-4,7-bis(carboxymethyl)-1,4,7-triazacyclononane 1H-NMR

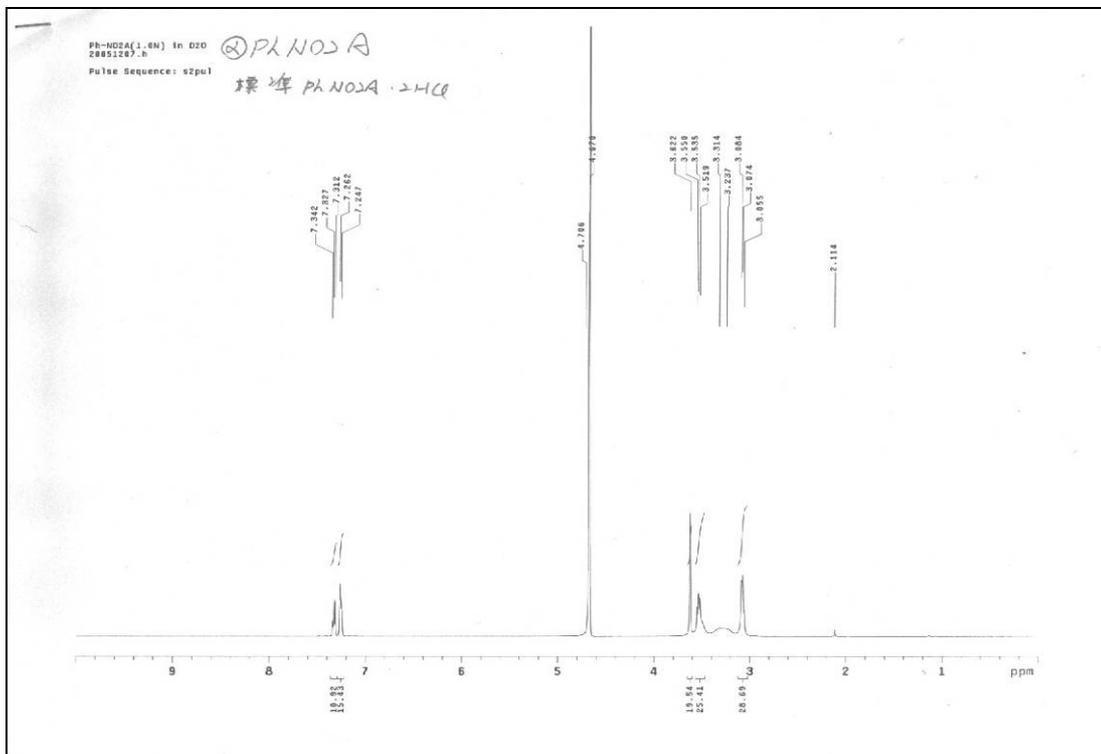


圖 11 1-phenethyl-4,7-bis(carboxymethyl)-1,4,7-triazacyclononane 13C-NMR

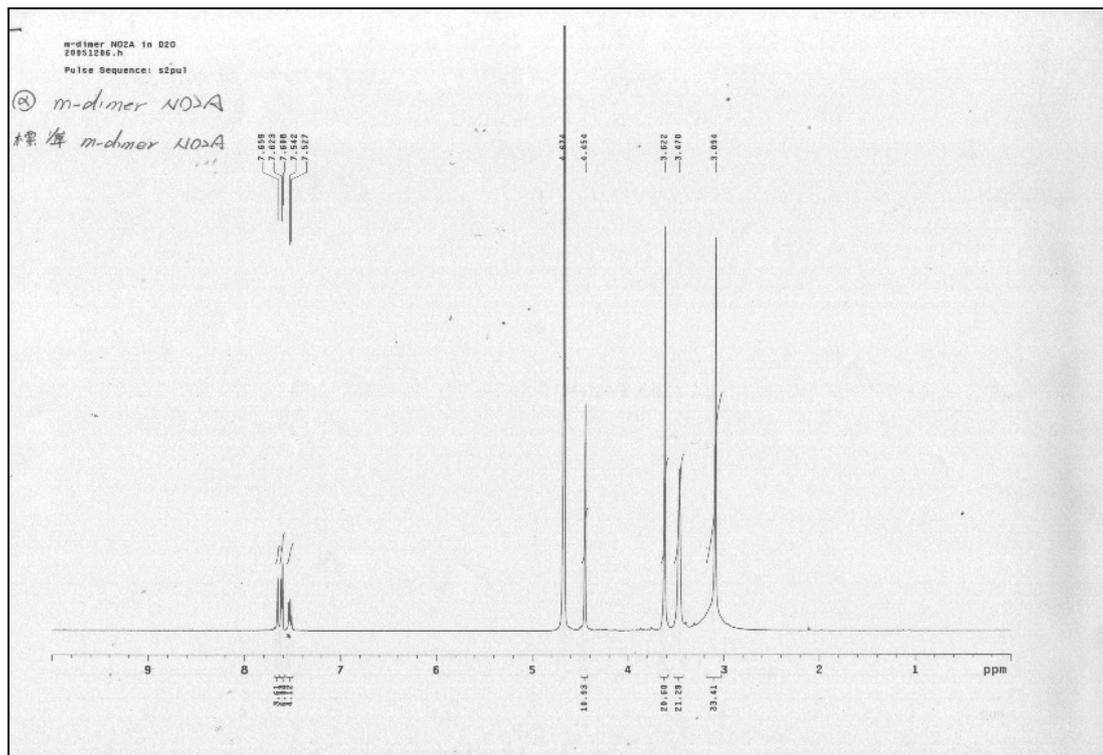


圖 12 1,3-bis(1,4,7-triazacyclonon-1-ylmethyl)benzene 1H-NMR

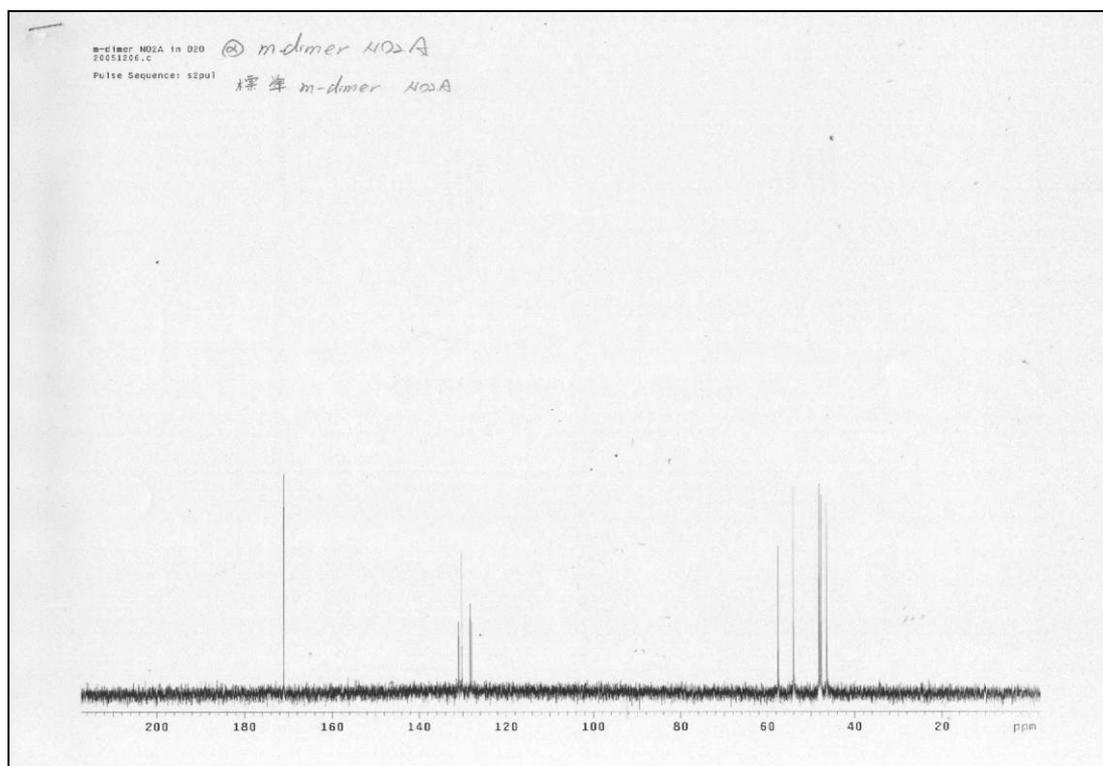


圖 13 1,3-bis(1,4,7-triazacyclonon-1-ylmethyl)benzene 13C-NMR

