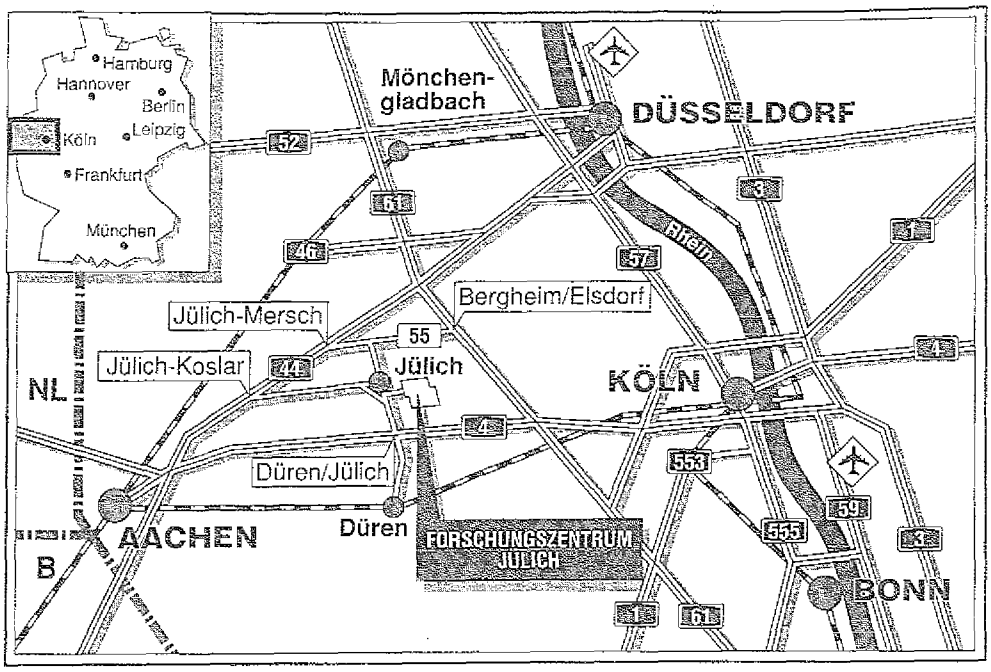
FORSCHUNGSZENTRUM JÜLICH GmbH

Institut für Nuklearchemie

Untersuchungen zur Synthese, Charakterisierung und Bioverteilung von Komplexen des Technetiums ($^{99}Tc/^{99m}Tc$) mit 2-Amino-2-deoxy-D-hexoseoximen

Hans-Jürgen Steinmetz



Berichte des Forschungszentrums Jülich ; 2777
ISSN 0944-2952

Institut für Nuklearchemie Jül-2777
D 82 (Diss. RWTH Aachen)

Zu beziehen durch: Forschungszentrum Jülich GmbH · Zentralbibliothek
Postfach 1913 · D-5170 Jülich · Bundesrepublik Deutschland
Telefon: 02461/61-6102 · Telefax: 02461/61-6103 · Telex: 833556-70 kfa d

Untersuchungen zur Synthese, Charakterisierung und Bioverteilung von Komplexen des Technetiums ($^{99}Tc/^{99m}Tc$) mit 2-Amino-2-deoxy-D-hexoseoximen

Hans-Jürgen Steinmetz

A b s t r a c t

In view of the diverse potential applications of technetium complexes in nuclear medicine diagnostics, it is of interest to produce such complexes which behave similarly to D-hexoses in the organism. According to the current state-of-the-art, it has not yet proved possible to complex technetium in weighable quantities with hexoses or their derivatives and to determine the bio-distribution of the characteristic complexes in the organism.

In the present work, the synthesis and isolation of isomeric complexes of technetium ($^{99}Tc/^{99m}Tc$) with the 2-amino-2-deoxy-D-hexoses D-glucose aminoxime, D-galactose aminoxime and D-mannose aminoxime, the characterization of the complexes as ^{99}Tc compounds, and bio-distribution studies on the analogous ^{99m}Tc complexes have been undertaken. As a first step, the free ligands were synthesized and identified using elemental analysis, infra-red and nuclear magnetic resonance spectroscopy and FAB mass spectroscopy.

The ^{99}Tc complexes were produced by reduction of ammonium pertechnetate using sodium dithionite in a neutral aqueous solution of the 2-amino-2-deoxy-D-hexose oxime. Finally the reaction products were purified using ion exchange, solvent extraction and precipitation. As end product, a light brown powder was obtained which was stable in air. The purity of the powder was investigated using high-performance liquid chromatography (HPLC).

Because a successful HPLC separation of transition metal complexes with carbohydrates or their derivatives has not been described up to now, an HPLC technique was developed to analyse and separate the technetium complexes under investigation. The separation system used silica gel as stationary phase with chemically bound *vic*-hydroxyl groups combined with an acetone-water mixture as eluant.

The isomeric ^{99}Tc complexes selected by analogy considerations based on the chromatograms could be separated using HPLC. These complexes are to the author's knowledge the first carbohydrate-containing, water stable technetium complexes that have been investigated in pure form. The brown, X-ray amorphous substances were shown by electrophoretic investigations to be cationic and based on their solubility behaviour extremely hydrophylic.

The composition of the ^{99}Tc complexes was determined using C, H and N elemental analysis, anion chromatography and β^- scintillation measurements. In addition, the complexes were examined by IR/UV/VIS spectroscopy, $^{1}H/^{13}C$ nuclear resonance spectroscopy and FAB or FD mass spectroscopy. The analytical data indicated that the complexes each contained, as single nucleus compounds, three ligands coordinated by the 2-amino-1-oxime group, which were connected to each other by two intramolecular hydrogen bridges. The Tc central atom was probably in the +3 oxidation state.

In the bio-distribution studies on the ^{99m}Tc complexes of D-glucose aminoxime and of D-galactose aminoxime in NMRI mice, significant short-term accumulation of ^{99m}Tc activity in heart muscle could be detected, which may be attributed to a biochemical transport mechanism. Uptake in the lungs and the liver was found, but a more significant uptake was observed in the kidneys, where the complexes were rapidly secreted in proportion to their concentration in the blood plasma.

Zusammenfassung

Im Hinblick auf vielseitige Anwendungsmöglichkeiten in der nuklearmedizinischen Diagnostik ist es von besonderem Interesse, Technetium-Komplexe herzustellen, die sich im Organismus ähnlich den D-Hexosen verhalten. Nach dem bisherigen Stand der Forschung ist es jedoch noch nicht gelungen, Technetium eindeutig in wägbaren Mengen mit Hexosen oder deren Derivaten zu komplexieren und die Bioverteilung der charakterisierten Komplexe im Organismus festzustellen.

Die vorliegende Arbeit behandelt die Synthese und Isolierung isomerer Komplexe des Technetiums ($^{99}Tc/^{99m}Tc$) mit den 2-Amino-2-deoxy-D-hexosoximen D-Glucosaminoxim, D-Galactosaminoxim und D-Mannosaminoxim, ihre Charakterisierung als ^{99}Tc-Verbindungen sowie Bioverteilungsstudien an den analogen ^{99m}Tc-Komplexen. Dazu wurden zunächst die freien Liganden synthetisiert und mittels Elementaranalyse, IR/NMR-Spektroskopie sowie FAB-Massenspektroskopie identifiziert.

Die ^{99}Tc-Komplexe wurden durch Reduktion von Ammoniumpertechnetat mit Natriumdithionit in einer neutralen wässrigen Lösung des jeweiligen 2-Amino-2-deoxy-D-hexoseoxims hergestellt. Anschließend wurden die Reaktionsprodukte unter Einsatz von Ionenaustausch-, Festphasenextraktions- und Fällungsmethoden gereinigt. Danach lagen hellbraune, luftstabile Pulver vor, deren Reinheit mittels Hochleistungs-Flüssigkeits-Chromatographie (HPLC) untersucht wurde.

Da eine erfolgreiche präparative HPLC-Trennung von Übergangsmetall-Komplexen mit Kohlenhydraten oder Kohlenhydratderivaten bisher noch nicht beschrieben ist, wurde ein HPLC-Modus zur Analyse und präparativen Abtrennung der zu bearbeitenden Technetium-Komplexe entwickelt. Das Trennsystem verwendet als stationäre Phase Silicagel mit chemisch gebunden *vic*-Hydroxygruppen in Verbindung mit einem Acetonitril/Wasser-Gemisch als Eluent.

Die durch Analogieüberlegungen anhand der Chromatogramme ausgewählten isomeren ^{99}Tc-Komplexe konnten mittels präparativer HPLC separiert werden. Sie sind nach unserem Kenntnisstand die ersten in Lösung stabilen kohlenhydrathaltigen Technetium-Komplexe, die in reiner Form untersucht werden konnten. Die braunen, röntgenamorphen Substanzen erwiesen sich nach elektrophoretischen Untersuchungen als kationisch sowie aufgrund ihres Lösungsverhaltens als äußerst hydrophil.

Die Zusammensetzung der ^{99}Tc-Komplexe wurde durch C,H,N-Elementaranalyse, Anionenchromatographie und β^--Scintillationsmessungen des ^{99}Tc bestimmt. Weiterhin wurden sie mittels IR/UV/VIS-Spektroskopie, ^{1}H/^{13}C-Kernresonanzspektroskopie sowie FAB- oder FD-Massenspektrometrie untersucht. Die analytischen Daten lassen erwarten, daß die Komplexe als einkernige Verbindungen jeweils drei über die 2-Amino-1-oxim-Gruppe koordinierte Liganden enthalten, welche über zwei intramolekulare Wasserstoffbrückenbindungen untereinander verbunden sind. Wahrscheinlich liegt das Tc-Zentralatom in der Oxidationsstufe +3 vor.

Bei Bioverteilungsstudien mit den ^{99m}Tc-Komplexen des D-Glucosaminoxims und des D-Galactosaminoxims in NMRI-Mäusen konnten kurzzeitig bemerkenswerte Anreicherungen

der ^{99m}Tc-Aktivitäten im Herzmuskel registriert werden, welche auf einen biochemischen Transportmechanismus schließen lassen. Außer in Lunge und Leber, reicherten sich die Komplexe insbesondere in den Nieren an, über die sie proportional zu ihrer Konzentration im Blutplasma rasch ausgeschieden wurden.

INHALTSVERZEICHNIS

A. Einführung

1. Technetium und Tc-99m-Radiopharmaka

Technetium ($_{43}Tc$) ist das leichteste Radioelement. Im Periodensystem der Elemente steht es als Metall der zweiten Übergangsreihe in der siebten Nebengruppe zwischen Mangan und Rhenium. Bis heute kennt man 21 Technetium-Isotope der Massenzahlen 90-110 sowie zahlreiche Kernisomere, deren Halbwertszeiten zwischen ≈ 0,8 Sekunden (^{110}Tc) und $4{,}2 \cdot 10^6$ Jahren (^{98}Tc) liegen [1]. Die Nuklide der Massenzahl 97 und darunter reduzieren ihren Protonenüberschuß durch Elektroneneinfang oder Positronenemission, oberhalb der Massenzahl 97 erfolgt β^--Zerfall in stabile Ruthenium-Isotope. Stabile Technetium-Kerne kann es unter Berücksichtigung der Mattauchschen Isobarensätze nicht geben [1]. Ein primordiales Vorkommen von Technetium ist in Anbetracht des Erdalters von $4{,}5 \cdot 10^9$ Jahren ausgeschlossen.

Aufgrund der Lanthanoidenkontraktion gleicht das chemische Verhalten von Technetium sehr stark dem des höheren Homologen Rhenium und unterscheidet sich deutlich vom Mangan. So neigt Technetium zur Bildung von Verbindungen mit höheren Koordinationszahlen und zeigt eine größere Beständigkeit in der höchsten Oxidationsstufe Tc^{VII}. In Komplexen kann es die formalen Oxidationsstufen -1 bis +7 besitzen.

Die Lösungschemie des Technetiums wird durch anionische Oxokomplexe dominiert, wobei das farblose Pertechnetat(VII) (TcO_4^-) die stabilste Ionenform darstellt. Im sauren Medium bildet sich die flüchtige Pertechnetium-Säure. Aquotisierte Tc-Kationen sind im Unterschied zum Mangen unbekannt. Eine sehr charakteristische Verbindung des Tc^{IV} ist das stabile schwarze

Dioxid TcO_2 bzw. sein in wässrigem Medium vorliegendes Hydrat. TcO_2 entsteht leicht bei der Reduktion der höheren Oxidationsstufen, der Disproportionierung von Tc^{V}- und Tc^{VI}-Komplexen oder der Hydrolyse von Tc^{IV}-Verbindungen.

Technetium war das erste künstlich durch Kernreaktionen erzeugte , bis dahin unbekannte Element [2-3]. 1937 konnten PERRIER und SEGRE unwägbare Mengen der metastabilen Kernisomeren ^{95m}Tc und ^{97m}Tc nachweisen, die in einer Molybdänprobe beim monatelangen Beschuß mit einem starken Deuteronenstrahl durch d,n-Reaktionen entstanden waren. Dennoch ist Technetium im streng wissenschaftlichen Sinne kein ausschließlich künstliches Element. Sehr geringe Mengen ^{99}Tc konnten später als Produkt der Spontanspaltung von natürlichem Uran in Pechblenden, Columbit sowie in Molybdän-Mineralien nachgewiesen werden [4-5]. ^{99}Tc ist ein schwacher β^--Strahler ($E_{max.}$= 0,29 MeV, A_s= 17 μCi/mg), der mit einer Halbwertszeit von $2{,}14 \cdot 10^5$ Jahren in das stabile ^{99}Ru zerfällt [6].

^{99}Tc entsteht auch als eines der häufigsten Spaltprodukte bei der neutroneninduzierten Spaltung von Uran, Plutonium oder Thorium in Kernreaktoren. Die Spaltung von ^{235}U oder ^{239}Pu durch thermische Neutronen liefert ^{99}Tc mit relativ hohen Spaltausbeuten um 6 % [4]. Kernreaktoren produzieren so täglich etwa 2,5 g ^{99}Tc pro 100 MW_{th} Leistung. Die ebenfalls in nennenswerten Spaltausbeuten gebildeten Isotope ^{101}Tc bis ^{107}Tc [7] sind dagegen sehr kurzlebig. Ihre Halbwertszeit liegt maximal im Minutenbereich. Nach der Wiederaufarbeitung abgebrannter Brennelemente durch den PUREX-Prozeß verteilt sich ^{99}Tc in gelöster Form auf verschiedene Abfalllösungen, wobei der überwiegende Teil zusammen mit den hochaktiven Spaltprodukten anfällt. Aus diesen Lösungen läßt es sich durch

Lösungsmittelextraktion isolieren [3)8-10)]. Dies geschieht weltweit jedoch nur in wenigen Spezialanlagen.

Aufgrund seiner langen Halbwertszeit verhält sich ^{99}Tc chemisch wie ein stabiles Element. Metallisches Technetium und Technetium-Verbindungen mit geringem Dampfdruck lassen sich in kleinen Mengen (< 50 mg ^{99}Tc) in Laborabzügen unter Beachtung entsprechender Schutzvorschriften und Umgangsregeln gefahrlos offen handhaben [6)]. Der technischen Anwendung des ^{99}Tc und seiner Verbindungen stehen die mit der inhärenten Radioaktivität verbundenen Probleme jedoch entgegen. In begrenztem Umfang wird ^{99}Tc nur in der Radiometrie, der Materialforschung oder als Legierungsbestandteil im militärischen Bereich benutzt 8)10). Dagegen besitzt das kurzlebige Kernisomere ^{99m}Tc aufgrund optimaler nuklearer Eigenschaften große und weiterhin steigende Bedeutung für die Nuklearmedizin, wo [^{99m}Tc] Pertechnetat oder ^{99m}Tc-Komplexverbindungen bevorzugt für diagnostische Zwecke eingesetzt werden.

^{99m}Tc entsteht als Tochternuklid beim β^--Zerfall des instabilen ^{99}Mo ($t_{1/2}$= 66,02 h) und geht mit einer Halbwertszeit von 6,0 h unter Aussendung von Gammastrahlung der Energie 140,47 keV (87,2%) in den Grundzustand ^{99}Tc über [11)]. Abbildung 1 zeigt das zugehörige Zerfallsschema [12-13)]. Die als ^{99m}Tc-Tracer oder ^{99m}Tc-Radiopharmaka (= Radiodiagnostika) bezeichneten Substanzen verteilen sich nach Applikation im Organismus entsprechend ihrer Molekülstruktur und sonstigen chemischen oder physikochemischen Eigenschaften in spezifischer Weise. Durch Messung der Aktivitätsverteilung außerhalb des Organismus läßt sich ihre Organverteilung erkennen und bewerten. Die niederenergetische Gamma-Strahlung der isomeren Umwandlung des ^{99m}Tc ist dabei günstig detektierbar und ermöglicht ausgezeichnete szintigraphische Aufnahmen bei geringer Strahlenbelastung des Patienten. Zwei besonders wich-

tige Anwendungsgebiete von ^{99m}Tc-Radiopharmaka sind Untersuchungen an Herzmuskel und Gehirn.

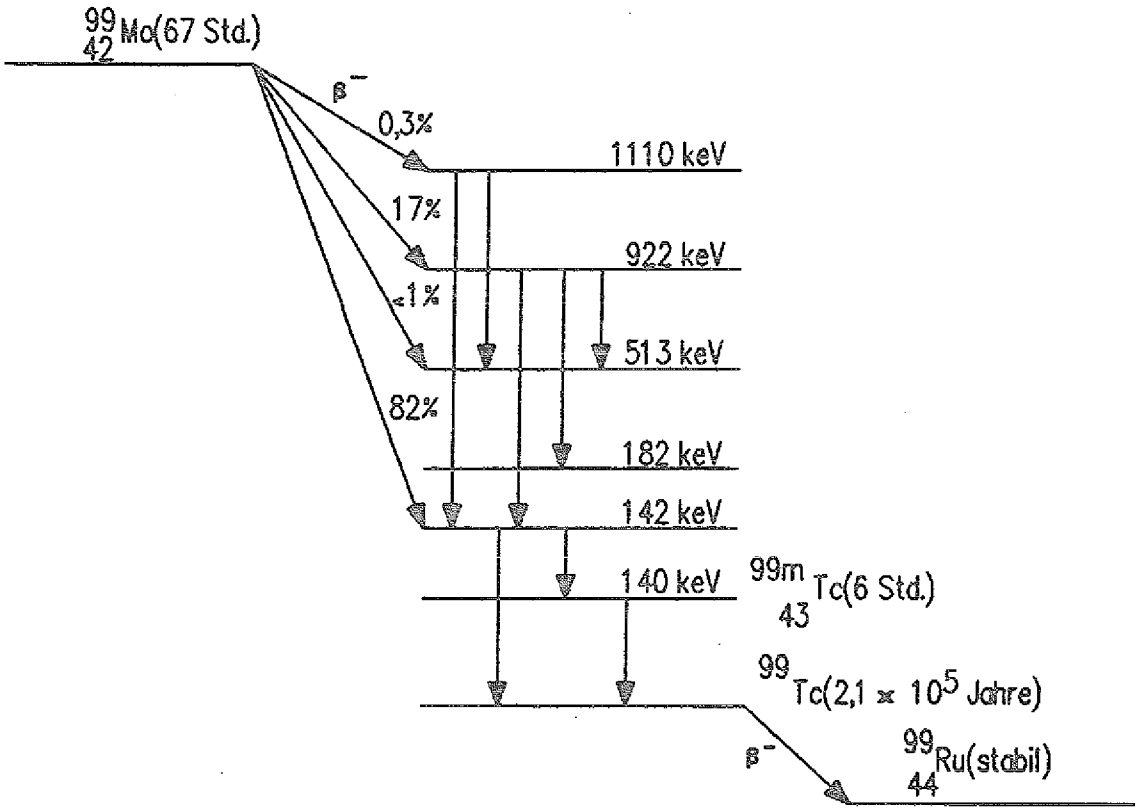


Abb. 1 Darstellung und Zerfall von ^{99m}Tc und ^{99}Tc (Der 2 keV-Übergang vom 142 keV- zum 140 keV-Zustand des ^{99m}Tc ist vollständig konvertiert.)

Zum Erfolg der ^{99m}Tc-Radiopharmaka hat wesentlich beigetragen, daß [^{99m}Tc]Pertechnetat über kommerziell vertriebene ^{99}Mo/^{99m}Tc-Generatoren leicht zugänglich ist, wodurch seine Anwendung als Radiopharmakon oder Verwendung als Ausgangssubstanz für Radiopharmaka-Synthesen von Erzeugungs- und Transportproblemen unabhängig ist [13-14]. ^{99}Mo/^{99m}Tc-Generatoren enthalten abgeschirmte Aluminiumoxid-Säulen, die mit $^{99}MoO_4^-$ be-

schickt sind. Dieses wird unter sauren und neutralen Bedingungen fest gebunden, wohingegen das durch den β^--Zerfall entstehende $^{99m}TcO_4^-$ mit physiologischer Kochsalzlösung quantitativ von der Generatorsäule eluiert werden kann. Moderne Radionuklidgeneratoren benutzen dazu Elutionstechniken, die das Eluat ohne offene Handhabung liefern. Chromatographische Systeme dieser Art bezeichnet man auch als "Melksysteme" oder "Generator-" bzw. "Technetium-Kühe". Sie sind so ausgelegt, daß man das nachgebildete $^{99m}TcO_4^-$ über einen Zeitraum bis zu zwei Wochen nach Beladung mit $^{99}MoO_4^-$ etwa ein- bis zweimal täglich eluieren kann. Applikationsfertige ^{99m}Tc-Komplexlösungen können nach Entnahme des Eluats an Ort und Stelle mit Hilfe von Markierungsbestecken oder -einheiten (engl. Kits) hergestellt werden [13]. Darunter versteht man kleine Reaktionsgefäße mit speziell entwickelten inaktiven Reagenzmischungen, die die Synthese des Radiopharmakons nach der Methode der Komplexbildung durch Redoxreaktion durch einfaches Schütteln mit dem Generatoreluat ermöglichen. Die heute fast ausschließlich verwendeten Einkomponentenkits enthalten im allgemeinen feste Mischungen der Komplexbildner und ein Reduktionsmittel, wobei die Ligandsubstanz in großem Überschuß vorliegt. Die Gemische sind außerdem meist gefriergetrocknet und befinden sich unter Schutzgas.

2. Thematik und Aufgabenstellung

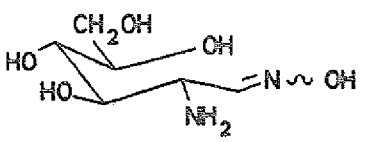
Bisher konzentrierten sich die Arbeiten zur Entwicklung neuer ^{99m}Tc-Radiopharmaka weitgehend auf Komplexe mit synthetischen Liganden, deren Struktur Biomolekülen

nicht oder nur wenig nahe kam [15-19]. Diese klassischen Tc-Radiopharmaka sind jedoch fast ausnahmslos metabolisch inaktiv und werden in der Regel nicht über körpereigene Transportmechanismen angereichert. Zunehmend gewinnen daher Biomoleküle selbst oder sogenannte bifunktionelle Verbindungen als Liganden an Bedeutung. In bifunktionellen Liganden sind an eine komplexierende, nicht dem Biomolekül eigene (ein- oder mehrzähnige) Einheit Biomoleküle oder biologisch relevate Teilstrukturen gebunden. Dieses Konzept wurde bisher besonders anhand fettsäurehaltiger Liganden untersucht [19].

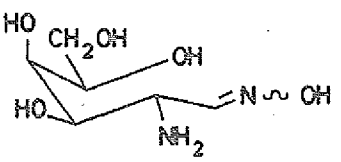
Im Hinblick auf zahlreiche Anwendungsmöglichkeiten in der nuklearmedizinischen Diagnostik ist es von hohem Interesse, einen Technetium-Komplex herzustellen, der sich im Organismus ähnlich der D-Glucose (Dextrose, Traubenzucker) verhält. Nach dem bisherigen Stand der Literatur ist es jedoch noch nicht gelungen, Technetium sowohl in wägbaren Mengen mit Glucose oder einem Glucose-Derivat hydrolysestabil zu komplexieren als auch die Bioverteilung des Zucker-Komplexes festzustellen.

Diese Dissertation soll einen Beitrag zur Koordinations- und bioanorganischen Chemie von kohlenhydrathaltigen Technetium-Komplexen leisten. Da unter den wenigen bisher in vivo untersuchten monosaccharidhaltigen ^{99m}Tc-Radiopharmaka lediglich ^{99m}Tc-Komplexe mit offenkettigen Aldonsäuren oder dem offenkettigen Glucoson(bisthiosemicarbazon) (GBT) ein partiell "glucoseähnliches" Anreicherungsverhalten zeigten (s. Kapitel B.2), erschien es interessant, unsere früheren Arbeiten zu ^{99}Tc/^{99m}Tc-Komplexen mit aliphatischen *vic*-Dioximen auf Komplexe mit offenkettigen 2-Amino-1-oximzuckern auszudehnen. 2-Amino-1-oxime bilden mit Technetium thermodynamisch besonders stabile Komplexe (s. Kapitel C.2).

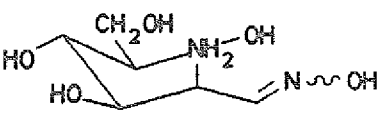
Spezielle Ziele der vorliegenden Arbeit waren die Synthesen, Isolierungen und Charakterisierungen isomerer ^{99}Tc-Komplexe mit den 2-Amino-2-deoxy-D-hexoseoximen D-Glucosaminoxim (D-GluAO) (1), D-Galactosaminoxim (D-GalAO) (2) und D-Mannosaminoxim (D-ManAO) (3). Diese Ligandverbindungen tragen an der 2-Amino-1-oxim-Einheit entweder einen D-*lyxo*-Rest (D-GalAO) oder D-*arabino*-Reste (D-GluAO, D-ManAO). Die entsprechenden ^{99m}Tc-Komplexe sollten ebenfalls synthetisiert, ihre Bioverteilungen in Mäusen ermittelt und im Hinblick auf Isomerie-Effekte studiert werden.



(1)



(2)



(3)

Da in der Literatur auch noch keine zusammenfassende oder vergleichende Darstellung zur Koordinations- und bioanorganischen Chemie von ^{99}Tc/^{99m}Tc-Komplexen mit kohlenhydrathaltigen Liganden existiert, erschien es im Hinblick auf die Interpretation der eigenen Ergebnisse ebenfalls sinnvoll, diesbezüglich eine umfassende Übersicht zu erarbeiten.

B. Allgemeiner theoretischer Teil

Bisher gibt es erst wenige Ansätze zu Technetium-Komplexen mit Kohlenhydraten oder Kohlenhydratderivaten als Liganden, wobei die zu dieser Komplexklasse erschienenen Publikationen überwiegend die Bioverteilung von ^{99m}Tc-Präparaten behandeln. Die Zusammensetzung dieser Präparate, die Struktur und Chemie der betreffenden Komplexe und damit auch die Ursachen für das Verhalten der ^{99m}Tc-Komplexe im Organismus sind aber noch weitgehend unbekannt.

Biochemische und molekularbiologische Erkenntnisse sind bei der Auswahl der bisher verwendeten Liganden sowie bei der Diskussion der Bioverteilung ihrer ^{99m}Tc-Komplexe kaum berücksichtigt worden. Oft werden "bifunktionelle Glucosederivate" fälschlich auch als Glucoseanaloge oder biologisch der Glucose gleichwertige Verbindungen angesehen. Daher soll der derzeitige Kenntnissstand zum Transport und Metabolismus von D-Glucose im Organismus zunächst kurz umrissen und diskutiert werden.

1. Biochemische und molekularbiologische Aspekte des D-Glucose-transports und D-Glucosestoffwechsels im Organismus

D-Glucose (Traubenzucker, Dextrose) gehört zu den Hauptnährstoffen des menschlichen Organismus. Die meisten Organe gewinnen die zur Deckung ihres Grundumsatzes und/oder für die Bildung von Energiespeichern benötigte Energie überwiegend durch Abbau von D-Glucose. Beim ruhenden Menschen entfallen

etwa sechzig Prozent des gesamten Glucoseumsatzes auf das Gehirn, das unter Normalbedingungen nicht in der Lage ist, andere Verbindungen zur Energiegewinnung zu nutzen. Lediglich im Laufe von Hungerperioden kann es sich an die Verwertung von Ketonkörpern (Acetoacetat und ß-Hydroxybutyrat) adaptieren. Der Herzmuskel bezieht seine Energie aus einer Mischung von D-Glucose, freien Fettsäuren, Lactat und Ketonkörpern [20-21]. Diese Substrate verwertet er je nach Nährstoffangebot, Belastung und Lage des Gesamtstoffwechsels. Im Normalfall werden zwar freie Fettsäuren als Energielieferanten bevorzugt, dennoch deckt der Herzmuskel beim körperlich unbelasteten Menschen auch einige Stunden nach Nahrungsaufnahme noch etwa dreißig Prozent seines Energiebedarfs durch den Abbau von D-Glucose [20-21]. Bei körperlicher Belastung kann dieser Betrag kurzzeitig auf über achtzig Prozent ansteigen, wird aber dann längerfristig zugunsten der überwiegenden Verwertung von Lactat wieder gesenkt [20]. Nach einer kohlenhydratreichen Mahlzeit kann D-Glucose insulin-induziert (s.u.) auch zum Hauptenergiesubstrat des Herzmuskel werden [21].

Das freie D-Glucosemolekül nimmt jedoch an keinem wesentlichen Stoffwechselvorgang direkt teil. Bevor D-Glucose in der Zelle abgebaut oder für Synthesen verwendet werden kann, muß sie stets zu D-Glucose-6-phosphat phosphoryliert (verestert) werden. Dies geschieht durch Transfer einer Phosphatgruppe des biochemischen Energieüberträgers Adenosin-5'-triphosphat (ATP) zur C^6-Hydroxylgruppe der D-Glucose mittels des Enzyms Hexokinase. Die Hexokinase ist relativ unspezifisch und kann außer D-Glucose noch einige andere Zucker phosphorylieren. Speziell in der Leber findet sich neben der Hexokinase noch ein weiteres Enzym (Glucokinase), das die gleiche Reaktion katalysiert. Die Phosphorylierung der D-Glucose verläuft stark exer-

gonisch und ist für den Glucosestoffwechsel richtungsgebend [20)22)].

Freie Glucose ist jedoch die wichtigste Transportform für Kohlenhydrate im Organismus. Biologische Membranen sind für das hydrophile und relativ große Molekül allerdings praktisch impermeabel. Daher besitzen die meisten Zellen spezielle Membran-Transportproteine (Carrier), die Glucose erkennen und ein- oder ausschleusen können. Glucose-6-phosphat wird dagegen nicht transportiert, so daß die Glucose mit der Phosphorylierung auch intrazellulär "fixiert" wird.

Im Muskelgewebe und Zentralnervensystem sowie in Leber, Fettgewebe und Erythrocyten erfolgt der *carriervermittelte Glucosetransport* (engl. *carrier-mediated transport*) "passiv", d.h. ohne Verbrauch von Stoffwechselenergie, entlang eines Konzentrationsgradienten vom Blut zum Cytoplasma bzw. über die Blut/Hirn-Schranke in die Extracellularflüssigkeit des Gehirns [23-24)]. Diese Art des Transportes wird aus historischen Gründen oft auch als *erleichterte Diffusion* (engl. *facilitated diffusion*) bezeichnet. Im Vergleich zur einfachen Diffusion ist die Anfangsgeschwindigkeit bei der *erleichterten Diffusion* jedoch sehr viel höher. Die *erleichterte Diffusion* erfüllt auch nicht mehr die Fickschen Diffusionsgesetze, sondern folgt einer *Sättigungskinetik*. Dabei nähert sich die Transportrate über die Zellmembran mit steigender Konzentration der D-Glucose (entsprechend zunehmender Belegung der Bindungsstellen an den Carrierproteinen) einem asymptotischen Wert.

