

Et molekyle med to lanthanidioner

Ved at udnytte lanthanidionernes unikke fysiske egenskaber og koordinationskemi er det lykkedes at fremstille et molekyle, der udsender lys med to forskellige bølgelængder. Intensiteten af henholdsvis rødt og grønt lys informerer direkte om mængden af opløst ilt i det solvent, der omgiver molekylet.

Af Anne Kathrine Junker og Thomas Just Sørensen, Nano-Science Center & Kemisk Institut, Københavns Universitet

Ilt er essentielt for liv. Et faktum, der har været kendt, siden grundstoffet blev identificeret. Ilt er ikke kun nødvendigt for, at mennesket kan fungere, for det har vist sig, at niveauet af opløst ilt i celler og væv kan rapportere om alvorlige helbredsproblemer. Kræftkuder vokser fra deres blodforsyning (iskæmi), og resultatet er, at der er stærkt iltfattigt væv selv i små kræftkuder. Iltfattigt væv er også en tidlig indikator, hvis ikke direkte årsag, til hjerteanfald og hjertesygdomme. At kunne bestemme og undersøge effekten af opløst ilt i væv og celler er derfor særdeles vigtigt. Alligevel er iltmangel (hypoksi) og iskæmi og konsekvenserne heraf, ikke fuldstændig kendt. Det skyldes bl.a., at der ikke findes gode kontraststoffer til at bestemme mængden af opløst ilt direkte f.eks. i et mikroskop [1-3].

Derfor arbejder vi mod at udvikle nye molekylære kontraststoffer til undersøgelse af biologisk væv. Her beskriver vi et molekyle, der er udviklet til internt kalibreret optisk bestemmelse af koncentrationen af opløst ilt. Molekylet er designet efter et princip, der vil kunne bruges til at lave kontraststoffer til effektiv bestemmelse af ilt i celler og væv.

Trivalente lanthanidioner har en række interessante egenskaber, hvor især evnen til at udsende lys er meget brugt. Lysstofrør, LED-pærer og internettet (fiberoptisk datatransmission) er alle baseret på lanthanidionernes optiske egenskaber, som også danner grundlag for det diagnostisk vigtige DELFIA® assay.

Stabile lanthanidkomplekser

For at kunne udnytte lanthanidionernes egenskaber i studier, der foregår i opløsning, er det nødvendigt at binde dem i komplekser. Alle trivalente lanthanidioner udviser hurtig udskiftning af ligander, og det er derfor nødvendigt at arbejde med ligander, der danner termodynamisk og yderst kinetisk stabile komplekser [4]. Benyttes denne type ligander, kan lanthanidkomplekserne betragtes som molekylære byggeklodser på lige fod med små organiske

forbindelser. En tilgang til kinetisk stabile komplekser er at bruge 1,4,7,10-tetraazacyclododecane-1,4,7-triacetic acid (DO3A) som ligand. DO3A har et sekundært nitrogenatom, der kan funktionaliseres med en fjerde "arm" i en simpel nukleofil substitutionsreaktion (S_N2). Den fjerde "arm" kan enten bære en funktionel gruppe, således at der kan laves kemi på lanthanidkomplekset, eller "armen" kan indeholde en antenne-kromofor, der gør lanthanidkomplekset kraftigt emitterende.

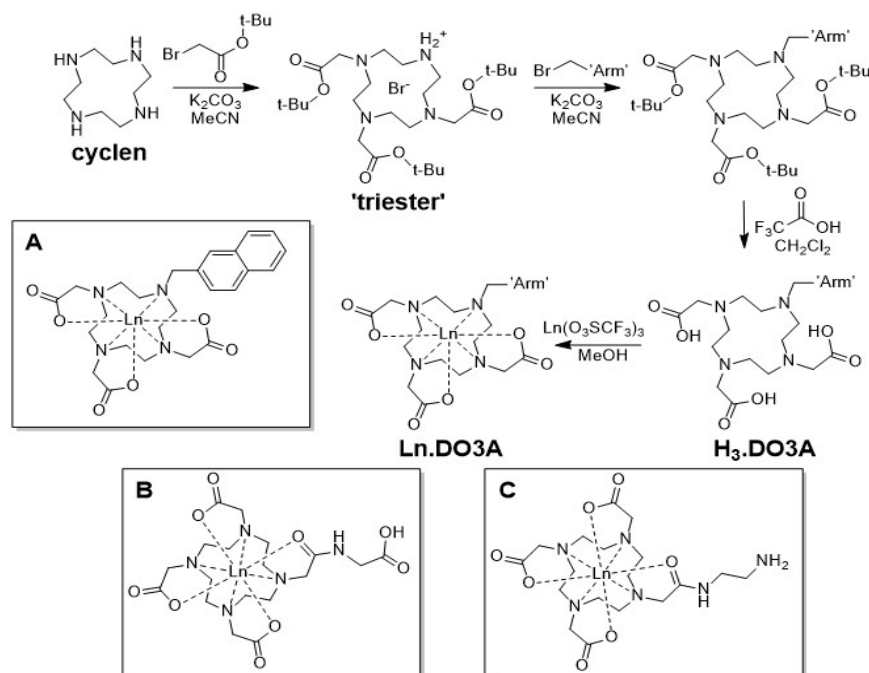
En generel syntesevej til termodynamisk og kinetisk stabile lanthanidkomplekser af DO3A-typen er vist i figur 1. Tre eksempler på molekyler er inkluderet:

A: Et molekyle, der under UV-belysning vil udsende lys med den valgte lanthanidions unikke farve.

B: Et syrefunktionaliseret kompleks til videre syntese.

C: Et aminofunktionaliseret kompleks til videre syntese.

Oprensningen af den beskyttede ligand og afsaltningen af det endelige produkt er de største udfordringer i denne type kemi. ►

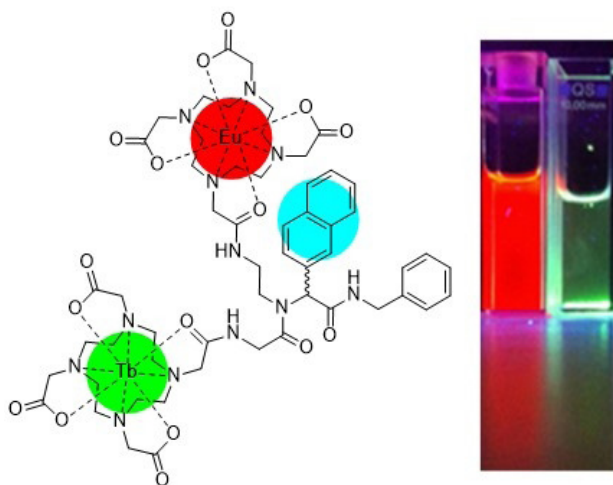


Figur 1. Syntesen af 1,4,7,10-tetraazacyclododecane-1,4,7-triacetic acid (DO3A)-baserede lanthanidkomplekser.

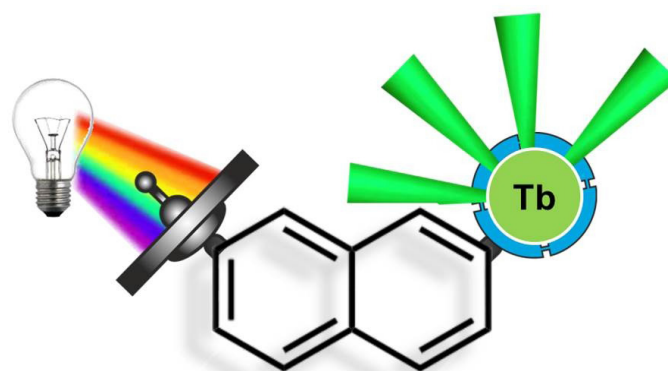
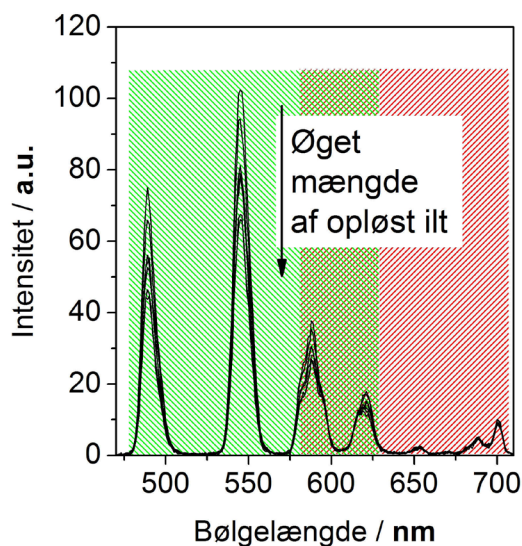
ORGANISK KEMI

Med komplekser som B og C i figur 1 kan der udføres mange typer reaktioner, det er f.eks. muligt at bruge Ugi- og peptidkoblinger. "Click" kemi virker også med lanthanidkomplekserne. Selv de barske reaktionsbetingelser, der skal til for at lave diazotering, har ingen effekt på disse kinetisk stabile lanthanidkomplekser, hvilket retfærdiggør betegnelsen molekulære byggekloster.