(二)、電位滴定 (potentiometric titration)

(1) Protonation Constant of ligands

在經過強鹼滴定後，我們可以很明顯的看到 NO<sub>2</sub>A 的滴定曲線有兩個反曲點 (圖 14)，第一個反曲點在 pH=4.82，鹼液體積為 2 當量處，第二個反曲點在 pH=8.36，鹼液體積為 3 當量處。

The stability of lanthanide complexes

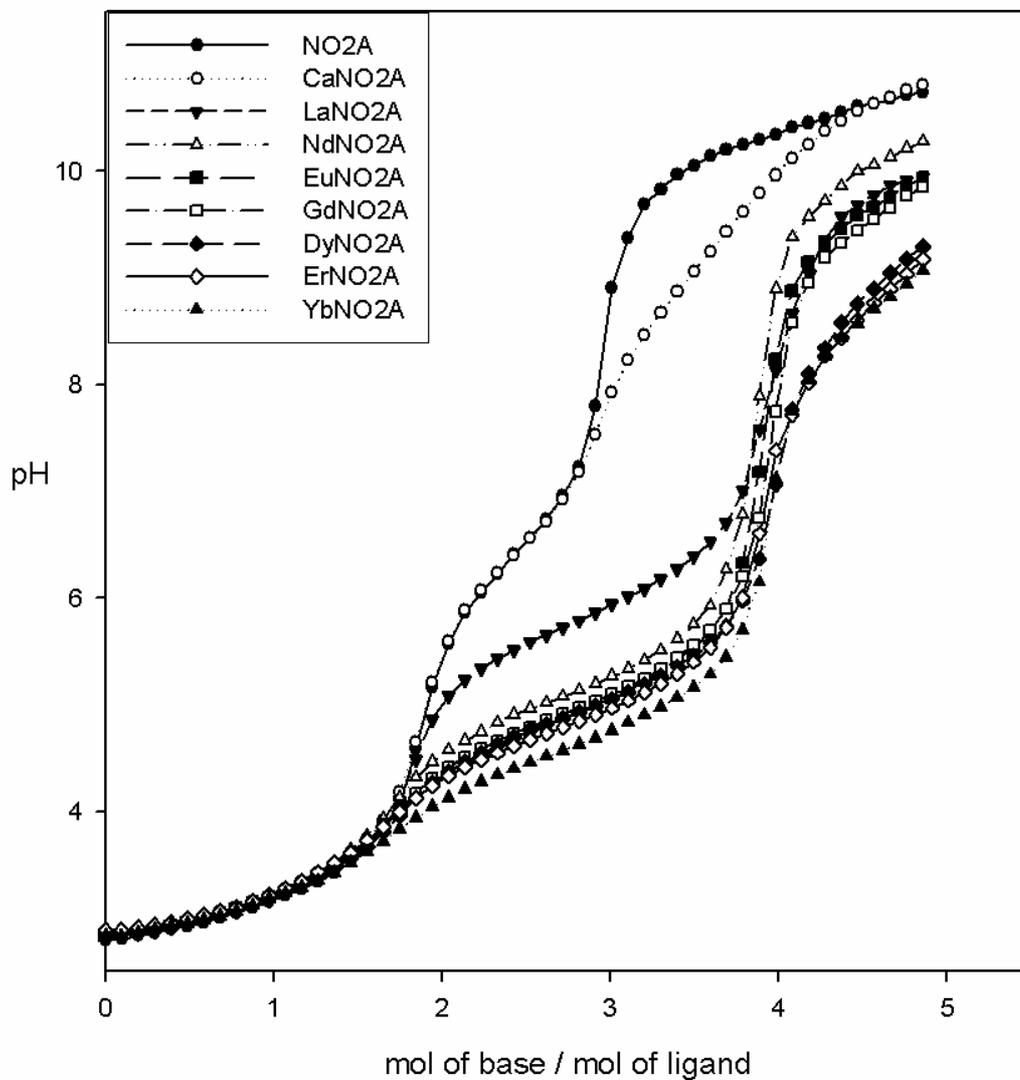


圖 14 Titration curve of NO<sub>2</sub>A(pH v.s volume of base)