Formal lassen sich carriervermittelte Transportprozesse völlig analog dem *Michaelis-Menthen-Konzept*, der Wechselwirkung zwischen Enzymen und Substraten, behandeln. Aus der experimentell ermittelten maximalen Transportgeschwindigkeit kann eine für das jeweils transportierte Substrat charakteristische Affinitäts-

konstante K_m bestimmt werden. Diese entspricht der Konzentration des Substrats, bei der die halbmaxiale Transportgeschwindigkeit erreicht ist. Das Zuckertransportsystem der menschlichen Erythrocytenmembran hat einen K_m-Wert für D-Glucose von 4-10 $mmol \cdot l^{-1}$, D-Mannose von 13-14 $mmol \cdot l^{-1}$, D-Galactose von 21-61 $mol \cdot l^{-1}$ sowie L-Glucose und L-Galactose > 3000 $mmol \cdot l^{-1}$ [25], d.h. es ist spezifisch für D-Hexosen und hochspezifisch für D-Glucose (Blutglucose-Konzentration ≈ 5 $mmol \cdot l^{-1}$ [26]). Für physiologisch wichtige Zucker, deren Affinitätskonstante zum D-Glucosecarrier zu hoch ist (z.B. D-Fructose K_m = 2000 $mmol \cdot l^{-1}$) [25] existieren andere spezifische Carrier.

Der carriervermittelte Glucosetransport wird im Fett- und Muskelgewebe durch das Hormon Insulin stimuliert bzw. im Hinblick auf eine für die Versorgung und Funktion des Gehirns notwendige konstante Blutglucose-Konzentration reguliert [27]. Unter dem Einfluß von Insulin bauen Fett- oder Muskelzellen vermehrt Transportproteine, die sie in einem intracellulären Pool in Reserve halten, in ihre Plasmamembran ein. Der molekulare Mechanismus dieses reversiblen Prozesses (*Exocytose/Endocytose*) ist noch ungeklärt. Neueren Untersuchungen zufolge erhöht Insulin auf eine ebenfalls noch nicht bekannte Weise auch die Aktivität der individuellen Carrier. Ob Insulin in beschränktem Umfang auch die Aufnahme von Glucose in Hirnzellen beeinflußen kann, wird noch kontrovers diskutiert [28].

Aufgrund der Ergebnisse kinetischer Experimente, der neueren Erkenntnisse über Zusammensetzung und Struktur von Zellmembranen sowie thermodynamischer Überlegungen gilt heute als gesichert, daß die D-Glucose-Carrier oligomere stationäre Transmembranproteine sind 29-30). Vereinfacht dargestellt kommt der Transport der D-Glucose über einen oszillierenden Konformationswechsel des Transportproteins zustande, wobei sich D-

Glucoserezeptoren von einer Membranseite zur anderen hin verlagern. Wahrscheinlich öffnet sich kurzzeitig ein innerer Tunnel durch eine Zellmembran. Anschließend löst sich das Glucosemolekül, diffundiert vom Carrier weg und dieser kehrt in die Ausgangsposition zurück. Damit wirken die D-Glucose-Carrier wie molekulare Schleusen oder molekulare peristaltische Pumpen.

Die Ergebnisse einer Vielzahl kinetischer Experimente, die mit Glucosederivaten, anderen Kohlenhydraten oder Polyhydroxyverbindungen an Erythrocytenmembranen durchgeführt wurden [26)31-33)] sowie Studien zur Organverteilung radioaktiv markierter Zucker [34-35)] haben gezeigt, daß die D-Glucose-Carrier außer D-Glucose nur sehr wenige Verbindungen als Transportsubstrate akzeptieren. Für eine maximale Aktivität muß der transportierte Zucker eine Hexose mit mehreren in äquatorialer Position liegenden Hydroxy-Gruppen sein. So liegt D-Glucose in der C^{2-5}-äquatorial substituierten (α-D-Glucose) oder all-äquatorial substituierten (ß-D-Glucose) $^4C_1$-Konformation vor, wohingegen α- und ß-L-Glucose die $^1C_4$-Konformation mit axialen Hydroxyl-Gruppen einnehmen und nicht transportiert werden (Abbildung 2). An der Außenseite der Zellmembran werden wahrscheinlich schwache Wasserstoffbrücken-Bindungen zu C^1-OH, C^3-OH und C^4-OH-Gruppen der D-Glucose getätigt, an der Membraninnenseite liegt die C_1-OH-Gruppe entsprechend der Modellvorstellung frei. Da C^6-O-Alkyl-Ether der D-Galactose niedrigere Affinitätskonstanten zum Glucosecarrier als D-Galactose besitzen, wurde gefolgert, daß der Carrier auch eine lipophile Region besitzt 31).

Inwieweit und unter welchen Voraussetzungen offenkettige Formen von Kohlenhydraten, Kohlenhydratderivaten oder Polyhydroxyverbindungen transportiert werden, wurde bisher noch nicht eingehend untersucht. Viele nicht transportierte Zucker und Polyhydroxy-

verbindungen binden jedoch oft fest an den Rezeptor des Glucose-Transportproteins. Dies gilt insbesondere für Trihydroxyacetophenon und seine Derivate, die wirksame Inhibitoren des Transmembrantransports von D-Glucose sind.

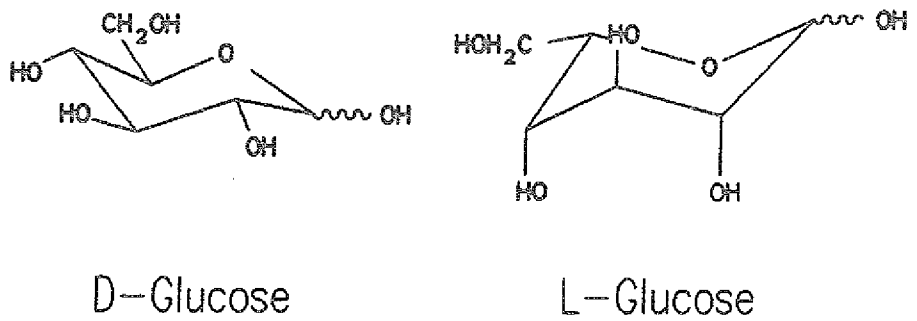


Abb. 2 $^4C_1$- und $^1C_4$-Konformation von D- und L-Glucose.

2. Bisherige Ansätze zu kohlenhydrathaltigen Technetium (Tc-99/Tc-99m)-Komplexen

2.1 Technetium-Komplexe mit nicht funktionalisierten Monosacchariden, Saccharose oder Zuckeralkoholen als Liganden

Kohlenhydrate können Metallionen über die Hydroxylgruppen komplexieren, wobei nach dem bisherigen Kenntnisstand ausschließlich Chelatkomplexe gebildet werden. Im Falle der bei Pentosen und Hexosen in Lösung

thermodynamisch bevorzugten cyclischen Halbacetale (Furanose- und Pyranose-Formen) ist die Fähigkeit zur Komplexbildung daher von der Konformation abhängig. Furanosen und Pyranosen können als zweizähnige Liganden komplexieren, wenn im jeweiligen Molekül mindestens zwei benachbarte Hydroxygruppen in *cis*-Konformation vorliegen. Pyranosen mit drei in einer *axial-equatorial-axial* Abfolge angeordneten Hydroxygruppen vermögen außerdem als dreizähnige Liganden zu koordinieren (Abbildung 3) [36)-38)].

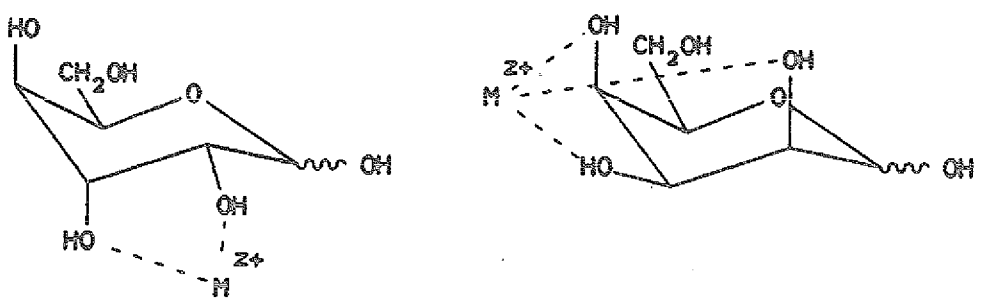


Abb. 3 Koordination von Zuckern an Metallionen

Nach dem von PEARSON (1963) entwickelten HSAB (Hard and Soft Acids and Bases)-Konzept sind die Sauerstoffatome von Hydroxygruppen oder deprotonierten Hydroxygruppen harte Basen und binden als solche bevorzugt an harte Säuren, z.B. kleine Kationen mit wenig deformierbaren Elektronensystemen. Auch Übergangsmetallionen mit unvollständig besetzter oder halbbesetzter d-Schale gehören zu den harten Säuren. Kristallstrukturanalysen sind aus der Literatur bisher nur von Calcium-Kohlenhydrat-

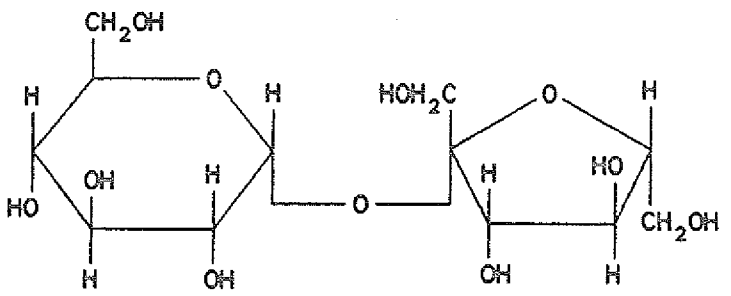
Komplexen bekannt. Mit Fe^{3+} (Elektronenkonfiguration $[Ar]3d^5$) sind amorphe polymere Zuckerkomplexe isoliert worden [39-41].

Technetium nimmt in seinen mittleren Oxidationsstufen wie die meisten Übergangsmetallionen eine Mittelstellung zwischen harten und weichen Säuren ein. Es bildet mit Methanol, Ethylenglykol und Glycerin isolierbare, jedoch thermodynamisch wenig stabile Komplexe (s.u.). Technetium-Komplexe mit Kohlenhydraten oder Zuckeralkoholen sind bisher nur in Lösung bekannt. Über ihre Chemie gibt es kaum gesicherte Erkenntnisse.

1974 berichteten ALVAREZ et.al. über ein neues ^{99m}Tc-Präparat, das sie durch Reduktion von $^{99m}TcO_4^-$ mit $SnCl_2$ in alkalischer Lösung in Gegenwart von D-Glucose erhielten ("^{99m}Tc-Dextrose") [42]. Bioverteilungsstudien in Ratten belegen eine kurzzeitige Anreicherung der Aktivität in der Leber, außerdem wurden über mehrere Stunden sehr hohe Anreicherungen in den Nieren der Versuchstiere verzeichnet.

1977 erhielt MÜNZE das Schutzrecht für ein zur Synthese von ALVAREZ et.al. analoges Verfahren zur Darstellung von Technetium-Komplexen mit Alkoholen, Kohlenhydraten, Kohlenhydratderivaten, Aminozuckern sowie anderen Biomolekülen mit mindestens zwei benachbarten Hydroxygruppen bzw. mindestens einer enolischen Hydroxy- oder einer α-Oxicarboxylgruppe [43]. Ein in der Patentschrift niedergelegtes Ausführungsbeispiel beschreibt die Darstellung eines ^{99m}Tc-Präparates mit Saccharose (Rohrzucker) (4), die ein aus D-Glucose und D-Fructose aufgebautes Disaccharid (α-D-Glucopyranose-ß-D-fructofuranosid) ist.

Erst 1979 erwähnten MÜNZE et.al. in einem Übersichtsartikel auch eigene Ergebnisse hinsichtlich der Komplexierung von langlebigem ^{99}Tc mit Glucose, Ribose oder



(4)

Saccharose [44]. So beobachteten sie nach Reduktion von [^{99}Tc]Pertechnetat mit Sn(II) bei pH 11-12 in Gegenwart des jeweiligen Zuckers und anschließender Neutralisation die Ausbildung intensiver purpurvioletter Färbungen. Boten sie Desoxyribose als Ligand an, erfolgte dagegen nur Fällung von TcO_2-Hydrat.

MÜNZE et.al. nahmen an, daß Glucose und Ribose Technetium unter den von ihnen gewählten Reduktionsbedingungen wie Ethylenglycol (oder Glycerin) als zweizähnige Diolato-Liganden komplexieren. Tatsächlich enthalten α-Glucopyranose sowie alle in Lösung vorhandenen Riboseformen vicinale Hydroxygruppen in *cis*-Konformation. Bietet man unter den oben beschriebenen Reduktionsbedingungen anstelle der Zucker Ethylenglykol als Ligand an, entstehen gleich oder ähnlich gefärbte Komplexanionen der wahrscheinlichen Zusammensetzungen $[Tc^{IV}(OH)_2(OCH_2CH_2O)_2]^{2-}$ (pH 10.5) sowie $[Tc^{IV}(OH)_4(OCH_2CH_2O)]^{2-}$ (pH 8-10.5) [45]. Eine kurzzeitige violette Färbung tritt auch auf, wenn $^{99}TcO_4^-$ in alkalischer Lösung in Gegenwart stöchiometrischer Mengen Ethylenglykol mit Natriumdithionit reduziert wird [46]. Das von ALBERTO et.al. (1986) durch Ligandaustauschreaktion von

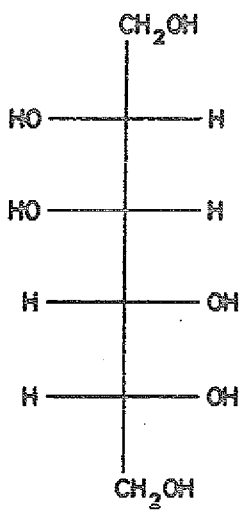
Ethylenglykol mit dem grünen Komplexsalz $K_2[Tc^{IV}(OCH_3)_6]$ dargestellte und aus ACN/EtOH umkristallisierte $K_2[Tc^{IV}(OCH_2CH_2O)_3 \cdot 3C_2H_5OH$ wird dagegen interessanterweise als farblos beschrieben [47].

Ethylenglycol bildet aber auch mit Tc^V purpurviolette Komplexanionen. Nach Reaktion von Ethylenglycol mit $(n\text{-}Bu_4N)[TcOCl_4]$ in Isopropanol erhielten HUBER et.al. (1987) das violette Komplexsalz $(n\text{-}Bu_4)[Tc^VO(OCH_2CH_2O)_2] \cdot 1/3(HOCH_2CH_2OH)$, das sie außer durch Elementaranalyse und IR/VIS/UV-Spektroskopie auch mittels ^1H-/^{13}C-NMR-Spektroskopie charakterisierten [48]. In ähnlicher Weise gelang DAVISON et.al. (1987) die Synthese des blauvioletten $Na[Tc^VO(OCH_2CH_2O)_2]$ [46]. Diese Verbindung konnte u.a. erfolgreich mittels Feld-Desorptions-Massenspektrometrie identifiziert werden.

Alle bekannten Tc^V- und/oder Tc^{IV}-Komplexe mit Ethylenglykol sind in Lösung nur im mittel bis stark alkalischen Bereich stabil und zersetzen sich mit abnehmendem pH-Wert unter Bildung von TcO_2-Hydrat. Überschüssiges Ethylenglykol kann bis zum Neutralpunkt stabilisierend wirken. In Gegenwart von stärker komplexierenden Verbindungen, wie z.B. Thiolen oder Dithiolen, erfolgt beim Neutralisieren der alkalischen Komplexlösungen Ligandaustausch. Aufgrund dieser Gegebenheiten und in Anbetracht des Blut-pH-Wertes um 7,4 [22] ist zu erwarten, daß sich ^{99m}Tc-Kohlenhydrat-Komplexe in vivo rasch zersetzen, womit die von ALVAREZ et.al. für "^{99m}Tc-Dextrose" ermittelte Bioverteilung möglicherweise nicht das Verhalten des angeblichen Glucose-Komplexes repräsentiert.

Durch Reduktion der Carbonylgruppe können Monosaccharide in die entsprechenden Zuckeralkohole (Polyole) überführt werden. Der einfachste Zuckeralkohol ist Glycerin, daß als Homologes des Ethylenglycols mit Technetium ebenfalls violette Komplexanionen bildet [45]. Mit Ausnahme des von ALBERTO et.al. (1986) herge-

stellten weißen $K_2[Tc^{IV}(C_4H_5O_3)_2]\cdot CH_3OH$ [47] sind von den Polyolen nur rosa bis blauviolett-gefärbte Komplexanionen bekannt [49-50]. Über eine gelungene Isolierung dieser Substanzen ist nichts bekannt. Aufgrund der vielen gleichwertigen Donoratome höherer Zuckeralkohole besitzen ihre Komplexe aber wahrscheinlich keine definierte Struktur. Nach der Reduktionsmethode unter Verwendung der Reduktionsmittel $NaBH_4$, $SnCl_2$, oder CuCl hergestellte ^{99m}Tc-Komplexe mit D-Mannit bzw. D-Mannitol (5) wurden verschiedentlich als Nierendiagnostika vorgeschlagen [51-53].



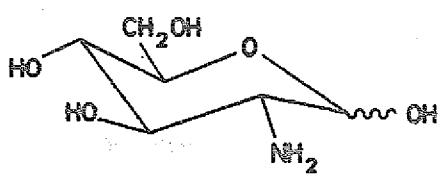
(5)

2.2 Technetium-Komplexe mit Thio- und Aminozuckern als Liganden

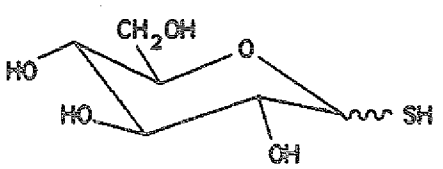
Damit Kohlenhydrate mit Technetium stabilere Komplexe bilden können, müssen im Vergleich zu Oxy- bzw. Hydroxy-Funktionen koordinationsfähigere Donorgruppen in die Moleküle eingeführt werden. Die einfachsten funktionalisierten Monosaccharidderivate sind Thio- oder Aminozucker. In Aminozuckern ist eine Hydroxy-Gruppe des Monosaccharids durch eine Amino-Gruppe, in

Thiozuckern ein beliebiges Sauerstoffatom durch ein Schwefelatom ersetzt.

Aus der Reihe der Thiozucker wurde bisher nur 1-Deoxy-1-thio-D-glucose (1-Thioglucose) mit $^{99}Tc/^{99m}Tc$ komplexiert [54-57]. Aktuellere Arbeiten von WOESLE et.al. (1990,1991) [58-59] sowie SCHOENWEISS et.al. (1990) [60] beschäftigen sich mit der Synthese, Bioverteilung und Pharmakokinetik von ^{99m}Tc-Komplexen mit 2-Amino-2-deoxy-D-glucose (D-Glucosamin, Chitosamin) sowie anderen Aminozuckern und Aminoalkoholen. Die Konstitutionen der 1-Thio-D-glucose (6) und des D-Glucosamins (7) leiten sich von der Pyranoseform der D-Glucose ab. Weiterhin kennt man ^{99m}Tc(II/III)-Diarsin-Komplexe mit axialen 1-Thioglucose-Liganden sowie einen ^{99}Tc-Komplex mit dem Salicylaldimin des D-Glucosamins (s. Kapitel B.2.2.1-2).



(7)



(6)

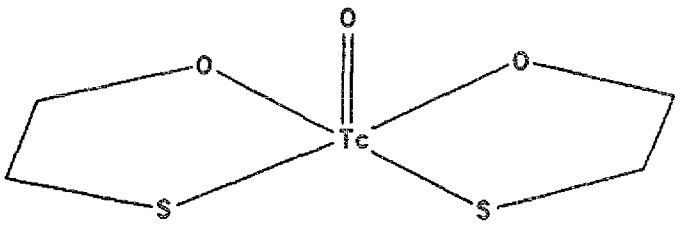
1976 veröffentlichten DECKART et.al. eine kurze Studie zur Bioverteilung und Pharmakokinetik von "^{99m}Tc-1-Thioglukose" [54]. Das durch Reduktion von Pertechnetat mit Sn(II) in Gegenwart des Liganden gewonnene Präparat wurde sowohl Ratten als auch gesunden menschlichen Probanden injiziert. Übereinstimmend wurde eine rasche und langanhaltende Akkumulation der Aktivität in den Nieren beobachtet, die bei den Versuchstieren auch 24

Stunden nach Inkorporation noch 13,2 % der Gesamtdosis speicherten. In der Leber der Versuchstiere wurden 5 min nach intravenöser (i.v.) Injektion 5,2%, 24 Stunden danach immerhin noch 2,4% der Testdosis gefunden. Eine Ausscheidung über die Galle konnte nicht nachgewiesen werden. RISCH et.al. registrierten nach intraperitonealer (i.p.) Applikation von "^{99m}Tc-1-Thioglucose" in Ratten eine hohe Anreicherung der Aktivität in der Bauchspeicheldrüse, wobei sie Pankreas/Leber-Verhältnisse von 4 beobachteten konnten [55)57)]. Das i.v. applizierte Präparat reicherte sich demgegenüber aber kaum und nur mit Pankreas/Leber-Verhältnissen bis 0,5 in der Bauchspeicheldrüse an [55)57)].

Durch Ligandaustauschreaktion von "^{99}Tc/^{99m}Tc(V)-gluconat" mit 1-Thioglucose oder anderen Liganden mit SH-Gruppen gelangten JOHANNSEN et.al. (1980) zu ^{99}Tc/^{99m}Tc(V)-Komplexen der vermutlichen Zusammensetzung $[Tc^{V}(O)(ligand)_2]^{n-}$, deren Bioverteilung in Ratten sie nach i.v. Injektion mittels Szintigraphie, Radioaktivitätsmessung entnommener Organe, des Blutes und Urins sowie durch Ganztierautoradiographie untersuchten [56)]. Danach wurden die entsprechenden 1-Thioglucose-Komplexe überwiegend über die Nieren ausgeschieden. Anders als bei den von DECKART beschriebenen Untersuchungen wurde keine signifikante Aufnahme in der Leber gefunden, eine hepatobiliäre Ausscheidung der Tracersubstanz aber nachgewiesen.

Trotz fehlender chemischer Daten erscheint es unter Berücksichtigung des Komplexbildungsverhaltens von 2-Mercaptoethanol wahrscheinlich, daß 1-Thioglukose Technetium in Abwesenheit anderer Chelatbildner als zweizähniger S-O-Ligand koordiniert. Die Reduktion von Pertechnetat mit Dithionit in Gegenwart von 2-Mercaptoethanol führt zur Bildung eines anionischen Komplexes der Formel $[Tc^{V}(O)(SCH_2CH_2O)_2]^{-}$, wobei die Röntgenstrukturanalyse des schwerlöslichen Tetraphenyl-

arsoniumsalzes eine pseudo quadratisch pyramidale Komplex-Struktur mit *cis*-Anordnung der beiden deprotonierten basalen 2-Mercaptoethanol-Liganden (8) belegt 61).



(8)

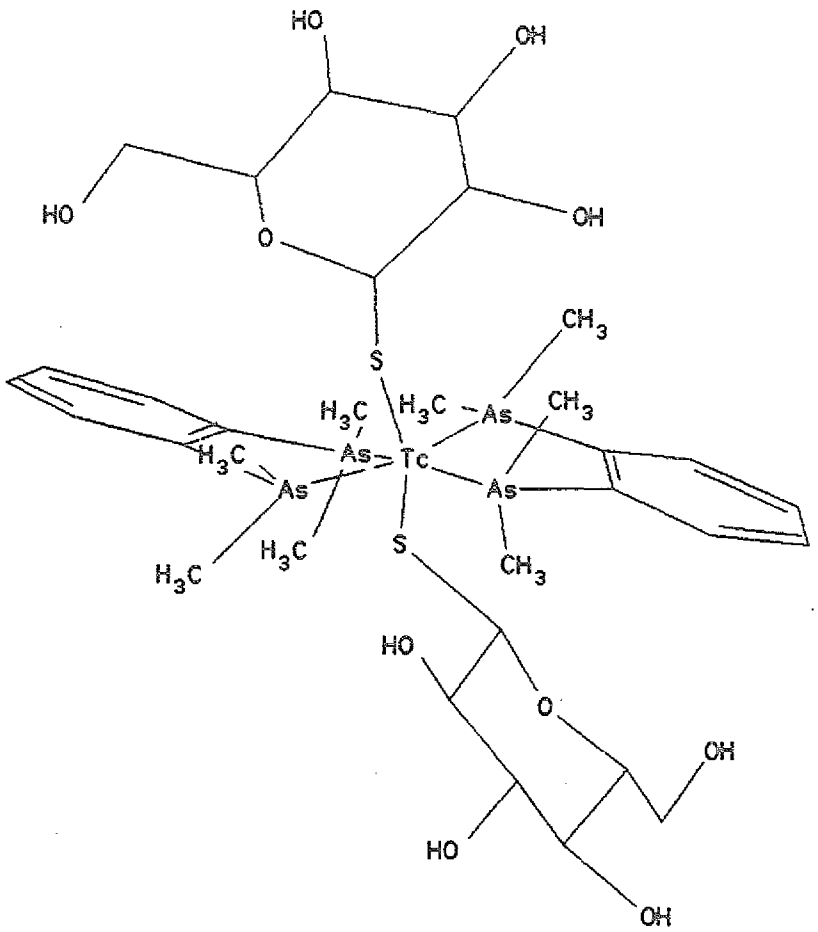
Zu den ^{99m}Tc-Aminozucker-Komplexen erschienen bislang einige Vortragsübersichten, jedoch noch keine umfassenden Publikationen. Nach der Reduktionsmethode mit Sn(II) bei pH 12 hergestellte ^{99m}Tc-D-Glucosamin-, ^{99m}Tc-D-galactosamin-, ^{99m}Tc-D-arabinosamin- und ^{99m}Tc-D-xylosamin-Präparate konnten offensichtlich noch nicht auf die Anzahl der jeweils entstandenen Komplexe hin analysiert werden. Die in-vitro-Kinetik von "^{99m}Tc-D-Glucosamin" wurde in Hunde- und Kaninchenexperimenten geprüft. Dabei konnten keine glucosetypischen Akkumulationsmuster oder Herzanreicherungen verzeichnet werden. Die injizierte Aktivität wurde ausschließlich über die Nieren ausgeschieden. Die Versuchsergebnisse machen eine teilweise Metabolisierung des Komplexes in der Leber wahrscheinlich.

2.2.1 Technetium(II/III)-Diarsin-Komplexe mit 1-Thioglucose

Aliphatische und aromatische Mercaptane können Technetium als einzähnige Monothiolato-Liganden komplexieren. Daher erscheint die Idee, Thioglucose-Moleküle im Sinne einer "störungsarmen Markierung" des Glucosemoleküls als zusätzliche Liganden an kleine Technetium-Komplexe mit freien Koordinationsstellen zu binden, nicht uninteressant. In einem Patentantrag zu ^{99m}Tc(II/III)-Radiopharmaka für die Hirnszintigraphie beschreibt DEUTSCH (1989) die Synthesen hypothetischer kationischer *trans*-Dithiolato-bis(diarsin)technetium (III)-Komplexe und ihre Reduktion zu den entsprechenden Technetium(II)-Neutralkomplexen [62]. Demnach entsteht beim Erwärmen einer pH 2 sauren ethanolischen Lösung von [^{99m}Tc] Tetrabutylammoniumpertechnetat, Trifluormethylsulfonsäure, Diarsin und Na-ß-D-Glucose auf 85°C das Komplexkation *trans*-[$^{99m}Tc^{III}(C_6H_{11}O_5S)_2(diars)_2]^+$ (9). Die Oxidationsstufe des Technetiums sowie die Zusammensetzung, Struktur und Ladung des Komplexes sind jedoch, außer durch Analogieüberlegungen, in keiner Weise belegt. Über die Bioverteilung der Verbindung oder die Bioverteilung eines analogen Technetium(II)-Neutralkomplexes wurden keine Angaben gemacht.

2.2.2 Komplexbildung des Technetiums mit Salicylaldiminoglucose

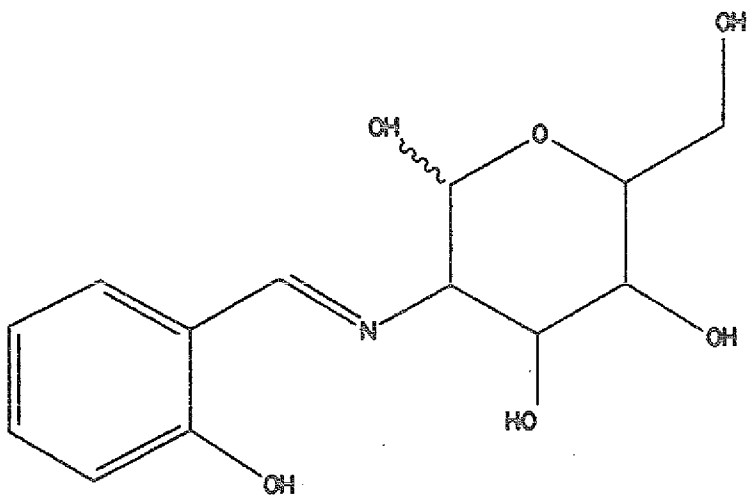
Carbonylverbindungen reagieren mit primären Aminen zu N-substituierten Iminen, die auch Azomethine oder Schiffsche Basen genannt werden. Diese sind allerdings



(9)

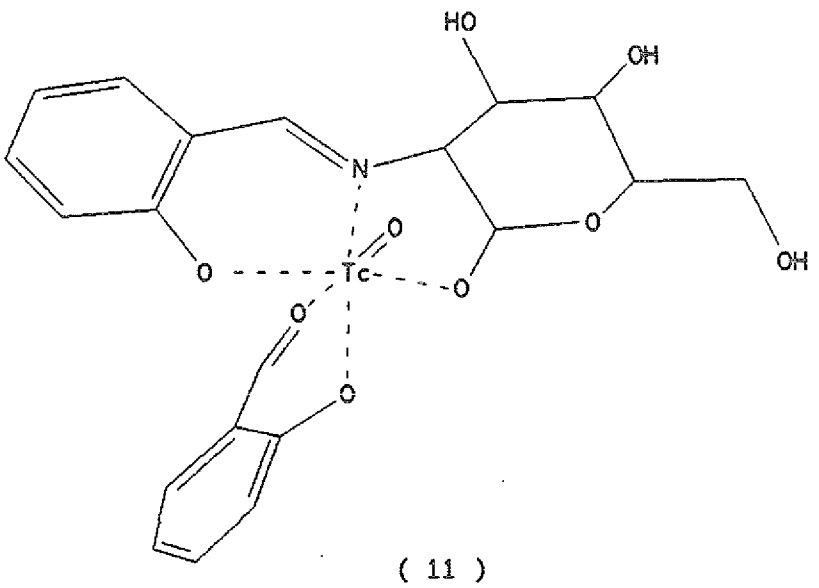
nur dann stabil, wenn das Stickstoff- und/oder Kohlenstoffatom der Azomethingruppe einen aromatischen Substituenten trägt. Komplexe aromatischer Schiffscher Basen, insbesondere von Salicylaldiminen, sind eine gut untersuchte Substanzklasse. Komplexe des Technetiums mit Schiffschen Basen wurden bereits mehrfach beschrieben. Die meisten der bekannten Technetium-Schiffbase-Komplexe enthalten eine zentrale Monooxotechnetium(V)$^{+}$-Einheit.

D-Glucosamin kondensiert mit Salicylaldehyd zu den anomeren gelben Salicylaldimino-α,ß-D-glucopyranosiden (10), wobei der erste bekannte Salicylaldiminozucker-Komplex (N-2-amino-2-deoxy-a,ß-salicylaldimino)kupfer (II) durch ADAMS et.al. (1982) beschrieben wurde [63].



(10)

1986 gelang DUATTI et.al. durch Ligandaustauschreaktion an $^{99}TcOCl_4^-$ die Synthese des roten Neutralkomplexes Monooxo(N-2-amino-2-deoxy-salicylaldimino)(salicylaldehydato)technetium(V) (11), den sie in kristalliner Form isolieren konnten [64-65]. Die Röntgenstrukturanalyse der Komplexverbindung zeigte diskrete monomere Einheiten mit verzerrt oktaedrischer Koordinationsgeometrie. Wie im Adamschen Kupferkomplex koordiniert die Salicylaldiminoglucose das Zentralion als dreizähniger O-N-O-Ligand.



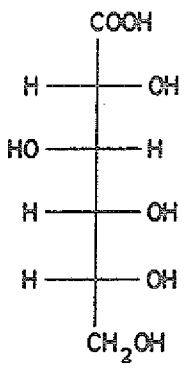
(11)

Aufgrund des zusätzlichen Salicylaldehydato-Liganden ist (11) nur schwach wasserlöslich. Der Komplex ist in festem Zustand stabil, zersetzt sich jedoch langsam in Lösung. Über Versuche zur Komplexbildung von (10) mit ^{99m}Tc ist nichts bekannt.