Det molekulære system vi har udviklet til optisk bestemmelse af mængden af opløst ilt, indeholder både en europium- og en terbiumion, figur 2, og er syntetiseret i en Ugi-reaktion mellem Tb.B, Eu.C, naftaldehyd og benzylisocyanid [5]. Systemet virker ved, at naftylkromoforen exciteres, og herved fungerer som antenne for de to lanthanidioner, der kan udsende et rødt (Eu) og grønt (Tb) lys, se figur 2.



Figur 2. Det iltresponsive binukleare lanthanidkompleks og emissionsfarverne fra terbium (grøn) og europium (rød). De aktive komponenter i det molekulære system er en naftylkromofor (blå), en Eu.DOTA-monoamid bindingslomme (rød) og en Tb.DOTA-monoamid-bindingslomme (grøn).

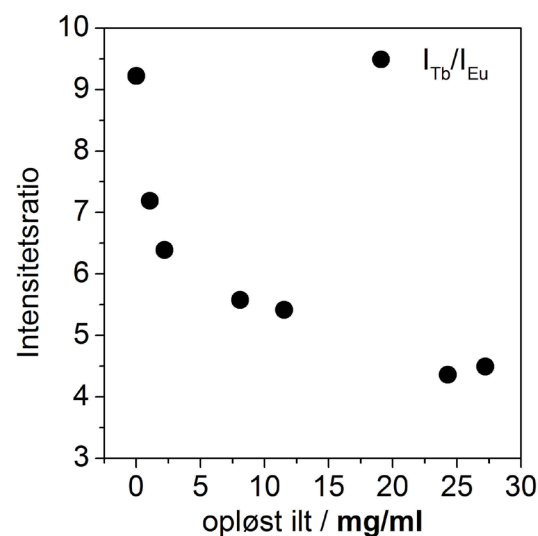


Figur 3. Antenneprincippet i lanthanidbaseret luminescens: For at opnå effektiv lanthanidluminescens skal der være en antennekromofor i den molekulære struktur. Denne absorberer lyset og overfører energien til lanthanidionen, der så frigiver energien i form af lys, her terbium der udsender grønt lys.

Lanthanid-luminescens - antenneprincippet

Fluorescenceteknologi er vigtig i både sundhedsvidenskabelig og naturvidenskabelig forskning. Vi arbejder med fluorescerende [6] og luminescerende [7] molekyler, der kan bruges i forskellige aspekter af fluorescenceteknologien. Lanthanidionerne er her unikke, da den samme molekulære struktur, den samme ligand, kan bruges til alle de trivalente lanthanidioner. Emissionsfarven afhænger alene af hvilket lanthanid, der vælges, mens molekylet udviser stort set de samme kemiske egenskaber med de forskellige lanthanidioner.

Udfordringen ved at lave et kraftigt lysende lanthanidkompleks er, at lanthanidionerne er meget dårlige til at absorbere lys ($\epsilon < 3 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$). Det er derfor nødvendigt at have en kromofor, der kan absorbere lys og videregive lysenergien til lanthanidionen i en Dexter-type energioverførsel. Dette kaldes antenneprincippet i lanthanidbaseret luminescens. Antenneprincippet er illustreret i figur 3. Et effektivt farvestof, der kan absorbere



Figur 4. Mængden af opløst ilt i vand målt med et molekyle med to lanthanidioner, en europium (Eu)-ion og en terbium (Tb)-ion. Til venstre: Ændringen i emissionsspektret af molekylet når iltmængden øges, emissionslinjerne fra terbium og europium kan findes i hhv. det grønne og røde felt.

Til højre: En kalibreringskurve for molekylet, hvor forholdet mellem terbium- og europium-emissionen direkte kan bruges til aflæsning af mængden af opløst ilt.

lys af højere energi end lanthanidionen, bruges som antennen. Efter lysabsorption overføres lysenergien til lanthanidionen, der med høj effektivitet frigiver energien i form af lys. Derved opnås et kraftigt absorberende farvestof og en højeffektiv lys-udsendelse. De vigtigste kriterier for at det virker, er:

- 1) At energien i farvestoffets anslåede tilstand er højere end energien, det kræver at anslå lanthanidionerne og
- 2) at energitransporten mellem farvestof og lanthanid er effektiv.