為了確定 NO<sub>2</sub>A 上所帶的質子全都解離到水溶液中，我們接下來使用了 Ln<sup>2+</sup>離子。在 NO<sub>2</sub>A 的溶液中加入鑷系離子溶液，配成溶液中 [NO<sub>2</sub>A] = 1mM，[Ln<sup>3+</sup>] = 1mM，總體積仍保持 5 mL

從圖中我們可以明顯看到，加入鑷系離子後只出現一個反曲點，而且正好用去了 4 個當量的鹼，更確定了 NO<sub>2</sub>A 是帶了 2 個 HCL 的鹽酸鹽類。

至於 pHNO<sub>2</sub>A，仿造 NO<sub>2</sub>A 的作法我們可以很明顯的看到 pHNO<sub>2</sub>A complex 的滴定曲線有 3 個反曲點(圖 15)，第一個反曲點在 pH=4.5 左右，鹼液體積為 2 當量處，第二個反曲點約在 pH=6，鹼液體積為 3 當量處，第三個反曲點約在 pH=9，鹼液體積為 5 當量處，故推測 pHNO<sub>2</sub>A 是帶了 3 個 HCL 的鹽酸鹽類。

### Lanthanide complexes VS TMAH

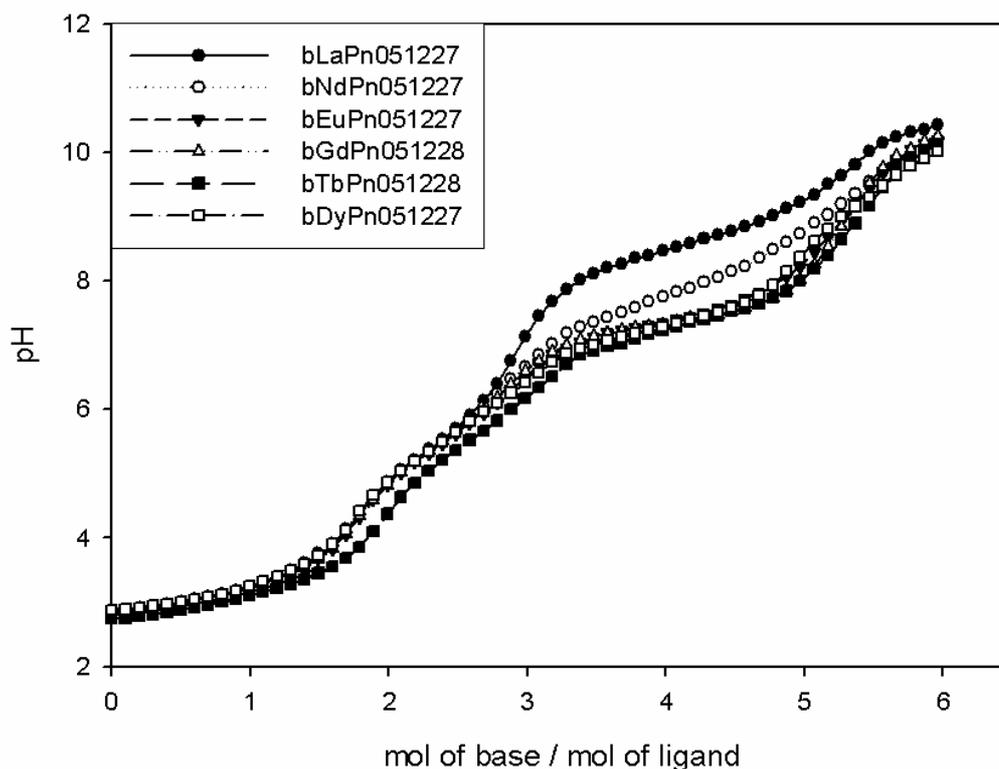


圖 15 Titration curve of NO<sub>2</sub>A complex(pH v.s volume of base)

表 1 The protonation constants of [9]aneN<sub>3</sub> derivatives

	NOTA				NO <sub>2</sub> A	PhNO <sub>2</sub> A
	13.0a	11.41b	11.3c	10.77d		
Log K1	13.0a	11.41b	11.3c	10.77d	10.3141	10.5168
Log K2	5.6	5.74	5.59	6.03	6.6058	5.6210

Log K3	2.5	3.16	2.88	3.16	3.3595	3.0441
Log K4	1.9	1.71		1.96	0.6453	0.7885
Log K5	1.3					
Log K6	0.2					

a from ref<sup>25</sup>. b from ref<sup>26</sup>.(0.1M NaNO<sub>3</sub> ). c from ref<sup>27</sup>.(0.1M NaClO<sub>4</sub> ). d from ref<sup>28</sup>.(1.0 M NaClO<sub>4</sub> ).

表 1 為三氮九元環含酸基的衍生物的質子化常數表，從表中我們可以看到，在大環的氮原子加上乙酸取代基後(NOTA 和 NO<sub>2</sub>A)，第一個和第三個質子化常數便大幅的提昇，但是對於第二個質子化常數則是有降低的現象。根據之前 Dean Sherry 所做的研究顯示<sup>25</sup>，由於 NOTA 的第一和第二個質子化位置在大環上的兩個氮原子上，第三和第四個質子化位置在兩個乙酸基上。因此我們從前人的研究可以推測 NO<sub>2</sub>A 的質子化順序，第一個質子化位置在大環的二級氮上，第二個質子化位置在大環的任一個三級氮上，和乙酸基形成分子內氫鍵，第三和第四質子化位置為兩個乙酸基，而最後一個則在另一個三級氮上。