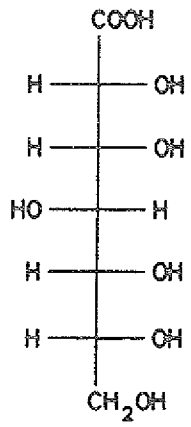
2.3 Komplexbildung des Technetiums mit Monosaccharidsäuren

Viele Arbeiten beschäfigten sich mit Technetium-Monosaccharidsäure-Komplexen. Als Liganden sind hier

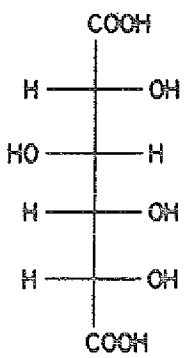
insbesondere die Aldonsäuren D-Gluconsäure (12) und D-α-Glucoheptonsäure (13) zu nennen (s. Kapitel B.2.3.1). Kürzlich wurden Bioverteilungsstudien unter Verwendung von ^{99m}Tc-Präparaten mit D-Glucarsäure (14) veröffentlicht (s. Kapitel B.2.3.2).



(12)



(13)



(14)

Gluconsäurelacton-6-phosphat und Gluconat-6-phosphat - nicht jedoch die freie Gluconsäure- sind wichtige Zwischenstufen bei der Glucoseoxidation über den Phosphogluconat-Weg (engl. *hexose monophosphate shunt*). Dieser vielseitige Reaktionsweg dient im menschlichen und tierischen Organismus in erster Linie zur Schaffung

von Reduktionsäquivalenten in Form von Dihydro-nicotinamid-adenin-dinucleotid-phosphat (NADPH) und findet sich hauptsächlich in Geweben, in denen die NADPH-erforderliche Fettsäuresynthese stattfindet (Leber, Fettgewebe, Milchdrüsen) [20)22)66)]. Sein Anteil am Glucoseabbau im Herzmuskel und Gehirn ist relativ gering. Weder freie D-Glucarsäure, noch ein D-Glucarsäurederivat besitzen biologische Bedeutung [66)].

2.3.1 Komplexbildung des Technetiums mit Aldonsäuren bzw. Aldonaten

Durch milde Oxidationsmittel werden Aldosen selektiv am anomeren C-Atom oxidiert. Dabei entstehen Aldonsäuren oder die entsprechenden Lactone. Aldonsäuren und Aldonate können Metallionen über die Carboxylgruppe und/oder ionisierte oder nicht ionisierte Hydroxygruppen komplexieren.

Gluconsäure bzw. das Gluconat-Anion sind sehr bekannte Komplexbildner, die in vielen Bereichen breite Anwendung gefunden haben [67)]. Bereits 1954 benutzten Mac DONALD et.al. einen Gluconat-Komplex des radioaktiven Hafnium-181 zu Bioverteilungsstudien an Ratten [68)]. CHARAMZA et.al. (1969) beschrieben als erste die Darstellung von Gluconat und Mannonat Komplexen des Technetium-99m und untersuchten diese Verbindungen im Hinblick auf ihre Eignung als potentielle Tracer in der Nierenszintigraphie [69)]. Beide Komplex-Spezies erwiesen sich als gleichermaßen gut geeignet, nachfolgende Arbeiten konzentrierten sich aber nur noch auf das "Technetium-Gluconat".

"^{99m}Tc-Gluconat" wird üblicherweise durch Reduktion von $^{99m}TcO_4^-$ mit Sn(II) in einer wässrigen Lösung von Na- oder Ca-gluconat hergestellt. Ein mittels elektrolytischer Reduktion von $^{99m}TcO_4^-$ hergestelltes Präparat zeigte im Tierversuch keine abweichende Bioverteilung [70]. "^{99m}Tc-Gluconat" ist im neutralen Medium in Abwesenheit anderer Komplexbildner über mehrere Stunden stabil. Klinischen Studien zufolge eignet es sich außer zur Untersuchung der Nieren [69][71] auch zur Abbildung von Hirntumoren und akkumuliert sich in bescheidenem Maße im infarktgeschädigten Herzmuskel.

"^{99m}Tc-Gluconat" wurde jedoch schon nach wenigen Jahren durch "^{99m}Tc-Glucoheptonat" (^{99m}Tc-GH oder ^{99m}Tc-GHA) aus der klinischen Praxis verdrängt. Der Trivialname "Glucoheptonat" (bzw. "Gluceptat" oder "Glucoheptanoat") bezeichnet gemäß Strukturformel (13) das Anion der D-Gluco-α-heptonsäure (D-glycero-D-gulo-heptonsäure), die im Unterschied zur D-Gluco-ß-heptonsäure (D-glycero-D-ido-heptonsäure) am C^2-Atom R-Konfiguration besitzt. Die Herstellung von "^{99m}Tc-Glucoheptonat" erfolgt i.a. ebenfalls nach der Reduktionsmethode mit Sn(II).

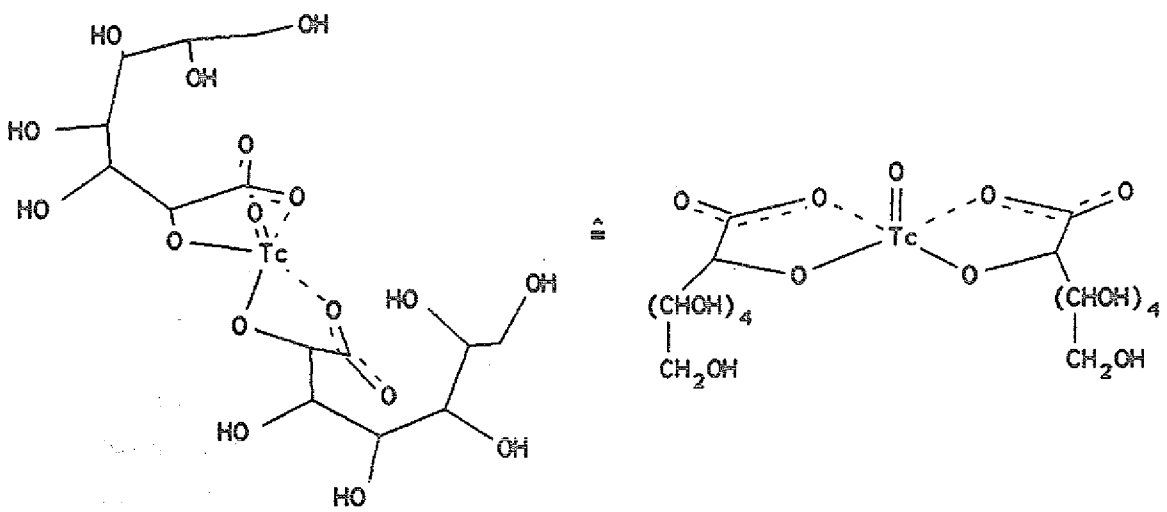
1974 wurde "^{99m}Tc-Glucoheptonat" erstmals von der New England Nuclear Corp. auf dem US-amerikanischen Markt eingeführt. Nach einer im gleichen Jahr erschienen Studie zur Organverteilung mehrerer ^{99m}Tc-Nierendiagnostika in Kaninchen, konnten im Vergleich zu "^{99m}Tc-Gluconat" allerdings keine signifikanten Unterschiede im Anreicherungsverhalten festgestellt werden [72]. Für den späteren Erfolg des Präparates waren möglicherweise Produktionsvorteile entscheidend, denn das freie Glucoheptonat läßt sich aus Kornsirup gewinnen [73]. Die Vorteile von "^{99m}Tc-Glucoheptonat" gegenüber "^{99m}Tc-Gluconat" sind auch in der nachfolgenden Literatur nicht gut dokumentiert worden. "^{99m}Tc-Glucoheptonat"-Kits werden heute z.B. unter den Handelsnamen

"Glucoscan" (DuPont) oder vertrieben und mit Erfolg in der Nierenszintigraphie eingesetzt [74)75)]. Wie "^{99m}Tc-Gluconat" kann das Präparat zur Tumordiagnostik [73)76-81)] und zu Untersuchungen bei Herzinfarkten [79)82-84)] eingesetzt werden.

Die Chemie der Technetium-Gluconat und -Glucoheptonat Komplexe ist kompliziert und bisher nur unzureichend geklärt. Die Sn(II)-Reduktion von Pertechnetat in wässrigen Lösungen der Liganden führt abhängig vom pH-Wert und dem Reduktionsmittel/Pertechnetat-Verhältnis zu Komplexen des Tc^{3+}, Tc^{4+} oder Tc^{5+} [79)82)]. Elektrochemischen Untersuchungen zufolge bilden sich bei der Reduktion mit Zinn(II) im Bereich von pH 3 bis pH 9 zunächst ausschließlich die Tc(V)-Spezies [82)]. Die Reduktion von Pertechnetat in Gegenwart von Glucoheptonat führt sowohl bei Verwendung von Zinn(II), als auch mit $NaBH_4$ als Reduktionsmittel zu identischen Produkten [85)]. Nach Reduktion von $^{99m}TcO_4^-$ durch $Na_2S_2O_4$ wurden chomatographisch zwei Komplexe unbekannter Zusammensetzung gefunden [86)].

Bisher ist es noch nicht gelungen, individuelle ^{99}Tc-Komplexe beider Liganden zu isolieren. Bei elektrophoretischen und ionenchromatographischen Untersuchungen wurden jedoch ausschließlich Komplexanionen gefunden [49)82)87-88)]. Spektroskopischen Vergleichsstudien zufolge können die bei der Komplexbildung durch Redoxreaktion entstehenden ^{99}Tc(V)-Gluconat und -Glucoheptonat Verbindungen auch mittels Ligandenaustausch am $TcOCl_5^{2-}$ dargestellt werden [89)]. Man nimmt daher Strukturen mit Tc^V=O Einheiten an. Ob Ein- oder Mehrkernkomplexe gebildet werden, wie viele Liganden ein Technetiumatom koordinieren und über welche Donoratome die Koordination erfolgt, wird jedoch noch kontrovers diskutiert. Neuere Untersuchungen stützen aber die Annahme, daß es sich bei den Tc(IV/V)-gluconat-Komplexen um Hydroxycarbonsäurechelate handelt [90)].

In einer erstmals von DeKIEVIET (1981) für "Technetium-Glucoheptonat" vorgeschlagenen quadratisch-pyramidalen Komplexstruktur koordinieren zwei *cis*-ständige basale Glucoheptonat-Moleküle eine zentrale Monooxotechnetium(V)-Einheit als α-Hydroxycarbonat-Liganden über deprotonierte Sauerstoffatome [85]. Obwohl die *cis*-Anordnung der Liganden lediglich postuliert wurde und HWANG et.al. (1985) auf die nicht zweifelsfreie Interpretation einiger Untersuchungsergebnisse in DeKIEVIETS Arbeit hinwiesen [49], wird die Struktur (15) in der Literatur häufig angeführt.



(15)

Welche biochemischen Ursachen dem Organverteilungsverhalten der ^{99m}Tc-Aldonsäure/Aldonat-Komplexe zugrundeliegen, ist noch nicht ausreichend geklärt. Möglicherweise ist ein (partieller) Ligandenaustausch mit SH-Gruppen tragenden Biomolekülen Ursache für die Anreicherung von "^{99m}Tc-Gluconat" im Nierengewebe [90]. Klinische Studien lassen vermuten, daß "^{99m}Tc-Gluco-

heptonat" in Zellen mit krankhaft gesteigertem Stoffwechsel (z.B. Tumorzellen) über einen Transportmechanismus aufgenommen und wie D-Glucose als energieliefernde Substrat metabolisiert wird [73)77)80)]. Nach Untersuchungen von RIVERA et.al. (1989) wird "^{99m}Tc-GHA" in die Zellen von Nieren- und Lungentumoren aber nicht über D-Glucosecarrier, sondern über ein (nicht näher charakterisiertes) D-Fructose-Transportsystem eingeschleust [81)].

2.3.2 "Technetium-99m-D-Glucarat"

Durch starke Oxidationsmittel (z.B. konz. HNO_3) werden Aldosen außer an den Formyl- auch an den endständigen Hydroxymethyl-Gruppen bis zur Stufe der Aldarsäuren (Polyhydroxy-dicarbonsäuren) oxidiert. Aldarsäuren liegen in freier Form in Abhängigkeit von den jeweiligen sterischen Verhältnissen als Di- und/oder Monolactone vor und sind als Salze isolierbar.

Durch energische Oxidation von D-Glucose entsteht D-Glucarsäure (14) (auch L-Gularsäure oder *D-Zuckersäure*, engl. *saccharic acid*), die zu je zwei verschiedenen Mono- und Dilactone cyclisieren kann. Nach VELASCO et.al. (1975) bilden sich mit Eisen(III), Cobalt(II), Nickel(II) und Cadmium(II) monomere, mit Kupfer(II) mono- oder polymere anionische D-Glucarat-Komplexe [91)].

Von Technetium sind erst kürzlich nicht näher charakterisierte "^{99m}Tc-Präparate beschrieben worden, welche durch Sn(II)-Reduktion von $^{99m}TcO_4^-$ in Gegenwart von Kalium-D-glucarat erhalten wurden [92-97)]. Über Untersuchungen zur Komplexbildung des ^{99}Tc mit D-

Glucarsäure bzw. D-Glucarat ist aus der Literatur noch nichts bekannt.

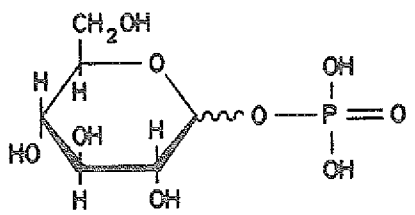
Die Ähnlichkeiten im Organverteilungsverhalten von "^{99m}Tc-D-Glucarat" (^{99m}Tc-GLC, ^{99m}Tc-Glu oder ^{99m}Tc-Gluc) zu "^{99m}Tc-Gluconat" und "^{99m}Tc-Glucoheptonat" sind bemerkenswert. "^{99m}Tc-D-Glucarat" reichert sich in Ratten im akut infarktgeschädigten Herzmuskel an und akkumuliert sich aufgrund einer Permeabilitätserhöhung der Blut/Hirnschranke bei cerebralen Ischämien im Gehirn der Versuchstiere [96]. Nach C.I.tenKATE (1990) [94] beeinflußt Insulin die Bioverteilung von "^{99m}Tc-D-Glucarat" in Ratten, indem es die Aufnahme im gesunden Herzmuskel der Tiere bei signifikant höherer Blutaktivität geringfügig erhöht. "^{99m}Tc-D-Glucarat" wird im gesunden Organismus daher nicht wie D-Glucose metabolisiert. In Analogie zu den ^{99m}Tc-Aldonat-Komplexen reichert sich "^{99m}Tc-D-Glucarat" auch in metabolisch aktiven Tumoren an [93].

2.4 Technetium-99m-Komplexe mit Zuckerphosphaten

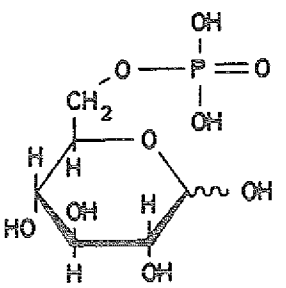
Wie bereits in Kapitel B.1 angesprochen wurde, stellen Phosphorsäureester von Monosacchariden (Zuckerphosphate) die stoffwechselaktiven Formen der Zucker dar. Aufgrund ihrer fundamentalen physiologischen Bedeutung als Zwischenprodukte im Kohlenhydratstoffwechsel finden sie sich in allen Zellen. Außer Glucose-6-phosphat ist dabei insbesondere Glucose-1-phosphat als Ausgangssubstanz beim Aufbau von Glykogen wichtig.

Technetium kann durch Zuckerphosphate komplexiert werden. Bereits 1977 studierten Wang et.al. die Bioverteilung von ^{99m}Tc-Komplexen mit Glucose-6-phosphat ("G-

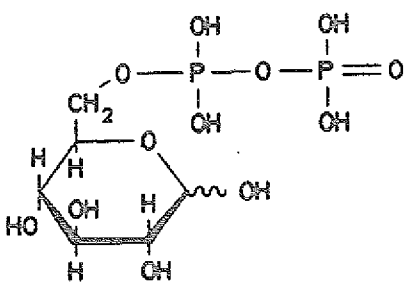
6-P") und Glucose-1-phosphat ("G-1-P") sowie mit den nicht natürlich vorkommenden Glucose-6- und Diglucose-6,6'-pyrophosphaten ("G-P-O-P" und "G-P-O-P-G") (16-19) [98]. Die Darstellung dieser Komplexe unbekannter Zusammensetzung und Struktur erfolgte in herkömmlicher Weise nach der Reduktionsmethode mit Sn(II).



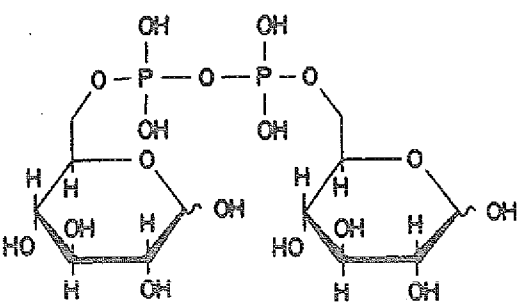
(G-1-P) (16)



(G-6-P) (17)



(G-P-O-P) (18)



(G-P-O-P-G) (19)

Da Glucose-6-phosphat und andere Zuckerphosphate im Organismus nicht über Zellmembranen transportiert werden, ist nicht zu erwarten, daß ^{99m}Tc-Zuckerphosphat-Komplexe nach Injektion in intakte Körperzellen gelangen und am Glucosestoffwechsel teilnehmen können. So geht aus szintigraphischen Untersuchungen an Kaninchen sowie den für 2 Stunden nach Injektion dokumentierten Organverteilungen in Kaninchen und Mäusen hervor, daß

„^{99m}Tc-G-1-P", „^{99m}Tc-G-6-P", „^{99m}Tc-G-P-O-P" sowie „^{99m}Tc-G-P-O-P-G" rasch über die Nieren ausgeschieden wurden. In Mäusen lag die im Blut gefundene Aktivität unterhalb 1 %Dosis·g^{-1} Organ, während sie in Kaninchen mit bis zu 11 % deutlich höher war. Über eine Anreicherung der ^{99m}Tc-Zuckerphosphat-Komplexe in Herz und Gehirn der Versuchstiere wurde nicht berichtet.

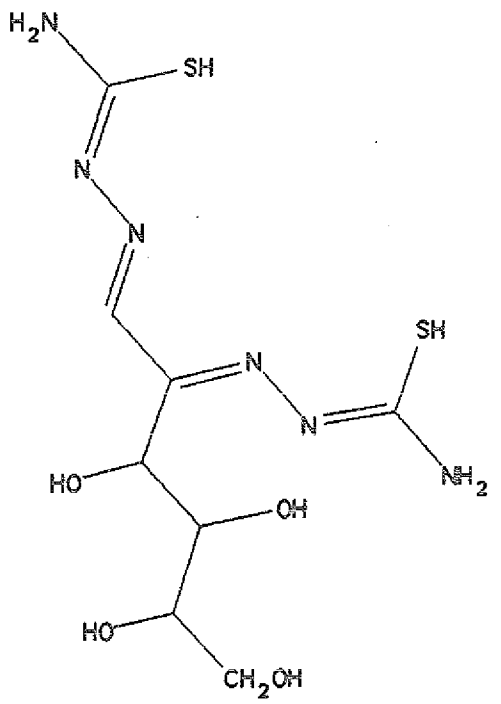
2.5 Technetium-99m-D-Glucoson-bis(thiosemicarbazon) ("Tc-99m-GBT")

Durch die selektive Oxidation von Aldosen in 2-Stellung entstehen Osone (α-Ketoaldosen). Die von der D-Glucose, D-Mannose oder D-Fructose hergeleitete D-*arabino*-2-Hexulose wird im allgemeinen als D-Glucoson bezeichnet und läßt sich nach klassischen Methoden aus D-Glucose über die Spaltung des Phenylglucosazons oder durch direkte Oxidation von D-Glucose mit Cu(II)acetat in siedendem Methanol herstellen. Über das Glucoson eröffnet sich ein Weg zur Einführung komplexierender Gruppen in die 1- und 2-Position der Glucose.

Durch Umsetzung von D-Glucoson mit Thiosemicarbazid in essigsaurer Lösung entsteht D-Glucoson-bis(thiosemicarbazon) (GBT) (20). 1983 berichteten YOKOYAMA et.al. über die Komplexbildung des Technetium-99m mit GBT durch Reduktion von $^{99m}TcO_4^-$ mit Sn(II) (in Form Sn(II)-beladener Ionentauscher) in einer acetatgepufferten Lösung des Liganden [99-100]. Ihre Untersuchung ist Teil einer Reihe von Arbeiten über Technetium-Radiopharmaka mit Liganden, die sich vom Methylglyoxal-bis(thiosemicarbazon) als Stammverbindung herleiten [101-105]. Zu „^{99m}Tc-GBT" wurde 1981 ein europäi-

sches Patent beantragt, 1984 ein US-Patent erteilt 100)106).

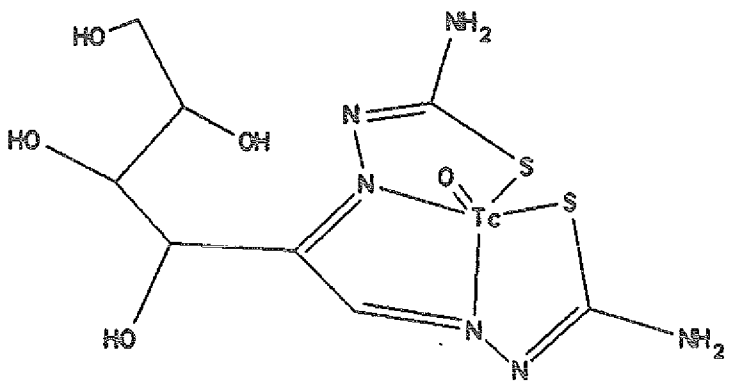
Bioverteilungsstudien an Kaninchen und SPECT-Aufnahmen belegen eine kurzzeitige hohe Akkumulation des in die Ohrvene injizierten ^{99m}Tc-GBT im Hirn und Herzmuskel der Versuchstiere. Die Anreicherung im Hirn war dabei über längere Zeit höher als in anderen Organen. Wie sich aus der Aktivitätsdifferenz zwischen Hirn und Blut ergab, besitzt der Komplex die Fähigkeit, die Blut/Hirn-Schranke zu durchdringen. Aus den publizierten Hirn/Herz- und Hirn/Lunge-Verhältnissen errechnen sich günstige Herz/Lunge-Werte, die von 1.06 20 min nach Injektion bis 4.00 120-240 min nach Injektion stiegen.



(20)

Über den molekularen Mechanismus der Anreicherung von "^{99m}Tc-GBT" im Organismus existieren keine Vorstellungen. HPL-chromatographisch wiesen YOKOYAMA et.al. im Präparat zwei Komplexe mit sehr unterschiedlichem Retentionsverhalten nach [49]. Der von YOKOYAMA et.al. als

Hauptprodukt angenommene unimolekulare Neutralkomplex mit einem Liganden und zentraler Monooxotechnetium(IV)-Einheit (21) wurde weder durch Elektrolyse des ^{99m}Tc-Präparates noch durch Untersuchungen an einem ^{99}Tc-GBT-Komplex gesichert. Nachfolgende Publikationen zu "^{99m}Tc-GBT" existieren nicht.



(21)

2.6 Komplexbildung mit des Technetium-99m mit 6-Deoxy-6-N-bis(mercaptoethyl)amino-D-glucose

Ein eleganter Ansatz von WILSON (1987) folgt dem Konzept, D-Glucose in der $^4C_1$-Konformation an einer biologisch wenig bedeutsamen Stelle kovalent an einen kleinen mehrzähnigen Komplexbildner zu binden [107]. Ausgehend von den bekannten strukturellen Voraussetzungen für den Transmembrantransport von Zuckern wählte WILSON als Bindungsstelle das C_6-Atom der D-Glucose und ersetzte die C^6-Hydroxygruppe auf dem in

Abbildung 4 beschriebenen Syntheseweg durch eine N-gebundene Bis(2-mercaptoethyl)amin-Einheit. Die an-

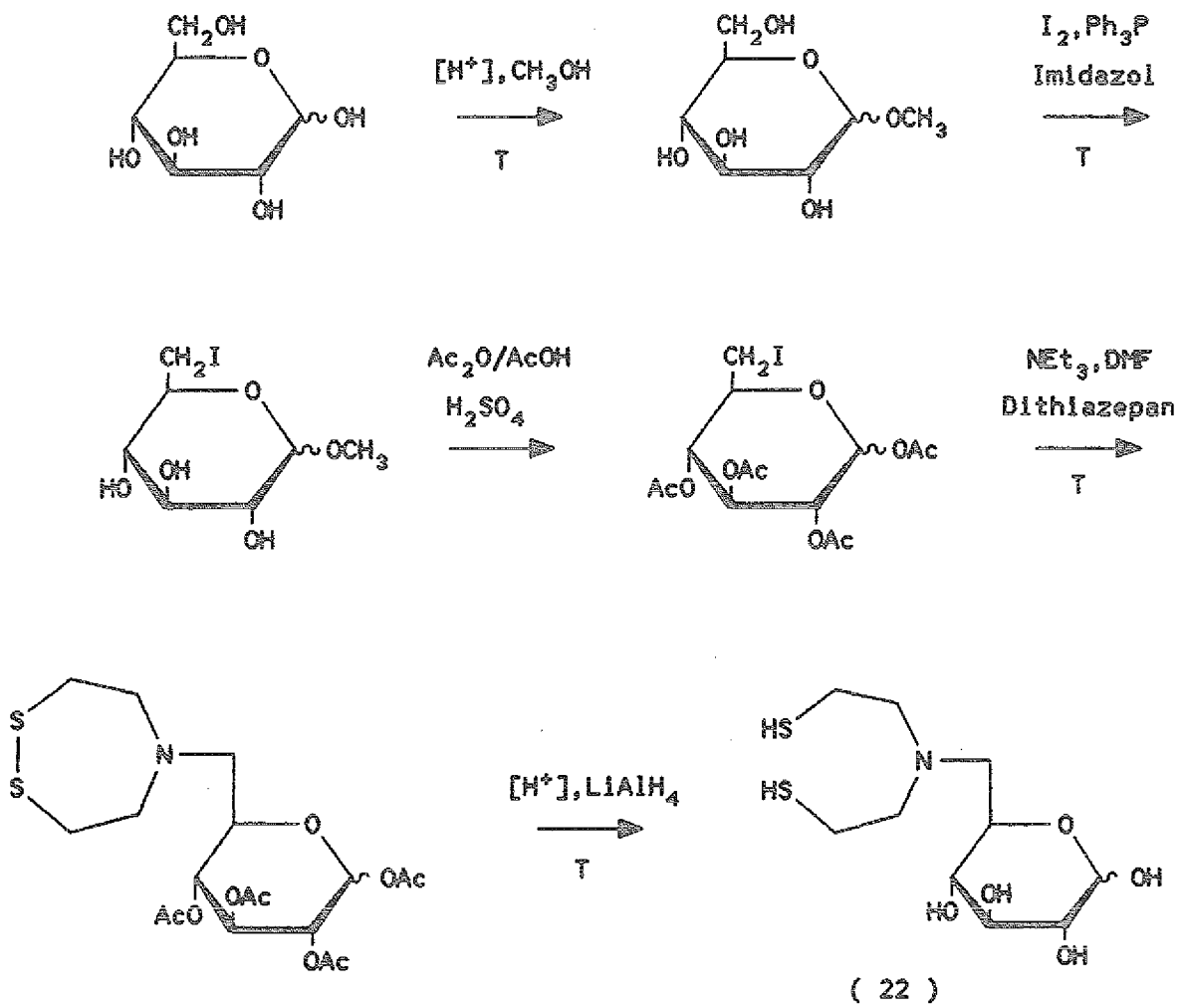
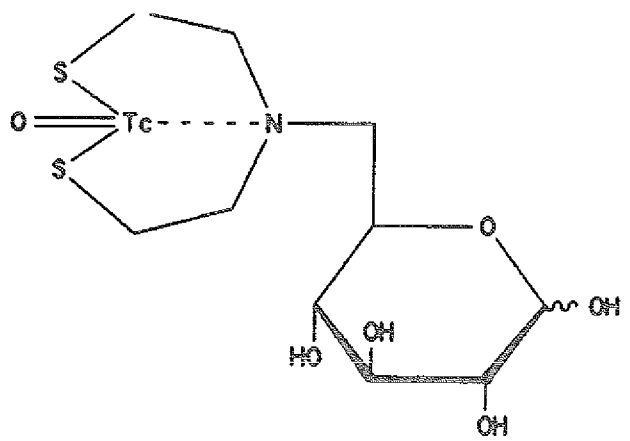


Abb. 4 Synthese von 6-Deoxy-6-N-bis(mercaptoethyl)amino-D-glucose

schließende Komplexierung der 6-Deoxy-6-N-bis(mercaptoethyl)amino-D-glucose (22) erfolgte nach der Reduktionsmethode durch Mischen von Sn(II)-reduziertem ^{99m}Tc-Generatoreluat mit der Ligandlösung bei 25°C oder auch darüber.

Das nach Papierelektrophorese neutrale Produkt zersetzte sich in schwach alkalischer Lösung oberhalb pH 8. Aufgrund der neutralen Ladung schlug WILSON eine Komplexstruktur mit Monooxotechnetium(IV) (23) vor. Die Bioverteilung des Präparates wurde nicht beschrieben.



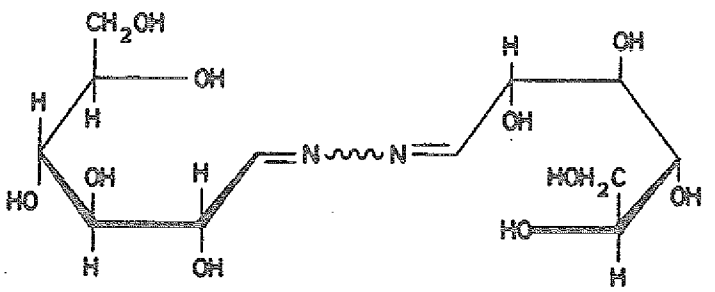
(23)

2.7 Komplexbildung des Technetium-99m mit D-Glucosazin

Auf dem 3. Internationalen Symposium "Technetium in Chemistry and Nuclear Medicine" (Padua 1989) berichteten GANZERLI VALENTINI et.al. über erste Erfahrungen bei der Synthese von "^{99m}Tc-Glucosazin" [108].

Die freie Ligandverbindung D-Glucosazin (N,N''-Diglucosyl-hydrazindiimin) (24) erhielten die Autoren durch Reaktion von Hydrazinhydrat mit der doppelten molaren Menge D-Glucose in siedendem 95% Ethanol. Kohlenhydrat/Amin bzw. Diamin-Systeme sind jedoch zu zahlreichen Reaktionen fähig [109]. Nach Untersuchungen

von MITTS et.al. (1944) [110] sowie McLEOD (1979) [111] reagieren die zum Hydrazin homologen Propylen- und Ethylendiamine mit D-Glucose in siedendem Methanol zu Di-N-Glucosiden. Die cyclischen N-Furanoside oder N-Pyranoside sind tautomere Formen der acyclischen Iminozucker. Das offenkettige N,N'-bisglucosyl-propandiimin bildet sich nach PARASEWAS et.al. beim Erhitzen einer Lösung von Glucose in Propylendiamin in Gegenwart von Essigsäure [A].



(24)

Die Synthesen und die chemischen Parameter einer Reihe von N-Glycosidkomplexen des Nickel(II) wurden von YANO, YOSHIKAWA et.al. beschrieben. Diese Komplexe wurden vielfach durch Röntgenstrukturanalysen gesichert.

A) Prof.Dr. S.M.Paraskevas, Universität Athen persönliche Mitteilungen

PARASKEVAS et.al. untersuchten Komplexe des N,N'-bis-glucosyl-propandiimins mit Nickel(II), Palladium (II), Kupfer(II) und Kobalt(II) [B]. Alle diese Komplexverbindungen zersetzen sich rasch in wässriger Lösung oder hydrolysieren bereits in Gegenwart von Luftfeuchtigkeit. Daher kann kaum mit einer hinreichenden in vitro- und in vivo-Stabilität von "Tc-Glucosazin" gerechnet werden. Die von GANZERLI VALENTINI et.al. als "ermutigend" beschriebenen Bioverteilungsergebnisse wurden bisher noch nicht veröffentlicht.