Et lanthanidbaseret ilt-sensormolekyle

Vælges der en antenne og lanthanidioner således, at energierne passer, er det muligt at lave responsive molekyler, der kan fungere som sensorer for f.eks. pH og ilt. I det molekyle, vi har lavet, figur 2, indgår der to lanthanidioner: Terbium og europium samt en naftyl-antenne-kromofor. Da molekylet udsender lys i to farver, når naftylkromoforen belyses, er systemet internt kalibreret. Lanthanidkomplekset kan også beskrives som en intensitets-ratiometrisk probe for ilt, der udsender rødt og grønt lys. Molekylet er designet, så det grønne lys udsendt fra terbium varierer som funktion af mængden af opløst ilt, mens det røde lys udsendt fra europium er konstant, se figur 4. For de nærmere detaljer i designet og mekanismen, hvormed molekylet med to lanthanidioner opererer, henvises til reference [5].

Fra sensormolekyle til kontraststof i forskning og diagnostik

Det beskrevne molekyle med to lanthanidioner kræver belysning med ultraviolet lys, hvilket ikke er brugbart til analyse

af biologisk væv. Det næste skridt bliver at vælge to lanthanidioner og en antenne-kromofor, der kan belyses og udsende lys i det "biologiske vindue" mellem 650 nm og 950 nm. Det optimale kontraststof adresseres med to-foton belysning af antennen og svarer ved emissionen fra f.eks. europium (725 nm) og neodymium (880 nm). Det er ikke nødvendigvis let at lave dette molekyle, da iltensorffunktionen i molekylet afhænger af en fin balance mellem molekylære geometrier og fotofysiske egenskaber. Når det er sagt, så er vi på vej med den næste generation af molekyler, så studierne af ilt i celler og væv for alvor kan begynde.

E-mail:

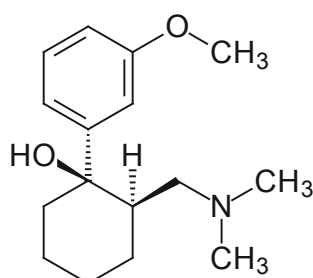
Thomas Just Sørensen: tjs@chem.ku.dk

Referencer

1. Bertout, J.A., S.A. Patel and M.C. Simon, *The impact of O2 availability on human cancer*. Nat Rev Cancer, 2008. **8**(12): p. 967-975.
2. Singhal, A.B., *A review of oxygen therapy in ischemic stroke*. Neurological Research, 2007. **29**(2): p. 173-183.
3. Wilson, W.R. and M.P. Hay, *Targeting hypoxia in cancer therapy*. Nat Rev Cancer, 2011. **11**(6): p. 393-410.
4. Bünzli, J.-C.G., *Lanthanide coordination chemistry: From old concepts to coordination polymers*. Journal of Coordination Chemistry, 2014: p. 1-45.
5. Sørensen, T.J., A.M. Kenwright and S. Faulkner, *Bimetallic lanthanide complexes that display a ratiometric response to oxygen concentrations*. Chemical Science, 2015. **6**(3): p. 2054-2059.
6. Maliwal, B.P., et al., *Long-Lived Bright Red Emitting Azaoxa-Triangulenium Fluorophores*. PLoS ONE, 2013. **8**(5): p. e63043.
7. Faulkner, S. and J.L. Matthews, *Fluorescent Complexes for Biomedical Applications, in Comprehensive Coordination Chemistry*, M.D. Ward, Editor. 2004, Elsevier: Oxford. p. 913-1003.

Nyt om ...

... Naturen producerer
syntetisk lægemiddel



TRAMADOL

Det er jo meget almindeligt, at man syntetiserer et lægemiddel, der oprindeligt er fundet i naturen; men det modsatte er uhyre sjældent. Det smertestillende middel tramadol, der blev bragt på markedet i 1977, er nu isoleret fra den afrikanske plante *Nauciea latifolia*, kendt som afrikansk fersken, som er almindelig udbredt i Central- og Vest-afrika; tramadol udgør 1% af tørstofindholdet i planten. I Cameroun bruges planten mod smerter.

Carl Th.

Occurrence of the Synthetic Analgesic Tramadol in an African Medicinal Plant, *Angewandte Chemie International Edition*, **52**, 2013, side 11780

Intelligent Chemistry

ARTEL PCS

Calibrate your Pipette in less than 5 min

Out-performs other calibration methods in consistency, speed, simplicity, accuracy and precision - even at volumes as low as 0.1 µL

Results traceable to national (NIST) and international standards
Full compliance with 21 CFR Part 11, ISO 8655-7, CLIA, and more
Method conforms to CLSI and the latest ISO standard (8655-7)



Biolab A/S
Sindalsvej 29
DK-8240 Risskov
Telefon 8621 2866
Telefax 8621 2301
E-mail: sales@biolab.dk