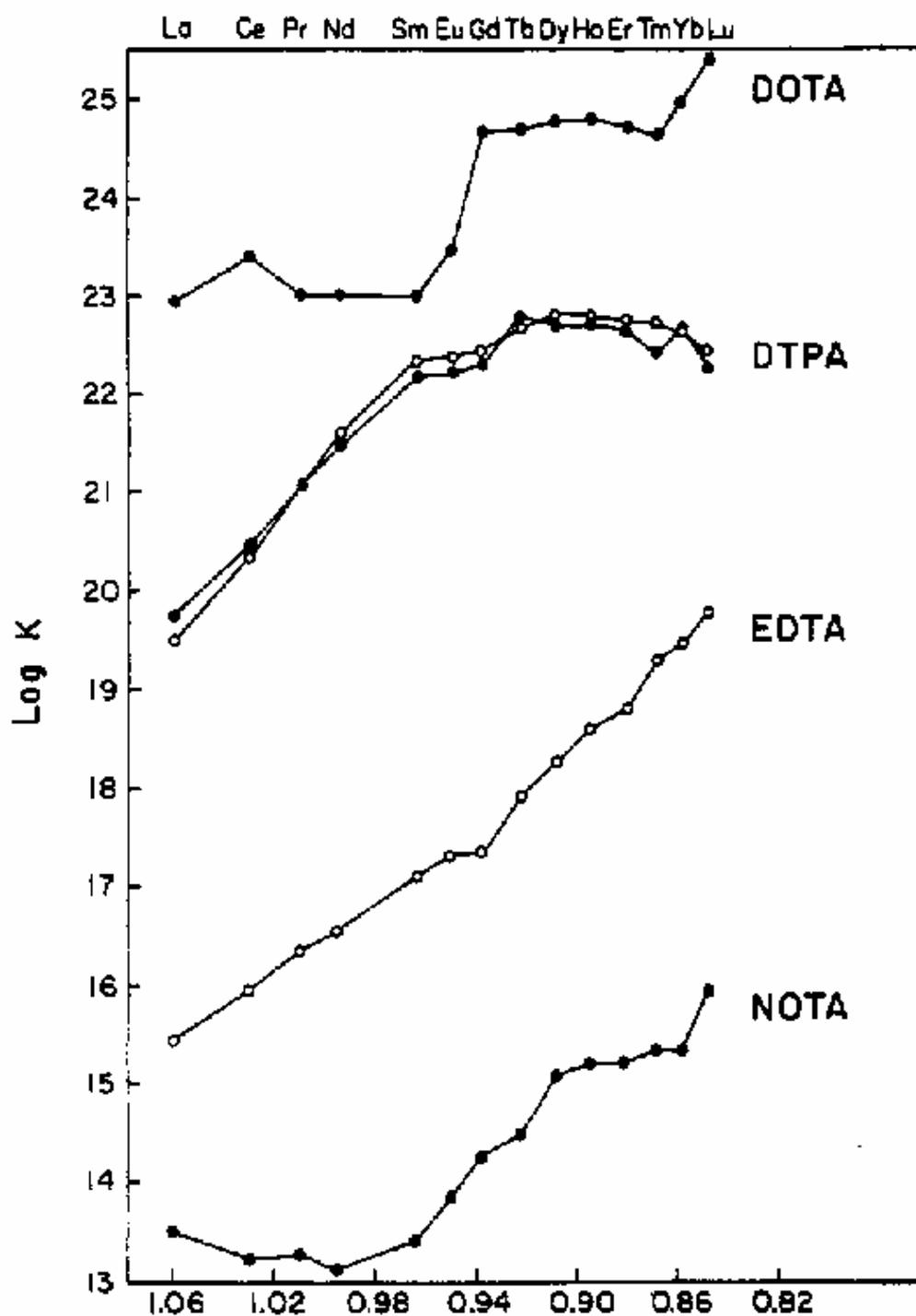
## (2) Stability Constant of Ln (ligand)

表 2 為 NOTA、NO<sub>2</sub>A 與 phNO<sub>2</sub>A 與鏷系金屬 La, Eu, Yb 錯合後所得到的平衡常數值 Log KML，在表中我們可以看到隨著取代基乙酸基的增加，鏷系金屬離子對於配位子的穩定常數也隨著增加，這種現象的原因有下列幾點：1、乙酸基數目較少的配位子其鹼性度也會降低，所以對金屬離子的穩定度也會跟著降低；2、NOTA 未質子化前所帶總電荷為負三，NO<sub>2</sub>A 為負二，負電荷的增加也會使配位子對金屬離子的穩定度增加；3、配位數的多寡影響金屬離子的穩定度，原因為螯合環效應，NOTA 中有三個氮原子和三個乙酸基共有六個配位給予原子，而 NO<sub>2</sub>A 中三個氮原子和兩個乙酸基共有五個配位給予原子，配位原子較少則螯合效應也較低。以上三個因素影響了 NOTA 和 NO<sub>2</sub>A 的金屬離子錯化合物的穩定度之間的差別。

表 2 The stability constant of [9]aneN<sub>3</sub> derivatives

LogKML	NO <sub>2</sub> A	PhNO <sub>2</sub> A
Ca <sup>2+</sup>	4.535±0.052	4.1475±0.1409
La <sup>3+</sup>	8.236±0.051	6.1749±0.0464
Ce <sup>3+</sup>	8.914±0.055	6.7962±0.0990

Pr <sup>3+</sup>	9.460±0.037	6.9324±0.0902
Nd <sup>3+</sup>	9.677±0.017	6.9244±0.0919
Sm <sup>3+</sup>	10.165±0.047	7.4598±0.0363
Eu <sup>3+</sup>	10.139±0.025	7.6089±0.0340
Gd <sup>3+</sup>	10.029±0.095	7.5294±0.1447
Tb <sup>3+</sup>	10.110±0.023	7.5390±0.1067
Dy <sup>3+</sup>	10.132±0.033	7.6471±0.1076
Ho <sup>3+</sup>	10.178±0.020	7.8325±0.0136
Er <sup>3+</sup>	10.241±0.074	8.0182±0.0359
Tm <sup>3+</sup>	10.540±0.032	8.0685±0.00481
Yb <sup>3+</sup>	10.728±0.094	8.2563±0.0353



部卻的然系這亂金的在鏽因

圖 16 Variation of stability constant with ionic radii of the lanthanides.