B) Prof.Dr. S.M.Paraskevas, Universität Athen persönliche Mitteilungen

C. Spezieller theoretischer Teil

1. Allgemeine Vorbemerkungen zu oximhaltigen Liganden

Oxime werden meist durch Kondensation von Hydroxylamin mit Aldehyden (Aldoxime) oder Ketonen (Ketoxime) hergestellt und können aufgrund unterschiedlicher Stellung der Hydroxygruppe in zwei geometrischen Isomeren erhalten werden. Diese werden nach den heutigen Nomenklatur-Normen (E)- oder (Z)-Isomere genannt. In (E)-Oximen sind die Hydroxy-Gruppe und der Rest größerer Priorität am C^1-Atom *trans*-ständig, in (Z)-Oximen *cis*-ständig angeordnet. (E)-Aldoxime können auch als *syn*- oder *α*-, (Z)-Aldoxime als *anti*- oder *ß*-Isomere bezeichnet werden (Abbildung 5). Bei Ketoximen sind diese älteren Notationen jedoch nicht in jedem Falle eindeutig [112].

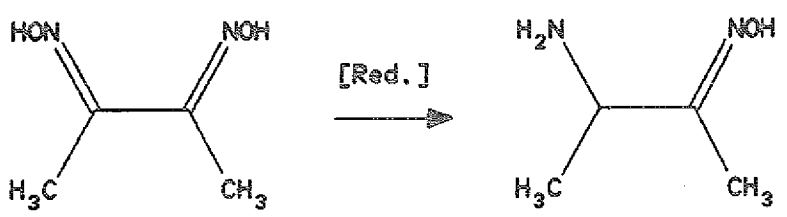
(E-) oder syn- (Z-) oder anti-

Abb. 5 Isomere Formen der Aldoxime

(E)- und (Z)-Oxime können sich in protischen Lösungsmitteln unter Ausbildung von Gleichgewichtverteilungen ineinander umwandeln [113]. Da die Isomeren oft sehr unterschiedliche physikalische Eigenschaften aufweisen, lassen sie sich durch fraktionierte Kristallisation oder chromatographische Verfahren in vielen Fällen trennen. Zur Konfigurationsermittlung können charakteristische Unterschiede in den Kernresonanzspektren der (E,Z)-Formen herangezogen werden.

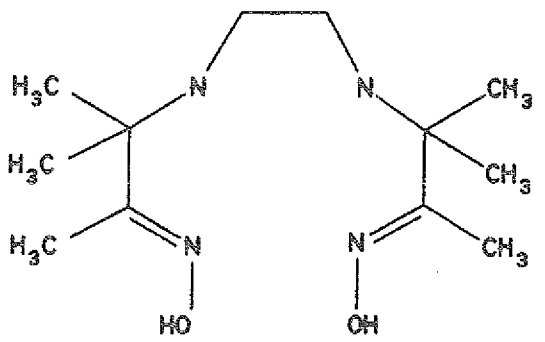
2. Übergangsmetall-Komplexe mit 2-Amino-1-oxim-Liganden

Zweizähnige 2-Amino-1-oxim-Liganden lassen sich vom 2-Aminoacetaldoxim als Stammverbindung herleiten. Übergangsmetall-Komplexe dieser Verbindung wurden in der Literatur bisher jedoch noch nicht beschrieben. Der einfachste bekannte 2-Amino-1-oxim-Ligand ist daher das 1-Methyl-2-amino-butanon-3-oxim (24). Es entsteht formal durch Reduktion einer Oximgruppe des 2,3-Butandiondioxims ("Dimethyldioxim") (25). Das Komplexbildungsverhalten des 2-Methyl-2-amino-butanon-1-oxims und des 2,3-Butandiondioxims weist viele Analogien auf.



(25) (24)

Neben zweizähnigen kennt man auch aliphatische vierzähnige 2,2'-Diamino-1,1'-dioximliganden, bei denen die Amin-Stickstoffatome zweier 3-Amino-3-methyl-2-butanonoxim-Einheiten über Kohlenwasserstoffbrücken verbunden sind. Prototyp dieser Verbindungen ist 3,3,8,8-Tetramethyl-4,7-diazadecan-2,9-diondioxim oder "Ethylenaminoxim" (26), das mit den Acronymen $En(AO)_2$ oder - häufiger- EnAO bezeichnet wird.

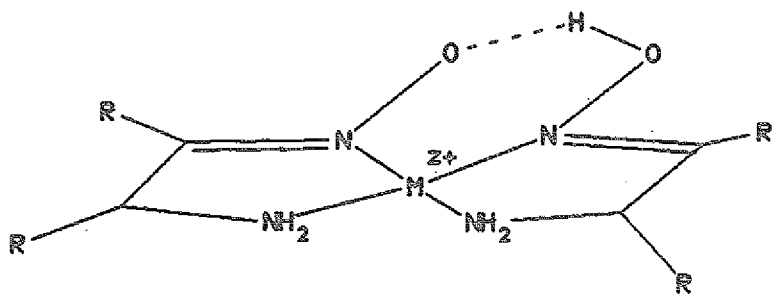


(26)

Während die Komplexbildung zwischen 2,3-Butandiondioxim und Übergangsmetallen bereits 1905 von Chugaev untersucht wurde, berichtete erst 1957 MURMANN über Komplexe des 2-Methyl-2-amino-butanon-1-oxims mit Cu(II), Pd(II) und Pt(II) [114]. Verglichen mit der Fülle von Arbeiten über Übergangsmetall-Komplexe mit 2,3-Butandiondioxim und anderen *vic*-Dioximen ist die Zahl der nachfolgend erschienenen Publikationen über 2-Amino-1-oxim-Komplexe sehr gering.

2-Amino-1-oxime koordinieren in ihren bisher bekannten Komplexen das jeweilige Zentralatom ausnahmslos in der (E)-Konformation, wobei sie über die beiden Stickstoffatome einer 2-Amino-1-oxim- oder 2-Amido-1-oxim-Einheit

zu fünfgliedrigen Chelatringen geschlossen werden. Im Falle der Komplexe mit einfachen zweizähnigen 2-Aminoxim-Verbindungen bilden sich dabei bevorzugt Komplexe mit einer quadratisch planaren *cis*-Anordnung zweier Liganden. Diese Koordinationsgeometrie wird durch die thermodynamisch günstige Ausbildung einer intramolekularen Wasserstoffbrückenbindung zwischen einer Oximgruppe des ersten und einer Oximatgruppe des zweiten Liganden stark favorisiert. So konnten *trans*-Bis(2-amino-1-oxim)-Komplexe bisher auch noch nicht isoliert werden.

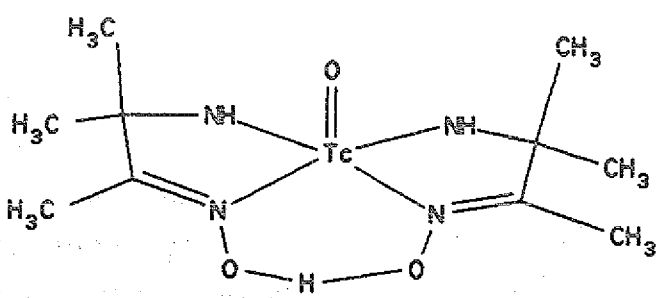


Struktur der (2-Amino-1-oxim)(2-amino-1-oximato)-Komplexe

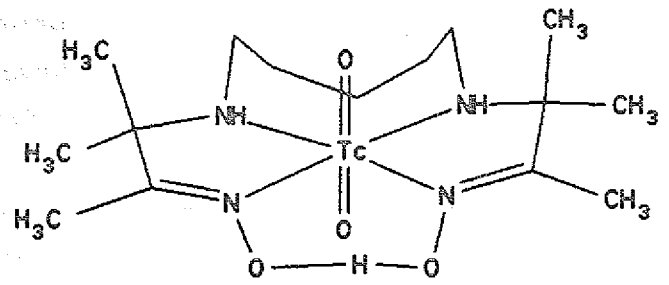
In Analogie zu den *vic*-Dioxim-Komplexen können die Zentralionen in (α-Aminoxim)(α-aminoximato)-Komplexen axial durch einen oder zwei weitere Donorliganden koordiniert werden. Obschon man mehrere Beispiele von *vic*-Dioxim-Komplexen mit drei Liganden kennt, sind

Komplexe mit drei zweizähnigen 2-Amino-1-oxim-Liganden aus der Literatur bisher noch nicht bekannt.

Von Technetium sind ein neutraler Monooxo-bis(3-amino-3-methyl-butanonoxim)(3-amino-3-methyl-butanonoximato) technetium(V)-Komplex (28) sowie neutrale Komplexe des Ethylenaminoxims und dazu homologer Diamindioxim-Liganden mit C_3- bis C_5-Kohlenwasserstoffbrücken bekannt. Diese Komplexe wurden durch Reduktion von Pertechnetat mit Sn(II)tartrat hergestellt. Nach spektroskopischen und röntgenographischen Untersuchungen der ^{99}Tc-Verbindungen enthalten die Komplexe der Diamindioxim-Liganden mit $En(AO)_2$, $Pn(AO)_2$ sowie dessen 6,6-Dimethylderivat $HM(PAO)_2$ (auch HMPAO genannt) ebenfalls eine zentrale Monooxotechnetium(V)-Einheit. Enthalten die Liganden mehr als drei C-Brückenatome, bilden sich Komplexe mit *trans*-Dioxotechnetium(V)-Gruppe. Die Strukturen des $TcOEn(AO)_2$- sowie $TcO_2Pent(AO)_2$-Komplexes (29) wurden röntgenographisch gesichert [115-117].

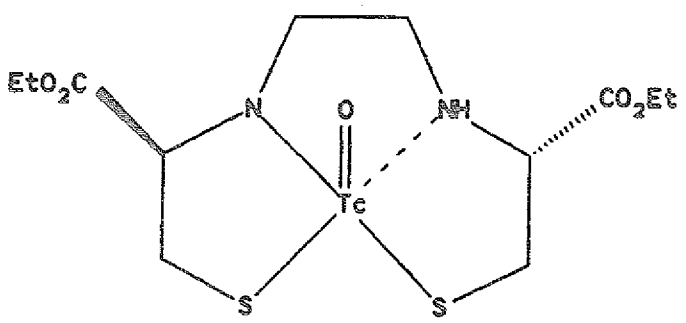


(28)



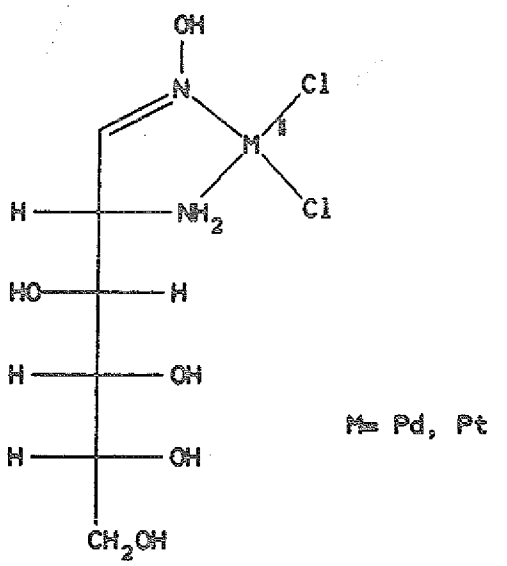
(29)

Da es sich bei den genannten Monooxotechnetium(V)-Komplexen um neutrale Verbindungen handelt, muß geschlossenen werden, daß die Aminogruppen der Liganden bei der Komplexbildung zu Amidgruppen deprotoniert worden sind [117]. Die Ursachen dieses Phänomens, das bei 2-Amino-1-oxim-Komplexen anderer Übergangsmetalle bisher noch nicht beobachtet wurde, sind in der Literatur noch nicht schlüssig erklärt worden. Es ist jedoch interessant, daß auch die Aminogruppen anderer Ligandtypen dazu neigen, beim Einbau in Monooxotechnetium(V)-Komplexe unter Bildung von Neutralkomplexen zu deprotonieren. Bekannte Beispiele sind Monooxotechnetium(V)-Komplexe mit Diaminodithiol-Liganden, wie z.B. dem N,N'-1,2-ethandiylbis-L-cystein-diethylester (L,L-ECD). Der neutrale ^{99m}Tc-L,L-ECD-Komplex wird mit großem Erfolg in der Hirnscintigraphie eingesetzt und ist gut charakterisiert. Gemäß der allgemein akzeptierten Strukturvorstellung (30) ist eines der beiden sekundären Stickstoffatome des komplexgebundenen L,L-ECD deprotoniert.

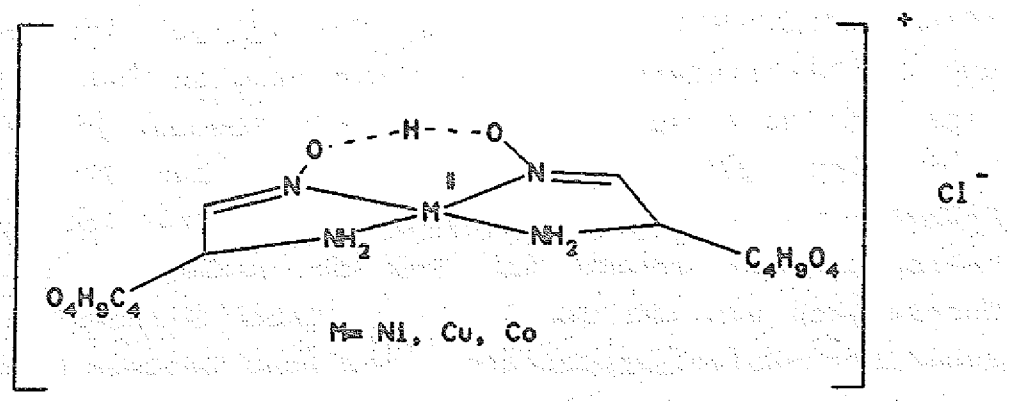


(30)

NAGEL (1984) [118] bzw. NAGEL et.al. (1986) [119] untersuchten die Komplexbildung des Glucosaminoxims mit Nickel(II), Palladium(II), Platin(II), Kupfer(II) und Cobalt(II). Dabei konnten sie Neutralkomplexe der Zusammensetzung $M^{II}Cl_2$(GluAO) (M= Pd, Pt) (31,32) und $Co^{II}Cl_2$(GluAO)(GluAO-H) sowie die Komplexkationen $[M^{II}$(GluAO)(GluAO-H)$]^+$ (M= Ni, Cu, Co) (33-35) isolieren und charakterisieren. Die Komplexe zeigten jedoch nur eine geringe Stabilität in wässriger Lösung. Der Platinkomplex (32) wies in pharmakologischen Tests an Mäusen eine sehr hohe cytostatische Aktivität auf. Wahrscheinlich dringt der Komplex zunächst in die Tumorzellen ein und zerfällt dort unter Bildung toxischer Pt^{II}-Solvolyseprodukte [118]. Über weitere Untersuchungen zur Koordinations- und Bioanorganischen Chemie von Aminoximzucker-Komplexen ist aus der Literatur nichts bekannt.


OH
N
Cl
M
Cl
H
NH2
HO
H
H
OH
H
OH
CH2OH
M= Pd, Pt

(31,32)


O
H
O
N
N
M
NH2
NH2
C4H9O4
O4H9C4
M= Ni, Cu, Co
+
Cl-

(33-35)

D. Experimenteller Teil

1. Ausgangssubstanzen

1.1 Synthese und Charakterisierung der freien Ligandverbindungen

Die Synthese der 2-Amino-2-deoxy-D-hexoseoxime erfolgte ausgehend von den entsprechenden Aminozucker-Hydrochloriden. Der Reaktionsweg wird in Abbildung 6 zusammenfassend dargestellt. D-Galactosaminoxim und Mannosaminoxim waren in der Literatur noch nicht beschrieben worden.

Nach der von WINTERSTEIN (1893) [120] zur Darstellung von D-Glucosaminoxim-Hydrochlorid beschriebenen Methode wurden zunächst je 20 mmol (4,44 g) des jeweiligen Aminozucker-Hydrochlorids (*Aldrich Chemical Company, Deutschland*) mit 48 mmol Hydroxylamin in wässrigem Ethanol umgesetzt. Die dazu benötigten Hydroxylaminlösungen wurden durch Vereinigen ethanolischer Lösungen von 48 mmol (3,31 g) Hydroxylamin-Hydrochlorid und 48 mmol Natriumethylat (aus 1,1 g Natrium und 20 ml Ethanol) hergestellt und durch Filtration vom ausgefallenen Natriumchlorid befreit. Nach Eintropfen der Hydroxylaminlösung in eine konzentrierte wässrige Lösung des Aminozucker-Hydrochlorids wurde die jeweilige Reaktionslösung noch 24 Stunden bei Raumtemperatur gerührt.

Nach langsamem Eindampfen der Reaktionslösung auf dem Wasserbad bei +50°C fiel D-Glucosaminoxim-Hydrochlorid als Kristallbrei an, der aus wässrigem Ethanol in Form kleiner weißer Nadeln mit definiertem Schmelzpunkt kristallisierte. Die Hydrochloride der beiden anderen Aminoximzucker bildeten beim Eindampfen dagegen Sirupe, die auch bei mehrwöchigem Stehen ihrer konzentrierten wässrig/ethano-

lischen oder wässrig/methanolischen Lösungen bei Temperaturen zwischen 25 und 5°C keine Kristalle bildeten. Nachfolgend wurden die in Wasser gelösten Hydrochloride durch Elution über einen aminogruppen-haltigen Anionenaustauscher (*Amberlyst*^{R} *A21*) in die freien Aminoximformen überführt. Die nach dem Eindampfen der basischen Eluate amorph vorliegenden Verbindungen kristallisierten als weiße (D-Mannosaminoxim) bzw. leicht gelb (D-Galactosaminoxim) oder leicht rosa (D-Glucosaminoxim) schimmernde Nadeln oder Prismen aus 95 %igem wässrigem Methanol und wurden im Vakuum über P_2O_5 und Molsieb 3Å getrocknet.

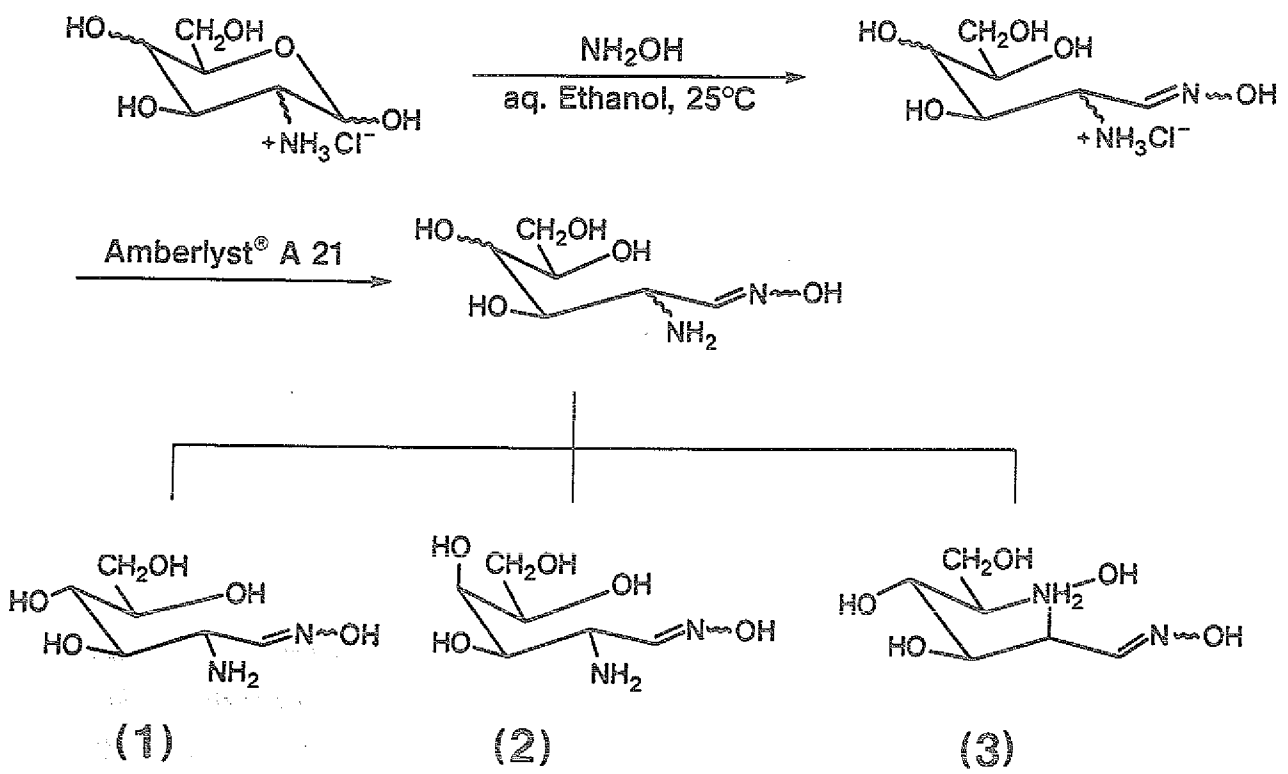


Abb. 6 Synthese der freien Liganden D-Glucosaminoxim, D-Galactosaminoxim und D-Mannosaminoxim.

Die im analytischen Laboratorium der Hoechst AG, Frankfurt/Main, mit einem *Kratos MS 50 Massenspektrometer*

mit Fast-Atom-Bombardment (FAB) Ionisation (Cs^+-Ionenquelle) aufgenommenen Positiv- und Negativionen-FAB-Massenspektren der in Glycerin/Wasser-Matrix gelösten Ligand-Kristalle zeigten in Übereinstimmung mit der erwarteten Summenformel $C_6H_{14}N_2O_6$ (M= 194,19 $g \cdot mol^{-1}$) jeweils die protonierten bzw. deprotonierten Molekülionen $(M+H)^+ = (^{12}C_6{}^1H_{15}{}^{14}N_2{}^{16}O_5)^+$ bei $m/z^+ = 195$ (berechnet: 195,10) und $(M-H)^- = (^{12}C_6{}^1H_{13}{}^{14}N_2{}^{16}O_5)^-$ bei $m/|z^-| = 193$ (berechnet: 193,08). Peaks bei $m/z^+ = 177$ und $m/|z^-| = 175$ konnten den Ionen $(M+H)^+-H_2O$ sowie $(M-H)^--H_2O$ zugeordnet werden. Die Abbildungen 7a und 7b zeigen exemplarisch die FAB-Massenspektren des D-Glucosaminoxims im Bereich der relativen Ionenmassen $m/z^+, |z^-| = 50$ bis $m/z^+, |z^-| = 230$.

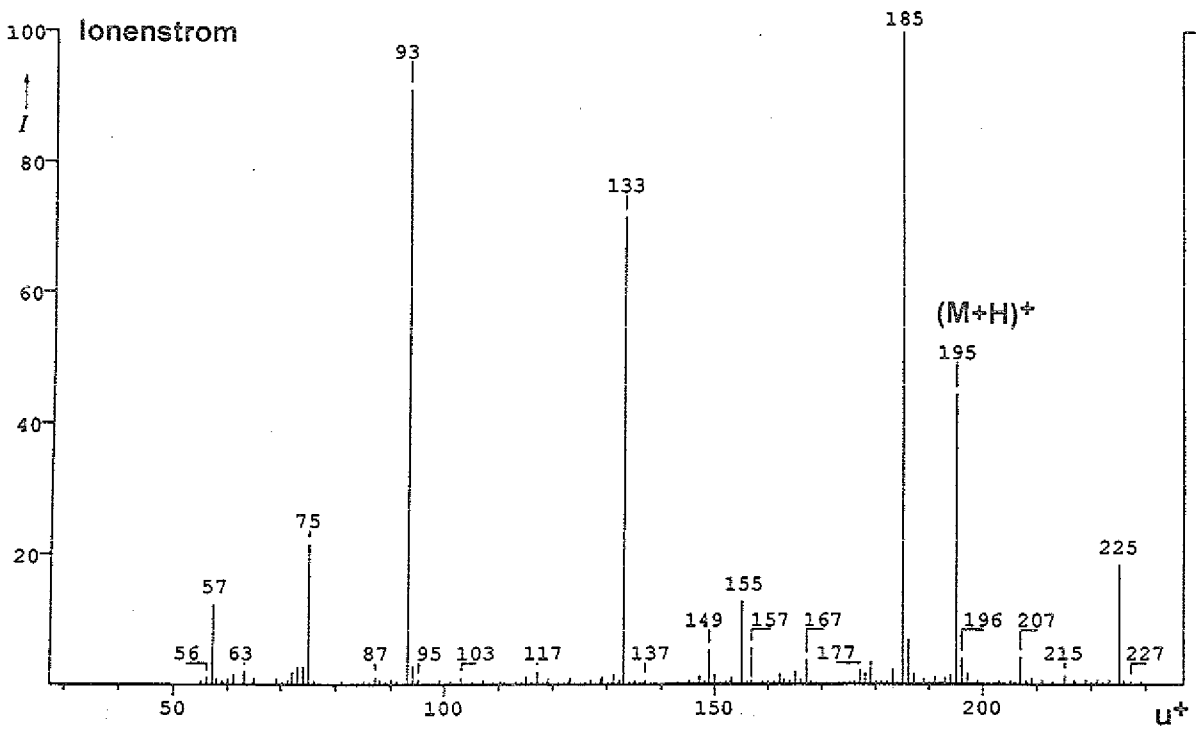


Abb. 7a (+)FAB Massenspektrum des D-Glucosaminoxims im Bereich $m/z^+ = 50-230$ (Matrix: Glyerin/Wasser)

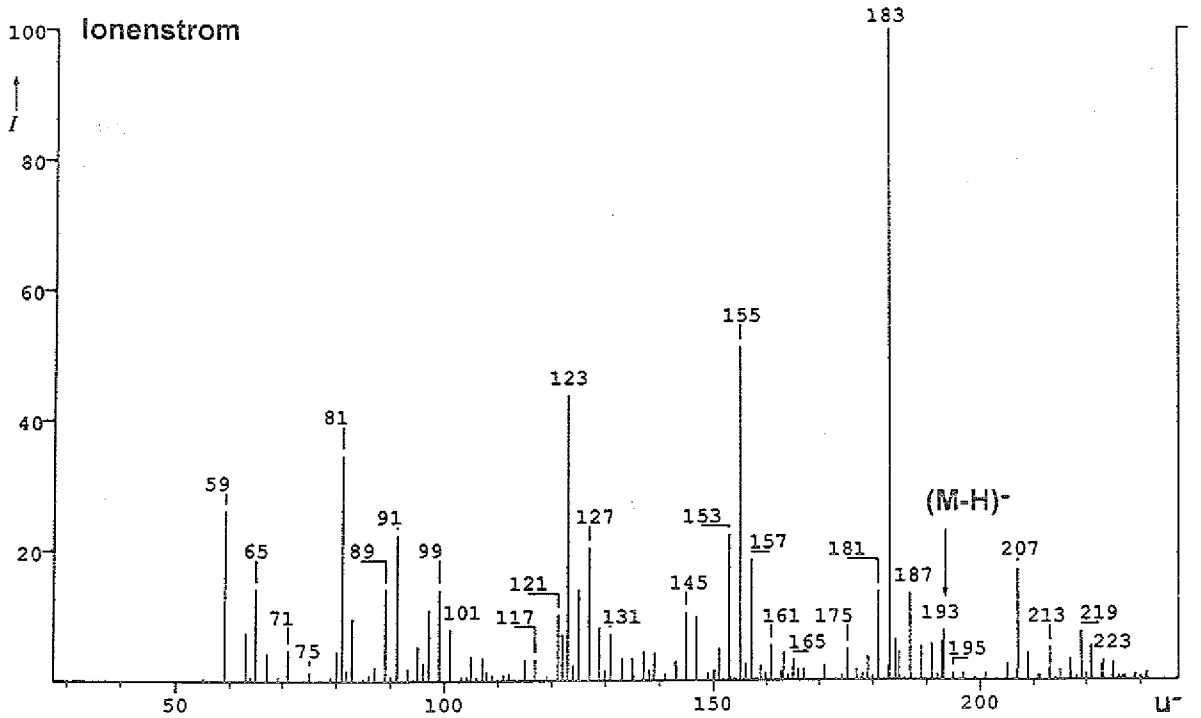


Abb. 7b (-)FAB Massenspektrum des D-Glucosaminoxims im Bereich $m/|z^-| = 50-230$ (Matrix: Glyerin/Wasser)

Weiterhin belegten die (C,H,N)-Elementaranalysen und die genauen Schmelzpunkte bzw. engen Schmelzbereiche den hohen Reinheitsgrad der Ligandverbindungen (Tabelle 1). Der Schmelzpunkt des D-Glucosaminoxim-Hydrochlorids entsprach dabei dem aus der Literatur bekannten Wert von 166°C [120].

Die an KBr-Preßlingen gemessenen Infrarot-Spektren der 2-Amino-2-deoxy-D-hexoseoxime korrespondierten mit der offenkettigen Form der Aminoximzucker. Die in Tabelle 1 angegebenen Zusammensetzungen der Ligandkristalle mit alleinigem oder überwiegendem Anteil an (E)-Isomeren resultieren aus den Ergebnissen von ^{1}H-NMR-Messungen an ihren Lösungen in deuteriertem Dimethylsulfoxid (DMSO-d_6) (s. Kapitel D.3.2.4). Obschon die Kristallisationsbedingungen nicht

Tabelle 1 Elementaranalytische Daten und Schmelzpunkte der freien Liganden

Verbindungen		E-Isomer [%]		C	H	N	Schmelzpunkt
Hexosaminoxime			berechnet für $C_6H_{13}NO_6$	37.11	7.27	14.43	
(E) D-GluAO	P	100	gefunden	37.1 ±0.2	7.47 ±0.17	14.3 ±0.3	133-134°C
	P	100		36.9 ±0.2	7.41 ±0.17	14.6 ±0.3	132-133°C
(E,Z) D-ManAO	P	95	gefunden	37.0 ±0.2	7.36 ±0.17	14.3 ±0.3	144-146°C
(E) D-GalAO	N	100	gefunden	37.3 ±0.2	7.32 ±0.17	14.0 ±0.3	160°C
(E,Z) D-GalAO	P	80	gefunden	37.1 ±0.2	7.23 ±0.17	14.2 ±0.3	158-159°C
D-Glucosaminoxim -Hydrochlorid			berechnet für $C_6H_{14}NO_6Cl$	31.25	6.56	12.15	
(E) D-GluAO·HCl	N	100	gefunden	31.2 ±0.2	6.73 ±0.16	12.2 ±0.2	166-167°C

Kristallhabitus: N = Nadeln
P = Prismen

variert wurden, waren die Isomerenverhältnisse der einzelnen Ligand-Chargen in keinem Fall genau reproduzierbar. So wurde z.B. D-Galactosaminoxim in zwei parallelen Syntheseansätzen einmal als reines E-Isomeres, das andere mal als E,Z-Isomerengemisch erhalten. Beide Produkte unterschieden sich bei innerhalb der Fehlergrenzen gleichen Elementaranalyse-Ergebnissen und gleichen Schmelzpunkten signifikant im Kristallhabitus und wiesen charakteristische Unterschiede im Fingerprint-Bereich ihrer IR-Spektren auf. Wie die ^{1}H-NMR-Spektren der in D_2O gelösten 2-Amino-2-deoxy-D-hexoseoxime zeigten, erfolgte bei allen drei Ligandverbindungen in wässriger Lösung spontan E/Z-Umwandlung unter Einstellung nahezu gleicher E/Z-Verhältnisse von etwa 4:1.

Die Infrarot- und ($^{1}H/^{13}C$)-Kernresonanzspektren des D-Glucosaminoxim-Hydrochlorids und der 2-Amino-2-deoxy-D-hexoseoxime werden im Vergleich mit den Spektren der isolierten ^{99}Tc-Komplexe in den Kapiteln D.3.2.2, D.3.1.4 sowie D.3.2.6 noch näher beschrieben und diskutiert.

Außer in Wasser lösten sich die 2-Amino-2-deoxy-D-hexoseoxime noch gut in Dimethylsulfoxid, wenig in reinem Methanol und waren in Ethanol, höheren Alkoholen sowie anderen mittelpolaren Lösungsmitteln gänzlich unlöslich. Die mit einem *Beckman ActaCIII*-Spektralphotometer im Bereich 300-180 nm aufgenommenen UV-Spektren der wässrigen Ligandlösungen zeigten übereinstimmend jeweils ein Extinktionsmaximum bei 203 nm (ϵ= 2470 $mol^{-1} \cdot l \cdot cm^{-1}$). Die Extinktionsmaxima ihrer Hydrochloride wurden bei 197 nm bestimmt.

1.2 [Tc-99/Tc-99m] Ammoniumpertechnetat

^{99}Tc wurde als [^{99}Tc]Ammoniumpertechnetat (NH_4TcO_4, M= 181,04 $g \cdot mol^{-1}$) von den Oak Ridge National Laboratories (Oak Ridge, Tennesee, USA) bezogen und vor Gebrauch aus Wasser umkristallisiert. Einengen im Vakuumexsikkator über P_2O_5 führte zur Kristallisation farbloser bis leicht rosa gefärbter Prismen, deren Reinheit uv-spektrometrisch durch Bestimmung des Extinktions-koeffizienten einer wässrigen Lösung bei 244 nm (ϵ= 5690 $mol^{-1} \cdot l \cdot cm^{-1}$ [4]) überprüft wurde. Das Infrarot-spektrum eines KBr-Preßlings zeigte eine Tc^{VII}-O-Oberschwingungsbande bei 1860 cm^{-1} sowie die sehr intensive Tc^{VII}=O-Absorption bei 900 cm^{-1}. Die trockene Verbindung wurde in ein Wägeglas gefüllt, eingewogen und im Exsikkator aufbewahrt.

Als Quelle für Technetium-99m dienten "Minitec 2000" $^{99}Mo/^{99m}Tc$-Generatoren der *Squibb Diagnostik von Heyden Deutschland GmbH*. Die Ausgangskonzentrationen für trägerfreie Komplex-Synthesen lagen dabei zwischen etwa 1,5 und 3,0 GBq (≈ 40,5 bis 80,1 mCi) $^{99m}Tc \cdot ml^{-1}$ Generatoreluat.

2. Synthese und Reinigung der Technetium (Tc-99/Tc-99m)-Komplexe

2.1 Allgemeine Vorbemerkungen zur Auswahl des Reduktionsmittels sowie zur Wahl der Reduktionsbedingungen

Bei der Präparation der für die Anwendung am Menschen bestimmten ^{99m}Tc-Radiopharmaka werden gegenwärtig ausschließlich Verbindungen des zweiwertigen Zinns ($SnCl_2$ oder Sn(II)-Komplexe) als Reduktionsmittel eingesetzt. In der weitaus überwiegenden Zahl der Fälle wurde Sn(II) daher auch zur Darstellung von $^{99}Tc/^{99m}Tc$-Kohlenhydrat- oder -Kohlenhydratderivat-Komplexen verwendet. Bei der Reduktion von Pertechnetat mit Sn(II) in Gegenwart von oximhaltigen Liganden ist jedoch die Bildung stabiler Technetium-Zinn-Mischkomplexe nicht auszuschließen [174) 182)]. Wie bereits in den Kapiteln B.2.2.1 und B.2.3.2 dargelegt wurde, sind aber auch einige wenige Arbeiten bekannt, bei denen Pertechnetat in Gegenwart von Polyhydroxyverbindungen mit $NaBH_4$, $Na_2S_2O_4$, oder Cu(I) reduziert wurde. Das letztere schied hier aufgrund der möglichen Bildung von Kupfer-Aminoximzucker-Komplexen allerdings aus.

DeKieviet (1981) [85)] berichtete über die Darstellung eines braunen "^{99}Tc-D-Glucoheptonat"-Rohproduktes unter Verwendung von Natriumtetrahydridoborat als Reduktionsmittel. Reduktionen mit $NaBH_4$ werden bevorzugt im alkalischen Bereich durchgeführt, da die Geschwindigkeit der Hydrolyse von Tetraborat zu Metaborat und Wasserstoff bei konstanter Temperatur mit sinkendem pH-Wert steigt. Dabei geht es gemäß der Halbgleichung Gl.1 unter Abgabe von 8 Elektronen in Orthoborat über.

(Gl.1)

$$BH_4^- + 4\ H_2O + 8\ OH^- \longrightarrow B(OH)_4^- + 8\ H_2O + 8\ e^-$$

Borsäure und Borate reagieren jedoch in wässsriger Lösung mit Di- oder Polyhydroxyverbindungen unter Bildung unterschiedlichster Borsäureester bzw. "Borat-

komplexe" [121-123]. Zwar lassen DeKieviets Ergebnisse bez. der Bindung von Bor an "^{99}Tc-D-Glucoheptonat" keine Rückschlüsse zu, SCHWOCHAU et.al. (1990,1991) [124-125] und SU et.al. (1991) [126] haben jedoch $NaBH_4$ als Reduktionsmittel zur Herstellung von ^{99}Tc/^{99m}Tc-*vic*-Dioxim-Komplexen verwendet und festgestellt, daß Bor bereits unter den von ihnen gewählten milden Synthesebedingungen durch Veresterung von Oximgruppen mit Borsäure bzw. Borat in die Komplexe eingebaut wurde. Daher erschien $NaBH_4$ zur Synthese definierter und borfreier Technetium-α-Aminoximzucker-Komplexe nicht geeignet.

Die Verwendung von Natriumdithionit als Reduktionsmittel zur Darstellung eines "^{99m}Tc-D-Gluconat"-Präparates für Bioverteilungsstudien wurde von VILCEK et.al. (1981) [86] beschrieben. Wie bei Tetrahydroborat erlauben die Geschwindigkeit der Hydrolyse von Dithionit entsprechend Gl.2 und die Folgereaktionen (Gl.3-Gl.5) dabei keine Reduktion in saurer Lösung.

(Gl.2)

$$S_2O_4^{2-} + H_2O \longrightarrow HSO_2^- + HSO_3^-$$

(Gl.3)

$$S_2O_4^{2-} + HSO_2^- \longrightarrow HSO_3^- + S_2O_3^{2-}$$

(Gl.4)

$$S_2O_3^{2-} \longrightarrow SO_3^{2-} + S \downarrow$$

(Gl.5)

$$S_2O_4^{2-} + 4\ OH^- \longrightarrow 2\ SO_3^{2-} + 2\ H_2O + 2\ e^-$$

Vorteilhaft ist, daß sowohl HSO_2^- und HSO_3^-, als auch das nach der Reduktionsgleichung Gl.5 im alkalischen Medium entstehende SO_3^{2-} durch Anionenaustausch leicht aus dem Rohprodukt der Komplexsynthese entfernt werden können. In Vorversuchen traten beim Zutropfen von Dithionit in Wasser zu einer wässrigen Lösung von [^{99}Tc] Ammoniumpertechnetat und einem beliebigen der drei α-Hexosaminoxim-Liganden im Vergleich zu Blindversuchen ohne Liganden spontan gelbe Färbungen auf, die sich rasch zu braun intensivierten. Die zwischen 600 und 300 nm ermittelten Elektronenspektren der Reaktionslösungen zeigten einen Anstieg der Extinktion von 550 nm im sichtbaren zum UV-Bereich und waren bis auf eine schwache Schulter um 360 nm unstrukturiert. Auch nach mehrtägigem Stehen der Lösungen in Gegenwart von Luftsauerstoff war keine Fällung von TcO_2-Hydrat erkennbar. Die eingedampften Lösungen zeigten bei Dünnschichtchromatographie auf *Merck* Kieselgel Si_{60} F_{254}-Platten mit 70%igem wässrigen Ethanol als Laufmittel (T= 25°C) jeweils einen radioaktiven braungelben Fleck mit R_F=0,59 ±0,1 (vgl. $R_F[TcO_4^-]$ > 0,9). Der von DeKIEVIET für den ^{99}Tc-D-Glucoheptonat-Rohkomplex im gleichen Chromatographiesystem gefundene R_F-Wert beträgt 0,65) [85]. Damit konnte auf einen im Vergleich zum Glucoheptonat-Rohkomplex hydrophileren Charakter der α-Hexosaminoxim-Rohkomplexe geschlossen werden. Da die Reduktion anscheinend zu ausreichend stabilen Komplexen führte, wurde $Na_2S_2O_4$ als geeignetes Reduktionsmittel ausgewählt.

Für die Komplexsynthesen erschien es günstig, ein pH-Intervall vom neutralen bis schwach alkalischen Bereich (≈ pH 7,0 bis 8,0) einzuhalten. Aufgrund der genannten chemischen Parameter von Dithionit wird in der Literatur [86] empfohlen, Reduktionen mit $Na_2S_2O_4$ oberhalb von ≈ pH 6 durchzuführen. Im sauren Bereich sollte durch Protonierung der Stickstoffatome der komplexgebundenen und freien α-Hexosaminoxim-Liganden

außerdem die Stabilität der Komplexe bzw. ihre Bildung gehemmt oder inhibiert werden. Darüber hinaus war bei der Wahl der Reaktionsbedingungen zu beachten, daß sich D-Glucosaminoxim nach WOHL (1891) [127] beim Abdampfen in konz. NaOH unter Abspaltung von HCN zersetzt. Eine Zersetzung der α-Hexosaminoxime beim Erwärmen im stärker alkalischen Medium konnte somit nicht ausgeschlossen werden.

2.2 Synthesen der Technetium-99g-α-D-Hexosaminoxim-Komplexe

Die Synthesen der ^{99}Tc-Komplexe erfolgte entsprechend der nachfolgenden allgemeinen Beschreibung unter Argonatmosphäre sowie unter Verwendung von mit Argon begastem Wasser in Reaktionsgefäßen mit Thermostatmantel.

Alle nachfolgend untersuchten Rohkomplexe wurden durch Reduktion von [^{99}Tc] Ammoniumpertechnetat mit Natriumdithionit in neutralen bis schwach alkalischen wässrigen Lösungen (≈ pH 6,9-8,0) hergestellt. Um das pH-Intervall zu halten, wurde unter elektrometrischer pH-Kontrolle parallel zur Zugabe von Natriumdithionit in Wasser oder schwacher Natronlauge noch 0,2 M NaOH in die Reaktionslösungen eingetropft. Diese färbten sich unmittelbar gelb und intensivierten sich rasch zu braun bis schwarzbraun. Zur Vervollständigung der Reaktion wurde dann noch ca. 30 min. bei 30-35°C gerührt.

Anschließend wurden die Reaktionslösungen im Vakuum zu braunen Ölen eingedampft. Diese wurden zur Entfernung bzw. Abreicherung von überschüssigem Pertechnetat und Sulfat in Wasser gelöst und über DOWEX^{R}- oder Amber-

lite^R-Geltyp-Anionenaustauscher in der Cl^--Form in Wasser eluiert. Unabhängig vom Austauschertyp wurden im oberen Bereich der Austauschersäulen geringe Anteile dunkelbraun bis schwarz gefärbter Verbindungen gebunden, die verbleibenden Komplexe passierten das Austauschermaterial jedoch ungehindert. Aus den zur Trockne gebrachten neutralen Eluaten (pH= 7,0-7,2) wurden Natrium- und Ammoniumchlorid durch Lösen der komplexen Bestandteile in Dimethylsulfoxid (DMSO) und Rückfällung aus 4/1 v/v Diethylether/Ethanol weitgehend [C)] abgereichert. Die flockigen braunen Niederschläge wurden mit Diethylether/Ethanol gewaschen und im Vakuum über P_2O_5 und Molsieb 3-5Å getrocknet. Danach lagen hellbraune Pulver vor, deren Reinheit jeweils mittels Hochleistungs-Flüssigkeits-Chromatographie (HPLC) untersucht wurde.

Die nachfolgenden Kapitel D.2.3 und D.2.4 enthalten eine Zusammenfassung der chromatographischen Versuche sowie exemplarische Chromatogramme von ($^{99}Tc/^{99m}Tc$)-Rohkomplexen. Die Bildung des jeweiligen Hauptkomplexes erwies sich als stark pH-abhängig und erfolgte am besten nahe am Neutralpunkt. Mit Rücksicht auf die aufwendige präparative HPLC, wurden die freien Liganden in den (^{99}Tc)-Standardansätzen nicht über den achtfachen molaren Überschuß bzgl. Pertechnetat vorgelegt. Nachfolgend ist eine Standardvorschrift für die Synthesen der ^{99}Tc-Komplexe gegeben. Da das Reduktionsmittel im neutralen Medium -in Konkurrenz zur Reduktion des Technetiums- äußerst rasch hydrolysiert, wurde es in großem Überschuß zugegeben. Damit waren reproduzierbare Ergebnisse sichergestellt. Ansätze mit

---

C)

Die Löslichkeit von NaCl in DMSO beträgt ≈ 0,5 g/100 ml und ist damit im Vergleich zu anderen Alkalisalzen niedrig [128)].

mehr als 20 mg NH_4TcO_4 erwiesen sich in Hinblick auf die nachfolgende Aufarbeitung als ungünstig und waren auch aus Strahlenschutzüberlegungen nachteilig [6].

2.2.1 Standardvorschrift zur Synthese der Tc-99-Komplexe

20 mg NH_4TcO4 (0,11 mmol) und 172 mg des jeweiligen α-Hexosaminoxims (0,88 mmol) werden in 25 ml argonbegastem deionisiertem Wasser gelöst. Der pH-Wert wird mit 0,1 M HCl von pH 8,7 auf pH 7,3 gesenkt, anschließend wird die Lösung kontinuierlich weiter mit Argon gesättigt.

160 mg $Na_2S_2O_4$ (0,92 mmol) werden in 3 ml 0,05 M NaOH gelöst und in die gerührte Pertechnetat/Ligand-Lösung eingetropft. Durch parallele Zugabe von 0,05 bis 0,1 M NaOH wird der rasch sinkende pH-Wert im Neutralbereich gehalten. Dann wird die entstandene dunkelbraune Lösung auf pH 7,0 eingestellt, für 30 min. auf 30-35^{0}C erhitzt, entnommen und nachfolgend im Rotationsverdampfer bei 25-35^{0}C/2-5 mm Hg eingedampft. Der verbleibende ölige Rückstand wird in Wasser aufgenommen.

Anschließend kann ohne Schutzgas gearbeitet werden. Der Anionenaustausch erfolgt am effektivsten in zwei aufeinanderfolgenden Schritten über jeweils 250 x 25 mm Amberlite^{R}IRA 400(Cl). Die Tropfgeschwindigkeit sollte 1/5 s nicht überschreiten. Das neutrale "cognacfarbene" Eluat wird erneut zur Trockne gebracht und danach mit 3 ml DMSO intensiv gerührt. Nach Absitzen des ungelösten NaCl wird die braune DMSO-Lösung nochmals zentrifugiert. Die Fällung des Komplexproduktes erfolgt portionsweise mit je 9 ml 4/1 (v/v) Et_2O/EtOH und maxi-

mal 0,5 ml DMSO-Lösung im Zentrifugenglas, so daß das hellbraune Fällungsprodukt durch Zentrifugieren leicht sedimentiert werden kann. Die jeweils überstehende Lösung wird verworfen, der Niederschlag mit frischem Et_2O/EtOH digeriert und erneut von der zu verwerfenden Lösung abzentrifugiert [D]. Danach erfolgt entweder der nächste Fällungsschritt oder das Trocknen des Produktes.

2.3 Hochleistungs-flüssigkeits-chromatographische Analyse der Tc-99-Rohkomplexe

Der für chromatographische Versuche sowie analytische und präparative Trennungen verwendete Hochleistungs-Flüssigkeitschromatograph wurde mit folgenden Komponenten zusammengestellt:

- *Merck-Hitachi L6000 Hochdruck-Kolbenpumpe*,
- Probenaufgabeventile *Typ Rheodyne* in Metall/Vespel- oder inerter Keramik/Tefzel-Ausführung (für alkalische Eluenten),
- *Knauer-Thermostatenofen* mit Chromatographiesäule(n),
- Brechnungsindex-Detektor, *Typ Knauer Differential-Refractometer*,
- UV/VIS-Detektor mit variabler Wellenlängeneinstellung, *Typ Knauer Spektralphotometer Nr. 87.00*.

D)

Wird zwischen den Fällungen nicht oder nicht ausreichend mit Et_2O/EtOH gewaschen, so können geringe Anteile DMSO im Niederschlag verbleiben. Dieser bildet dann bei der anschließenden Trocknung anstelle eines Pulvers einen zähen Sirup, welcher im Vakuum bereits bei Raumtemperatur zu heftigen Siedeverzügen neigt.

- Gamma-Radioaktivitätsdetektor mit *ORTEC 2 MW2/2 (Tl) NaI-Bohrloch-Kristall* (Kristall: 2·2", Bohrloch: 0.787·1.378"), *ORTEC Modell 276 Photomultiplier mit Vorverstärker*, *ORTEC Modell 925-Scint Hochspannungs- und Verstärkereinheit* (U für ^{99m}Tc= 1,5 kW) sowie *ORTEC Modell 661 Ratemeter*.

Die Chromatogramme wurden jeweils über Analogschreiber erfaßt.

Für die Zusammenstellung der mobilen Phasen wurden chromatographisch reine Lösungsmittel (z.B. *Merck* Lichrosolv^R oder *Riedel deHaen* Chromasolv^R) sowie über Mischbettaustauscher deionisiertes Wasser verwendet. In den Eluenten gelöste Gase wurden durch Austreiben mit Helium entfernt. Um eine Verstopfung der Säulen zu vermeiden, wurden alle Proben vor Injektion in das jeweilige Chromatographiesystem über 3 μm Spartan^R Membranfilter (für Spritzen) filtriert.

HPLC-Systeme zur Analyse von Rohprodukten der Synthesen kohlenhydrathaltiger Übergangsmetallkomplexe wurden in der Literatur bisher nur von DeKIEVIET (1981) [86] sowie YOKOYAMA et.al. (1983) [99] für ^{99m}Tc-Verbindungen beschrieben. So berichteten YOKOYAMA et.al. über die gelungene Separation von $^{99m}TcO_4^-$ und zwei "^{99m}Tc-GBT"-Komplexen mittels einer (G-3000) TSK Gel TypSW-Säule (*Toyo Soda Manuf.Co., Japan*), machten über die verwendete mobile Phase und sonstige chromatographische Bedingungen jedoch keine Angaben. DeKIEVIET fand bei HPLC von "^{99m}Tc-Glucoheptonat"-Präparaten auf einer Reversed Phase C-18-Säule mit 10% Acetonitril in einem wässrigen Puffer vom pH 7.0 als Eluens einen Komplexpeak und schloß auf radiochemische Reinheit. Auch hier fehlen Hinweise auf wichtige Trennparameter, insbesondere Angaben über die Zusammensetzung der Pufferlösung.

Über (G-3000) TSK Gel TypSW-Säulen bzw. ihre Spezifikationen konnten keine Informationen gewonnen werden. HPLC-Systeme mit RP-18- oder den mehr polaren RP-8- und RP-2-Materialien als stationäre Phasen und 10-30 % Acetonitril in Phosphat- oder Barbiturat-Puffern der pH-Werte 7.0-7.5 als Laufmittel erwiesen sich als ungeeignet, ^{99}Tc-D-Hexosaminoxim-Komplexe, Überschußliganden und überschüssiges Pertechnetat voneinander zu separieren. Daher bestand die Aufgabe, einen neuen leistungsfähigen HPLC-Modus zur Analyse und späteren präparativen Abtrennung der zu bearbeitenden Technetium-Komplexe zu entwickeln.

Zur routinemäßigen Analyse von Kohlenhydratgemischen mittels HPLC waren aus der Literatur vier Methoden bekannt, wobei in drei Fällen Ionenaustauscher als stationäre Phasen eingesetzt werden:

- Kohlenhydrate können bei Verwendung von Boratpuffer-Lösungen als mobile Phasen mit starken Anionenaustauschern getrennt werden. Dabei beruht die Trennwirkung auf Überführung der Verbindungen in anionische Boratkomplexe [129].

- Zucker und andere Polyhydroxyverbindungen können der Ionenaustauschchromatographie auch zugänglich gemacht werden, indem man sie mittels stark basischer mobiler Phasen an den OH-Gruppen deprotoniert. Die *Anionenaustausch-Chromatographie* mit Natronlauge an polymeren hochdruck- und hydrolysestabilen Anionenaustauschern in der Hydroxid-Form gilt als z.Zt. empfindlichster und spezifischster HPLC-Modus in der Kohlenhydratanalytik [130-131]. Die mit der Verwendung von Natronlauge als Eluens verbundenen Korrosions- und Detektionsprobleme erfordern allerdings eine möglichst metallfreie Ausführung des HPLC-Systems sowie in der Regel den Einsatz elektrochemischer Detektoren.

- Bei der *"Ligand-Austauschchromatographie"* von ZuKkern auf polymeren Kationenaustauschern mit deionisiertem Wasser als mobiler Phase beruht die Trennung wesentlich auf der Affinität der Hydroxylgruppen zu den ionisch am Austauscher gebundenen Kationen (vorzugsweise Ca^{2+}, Pb^{2+} oder $N(CH_3)_4^+$) sowie ihren Dipol-Dipol-Wechselwirkungen mit Wassermolekülen in deren Hydrathüllen [132]. Der Quellgrad des Austauschers hat einen entscheidenden Einfluß auf die Auflösung der Chromatogramme. Oft sind recht drastische thermische Bedingungen mit Säulentemperaturen bis zu 90°C erforderlich.

- Mehrwertige Alkohole, Monosaccharide und Disaccharide oder andere hydrophile Substanzen, die inter molekulare Wasserstoffbrückenbindungen eingehen können, lassen sich an protonenreichen, mittel bis stark polaren stationären Phasen trennen. Für diese Art der HPLC führte ALPERT (1990) [133] den Begriff HILIC (*"Hydrophilic Interaction Liquid Chromatography", dtsch.: "Hydrophile Wechselwirkungs-Chromatographie"*) ein. Für die HILIC von Zuckern sind chemisch (an Silicagel) gebundene Amino- oder Aminopropylphasen mit Acetonitril/Wasser-Gemischen als mobile Phasen gut geeignet [134-135]. In einigen Fällen wurde der Einsatz von chemisch gebundenen Diol-, Polyol- oder Cyclodextrinphasen in der Kohlenhydratanalytik beschrieben [136-138].

Versuche, die im Applikationslabor der *Millipore Waters (Milligen) GmbH, Eschborn* zur *ligandaustauschchromatographischen* Trennung von D-Glucosaminoxim oder D-Glucosaminoxim-Hydrochlorid und Kaliumperrhenat (anstelle Pertechnetat) auf einer Sugar-Pak^R-Säule durchgeführt wurden, zeigten keine Trennung der Substanzen. Für eigene Versuche zur Analyse der ^{99}Tc-Rohkomplexe

mittels *Ligand-Austauschchromatographie* wurde uns von der Firma *E.Merck, Darmstadt* eine Säule des Typs (RT 300-7,8) Polyspher^R CH PB (300·0,8 mm ID) zur Verfügung gestellt. Polyspher^R CH PB-Säulen sind gepackt mit einem polymeren Kationenaustauscherharz in der Bleiform und werden bei erhöhter Temperatur mit deionisiertem Wasser eluiert. Der empfohlene Fluß liegt dabei zwischen 0,2 und 0,4 $ml \cdot min^{-1}$ bei einem maximalen Säulenrückdruck p_R von 100 bar. Zur *Ionenaustauschchromatographie* wurden mit polymerem Anionenaustauscher Typ Benson BA-X4^R 7-10μm (Carbohydrate-Resin) (40·8 mm ID, 250·8 mm ID) gefüllte Säulen der Firma *CS-Chromatographie Service, Langerwehe* verwendet. *HILIC* erfolgte auf Säulen mit Amino- und Diolphasen der Typen Nucleosil^R $-NH_2$ (250·4 mm ID) und Nucleosil^{R}7OH (40·8 mm ID, 250·8 mm ID) sowie einer Nucleosil^{R}aqua-OH 40-8-Säule (300·7.7 mm ID), die ein hydrophiles Poly (hydroxymethacrylat)-Gel der mittleren Porenweite 300 Å enthielt.

Um mit der bestehenden Anordnung Flüße um 0,2 $ml.min^{-1}$ zu erreichen, mußte die Polyspher^R CH PB-Säule bei p_R= 95-100 bar auf etwa 80°C erwärmt werden. Mit einer Elutionsdauer von mehr als einer Stunde konnte der analysierte ^{99}Tc-D-Glucosaminoxim-Rohkomplex zwar nur unzureichend getrennt werden, gleichwohl ließ das bei Detektion des Brechnungsindexes und der 405 nm Absorption gut reproduzierbare Chromatogramm neben einem breiten Hauptpeak mit Maximum bei 19 min Retentionszeit (75% der 405 nm-Gesamtabsorption) noch je zwei weitere Komplexpeaks bei etwa 30.5 min (15% der 405 nm-Gesamtabsorption) und > 40 min (10% der 405 nm-Gesamtabsorption) erkennen. Überschüssiges Pertechnetat und Überschußligand wurden zusammen mit dem Hauptkomplex eluiert.

Die Anionenaustauschchromatographie auf den "Benson BA-X4^R-Säulen" wurde bei 25-35°C mit 0,05 bis 0,1 N NaOH

als Eluent einer Gesamt-Säulenlänge von 290 mm und Durchflußraten zwischen 1,5 und 5 $ml \cdot min.^{-1}$ unter Detektion des Brechnungsindexes sowie der 405- und 254 nm-Absorptionen durchgeführt. Hier lieferten Komplexe und Überschußliganden jeweils nur einen andeutungsweise aufgespaltenen Kombinationspeak, von dem allerdings Pertechnetat mit steigender Normalität der Natronlauge zunehmend besser separiert werden konnte. Da die Verwendung stärker basischer Eluenten aufgrund erheblicher Detektionsprobleme ausschied, wurde die Methode jedoch nicht weiter verfolgt.

HILIC der Rohkomplexe auf Nucleosil^R $-NH_2$ mit 30 bis 50 Volumenprozent Acetonitril in Wasser erbrachte bei Detektion des Brechungsindexes und der 405 nm Absorption nur jeweils einen schwachen unscharfen Komplexpeak. Wesentlich bessere Ergebnisse konnten dagegen auf den Nucleosil^{R}7OH-Säulen erzielt werden. So zeigten die Rohkomplexe unter gleichen Chromatographiebedingungen Chromatogramme mit analogen Elutionsmustern. Da der Retention ein Verteilungsmechanismus zugrundelag, verbesserte sich die Trennung mit zunehmendem Acetonitrilanteil im Eluenten. Oberhalb 60 Volumenprozent Acetonitril waren die Rohkomplexe jedoch nicht mehr löslich. Mit der Zusammensetzung 50:50 (v:v) Acetonitril/Wasser wurde eine für analytische und präparative Anwendungen noch gleichermaßen geeignete mobile Phase gewählt.

Alle auf Nucleosil^{R}7OH mit 50:50 (v:v) Acetonitril/Wasser durchgeführten Analysen und präparativen Trennungen erfolgten bei 25°C mit in Serie geschalteten Säulen der wirksamen Säulenlänge 540 mm. Unter diesen Bedingungen wurden die höchsten Trennwirkungen bei einer Volumengeschwindigkeit des Eluenten von 2.50 $ml \cdot min^{-1}$ (entsprechend p_R =120 $\pm$5 bar) registriert. Alle Proben wurden in 50:50 (v:v) Acetonitril/Wasser gelöst. Dabei erfolgten allerdings schon

oberhalb von Konzentrationen um 3,0 $mg \cdot ml^{-1}$ Trennungen zwischen organischen Phasen und komplexhaltigen wässrigen Lösungen. Bei Injektion letzterer oder rein wässriger Lösungen der Rohkomplexe in das HPLC-System traten im Eluenten erhebliche Löslichkeitsprobleme auf, die zu sehr schlechten Peakformen und stark verringerter Auflösung führten. Um reproduzierbare Chromatogramme zu erzielen, wurden pro Chromatographiedurchlauf daher nicht mehr als 0,2 mg Rohkomplex in 100 μl mobiler Phase aufgegeben.

Die Abbildungen 8-10 zeigen die 405 nm-Standardchromatogramme der aus Synthesen im pH-Intervall 6.8 bis 8.0 hervorgegangenen Rohprodukte. Diese enthielten vier (^{99}Tc-D-ManAO) bis sieben (^{99}Tc-D-GluAO) Komplexe, deren Retentionszeiten R_T in Tabelle 2 aufgeführt werden. Für alle drei Chromatogramme waren starke Peaks bei R_t= 8,0 bis 8,5 min [B] sowie Doppelpeaks mit Maxima zwischen R_T= 9,8 und 13,3 min [C,D] charakteristisch.

Da die Peakmaxima der freien Liganden und die Maxima der Komplexpeaks [A] und [B] nahe beieinander lagen, enthielten die im kurzwelligen UV-Bereich aufgenommenen Chromatogramme der ^{99}Tc-Rohprodukte stets Ligand/Komplex-Kombinationspeaks, die eine sichere Bestimmung des Anteils an Überschußligand nicht zuließen. Die in Tabelle 2 ebenfalls angegebenen Retentionszeiten der freien Liganden wurden daher mit den reinem Verbindungen bei Detektion der 244 und 215 nm-Absorptionen ermittelt. Bei D-Glucosaminoxim und D-Galactosaminoxim wurden je zwei Peaks gefunden, welche aufgrund ihrer Flächenverhältnisse von 4:1 dem (E)/(Z)-Isomerenpaar zugeordnet werden konnten. Bei D-Mannosaminoxim war in einem breiten Peak keine Isomerentrennung erkennbar. Der bei UV-Detektion sichtbare $^{99}TcO_4^-$-Peak fiel mit R_T= 14,9 min in das Tailing der [C,D]-Kombinationspeaks.

Tabelle 2 Retentionszeiten R_T (in min) der freien Liganden und der bei pH 6.8 bis 8.0 hergestellten ^{99}Tc-Komplexe im HPLC-System Nucleosil^{R}7OH (540·8mm ID)/50:50 (v:v) Acetonitril/Wasser (2,50 ml·min^{-1}).

Rohkomplex	Ligand (244 nm) (E)	(Z)	Komplexpeaks (405 nm) [A]	[B]	[C]	[D]	[E]	[F]	[G]
^{99}Tc-D-GluAO	6.1	8.1	6.4	8.0	12.2	12.9	21.4	24.7	30.6
^{99}Tc-D-GalAO	5.2	8.1	6.4	8.2	12.1	13.3	-	28.2	32.0
^{99}Tc-D-ManAO	7.8		5.7	8.5	9.8	10.1	-	-	-

$R_T(^{99}TcO_4^-)$= 14,9.

Wurde die Reaktionslösung bei der Komplexsynthese konstant auf pH 7.1 ±0.1 gehalten, wurde die Bildung der durch die Peaks [C] bis [G] repräsentierten Komplexe unterdrückt und [B] dominierte in den 405 nm-Chromatogrammen mit jeweils über 90% der Gesamtfläche. Daher war zu prüfen, ob die entsprechenden Komplexe bei trägerfreien Synthesen mit $^{99m}TcO_4^-$ als Hauptprodukte gebildet wurden.

Ergänzende Versuche zur Trennung der Rohkomplexe an Nucleogel^{R}aqua-OH-40-8 mit 20 bis 50%igem wässrigen Acetonitril ergaben keine Trennungen. Unter Verwendung von 45%igem wässrigen Methanol als mobile Phase konnten je drei unsymmetrische Komplexpeaks getrennt werden. Da hier ebenfalls keine Separation der freien Liganden gelang, wurde diese HPLC-Säule nicht weiter eingesetzt.