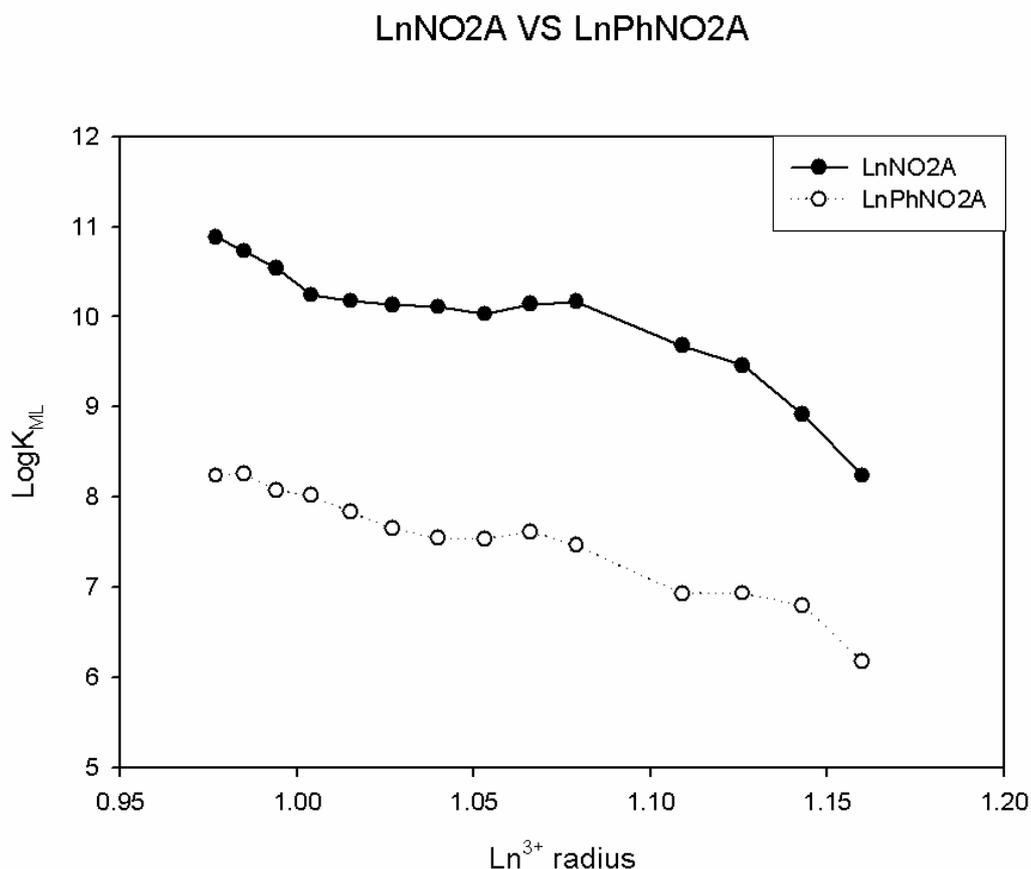


圖 17 Variation of NO<sub>2</sub>A and phNO<sub>2</sub>A complex stability constant with ionic radii of the lanthanides

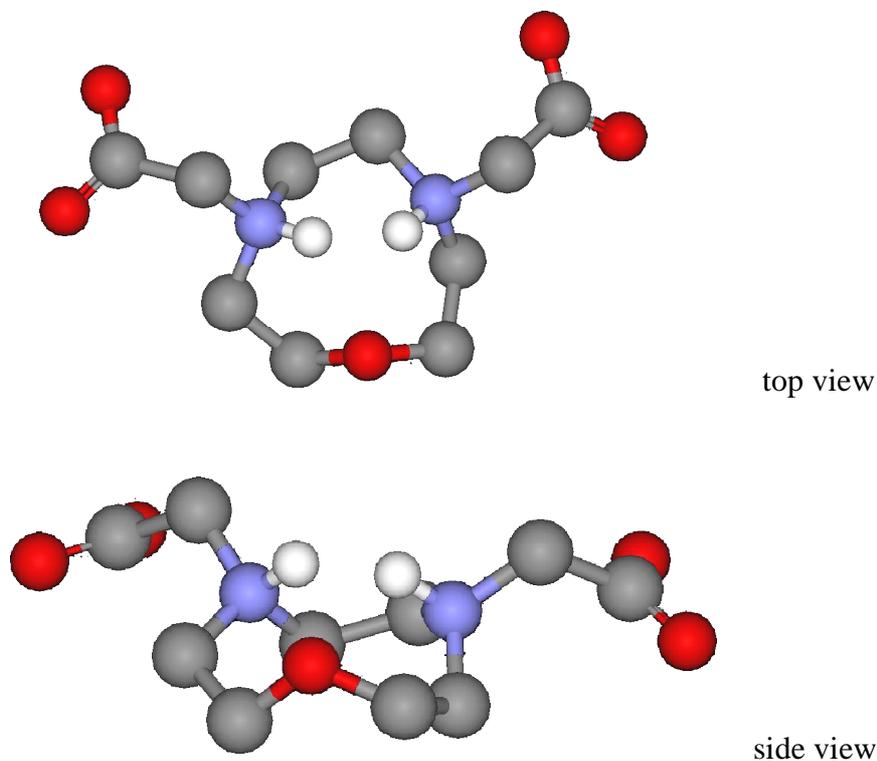
### (三) 分子模擬

利用大環構成相似的結晶產生其他不同取代基之大環配位子在不同質子化位置條件之最佳化結構之模擬預測

我們觀察到一氧二氮九員環及三氮九員環的結果，可以發現有 pre-organization 現象，其中 NO<sub>2</sub>A 在 1,3 位置質子化的結構，推測是九員環中與鑰系金屬配位效果較佳的大環配位子，因其環穴大小是九員環中較大的。另外，我們也觀察到接有苯基的三氮九員環與其他九員環比較，會發生環翻轉的情況，造成沒有 pre-organization 現象，因此與鑰系金屬配位的效果可能因為苯基及結構上的立體阻礙，會使得較不易與鑰系金屬形成錯合物。

1. 一氧二氮九員環：兩個氮上接羧甲基，且 2,3 位置上有質子化 (1O2N\_23)