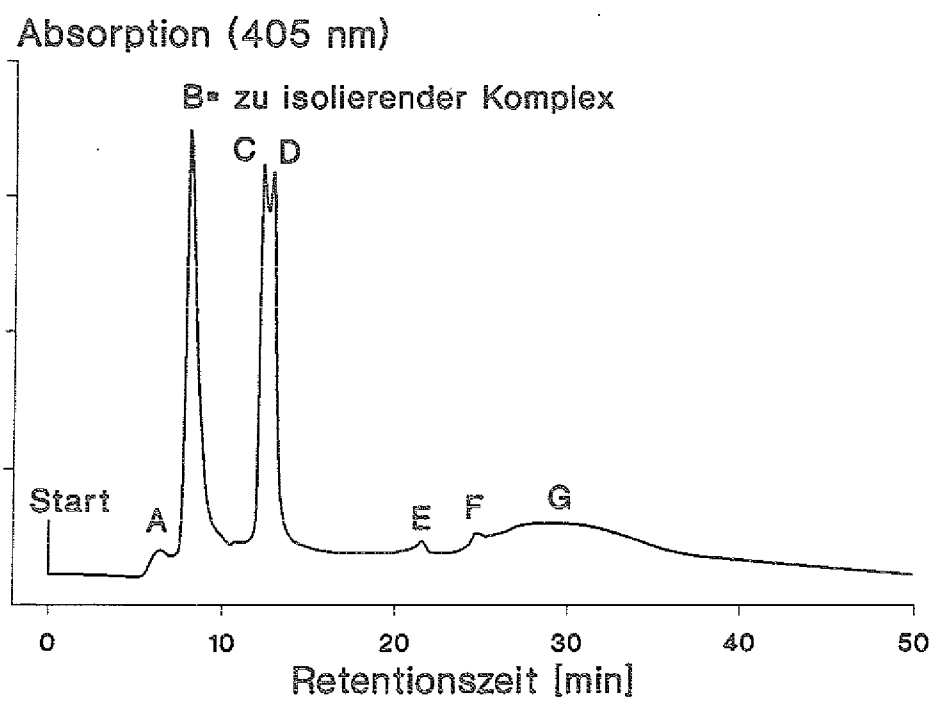
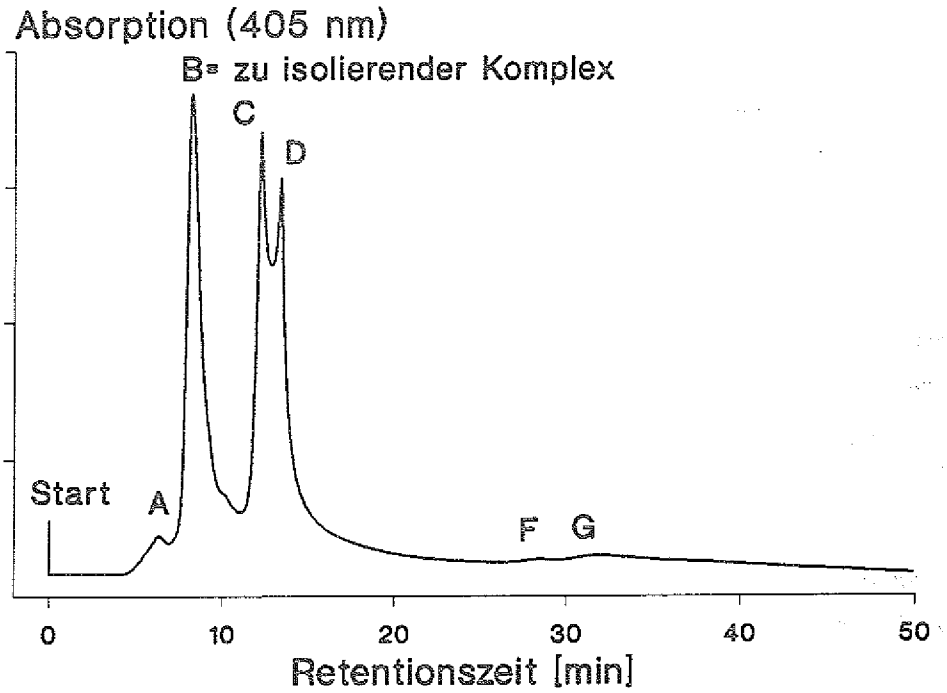


Abb. 8 405-nm Chromatogramm des bei pH 6,8 bis 8,0 hergestellten Tc-GluAO-Rohproduktes.



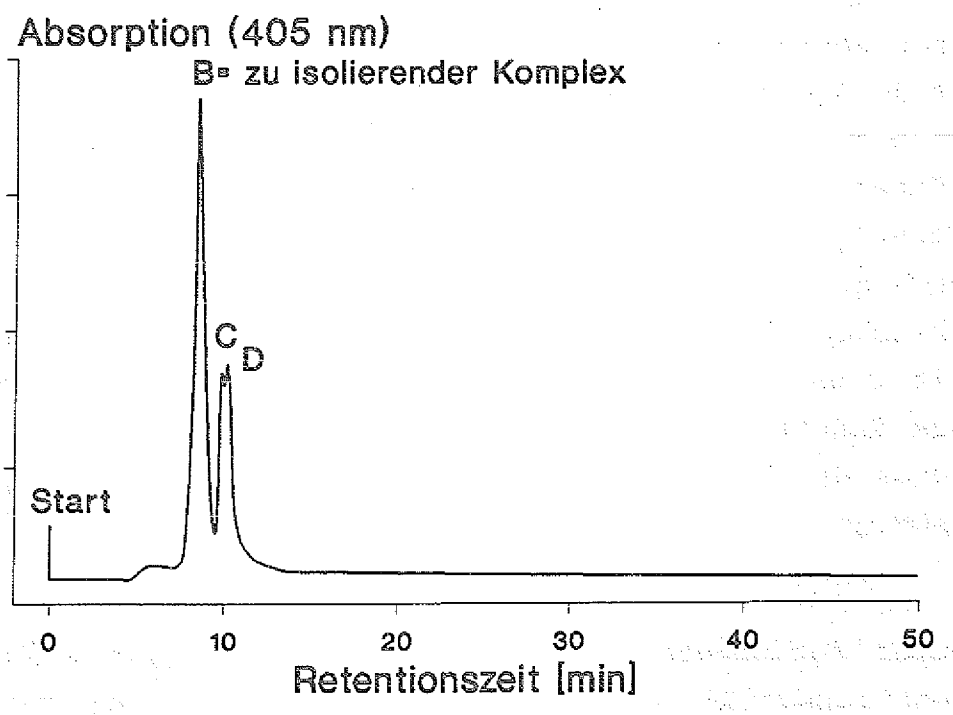


Abb. 9 405-nm Chromatogramm eines bei pH 6,8 bis 8,0 hergestellten Tc-GalAO-Rohproduktes.

Abb. 10 405-nm Chromatogramm des bei pH 6,8 bis 8,0 hergestellten Tc-ManAO-Rohproduktes.

2.4 Synthese und hochleistungs-flüssigkeits-chromatographische Analyse der Technetium-99m-Komplexe

Zur Herstellung der ^{99m}Tc-Komplexe wurden die Grundzüge des für die ^{99g}Tc-Komplexe angewandten Syntheseverfahrens beibehalten. Sämtliche Arbeiten erfolgten hinter 5-25 mm dicken Bleiabschirmungen. Wasser und die verwendete 0,05 M Natronlauge wurden zuvor mit Argon begast. Die Volumina der Reaktionslösungen betrugen jeweils 20 ml.

Etwa 3 ml ^{99m}Tc-Generatoreluat der Aktivität 1,5 bis 3,0 GBq wurden mit einer Lösung von 4,0 bis 8,5 mg (≈ 0,02 bis 0,04 mmol) des jeweiligen 2-Amino-2-deoxy-D-hexoseoxims in 14 ml Wasser vermischt. Anschließend wurde die schwach alkalische Lösung mit 0,05 M NaOH auf pH 8,0 eingestellt und nachfolgend noch 15 min unter Rühren Argon in die Lösung eingeleitet. 3,7 bis 8,7 mg $Na_2S_2O_4$ (≈ 0,02 bis 0,05 mmol) wurden in 3 ml 0,05 M NaOH gelöst und in die Reaktionslösung eingetropft. Bei Absinken des pH-Wertes unterhalb pH 6,9 wurde erneut mit 0,05 M NaOH auf pH 7,1 ±0,1 eingestellt. Nachdem das Reduktionsmittel vollständig zugegeben worden war, wurde die Reaktionsmischung mit 0,05 M HCl bzw. 0,05 M NaOH genau auf pH 7,0 gebracht und noch 10 min bei 38°C gerührt.

Unter fortgesetzter Einleitung des Schutzgases in das Reaktionsgefäß wurde die noch warme Lösung mittels einer Schlauchpumpe bei einer Volumengeschwindigkeit von 1,9 ml/min auf eine Mitteldruck-Chromatographiesäule (ϕ= 7 mm) gegeben, welche 50 mm hoch mit Anionenaustauscher Amberlite^R IRA400(Cl) gefüllt war. Beim Verlassen der Säule wurde die Radioaktivität des Eluates mittels eines Zählrohres verfolgt und über einen Analogschreiber registriert. Anschließend wurde

die Lösung in einem argonbegasten Kolben aufgefangen. Die Säule wurde mit Wasser (≈ 6 bis 10 ml) gespült, bis kein signifikanter Aktivitätsaustritt mehr registriert werden konnte. Dann wurde das Eluat im Rotationsverdampfer bei 35-40°C/ 5-1 mm Hg zur Trockne gebracht.

Der jeweilige Rückstand wurde in 2 ml Wasser gelöst, die Aktivität der Lösung in einem Curiemeter bestimmt und ihre Zusammensetzung mittels HPLC unter Detektion der 140 keV-Strahlung des ^{99m}Tc untersucht. Die zur Trennung der ^{99}Tc-Komplexe auf Nucleosil^{R}7OH verwendeten chromatographischen Bedingungen wurden beibehalten.

Die 140 keV-Standardchromatogramme der verschiedenen Komplexlösungen sind in Abbildung 11-13 gegeben. Sie enthielten bei R_T= 8,7 min (^{99m}Tc-D-GluAO), R_T= 8,8 min (^{99m}Tc-D-GalAO) und RT= 8,9 min (^{99m}Tc-D-ManAO) jeweils Peaks, die -unter Berücksichtigung der längeren Wegstrecke des Eluates zum Radioaktivitätsdetektor- den zuvor mit [B] bezeichneten ^{99}Tc-Komplexen zugeordnet werden konnten. Die chromatographischen Analysen zeigten kein überschüssiges $^{99m}TcO_4^-$ (R_T= 15,4 min). Auch bei den Retentionszeiten der ^{99}Tc-Komplexe [C] bis [G] wurden keine ^{99m}Tc-Peaks gefunden. Schwache Peaks der Komplexe [A] traten nur dann auf, wenn das optimale pH-Intervall kurzzeitig verlassen wurde. Dagegen erschien mit [b] je ein weiterer Komplex, der in den ^{99}Tc-Rohprodukten nicht enthalten war. Er wurde in der Reihenfolge ^{99m}Tc-D-GluAO (δR_T= 0,2 min) << ^{99m}Tc-D-GalAO (δR_T= 0,7 min) < ^{99m}Tc-D-ManAO (δR_T= 0,9 min) zunehmend besser von [B] separiert. Die Selektivität der Reaktion für die Bildung von [B] war entscheidend vom jeweils eingesetzten Ligandisomeren abhängig. Sie lag bei 75% für D-GalAO, 55% für D-ManAO sowie 50% für D-GluAO und konnte über den Reaktionsansatz nicht beeinflußt werden. Bei chromatographischen Analysen,

die in Intervallen von 12 Stunden an den bei Raumtemperatur und ohne Schutzgas aufbewahrten Komplexlösungen durchgeführt wurden, konnten weder Veränderungen ihrer Zusammensetzung, noch die Bildung von Pertechnetat nachgewiesen werden. Versuche die ^{99m}Tc-Komplexe durch HPLC von [b] und Überschußligand abzureichern, führten jedoch nicht zum Erfolg. In den aufgefangenen Produktfraktionen konnten ohne exakt reproduzierbare Zusammensetzung stets weitere Komplexe einschließlich [A] und nachgebildetem [B] nachgewiesen werden.

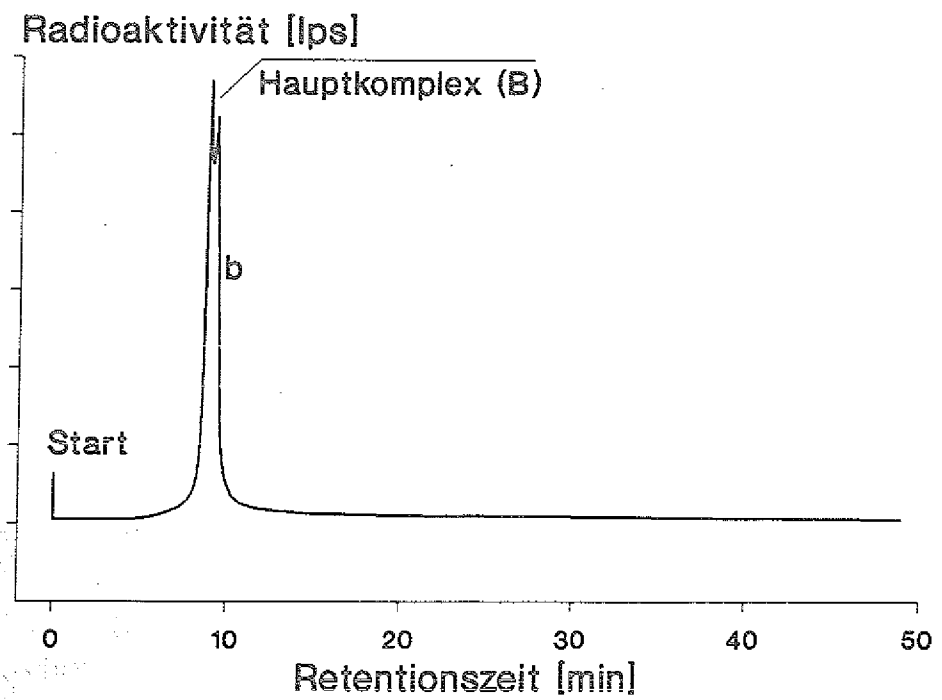
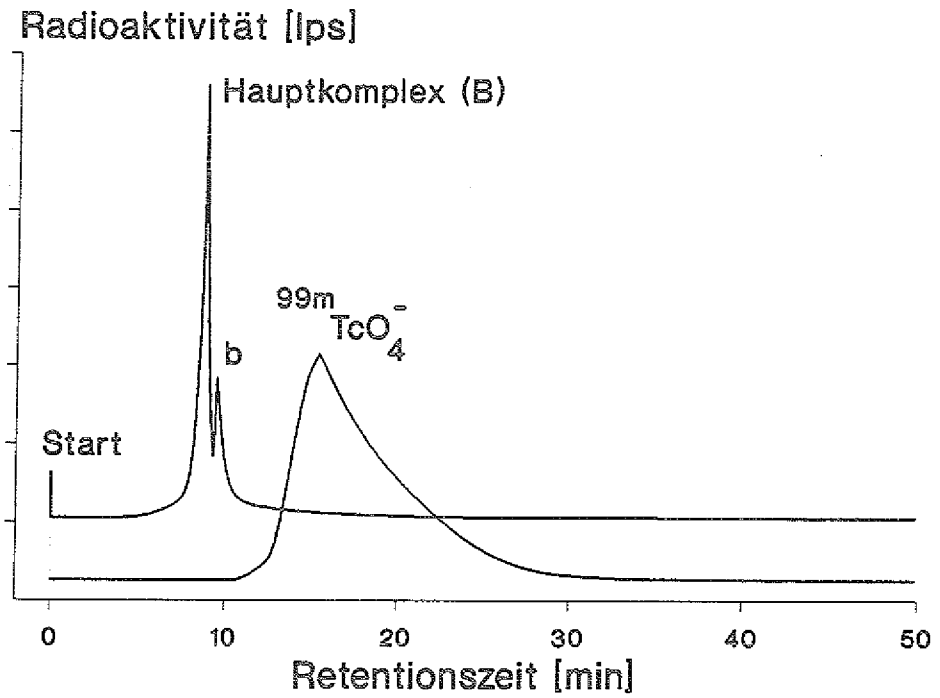


Abb. 11 Radiochromatogramm des ^{99m}Tc-D-GluAO-Rohproduktes.



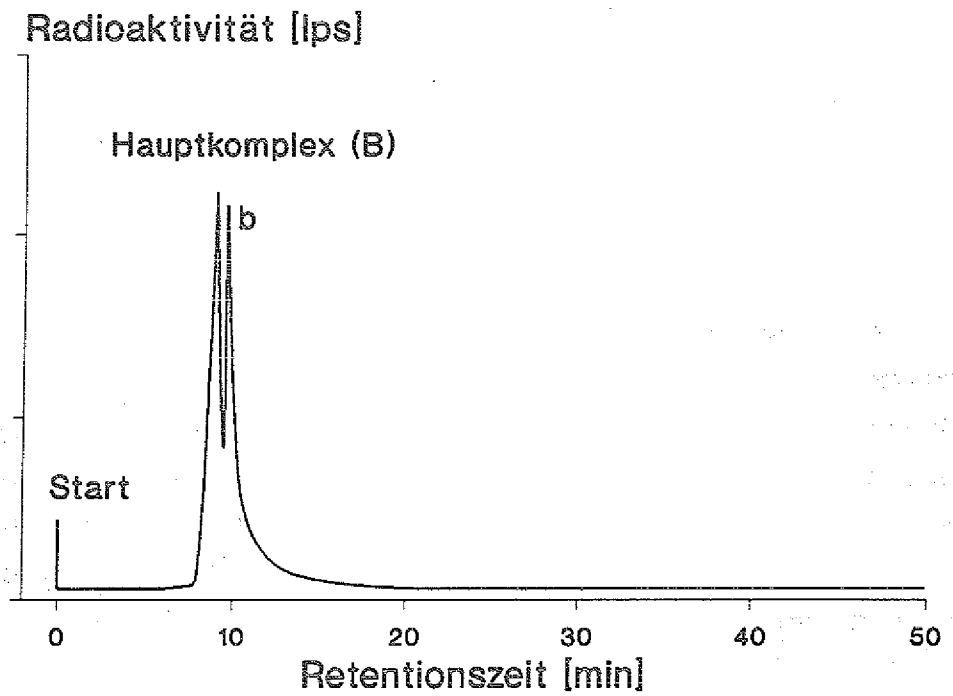


Abb. 12 Radiochromatogramm des ^{99m}Tc-D-GalAO-Rohprodukteses.

Abb. 13 Radiochromatogramm des ^{99m}Tc-D-ManAO-Rohprodukteses.

Die höchsten radiochemischen Ausbeuten für die Summe von [B]+[b] wurden bei den höchsten eingesetzten Mengen von 8,5 mg Ligand und 8,7 mg $Na_2S_2O_4$ gefunden und lagen -unabhängig von der gewählten Ausgangsaktivität- bei 30 +4% A_o. Eine Abhängigkeit der Ausbeute vom jeweiligen isomeren α-Hexosaminoxim war ebenfalls nicht erkennbar. Geringere Reduktionsmittelmengen senkten die Ausbeute allerdings drastisch. So lag sie bei Ansätzen mit m(Ligand)= 8,5 mg und m($Na_2S_2O_4$)= 4,0 mg maximal bei nur 1% A_o!. Offensichtlich verlief die Hydrolyse des Dithionits rascher als die Reduktion des Pertechnetats. Da die ^{99m}Tc-Komplexsynthesen auf Organverteilungsversuche zielten und die ^{99m}Tc-Präparate chromatographisch nicht weiter gereinigt werden konnten, wurde von weiteren Versuchen mit höheren Reduktionsmittel- und Ligandeinwaagen abgesehen.

2.5 Isolierung der Tc-99-Komplexe mittels präparativer HPLC

Da die Komplexe [B] mit hohem Anteil in den ^{99m}Tc-Rohkomplex-Lösungen enthalten waren, wurden sie als ^{99}Tc-Verbindungen mittels HPLC isoliert und untersucht. Die Abtrennungen erfolgten über ein elektromechanisches Dreiwegeventil, wobei die isolierten Fraktionen unter Kühlung mit flüssigem Stickstoff aufgefangen wurden. Die geringe mögliche Probeaufgabekonzentration wurde bereits erwähnt.

Aufgrund der bei den freien Liganden D-Glucosaminoxim und D-Galactosaminoxim zu beobachtenden Peakaufspaltung sowie der gegenüber ^{99}Tc-D-ManAO geringfügig niedrigeren Retention von D-Mannosaminoxim, konnten die Komplexe durch "end-cut" der bei UV-Detektion erschei-

nenden Ligand/Komplex-Kombinationspeaks angereichert werden. Die aufgefangenen Eluate wurden im Vakuum zur Trockne gebracht und unter den gleichen chromatographischen Bedingungen erneut gereinigt. Zur Prüfung auf Überschußligand wurden ^{1}H-NMR-Spektren von D_2O-Lösungen der isolierten Produkte aufgenommen. Diese zeigten charakteristische Unterschiede und Verschiebungen der $C^{1}H$-Signale der freien relativ zur chelatgebundenen α-Aminoxim-Gruppe (s. Kapitel D.3.2.4).

Die entsprechend der aufwendigen Isolierung erzielbaren Komplexausbeuten betrugen etwa 1,0 bis 1,5 mg Komplex pro 10 mg zur Synthese eingesetztem Pertechnetat. Abbildung 14 zeigt beispielhaft das bei 244 nm-Detektion aufgenommene Chromatogramm einer Charge des isolierten ^{99}Tc-D-GalAO-Komplexes.

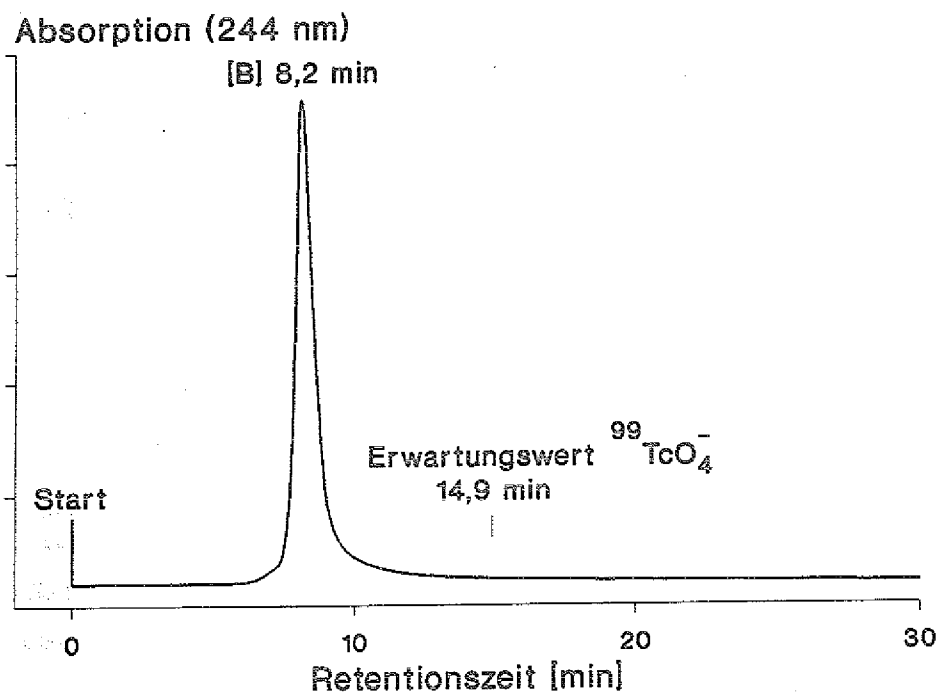


Abb. 14 244-nm Chromatogramm des isolierten ^{99}Tc-D-GalAO-Komplexes [B] in 50:50 (v:v) Acetonitril/Wasser (Fluß: 2,50 ml·min^{-1}) an Nucleosil^{R}7OH (540. 8 mm ID).,

3. Charakterisierung der Tc-99-α-D-hexosaminoxim-Komplexe

Nach Abdampfen des Lösungsmittels im Vakuum bei max. 35°C lagen die durch präparative HPLC abgetrennten ^{99}Tc-D-hexosaminoxim-Komplexe als dunkelbraune harzartige Substanzen vor. Wurden diese in absolutem Methanol suspendiert und im Vakkuum vorsichtig zur Trockne gebracht, so erstarrten sie glasartig in regelmäßigen, stark verzweigten Strukturen. Hochleistungs-flüssigkeits-chromatographische Analysen der gelösten Komplexe vor und nach der Behandlung mit Methanol zeigten jeweils identische Chromatogramme. Die so gewonnenen Feststoffe waren luftstabil und konnten zu hellbraunen Pulvern gemörsert werden, welche im Hochvakkuum weiter getrocknet und anschließend im Vakkuumexsikkator über P_2O_5 und Molsieb 3Å aufbewahrt wurden.

Da bei röntgenographische Untersuchungen nach dem Debye-Scherrer-Verfahren, die mit einem *Siemens Kristalloflex 810* unter Verwendung von Cu-K_α-Strahlung durchgeführt wurden, keine Interferenzlinien beobachtet werden konnten, lagen die pulverförmigen Komplexe amorph vor. Sie lösten sich sehr gut in Wasser, gut in DMSO, mäßig (Tc-D-ManAO) bis schwer (Tc-D-GluAO, Tc-D-GalAO) in Methanol und nicht in weniger polaren Solventien. Ähnlich den freien Liganden hafteten sie infolge statischer Aufladung stark an Laborinstrumenten oder den Wandungen von Glasgefäßen. Um Substanzverluste zu vermeiden und Kontaminationen auszuschließen, wurden sie beim Transfer zwischen Gefäßen daher stets als Suspensionen in absolutem Methanol mittels Pipetten gehandhabt.

In Bestätigung der ^{1}H-NMR-spektroskopischen Analysen zeigten die wässrigen Lösungen der Komplexe beim Ninhydrin-Test auf freie Aminogruppen im Gegensatz zu liganddotierten Komplexlösungen keine Farbreaktion. Mit konzentrierten wässrigen Lösungen von Kaliumhexafluorophosphat, Tetramethylammoniumperchlorat oder Tetraphenylarsoniumchlorid konnten keine Komplexsalze gefällt werden.

3.1 Elektrophoretische Untersuchungen

Die Ladung der ^{99}Tc-Komplexe wurde mittels Flachbett-Papierelektrophorese ermittelt. Zusätzlich wurde der ^{99}Tc-D-Glucosaminoxim-Komplex kapillarzonen-elektrophoretisch geprüft. Dazu wurde von der *DIONEX GmbH, Mülheim/Ruhr* ein DIONEX CES-1-Gerät mit 60 cm langer, polyimidbeschichter Fused-Silica-Kapillarsäule zur Verfügung gestellt. Als einfach positiv geladener Referenzkomplex wurde bei allen Untersuchungen (2-Amino-2-deoxy-D-glucoseoxim)-(2-amino-2-deoxy-D-glucoseoximato)nickel(II) $[Ni_{12}H_{27}N_4O_{12}]^+$ (33) eingesetzt. Die Herstellung des entsprechenden hydratwasserhaltigen Komplexchlorides (Ni-D-GluAO) ist in Kapitel D.3.2 beschrieben.

Um eine gleichmäßige Ionenwanderung zu ermöglichen, verwenden beide elektrophoretische Methoden als Elektrolyten eine Pufferlösung. Bei der Kapillarzonenelektrophorese (*engl. capillary zone electrophoresis = CZE*) [139-140] muß ihr pH-Wert oberhalb von 4 liegen, ihre Molarität sollte 50 $mmol \cdot l^{-1}$ nicht überschreiten. Da im alkalischen Bereich eine Änderung der Komplexladung durch Deprotonierung von Hydroxylgruppen der Liganden in Betracht zu ziehen war und im schwach

sauren Milieu die Protonierung freier Elektronenpaare ihrer Stickstoffatome unter Ladungsänderung oder Bruch von Tc-N-Bindungen nicht ausgeschlossen werden konnte, erschien es vorteilhaft, die Untersuchungen bei pH 7 durchzuführen. Im Neutralbereich puffern die Gemische Na_2HPO_4/KH_2PO_4 (Sörensen-Phosphatpuffer), KH_2PO_4/NaOH, Tris(hydroxymethyl)aminomethan (= TRIS)/HCl oder TRIS/ Maleinsäure/NaOH (Trismaleat-Puffer) sowie einige borathaltige Systeme [141].

Stellvertretend für alle drei ^{99}Tc-Komplexe wurde die Stabilität des ^{99}Tc-D-Glucosaminoxim-Komplexes in 45 $mmol \cdot l^{-1}$ KH_2PO_4/NaOH- und Trismaleat-Puffern vom pH-Wert 7,0 untersucht. Dazu wurden je 0,95 mg des festen Komplexes in 2 ml der Pufferlösung gelöst (c = 0.475 $mg \cdot ml^{-1}$) und anschließend unter Detektion der 405 nm-Absorption im Standard-HPLC-System Acetonitril/Wasser/ Nucleosil^{R}7OH chromatographiert.

Während im Chromatogramm der Lösung im KH_2PO_4/NaOH-Puffer der Peak des ursprünglichen Komplexes gegenüber einigen kleineren Peaks mit höherer Retentionszeit dominierte, konnte der ursprüngliche Komplex in der Trismaleat-Lösung nur mit vergleichsweise geringem Anteil festgestellt werden. Hier erschienen zusätzlich ein starker Peak mit Maximum bei R_T= 9,8 min sowie zwei weitere breite Peaks bei R_T= 10,9 und 15,0 min In Intervallen von zwei Stunden durchgeführte chromatographische Analysen der Phosphatpuffer-Lösungen zeigten eine Abnahme des Peakintegrals um insgesamt 26 %, wobei nach einer Stunde aber noch 82 % des ursprünglichen Wertes erhalten waren. Da in Anbetracht der üblichen Meßzeiten bis maximal 30 min eine ausreichende Komplexstabilität gegeben schien, wurde der 0,045 molare KH_2PO_4/NaOH-Puffer als Elektrolyt für beide Untersuchungsmethoden gewählt.

Die Flachbettelektrophorese erfolgte bei 18°C auf Fließpapier der Marke *Schleicher&Schüll* Nr.0860. Um Oxidationen der ^{99}Tc-Komplexe zu vermeiden, wurde die verwendete *Desaga* Desaphor-Kammer vor und während der Messung kontinuierlich mit Argon gesättigt. Zur Messung wurden konzentrierte Lösungen der drei ^{99}Tc-Komplexe im Trägerelektrolyten sowie eine Lösung des kationischen Ni-D-GluAO als Referenz nebeneinander aufgetragen. Bei Anlegen einer Spannung von 500 V war über eine Meßzeit von 20 min die ohne Zonentrennung und mit einheitlicher Geschwindigkeit erfolgende Wanderung aller Komplexe zur Kathode zu beobachten. Durch Umpolen der Elektroden konnte die Bewegungsrichtung umgekehrt werden. Daher wurde auf Komplexkationen geschlossen.

Die CZE erlaubt eine Bestimmung des Ladungsvorzeichens im Gegensatz zur Flachbett-Papierelektrophorese nur relativ zu Bezugssubstanzen, dafür lassen sich jedoch Trennwirkungen vergleichbar mit der HPLC oder darüber erzielen. Die sich gegenwärtig rasch entwickelnde Methode nutzt den elektroendoosmotischen Effekt, der in Quarzkapillaren oberhalb von pH 4 auftritt und durch die Dissoziation der an der inneren Kapillaroberfläche befindlichen Silanolgruppen verursacht wird. Die so entstehende negative Ladung wird durch die Kationen des Trägerelektrolyten unter Ausbildung einer elektrischen Doppelschicht kompensiert, wodurch die gesamte Flüssigkeitssäule in der Kapillare eine positive Oberfläche erhält. Bei Anlegen einer Spannung wandert sie mit pH-abhängiger Geschwindigkeit und kolbenförmigem Strömungsprofil zur Kathode. Bei den für die CZE typischen Spannungen zwischen 1 und 30 kV (I= 100-1000 μA) überkompensiert dieser *elektroendosmotische Fluß* (Abkürzung: EEO) die elektrophoretische Mobilität negativ geladener Probemoleküle. Da sich die Bewegung von Kationen zum EEO addiert, können an der Kathode in einem Lauf zuerst kationische, dann neutrale und

schließlich anionische Probenbestandteile registriert werden.

Bei einer konstanten Spannung von 18000 V (I= 140 µA) wurden in getrennten Läufen Lösungen von ^{99}Tc-D-GluAO, Ni-D-GluAO und eines doppelt negativ geladenen Farbstoffanions ($[C_{22}H_{14}N_6O_9S_2]^{2-}$, Amidoschwarz 10B) in 0,045 M KH_2PO_4/NaOH-Puffer analysiert. Vor der Messung wurde die Kapillare mehrmals (mittels Heliumüberdruck) mit dem zuvor heliumbegasten Elektrolyt gespült. Der Probenauftrag erfolgte, indem das anodenseitige Ende der Kapillare vor der Messung in ein separates Probengefäß getaucht wurde, wodurch einige nl der jeweiligen Probelösung nach dem Prinzip kommunizierender Röhren durch hydrostatischen Druck in die Kapillare gezogen wurden (Schwerkraft- oder Siphon-Applikation). Zur Detektion wurde der undurchsichtige Polyimid-Mantel der optisch transparenten Quarzkapillare kathodenseitig auf einigen mm entfernt und die Absorption der vorbeigeführten Pufferlösung bei Wellenlängen im sichtbaren Spektralbereich "on-column" mittels einer Glasfaseroptik registriert.

In Abbildung 15 sind die erhaltenen Elektropherogramme vergleichend dargestellt. Der Technetium- und Nickel-Komplex besaßen mit Peakmaxima bei 3,7 min (Ni-D-GluAO) bzw. 3,8 min (^{99}Tc-D-GluAO) nahezu identische Mobilitäten, wohingegen das Farbstoffdianion stark verzögert erst bei 6,6 min erschien. Dies unterstützte die Annahme eines positiven Technetium-Komplexes, wobei die Ladung +1 wahrscheinlich schien. Die leicht unsymmetrische Basis seines Peaks könnte aus der nachgewiesenen Reaktion mit dem Puffer resultieren.

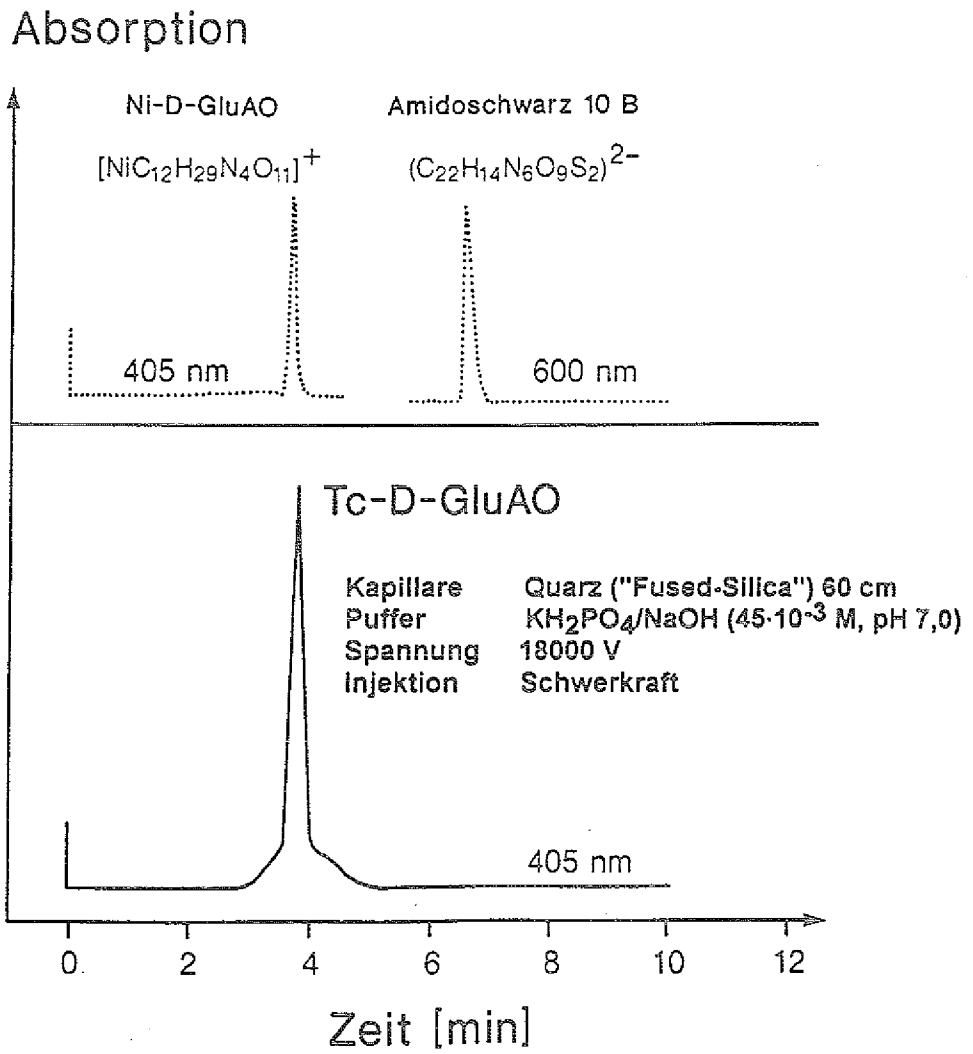


Abb. 15 Kapillarelektropherogramm vom ^{99}Tc-D-GluAO und Vergleichssubstanzen.

3.2 Spektralphotometrische und kernresonanzspektroskopische Untersuchungen an den freien Liganden und Tc-99-Komplexen

Für infrarot- und ^{1}H-NMR-spektroskopische Vergleichsmessungen an den Liganden und Technetium-Komplexen wurden 2-Aminoacetaldoxim (36) (AAO) und das bereits

bei den elektrophoretischen Untersuchungen eingesetzte Ni-D-GluAO $[Ni_{12}H_{27}N_4O_{10}]Cl \cdot H_2O$ benutzt.

In Anlehnung an die Synthese der α-Hexosaminoxim-Liganden wurde (36) durch Oximierung von 2-Aminoacetaldehyd-Hydrochlorid mit der doppelten molaren Menge Hydroxylamin in Methanol/Wasser hergestellt. Nachfolgend wurde das amorphe gelbweiße Rohprodukt in Wasser gelöst und durch Elution über Anionenaustauscher Amberlyst^{R}A21 gereinigt. Das sehr reaktive 2-Aminoacetaldehyd-Hydrochlorid war durch Spaltung von 2-Aminoacetaldehyd-diethylacetal ("Aminoacetal") (37) mit konzentrierter Salzsäure nach der Vorschrift von FISCHER (1893) zugänglich.

Physikalische und spektroskopische Daten von AAO waren aus der Literatur nicht bekannt. Die Verbindung fiel als zähe weiße Substanz an und wurde über ihre IR- und $^1H/^{13}C$-NMR-Spektren identifiziert (s. Tabellen 4, 7 und 10). AAO zersetzt sich bei Raumtemperatur innerhalb weniger Tage unter Schwarzfärbung, ist bei -30°C jedoch einige Wochen haltbar. Wässrige Lösungen erwiesen sich bei Raumtemperatur als nur wenige Stunden stabil. Unter den für die Synthese der ^{99}Tc-α-hexosaminoxim-Komplexe gewählten Bedingungen führte die Reduktion von Pertechnetat mit Dithionit in Anwesenheit von überschüssigem AAO erwartungsgemäß ebenfalls zu gelbbraunen Komplexlösungen. Das getrocknete Rohprodukt löste sich gut in Wasser, jedoch nicht mehr in DMSO und war in Methanol oder unpolareren Lösungsmitteln ebenfalls unlöslich. In seinem IR-Spektrum (KBr) trat bei etwa 1700 cm^{-1} deutlich eine Absorption intramolekularer Wasserstoffbrücken zwischen Oxim- und Oximat-Gruppen der komplexgebundenen AAO-Liganden hervor. Bei 1623 cm^{-1} erschien die um -18 cm^{-1} koordinationsverschobene (C=N)-Streckschwingungsbande. Die Verschiebung liegt in der Größenordnung der bei ^{99}Tc-D-GluAO und Ni-D-GluAO gefundenen Werte. Im

Gegensatz zu den α-Hexosaminoxim-Komplexen wurde das gelöste Rohprodukt aber vollständig auf Geltyp-Anionenaustauschern festgehalten, weshalb keine weiteren Arbeiten zu ^{99}Tc-AAO-Komplexen durchgeführt wurden.

Ni-D-GluAO wurde nach der Vorschrift von NAGEL et.al. (1984,1986) [118-119] durch Reaktion von $NiCl_2$, D-Glucosaminoxim-Hydrochlorid und LiOH im molaren Verhältnis 1:2:3 in siedendem Ethanol gewonnen. Dazu wurden 70 mg $NiCl_2$ (0,54 mmol), 249 mg D-GluAO·HCl (1,08 mmol) und 39 mg LiOH (1,63 mmol) in 50 ml Ethanol in der Siedehitze 4 Stunden unter Rückfluß gerührt. Anders als von NAGEL et.al. beschrieben, gingen dabei nur die Ligandverbindung und das Lithiumsalz vollständig in Lösung, jedoch färbte sich die gelbbraune Suspension mit fortschreitender Reaktion blaß grün. Der nach 4 Stunden entstandene gelbgrüne Niederschlag wurde von der noch heißen Lösung abfiltriert, mit Ethanol und Diethylether gewaschen und im Hochvakuum über Molsieb 3Å getrocknet. Das amorphe Pulver war luftstabil und nur sehr schwach hygroskopisch. Seine ^{1}H-NMR-Spektren und charakteristischen IR-Banden (s. Tabellen 7 und 8) entsprachen den Literaturwerten. Wie die ^{1}H-NMR-Spektren belegten, waren die jeweils dargestellten Chargen frei von Überschußligand.

3.2.1 Absorptionsspektren wässriger Komplexlösungen im sichtbaren und ultravioletten Spektralbereich

Die Elektronenspektren der in Verdünnung goldgelben wässrigen ^{99}Tc-α-D-hexosaminoxim-Komplexlösungen wurden mit einem *Beckman Acta CIII* sowie einem *Cary Nr.14*

Recording Spectrophotometer bei wirksamen Schichtdicken von 1,000 cm zwischen 700 und 180 nm gegen Wasser registriert. Sie waren im sichtbaren Spektralbereich analog und im ultravioletten Bereich nahezu identisch. Abbildung 16 zeigt exemplarisch das Spektrum des Tc-D-Galactosaminoxim-Komplexes. Ein hier gut aufgelöstes Maximum bei 270 nm erschien in den Spektren der beiden anderen Komplexe nur als Schulter. In Tabelle 3 sind die Absorptionslagen der drei Komplexe vergleichend aufgeführt. Die charakteristischen Banden des Pertechnetats bei 287 nm und 244 nm traten in allen Fällen nicht in Erscheinung.

Die Komplexlösungen absorbierten im Wellenlängenbereich unterhalb 640 nm. Anhand relativer Minima bei ≈ 490, ≈ 430 und ≈ 370 nm waren im Absorptionsbereich von d-d-

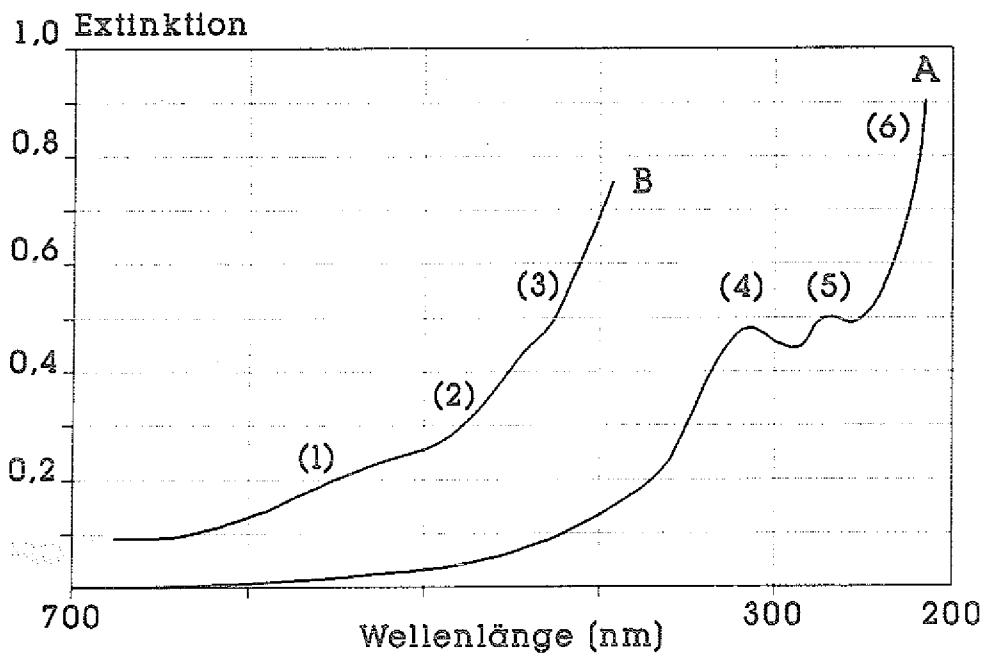


Abb. 16 VIS/UV-Spektrum von 99Tc-D-GalAO in Wasser. Bei höherer Konzentration (B) erscheinen zwischen 650 und 450 nm zwei Banden.

Tabelle 3 Absorptionsmaxima und Schultern (sh) in den VIS/UV-Spektren der Tc-α-D-hexosaminoxim-Komplexe

Komplex	Absorptionslagen [nm]					
Tc-D-GluAO	640-495$_{sh}$	495-425$_{sh}$	425-375$_{sh}$	300	290-265$_{sh}$	225
Tc-D-GalAO	640-490$_{sh}$	490-435$_{sh}$	435-370$_{sh}$	310	268	187
Tc-D-ManAO	640-490$_{sh}$	490-430$_{sh}$	490-374$_{sh}$	310	286-264$_{sh}$	215

Übergängen drei zu niedrigeren Wellenlängen hin breit ansteigende wenig ausgeprägte Banden zu erkennen. Diese verursachten die gelbe Färbung der Lösungen. Maxima bei 300 nm könnten Übergängen der Bindungselektronen zwischen Liganden und Zentralatom zuzuordnen sein, wohingegen Absorptionen bei 270 nm sowie die kurzwelligsten und intensivsten Banden um 200 nm zu Übergängen innerhalb der Liganden gehören sollten. BURGER et.al. (1965) [142] brachten 270 nm-Banden in den UV-Spektren der von ihnen untersuchten *vic*-Dioxim-Komplexe mit Übergängen innerhalb komplexgebundener Oximatgruppen in Verbindung. Im Rahmen unserer vorhergehenden Arbeiten zu ^{99}Tc-*vic*-Dioxim-Komplexen konnten wir ebenfalls feststellen, daß die Absorptionen deprotonierter Oximgruppen der freien Liganden in den UV-Spektren der Komplexe erhalten blieben. Somit könnten die UV-Spektren der Tc-α-hexosaminoxim-Komplexe auf intramolekulare Wasserstoffbrückenbindungen als wichtiges Strukturelement hinweisen.

Die Elektronenspektren der wässrigen Komplexlösungen ließen bereits eine Stunde nach Auflösen der Komplexe Intensitätsverringerungen der 300-310 nm Absorptionsmaxima erkennen. Mit zunehmender Zeit war außerdem eine hypsochrome Verschiebung dieser Maxima zu verzeichnen. Abbildung 17 macht dies anhand des 300-700 nm Spektrums von ^{99}Tc-D-GalAO deutlich. Die Veränderungen in den kürzerwelligen Bereichen der jeweiligen Spektren waren weniger signifikant. Bei Messzeiten bis 48 Stunden konnte insbesondere kein Anstieg der 244 nm-(Pertechnetat)-Absorption festgestellt werden. In den ^{1}H-NMR-Spektren von D_2O-Lösungen der Komplexe wurden nach den gleichen Zeiträumen nur schwach die Signale der freien Liganden deutlich. Die HPLC der Lösungen zeigte jedoch die fortschreitende Bildung der mit [A] bezeichneten Komplexe geringerer Retentionszeit.

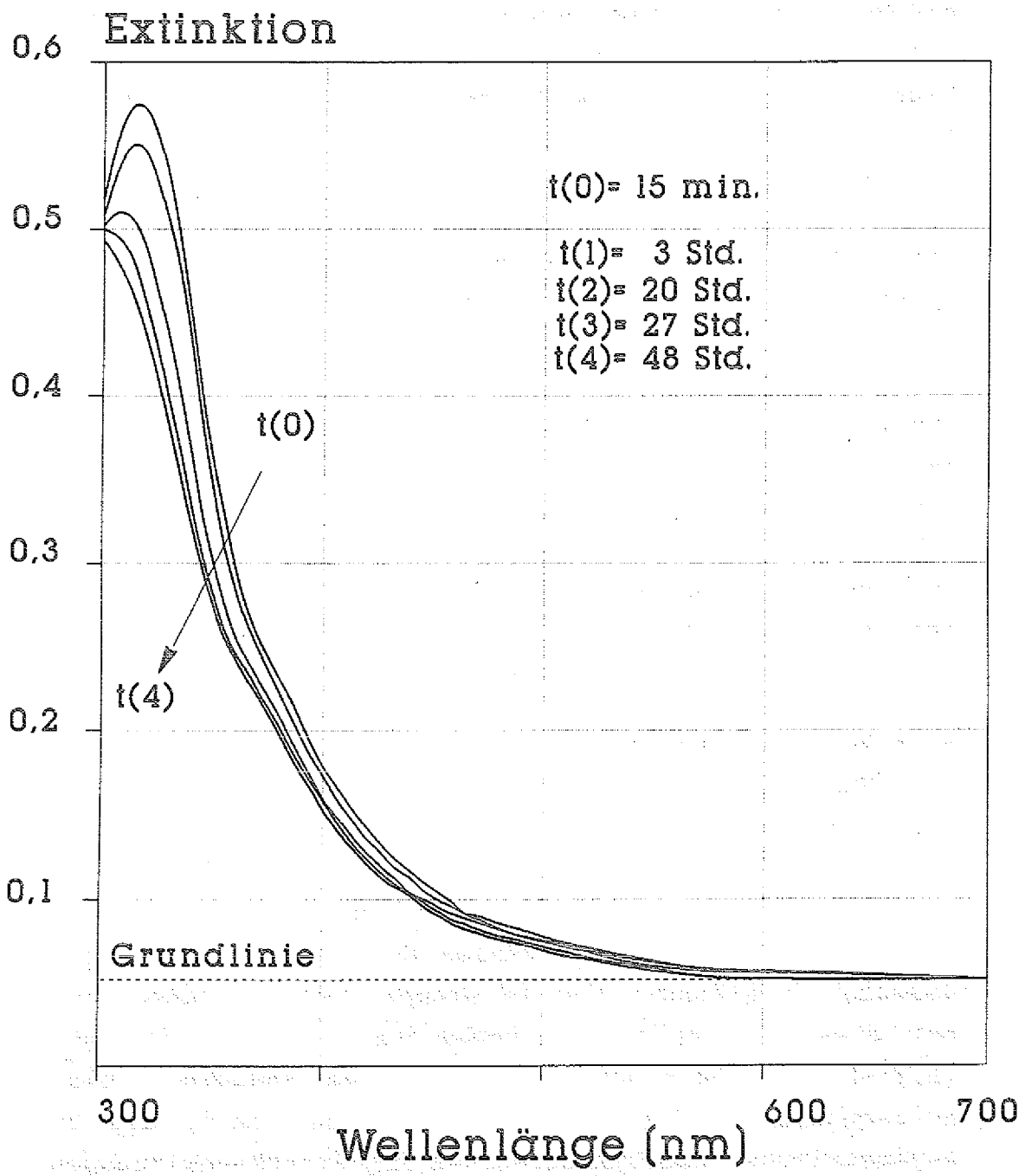


Abb. 17 Zeitabhängige Veränderungen der 300-700 nm-Absorptionen einer wässrigen Lösung des ^{99}Tc-D-Galactosaminoxim-Komplexes.

3.2.2 Infrarotspektroskopische Untersuchung der Liganden

Die infrarotspektroskopischen Untersuchungen der freien α-D-Hexosaminoxim-Liganden sowie des D-Glucosaminoxim-Hydrochlorids und 2-Aminoacetaldoxims wurden mit einem *Nicolet 320-FT-IR-Spektrometer* und/oder einem *Shimadzu IR-460 Spektralphotometer* an KBr-Preßlingen im Bereich 4000-400 cm^{-1} gegen KBr bzw. Luft durchgeführt. Abbildung 18 zeigt das Infrarotspektrum von kristallinem (E)-D-Glucosaminoxim. Wurden die Liganden im amorphen Zustand gemessen, so verbreiterten sich die Absorptionen und die Spektren zeigten kaum noch scharfe Banden. Insbesondere war die $(C=N)_{as}$-Bande mit einer keilförmigen Struktur viel stärker als bei den kristallinen Liganden ausgeprägt. Die Lagen der charakteristischen Absorptionsbanden aller Liganden sind in Tabelle 4 aufgeführt. Wie dort ersichtlich ist, wiesen die Infrarotspektren der (E)- und (E,Z)-Chargen des D-Galactosaminoxims deutlich erkennbare Unterschiede im "Fingerprint-Bereich" unterhalb 1500 cm^{-1} auf.

Alle Verbindungen zeigten ein sehr breites und intensives Überlagerungsgebiet von OH- und/oder $NH_{(2)}$- sowie $CH_{(2)}$-Banden im Bereich ≈ 3800-2200 cm^{-1}, aus dem mehrere Maxima hervorragten. In den Spektren von (E)-D-Glucosaminoxim und (E,Z)-D-Galactosaminoxim konnten die nicht überlagerten Bandenmaxima der Streckschwingungen assozierter alkoholischer OH-Gruppen von Kohlenhydraten bei etwa 3400 cm^{-1} [143] beobachtet werden. (E)- und (E,Z)-D-Galactosaminoxim zeigten eine andeutungsweise aufgespaltene Bande bei 3335 bzw. 3340 cm^{-1}, die zu asymmetrischen und symmetrischen NH_2-Streckschwingungen gehört. Maxima bei 3290 cm^{-1} (D-GalAO) bis 3200 cm^{-1} (AAO) waren der OH-Streckschwingung der Oximgruppe des jeweiligen (E)-Isomeren zuzuordnen. Bei (Z)-α-Aminoximen verursacht die mit der Ausbildung einer

Tabelle 4 Charakteristische IR-Absorptionen der α-D-Hexosaminoxime im Wellenzahlbereich 4000-400 cm^{-1}

4000-1910 cm^{-1}

Verbindung	st(OH)		st(NOH)$_E$			st(CH,CH$_2$)			st(NOH)$_Z$	
(E,Z)AAO	-	-	3200	-	3165	3090	3000,2900	-	2760	2620
(E) D-GluAO	3405	-	3250	-	3135	-	2975,2920,2875	2815	2710	-
(E) D-GalAO	-	3335	3285,3265		3135	-	2980, - 2850	-	-	-
(E,Z)D-GalAO	3390	3340	3290	-	3105	-	2945,2910	-	2730	2650
(E,Z)D-ManAO	-	3310		-	3125	-	2975,2930	2820	2745	2680
(E) D-GluAO·HCl	-	3340	-	-	3160	3100	2995,2940,2865	-	(2750)	-

1910-1300 cm^{-1} *Fingerprint-Region* ——>

Verbindung	C=H··H	NH_3^+	st(C=N)$_{as}$					δ(CH$_2$)$_{ip.}$		
(E,Z)AAO	-	-	1641^m	-	1583^m	1531^m	-	1455	1409^m	1395^m
(E) D-GluAO	1903^w	-	1651^m	1623^m	$(1580)^w$	$(1540)^m$	1508	1453^m	1417^m	1395^m
(E) D-GalAO	1904^w	-	1654^m	1607^m	1579^m	1539^m	1502	$(1456)^m$	1423^m	-
(E,Z)D-GalAO	-	-	-	-	1581^m	-	-	1475^m	(1421),1387,1375^m	
(E,Z)D-ManAO	1890^w	-	1653^m	1612	1578^m	1540^m	1505	1455	1420	1399^m
(E) D-GluAO·HCl	-	2040-1940^w	$(1630)^m$	1599	$(1578)^m$	-	1511	1455	1409^m	1373^m

xxxx= stark, m= mittelstark, w= schwach, (xxxx)= Schulter

1300-880 cm^{-1}

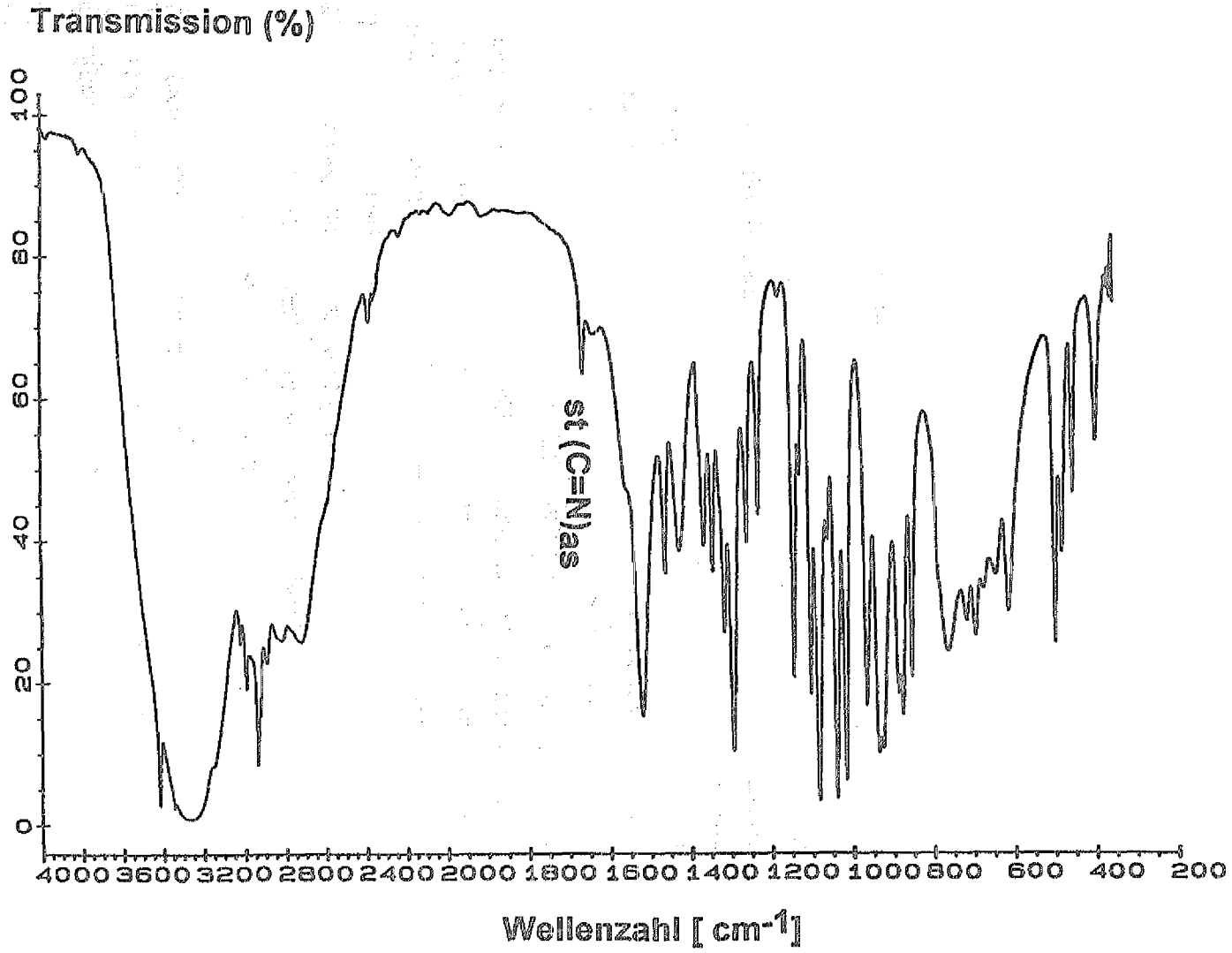
Verbindung											
(E,Z)AAO	1285	1252^{m}	1118^{m}	-	1060	991^{m}	963	-	$(909)^{m}$	-
(E) D-GluAO	1287	1254^{m}	1124^{m}	1097,1077,1010	1056	-	959	921^{m}	894^{m}	$(881)^{m}$
(E) D-GalAO	1272	1260^{m}	1120^{m}	1101,1072,1021	1046	980^{m}	959	-	909^{m}	880^{w}
(E,Z)D-GalAO	1289^{m}	1269^{m}	1117^{m}	$1090,1072^{m}$	$1039,1013^{m}$	982^{m}	948^{m}	922^{m}	-	-
(E,Z)D-ManAO	1270	1250^{m}	1128^{m}	1093, - ,1019	1061	-	961	-	-	890^{m}
(E) D-GluAO·HCl	1296	1267	$(1132)^{w}$	1096,1078,1005	1034	973	-	929^{m}	894^{m}	-

880-400 cm^{-1}

Verbindung													
(E,Z)AAO	-	839	-	753^{w}	-	696^{m}	-	656^{m}	-	567^{m}		453	-
(E) D-GluAO	871	848	-	758	712	691	672^{m}	642	610	-	519^{w}	449^{m}	420^{w}
(E) D-GalAO	871^{m}	-	785	749	-	-	668^{m}	-	-	-	519^{m}	-	-
(E,Z)D-GalAO	864^{m}	-	-	760^{m}	-	692^{m}	-	651^{m}	610^{m}	-	519^{m}	448^{m}	412^{m}
(E,Z)D-ManAO	869	-	790	763^{s}	-	-	-	645	598	557^{m}	517^{m}	441^{m}	413^{m}
(E) D-GluAO·HCl	869	-	790	750^{s}	-	-	-	651	-	-	516	463^{m}	415^{m}

xxxx= stark, m= mittelstark, w= schwach, (xxxx)= Schulter

Abb. 18 Fourier-Transform-IR-Spektrum von kristallinem D-Glucosaminoxim (KBr-Preßling).



intramolekularen Wasserstoffbrücke zwischen Oxim- und Aminogruppe verbundene Lockerung der NO-H-Bindung eine Verbreiterung und starke bathochrome Verschiebung dieser Absorption. UHLIG et.al. (1984) [144]) lokalisierten die $st(OH)_{NOH}$-Absorptionen cyclischer sekundärer (Z)-α-Aminoxime bei 2700 cm^{-1}. Den entsprechenden Schwingungen des (Z)-2-Aminoacetaldoxims und der (Z)-α-D-Hexosaminoxime wurden daher Banden bei 2620-2680 cm^{-1} zugewiesen. Von den verbleibenden Banden fallen Maxima bei 2850-2930 cm^{-1} in das Absorptionsgebiet von $CH_{(2)}$-Valenzschwingungen. Maxima bei 2945-3000 cm^{-1} sind wahrscheinlich ebenfalls diesem Schwingungen zuzuordnen. Andere nicht identifizierte Banden gehören entweder zu weiteren Schwingungen von $NH_{(2)}$- oder unterschiedlich assozierten alkoholischen OH-Gruppen [143-144].

Die asymmetrischen C=N-Streckschwingungen offenkettiger Polyhydroxyaldoxime oder -ketoxime absorbieren im allgemeinen im Frequenzbereich 1690-1640 cm^{-1} [145-146]. Bei Gemischen isomerer E/Z-Aldoxime ist dabei eine Bandenaufspaltung in $st(C=N)_E$ und $st(C=N)_Z$ möglich. Sie wird in der Literatur jedoch nur in wenigen Fällen beschrieben. NAGEL et.al. gaben für eine Nujol/Hostaflon-Verreibung von D-GluAO mit 70% E- und 30% Z-Isomerem eine mittelstarke st(C=N)-Bande bei 1655 cm^{-1} an [119]. Bei den eigenen IR-Messungen konnte ebenfalls in keinem Fall eine Aufspaltung der $st(C=N)_{as}$-Absorption festgestellt werden. Die asymmetrischen $st(C=N)_E$- sowie $st(C=N)_{E,Z}$-Kombinationsbanden wurden bei 1651 (D-GluAO), 1653 (D-ManAO) sowie 1654 cm^{-1} (D-GalAO) lokalisiert und waren von schwacher (D-GalAO) bis mittelstarker Intensität (D-GluAO, D-ManAO).

Neben den mittelstarken Absorptionen der CH- und CH_2-Valenzschwingungen um 2900 cm^{-1} erschien die mittelstarke Banden der asymmetrischen in-plane-Deforma-

tionsschwingungen der jeweiligen CH_2-Gruppen bei 1455-1453 cm^{-1}.

Kohlenhydrate zeigen im allgemeinen starke st(CO)-Banden in der 1160-1000 cm^{-1} Region [147]. Die in den IR-Spektren von D-Glucosaminoxim, D-Galactosaminoxim, D-Mannosaminoxim und D-Glucosaminoxim-Hydrochlorid erscheinden Bandencluster zwischen etwa 1100 cm^{-1} und 1000 cm^{-1} fehlten im Spektrum des 2-Aminoacetaldoxims und konnten daher den C-O-Streckschwingungen der CH_2OH- und CHOH-Gruppen zugeordnet werden.