用 CHARMM 做完 minimize 跟 dynamics 後的結構如下

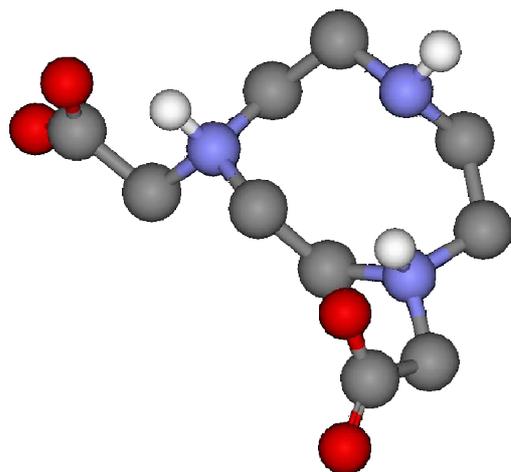


我們可以觀察到兩個氮上的氫是朝同一個方向（朝上），而且氧上面的 lone pairs 位置跟兩個氮上的氫一樣，朝同一個方向（朝上），有 pre-organization 現象。

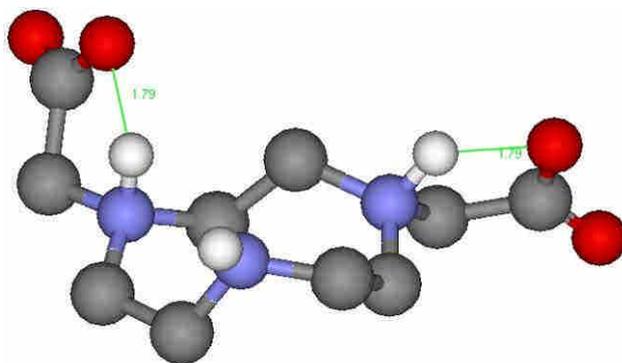
2. 三氮九員環：

(1) NO2A：兩個氮上接羧甲基，且 1,2 位置上有質子化 (NO2A\_12)

用 CHARMM 做完 minimize 跟 dynamics 後的結構如下



top view

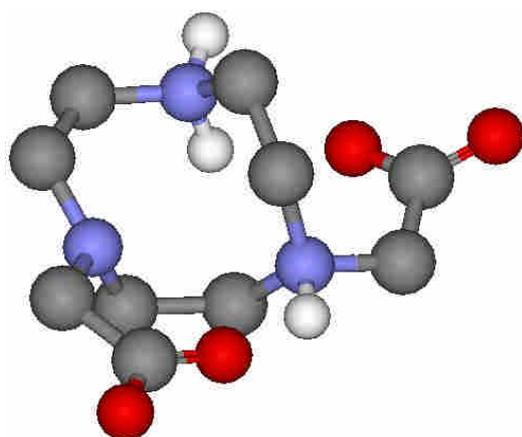


side view

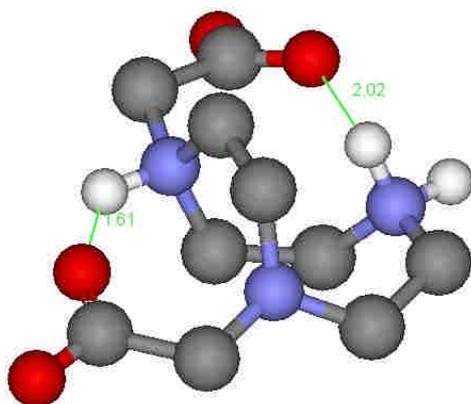
我們可以觀察到三個氮上的質子化氫皆是朝同一個方向（朝上），有 pre-organization 現象，且發現可能會形成兩組距離皆為 1.79 Å 的氫鍵，此兩組氫鍵也是讓整個結構穩定的原因之一。

(2) NO2A：兩個氮上接羧甲基，且 1,3 位置上有質子化 (NO2A\_13)

用 CHARMM 做完 minimize 跟 dynamics 後的結構如下



top view

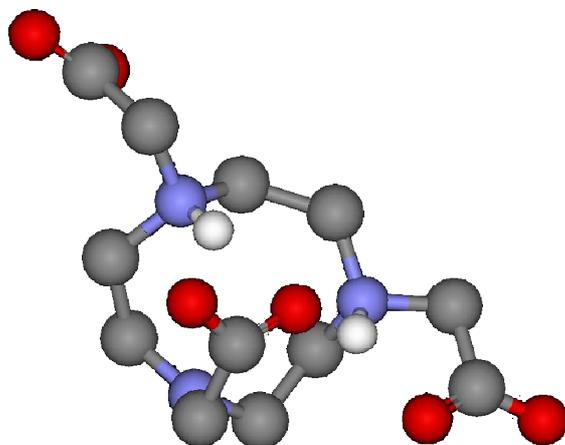


side view

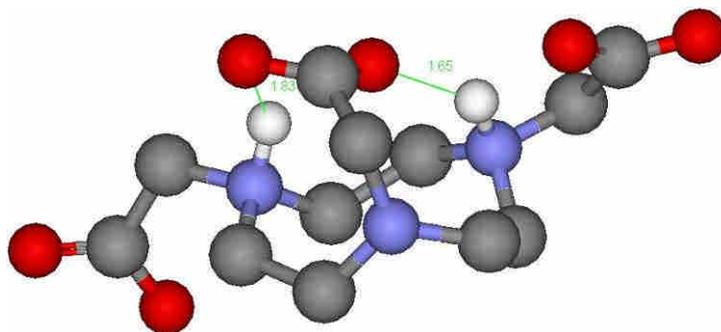
我們可以觀察到兩個氮上的質子化氫不是朝同一個方向，一個朝上，一個朝下，而另一個氮上的 lone pair 是朝下，表示沒有 pre-organization 現象，且發現可能會形成兩組距離分別為 1.61 Å 及 2.02 Å 的氫鍵，此兩組氫鍵也是讓整個結構穩定的原因之一。

(3) NOTA：三個氮上皆接羧甲基，且 1,2 位置上有質子化 (NOTA<sub>12</sub>)

用 CHARMM 做完 minimize 跟 dynamics 後的結構如下



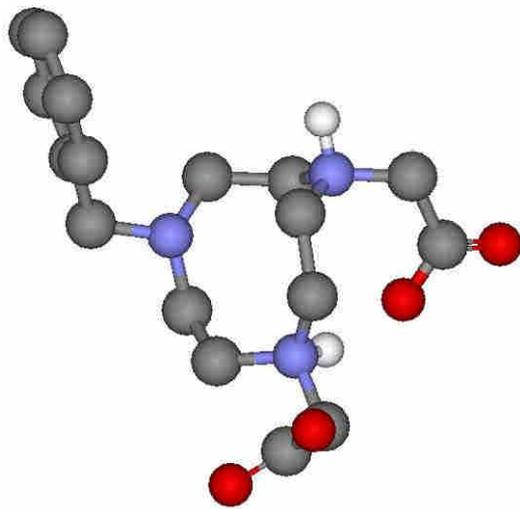
top view



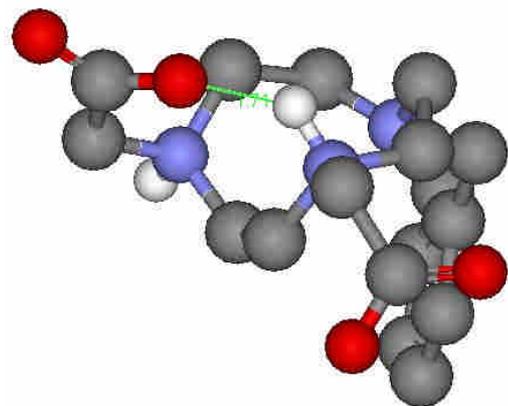
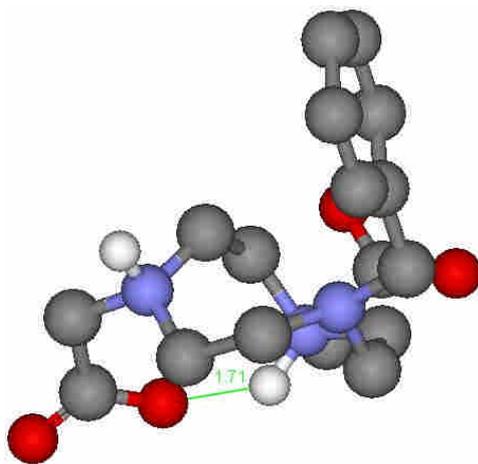
side view

- (4) 在 NO2A 一個氮上接苯基，其他兩個氮上接有羧甲基，且 1,2 位置上有質子化 (NO2A\_ph\_12)

用 CHARMM 做完 minimize 跟 dynamics 後的結構如下



top view

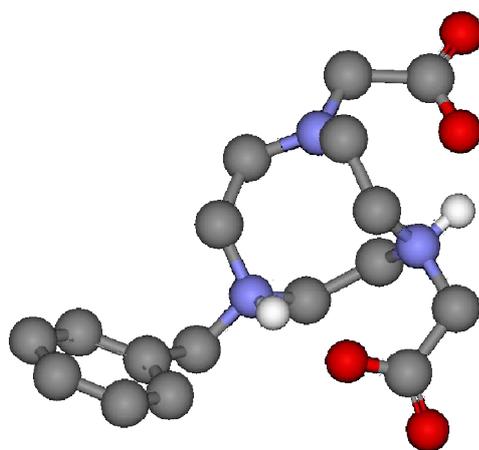


side view

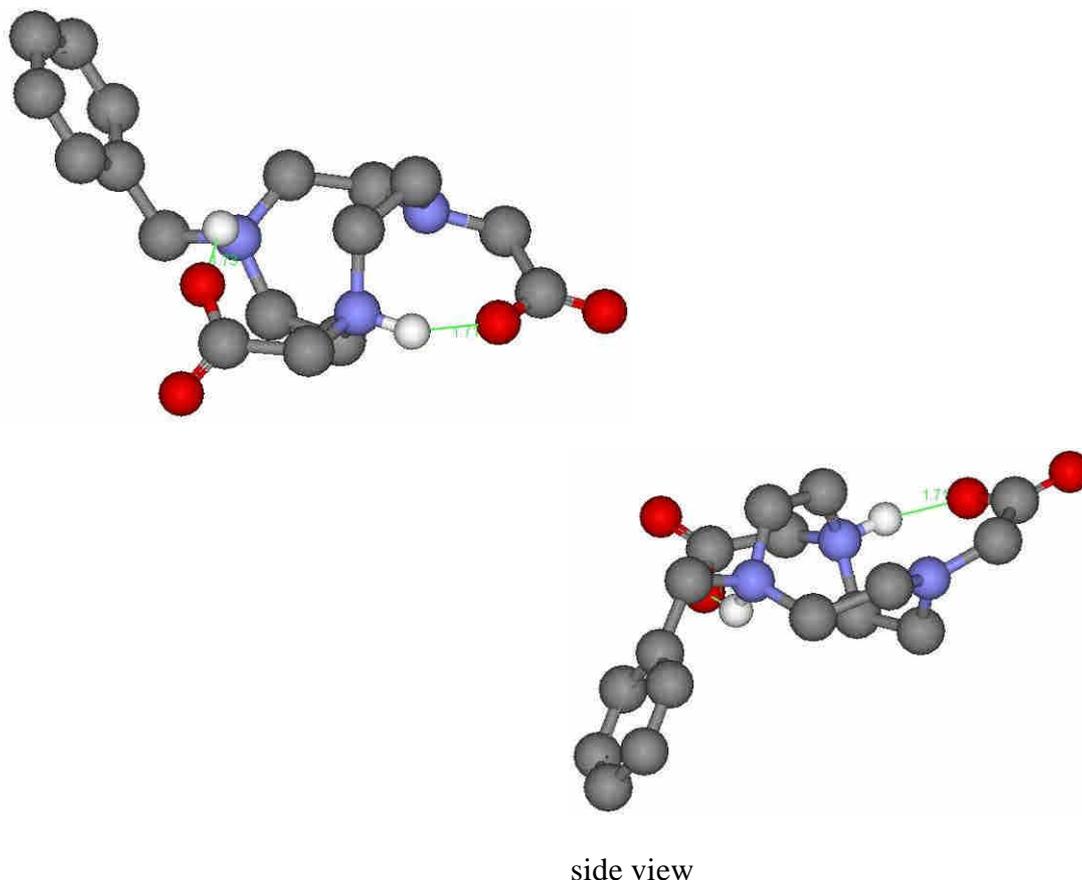
我們可以觀察到兩個氮上的質子化氫是朝不同一個方向，一個朝上一個朝下，而另一個氮上的 lone pair 是朝上，表示沒有 pre-organization 現象，且發現可能會形成距離為 1.71 Å 的氫鍵。因為此結構其氮上的質子化氫及 lone pair 方位不一樣，沒有 pre-organization 的現象，故推斷再與銅系金屬形成錯合物的過程是不易進行的。

- (5) 在 NO2A 一個氮上接苯基，其他兩個氮上接有羧甲基，且 1,3 位置上有質子化 (NO2A\_ph\_13)

用 CHARMM 做完 minimize 跟 dynamics 後的結構如下



top view



我們可以觀察到兩個氮上的質子化氫是朝不同一個方向，一個朝上，一個朝下，而另一個氮上的 lone pair 是朝上，表示沒有 pre-organization 現象，且發現可能會形成兩組距離分別為 1.71 Å 及 1.73 Å 的氫鍵。因為此結構其氮上的質子化氫及 lone pair 方位不一樣，沒有 pre-organization 的現象，故推斷在與鏷系金屬形成錯合物的過程是比較不易進行的。

由 NO2A\_ph\_12 和 NO2A\_ph\_13 結構得知，氮上的質子化氫對於羧甲基的方位有很大的影響，並且也影響到大環結構的變化。

至於 NO2A 及 DO2A dimer 之合成已幾近完成但相關資料尚未齊備，故未能附上，本人之相關研究已投稿在 2006 J. Chem. Soc., Dalton Trans 上即將被刊出。

#### 四、參考文獻

- 
- <sup>1</sup> Moats, R. A.; Fraser, S. E.; Meade, T. J. *Angew. Chem., Int. Ed.* **1997**, *36*, 726-728.
- <sup>2</sup> Lowe, M. P.; Parker, D.; Reany, O.; Aime, S.; Botta, M.; Castellano, G.; Gianolio, E.; Pagliarin, R. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 7601-7609.
- <sup>3</sup> Mark Woods, Garry E. Kiefer, Simon Bott, Aminta Castillo-Muzquiz, Carrie Eshelbrenner, Lydie Michaudet, Kenneth McMillan, Siva D. K. Mudigunda, Doug Ogrin, Gyula Tircso', Shanrong Zhang, Piyu Zhao, and A. Dean Sherry, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 9248-9256
- <sup>4</sup> Guolin Li, Adam S, Mahabeer P. D, Lalit N. G, Andrew, Yihui C, Peter K, Ronald A. A, Joseph S, Janet M, Richard M, Allan O, Zachary G, and Ravindra K. P., *Bioconjugate Chem.* **2005**, *16*, 3242
- <sup>5</sup> Gruetter, R., Rothman, D. L., Novotny, E. J., Shulman, G.I., Prichard, J. W., and Shulman, R. G. *Magn. Reson. Med.* **1992**, *27*, 183-188.
- <sup>6</sup> Seaquist, E. R., Damberg, G. S., Tkac, I., and Gruetter, R. *Diabetes* **2001**, *50*, 2203-2209.
- <sup>7</sup> Lorand, J. P., and Edwards, J. O. *J. Org. Chem.* **1959**, *24*, 769-774.
- <sup>8</sup> Murakami, H., Nagasaki, T., Hamachi, I., and Shinkai, S. *Tetrahedron Lett.* **1993**, *34*, 6273-6276.
- <sup>9</sup> Arimori, S., Takeuchi, M., and Shinkai, S. *Chem. Lett.* **1996**, 77-78.
- <sup>10</sup> Robert Trokowsk, Shanrong Zhang, and A. Dean Sherry, *Bioconjugate Chem.* **2004**, *15*, 1431-1440
- <sup>11</sup> C. Allen Chang, Yuh-Liang Liu, Chang-Yuh Chen, and Xiu-Mei Chou *Inorg. Chem.* **2001**, *40*, 3448 -3455
- <sup>12</sup> T.-Z. Lee, T.-H. Cheng, M.-H. Ou, C.A. Chang, G.-C. Liu, Y.-M. Wang. *Magn. Reson. Chem.*, **2004**, *42*, 329-336.
- <sup>13</sup> C. Allen Chang, Yuh-Liang Liu, Chang-Yuh Chen, and Xiu-Mei Chou *Inorg. Chem.* **2001**, *40*, 3448 -3455
- <sup>14</sup> B.H.Wu, C.A.Chang, *Inorg. Chem. Revised* **2005**.4.25(IC 048544F)
- <sup>15</sup> *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* **1996**, p4379-4387
- <sup>16</sup> *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 4396-4404

- 
- <sup>17</sup> *Inorg. Chem.* **2003**, 42, 7737-7746
- <sup>18</sup> *J. Chem. Soc., Dalton Trans*, **1996**. p 4379-4387
- <sup>19</sup> *ORGANIC LETTERS* **2001**, vol. 3, No. 18, 2855-2858
- <sup>20</sup> *Inorg. Chem.* **1997**, 36, 6366-6373
- <sup>21</sup> *Inorg. Chem.* **1991**, 30, 1265-1269
- <sup>22</sup> *J. Chem. Soc. Dalton Trans*, **1997**. p827-831
- <sup>23</sup> *Inorg. Chem.* **2003**, 42, 7737-7746
- <sup>24</sup> *Inorg. Chem.* **1990**, 29, 4143-4146
- <sup>25</sup> Geraldés, C. F. G. C.; Sherry, A. D.; Marques, M. P. M.; Alpoim, M. C.; Cortes, S. J. *Chem. Soc. Perkin Trans. 2* **1991**, 137-146
- <sup>26</sup> Van der Merwe, M. J.; Boyens, F. C. A.; Hancock, R. D. *Inorg. Chem.* **1985**, 24, 1208
- <sup>27</sup> Geraldés, C. F. G. C.; Alpoim, M. C.; Marques, M. P. M.; Sherry, A. D.; Singh, M. *Inorg. Chem.* **1985**, 24, 3876
- <sup>28</sup> Bevilaqua, A.; Gelb, R. I.; Hebard, W. B.; Zompa, L. J. *Inorg. Chem.* **1987**, 26, 2699
- <sup>29</sup> Cacheris, W. P.; Nickle, S. K.; Sherry, A. D. *Inorg. Chem.* **1987**, 26, 958-960
- <sup>30</sup> Bryden, C. C.; Reilley, C. N. *Anal. Chem.* **1982**, 54, 610