Die IR-Spektren der Verbindungen ließen eine eindeutige Identifizierung von Absorptionen der asymmetrischen und symmetrischen NO-Streckschwingungen nicht zu. Die von NAGEL et.al. getroffene Zuordnung der 1097 cm^{-1} Bande des D-Glucosaminoxims zu einer symmetrischen NO-Streckschwingung ist aufgrund der vorhergehenden Feststellungen zweifelhaft. Für die Zuordnung dieser Schwingung bietet sich besser eine Bande bei 959-963 cm^{-1} an. Die entsprechende Absorption des D-Glucoseoxims wurde von FINCH et.al. (1975) [148] bei 980 cm^{-1} lokalisiert. Hier absorbiert D-Mannosaminoxim jedoch nicht. Für die weitere Zuordnung von N-O-Schwingungen der individuellen α-Hexosaminoxime bieten sich besser starke Banden bei ≈ 1040 cm^{-1} (D-GalAO) bis 1061 cm^{-1} (D-ManAO) an, zu denen keine entsprechende Bande des AAO bei 1060 cm^{-1} existiert. Aufgrund der für N-O-Schwingungen von Dioximen in der Literatur angegebenen Werte [E] könnten mittelstarke Banden zwischen 1250 und 1270 cm^{-1} oder 1117 bis 1128 cm^{-1} gleichfalls zu N-O-Schwingungen gehören.

E)

H.-J.Steinmetz: *Untersuchungen zur Komplexbildung des Technetiums mit 4,5-Octandiondioxim*. Diplomarbeit, RWTH Aachen 1988/89.

3.2.3 Infrarotspektroskopische Untersuchung der Komplexe

Die Infrarotspektren der freien Liganden und die mit dem Shimadzu IR-460 in KBr aufgenommenen Spektren der iso-lierten Technetium-Komplexe unterschieden sich in charakteristischer Weise. Die großen Ähnlichkeiten der Spektren der Technetium-Komplexe untereinander und mit dem Spektrum von Ni-D-GluAO ließen dabei auf strukturelle Analogien schließen. Ähnlich wie die amorph vorliegenden Liganden zeigten alle Spektren meist relativ breite Banden. In Tabelle 5 sind die Lagen der charakteristischen Banden der Technetium-Komplexe mit den analogen Absorptionen des Ni-D-GluAO zusammengestellt. Abbildung 19 veranschaulicht das FT-IR-Spektrum des Tc-D-Glucosaminoxim-Komplexes.

Die Infrarotspektren zeigten die beiden typischen Signale intramolekularer Wasserstoffbrückenbindungen zwischen den Oxim- und Oximatgruppen der koordinierten Liganden bei 2345-2325 cm^{-1} und um 1700 cm^{-1}. Die schwache 2345-2325 cm^{-1} Bande kann der O-H··O-Streckschwingung, die breite 1700 cm^{-1} Absorption der OH··O-in plane-Deformationsschwingung zugeordnet werden. Letztere wurde bei Probenkonzentrationen größer 2 mg Komplex·200 mg^{-1} KBr allerdings nahezu vollständig überlagert. Wurden die Wasserstoffatome der Komplexe durch wiederholtes Lösen in D_2O und Eindampfen im Hochvakkum gegen Deuterium ausgetauscht, so nahm die relative Intensität der st(O-H··O)- und $\delta_{ip.}$(O-H··O)-Schwingungsbanden mit zunehmendem Deuterierungsgrad ab. Die neue Absorption der O-D··O-Streckschwingung erschien um -285 cm^{-1} zu niederen Wellenzahlen verschoben. Die Höhe der gleichfalls zu erwartenden niederfrequenten Verschiebung der 1700 cm^{-1} Absorption konnte aufgrund von Bandenüberlagerungen nicht ermittelt werden.

Tabelle 5 Charakteristische IR-Absorptionen der ^{99}Tc-Komplexe im Wellenzahlbereich 4000-400 cm^{-1}

4000-1500 cm^{-1}

Komplex	st(OH,NH)	st(CH)	st(HOH)		δ(HOH)	st(C=N)$_{as}$			
Ni-D-GluAO	3360	2940	2350		1710	1619			-
Tc-D-GluAO	3420	2930	2335	2090	-	1628	1558	1538	1506
Tc-D-GalAO	3400	2930	2345	2075	1717	1624	1558	1540^{w}	-
Tc-D-ManAO	3385	2925	2355	2090	1714	1622	1558	1539	1518

1500-1000 cm^{-1} —— *Fingerprint-Region* ——>

Komplex	δ(CH)	st(C=N)$_{sy}$	st(NO)$_{as}$		st(CO)	st(CO)	st(NO)$_{sy}$	st(CO)
Ni-D-GluAO	-	1399	1256^{w}	-	-		1077	1038
Tc-D-GluAO	(1457)^{m}	1395	1247^{w}	1200^{m}	1133	1105	1078	1039
Tc-D-GalAO	(1452)^{m}	1400	1250^{w}	1193-1162^{m}	-		1075	1040
Tc-D-ManAO	(1454)^{m}	1400	1250w	1203^{m}	-		1072	1034

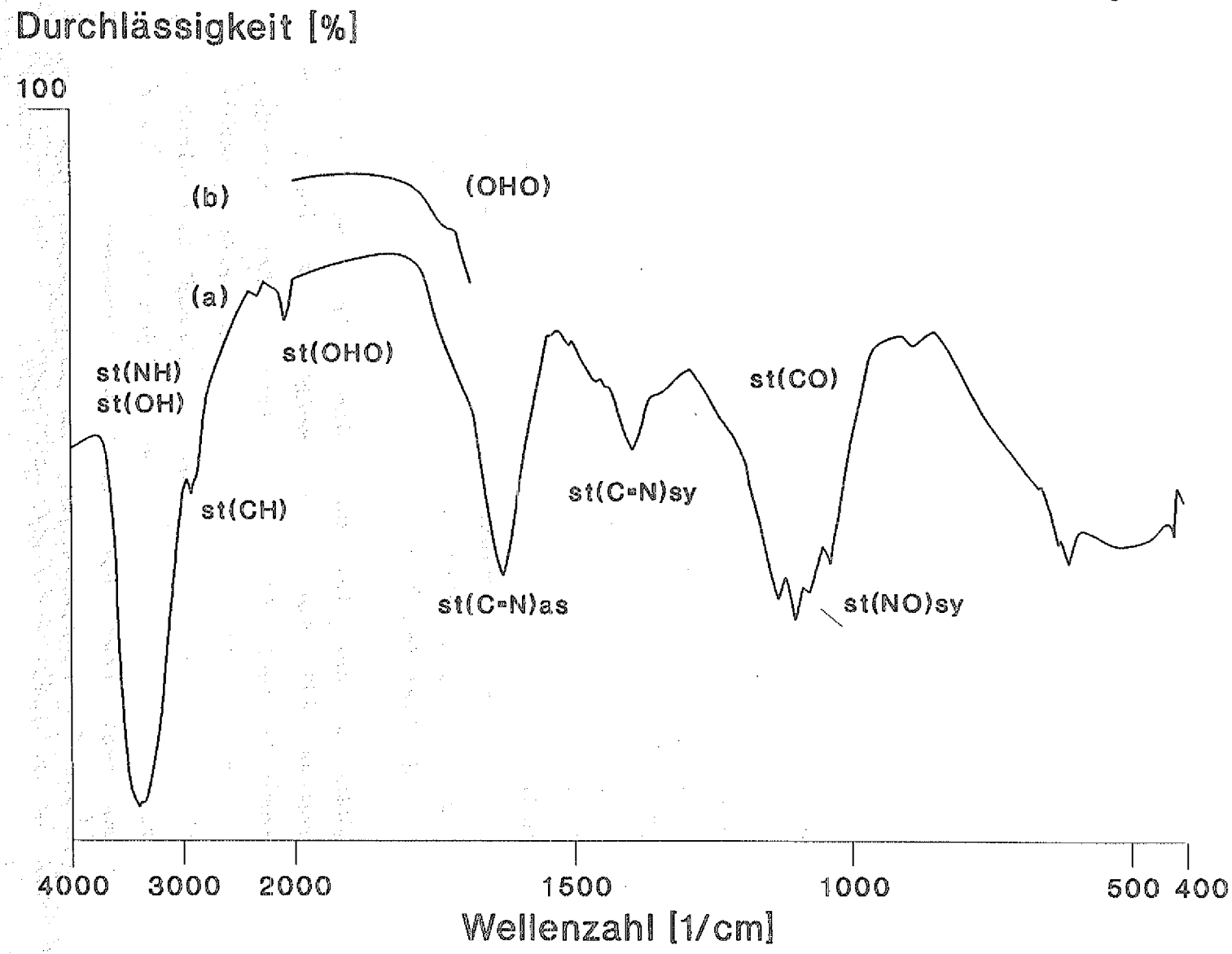
xxxx= stark, m= mittelstark, w= schwach, (xxxx)= Schulter

1000-400 cm^{-1}

Komplex	(OH)o.o.p.											
Ni-D-GluAO	-	876^{w}	-	570^{w}	-	-	520^{w}	508^{w}	473^{w}	460^{w}	-	422^{m}
Tc-D-GluAO	950^{w}	888^{w}	618^{m}	-	555^{w}	-	-	508^{w}	471^{w}	460^{w}	-	420^{w}
Tc-D-GalAO	956^{w}	867^{w}	617^{m}	$(583-558)^{w}$		527^{w}	520^{w}	-	469^{m}	456^{w}	-	419^{w}
Tc-D-ManAO	950^{w}	882^{w}	620^{m}	575^{w}	-	-	518^{w}	-	470^{w}	-	440^{w}	420^{w}

xxxx= stark, m= mittelstark, w= schwach, (xxxx)= Schulter

Abb.19 Infrarotspektrum des ^{99}Tc-D-Glucosaminoxim-Komplexes (KBr-Preßling)
Konzentrationen: (a)≈ 2 mg·200 mg^{-1} KBr, (b)≈ 1 mg·200 mg^{-1} KBr.



Durch Bildung einer M<-N=C-π-Donor-Bindung ist die C=N-Bindung koordinierter Oxime gelockert. Dadurch verschiebt sich ihre C=N-Absorption relativ zum freien Liganden zu niederen Wellenzahlen. Alle Komplexspektren wiesen im Bereich von etwa 1680-1590 cm^{-1} eine charakteristische starke und breite Bande auf, deren jeweiliges Maximum bei 1628 cm^{-1} (Tc-D-GluAO), 1624 cm^{-1} (Tc-D-GalAO) und 1622 cm^{-1} (Tc-D-ManAO) unter Berücksichtigung der ^{1}H-NMR-spektroskopischen Ergebnisse der $(C=N)_E$-Streckschwingung der koordinierten α-Hexosaminoxim-Liganden zuzuordnet werden konnte. Die Bandenverschiebungen in den Technetium-Komplexen betrugen -23 cm^{-1} für GluAO, -30 cm^{-1} für D-GalAO und -31 cm^{-1} im Falle von D-ManAO als Ligand. In Übereinstimmung mit diesen Werten wurde für Ni-D-GluAO eine Verschiebung der $st(C=N)_{as}$-Absorption um -32 cm^{-1} relativ zu D-GluAO ermittelt. Die Bandenlage entspricht hier dem von NAGEL et.al. ermittelten Wert, allerdings konnten die Autoren aufgrund der von ihnen im IR-Spektrum des D-Glucosaminoxims falsch zugeordneten (C=N)-Bande keine Koordinationsverschiebung registrieren. Verglichen mit den von uns vorhergehend untersuchten Tc-*vic*-dioxim-Komplexen [124-126] sind die bei den Tc-α-hexosaminoxim-Komplexen gemessenen Verschiebungsparameter allerdings um 0,7 bis 0,5 kleiner. Dies deutet auf eine im Verhältnis viel schwächere Bindung ihrer Oximgruppen zu den Zentralatomen hin.

Angesichts der Tatsache, daß aliphatische α-Aminoketoxime mit Technetium Monooxotechnetium(V)- oder *trans*-Dioxotechnetium(V)-Komplexe bilden, konnte die Anwesenheit zentraler $(Tc^V=O)^{3+}$- oder *trans*-$(O=Tc^V=O)^+$-Einheiten in den α-Hexosaminoxim-Komplexen nicht ausgeschlossen werden. Entsprechend den in Tabelle 6 zusammengestellten Literaturdaten beobachtet man die $(Tc^V=O)^{3+}$-Streckschwingung im allgemeinen als starke Bande zwischen etwa 930 und 1020 cm^{-1}. Die Absorption der *trans*-$(O=Tc=O)^+$-Streckschwingung erscheint dagegen

deutlich niedriger bei ca. 790-880 cm^{-1}. So geben JURISSON et.al. [115)117)] für die IR-Spektren der aliphatischen Tc-Aminoximkomplexe st$(TcO)^{3+}$= 923-934 cm^{-1} sowie st$(O=Tc=O)^{+}$= 784-794 cm^{-1} an. (Tc-O)-Streckschwingungen der $(Tc^{V}=O)^{3+}$-Gruppe waren als mittelstarke Schwingungen um ca. 350-360 cm^{-1} zu erwarten, ihre Lagen beim Vorhandensein von $(O=Tc=O)^{+}$-Gruppen waren aus der Literatur jedoch nicht bekannt.

Der ^{99}Tc-D-Galactosaminoxim- und ^{99}Tc-D-Mannosaminoxim-Komplex zeigten analoge Absorptionen bei 956 cm^{-1} (Tc-D-GalAO) bzw. 950 cm^{-1} (Tc-D-ManAO). Eigentümlicherweise waren sie bei Tc-D-GluAO und Ni-D-GluAO nicht vorhanden. Da die Banden in einem stark ligandgeprägten Bereich lagen, lassen sich $(Tc=O)^{3+}$-Gruppen nicht hier schlüssig nachweisen. Zu Banden bei 867 cm^{-1} (Tc-D-GalAO), 882 cm^{-1} (Tc-D-ManAO) und 888 cm^{-1} (Tc-D-GluAO) existierte eine analoge 876 cm^{-1}-Absorption des Ni-D-GluAO. Daher deuteten die IR-Spektren auch nicht auf die Anwesenheit von (O=Tc=O)-Gruppen.

Weiterhin wurden die Komplexe auf andere Formen von Tc-O-Schwingungen hin untersucht. Im Wellenzahlbereich hypothetischer Tc^{V}-OCH_3- bzw. Tc^{V}-O-CH_2-Schwingungen (550-570 cm^{-1}) [149)] wurden keine signifikanten Absorptionen beobachtet. Eine bei Technetium-D-Galactosaminoxim ausgeprägte Bande bei 459 cm^{-1} liegt im Absorptionsgebiet der $(Tc^{IV}$-OH)-Streckschwingung, verschiebt sich jedoch nicht nach Deuterierung der Verbindung und tritt zudem in den Spektren der Tc-D-Glucosaminoxim- und D-Mannosaminoxim-Komplexe nicht in Erscheinung.

Tabelle 6 Lagen der Tc-O- und Tc=O-Absorptionsbanden ausgewählter Technetium-Komplexe in cm^{-1}

Bandenlage st(Tc^V=O)	st(Tc^V-O)		Verbindung	Literatur
895	556	(Tc-OEt)	$TcOCl_2(OEt)(tppz)$	149)
922			$TcOCl_2(OEt)(bipy)$	162)
922 s	575 m	(Tc-OEt)	$(TcOCl_2(bptz)(OEt))_2(TcO_2Cl)$	149)
923			$TcOPn(AO)_2$	117)
927			$TcOEn(AO)_2$	117)
930			$(n\text{-}Bu_4N)[TcO(S(C_6H_3\text{-}CH_3)S)_2]$	150)
(930)			$TcO(S(CH_2)_2S(CH_2)_2S)$	151)
930,950,960			$TcO(S(CH_2)_2O(CH_2)_2S)(C_6H_4S)$	151)
934			$TcO(AO)_2$	117)
935			$TcO(S(CH_2)_2S(CH_2)_2S)(C_6H_4S)$	151)
935			$(Ph_4As)[TcO(SCH_2CH_2S)_2]$	150)
938,916	561,570	(Tc-OEt)	$(\mu\text{-}tppz)[TcOCl_2(OEt)]_2$	149)
940			TcO(L,L-ECD)	152)
940			$[TcO(SCH_2CH_2S)_2]^-$	159)
(940)			$TcO(S(CH_2)_2O(CH_2)_2S)$	151)
940			$TcO(S(CH_2)_2S(CH_2)_2S)(p\text{-}CH_3O\text{-}C_6H_4S)$	151)
940			$TcO(S(CH_2)_2S(CH_2)_2S)(C_2H_5OOC\text{-}CH_2S)$	151)
940			$TcO(S(CH_2)_2O(CH_2)_2S)(p\text{-}CH_3OOC\text{-}C_6H_4S)$	151)
943 vs	351 m		$[TcOCl(blo)_2]$	154)
945 vs	356 m		$[TcOCl(bgo)_2]$	154)
945			$[TcO(SCH_2CONCH_2)_2]^-$	155-156)
947			$(n\text{-}Bu_4N)[C_2S_2(CN)_2)_2]$	150)
948			$[TcO(SCH_2CH_2O)_2]^-$	157)
949 vs	361 m		$[TcO(blo)_2]PF_6 \cdot 2H_2Ol$	154)
950			$(n\text{-}Bu_4N)[TcO(SCH_2C(O)S)_2]$	150)

w= schwach, m= mittelstark, s= stark, vs= sehr stark, (xxxx)= Schulter
bipy= Bipyridyl, bptz= 3,6-bis-(2'-pyridyl)-1,2,4,5-tetrazin, blo = 1-benzimidazolylethylat, tppz = 2,3,5,6-Tetrakis(2-pyridyl)pyrazin

Bandenlage st(Tc^V=O)	st(Tc^V-O)	Verbindung	Literatur
950		$\{TcO[SCH_2C(O)S]_2\}^-$	158)
952 vs	364 m	$[TcO(bgo)_2]PF_6 \cdot 2H_2O$	154)
952		$TcO(SCH_2CH(COO)NCH_2CH_2NCH(COO)CH_2S)$	152)
953,946		$[(TcO)_2(SCH_2CH_2S)_3]$	188)
956		$TcOCl_2(C_{20}H_{13}N_2O)$	153)
958		$TcO(Dpen)_2$	160)
970		$(n\text{-}Bu_4N)[\{TcO(O_2C_6H_4)_2]$	161)
970		TcO(Glusal)sal	65)
972		$(n\text{-}Bu_4N)[TcO(SC(O)C(O)S)_2]$	150)
972(989,955)		$Na[TcO(OCH_2CH_2O)_2]$	161)
980		$(Ph_4As)[TcO(SCH_2C(O)S)_2]$	150)
1016		$[TcOCl_4]^-$	163)
1015 vs	317 (δ(BrTcO) vs	$(tert.\text{-}Bu_4N)[TcOBr_4]$	164)
1019		$(Ph_3P)_3N)[TcOCl_4]$	150)
1020 vs	397 (δ(ClTcO) vs	$(tert.\text{-}Bu_4N)[TcOCl_4]$	164)
st(O=Tc^V=O)	st(Tc^V-O)		
790		TcO_2Cylam	165)
798 s		$(TcO_2(bptz)_2)Cl \cdot EtOH$	149)
800 s		$(TcO_2(bptz \cdot HCl)_2)Cl \cdot 2H_2O$	149)
803 vs		$(TcOCl_2(bptz)(OEt))_2(TcO_2Cl)$	149)
833		$[TcO_2(en)_2]Cl$	166)
st(Tc^{IV}=O)	st(Tc^{IV}-OH)		
	467 w	$K_2(TcCl_5(OH))$	167)
	470	$(PyH)_2(TcCl_4(OH)_2)^{2-}$	168)
	st(Tc^{III}-O-Tc^V)		
	698-726		169)

Cyclam= 1,4,8,11-Tetraazacyclotetradecan, bgo= Benzimidazolylmethylat, en= Ethylendiamin

3.2.4 ^{1}H-NMR-Spektren der freien Liganden

Die ^{1}H-NMR-Spektren der freien Aminoximzucker, des D-Glucosaminoxim-Hydrochlorids sowie des 2-Aminoacetaldoxims wurden mit einem 80 MHz *Bruker WP80 FT-NMR-* oder einem 90 MHz *Varian EM-390 NMR-Spektrometer* in D_2O und/oder DMSO-d_6 relativ zu Natrium-3-(trimethylsilyl)-d_4-propionat (TSP) bzw. Tetramethylsilan (TMS) als interne Standards gemessen. Das verwendete DMSO-d_6 wurde zuvor durch Trocknen über Molsieb 3Å von Feuchtigkeitsspuren befreit. Da in DMSO-d_6 der O<u>H</u>/O<u>D</u>-Austausch nur langsam stattfindet, war durch Vergleich der in DMSO-d_6 und D_2O bzw. DMSO-d_6/D_2O-Mischungen aufgenommen Spektren eine Unterscheidung und Zuordnung der OH- und NH-Signale einerseits und der CH-Signale andererseits möglich.

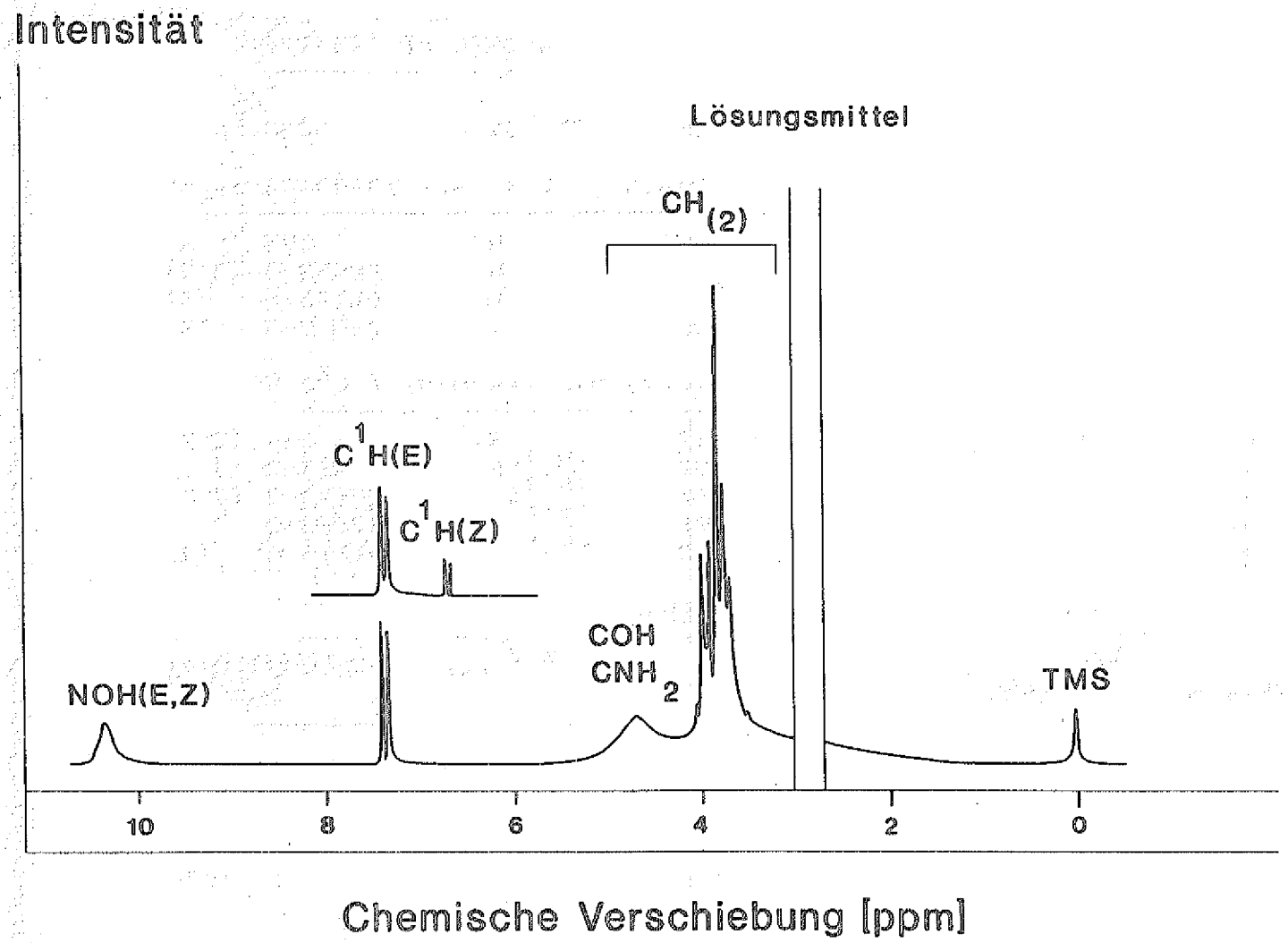
Die wichtigsten Charakteristika der Ligandspektren werden im folgenden kurz dargestellt und beschrieben. Die Tabelle 7 enthält die wichtigsten Signallagen und Kopplungskonstanten, Abbildung 20 zeigt exemplarisch die ^{1}H-NMR-Spektren von (E)- und (E,Z)-D-Glucosaminoxim in DMSO-d_6. Zwar ermöglichten die mit den eigenen 80- und 90-MHz-Geräten erzielbaren Auflösungen auch bei Anwendung des Doppelresonanzverfahrens (^{1}H-^{1}H-Entkopplung) keine vollständige Signalzuordnung, jedoch konnten die für die Ermittlung der Ligandkonstitution sowie für die ^{99}Tc-Komplexe wichtigsten Signale der C^1-Protonen sicher identifiziert werden. Vollständige Zuordnungen der ^{1}H-NMR-Signale oximierter Zucker wurden nach dem Stand der Literatur bisher nur von SNYDER (1990) [170] für einige Aldopentoseoxime (unter Einsatz eines 400 MHz-Spektrometers und Vergleich mit ^{1}H-^{13}C-Shift-korrelierten Spektren) erbracht.

Tabelle 7 Chemische Verschiebungen δ (in ppm) und Kopplungskonstanten J charakteristischer ^{1}H-NMR-Signale der freien Liganden.

gelöste Verbindungen		Zuordnungen						
		δ [ppm]			J($C_1\underline{H}$-$C_2\underline{H}$) [Hz]		Tautomer [%]	
		NOH $_{E,Z}$	$C_1\underline{H}_E$	$C_1\underline{H}_Z$	$C_1\underline{H}_E$	$C_1\underline{H}_Z$	(E)	(Z)
in d_6-DMSO / interner Standard: Trimethylsilan								
(E)	D-GluAO	$10{,}46_{s,br}$	$7{,}23_d$	-	6,3	-	100	-
(E)	D-GalAO	$10{,}47_{s,br}$	$7{,}34_d$	-	6,0	-	100	-
(E,Z)	D-GalAO	$10{,}43_{s,br}$	$7{,}23_d$	$6{,}65_d$	6,0	6,0	80	20
(E,Z)	D-ManAO	$>9{,}50_{s,br}$	$7{,}25_d$	$6{,}68_d$	5,8	6,0	95	5
(E,Z)	AAO	nb.	$7{,}38_t$	$6{,}81_t$	4,2	4,6	60	40
in D_2O / interner Standard: Na-3-(trimethylsilyl)-d_4-propionat								
(E)	D-GluAO	nb.	$7{,}50_d$	$6{,}81_d$	6,3	6,6	81	19
(E)	D-GalAO	nb.	$7{,}57_d$	$6{,}89_d$	6,0	6,0	76	24
(E,Z)	D-ManAO	nb.	$7{,}51_d$	$6{,}91_d$	6,4	6,6	77	23
(E,Z)	AAO	nb.	$7{,}67_t$	$7{,}16_t$	-	-	70	30
Literaturwerte für (E,Z) D-GluAO:								
in d_6-DMSO		$10.50_{s,br}$	$7{,}23_d$	$6{,}60_d$	6,15	6,16	67	33
in D_2O		-	$7{,}52_d$	$6{,}89_d$	6,49	6,84	-	-

s= Singulett, d= Dublett, t= Triplett, br= breites Signal
nb= nicht bestimmbar.

Abb.20 ^{1}H-NMR-Spektren von (E)- und (E,Z)-D-Galactosaminoxim in DMSO-d_6.



Ähnlich wie bei Aldehydprotonen sind die Resonanzsignale der C^1-Protonen in Aldoximen bei tieferem Feld anzutreffen. Für alkylsubstituierte Aldoxime fallen sie in ein charakteristisches Gebiet zwischen δ 7.9 und δ 6.8 ppm relativ zu Tetramethylsilan (TMS). Aufgrund der E/Z-Isomerie zeigen Aldoxime im ^{1}H-NMR-Spektrum oft eine Dublett-Aufspaltung dieser Signale. Ist am benachbarten C2-Atom ebenfalls ein Proton gebunden, so können die Signale der (Z)C^1-Protonen abhängig vom Torsionswinkel Θ($\underline{H}C^2$-C=$\underline{N}$OH) relativ zu den Signalen der (E)C^1-Protonen um -1 bis +0.3 ppm verschoben werden. Lediglich im Falle vom Θ= 60° erfolgt keine Verschiebung [171]. Aufgrund der vicinalen ^{1}H-^{1}H-Kopplung mit bis zu drei möglichen C^2-Protonen können die $C^1\underline{H}_E$- und $C^1\underline{H}_Z$-Signale der Aldoxime zusätzlich noch Feinstrukturen zeigen (Dublett- bis Quartett-Aufspaltung). Die Beträge der vicinalen Kopplungskonstanten ^3J sind dabei von den Torsionswinkeln Φ zwischen den betreffenden CH-Bindungen abhängig. Nach der theoretisch berechneten Karplus-Conroy-Kurve wird ^3J=0 für Φ= 80 und 100°, experimentell kann man ^3J=0 für Diederwinkel zwischen 80 und 100° finden [172].

Entsprechend diesen Gesetzmäßigkeiten zeigten die ^{1}H-NMR-Spektren der freien Liganden ein oder zwei Dubletts der Z(C^1)- und/oder E(C^1)-Protonen in den Bereichen $\delta\approx$ 7.4 bis 6.6 in DMSO-d_6 bzw. $\delta\approx$ 7.6 bis 6.8 in D_2O. Die Integration der Signale lieferte das jeweilige Isomerenverhältnis. Da die Stickstoffatome der Oximgruppen in DMSO(-d_6) nicht protoniert werden können, bestand hier keine Möglichkeit zur gegenseitigen Umwandlung der (E,Z)-Isomeren [113] und die Spektren zeigten die (uneinheitlichen) Isomerenverhältnisse in den kristallinen Liganden auf. In D_2O stellten sich dagegen konstante Gleichgewichtsverteilungen mit etwa 79 $\pm$ 3 % (E)-Isomeren ein. Dies liegt im Bereich der von SNYDER [170] bei D-Pentoseoximen in D_2O gefundenen Isomerenverteilungen.

Aufgrund der durch das Kern-Quadrupolmoment des häufigsten Stickstoffisotops ^{14}N verursachten Signalverbreiterung, trat die Amoniumgruppe des D-Glucosaminoxim-Hydrochlorids in DMSO-d_6-Lösung nur sehr schwach um 7,8 ppm in Erscheinung. Signale der Aminogruppen der D-Hexosaminoxime konnten nicht mehr zugeordnet werden. Die Resonanzen ihrer (E,Z)-Oximprotonen wurden nicht aufgelöst und lieferten breite Kombinationssignale mit jeweils einem Maximum bei 10,0 ± 0,5 ppm. Die Protonen der Kohlenstoffgerüste waren bei ≈ 4 bis 3 ppm erkennbar (vgl. Ni-D-GluAO: 3,9 bis 3,1 ppm [118]) und wurden in DMSO-d_6 zwischen etwa 5 und 4 ppm durch die breiten Resonanzen der Hydroxylgruppen überlagert.

3.2.5 H-1-NMR-spektroskopische Untersuchung der Komplexe

Die mit dem *Bruker WP80 FT-NMR-Spektrometer* in DMSO-d_6 und D_2O aufgenommenen Spektren der Technetium-Komplexe zeigten große strukturelle Ähnlichkeiten mit dem Spektrum von Ni-D-GluAO. Die im Falle stark paramagnetischer Zentralionen typischen starken Signalverbreiterungen und -verschiebungen wurden nicht beobachtet, was auf diamagnetische Komplexe hinweisen könnte. In Tabelle 8 sind die charakteristischen ^1H-chemischen Verschiebungen der Komplexe zusammengefaßt, Abbildung 21 zeigt das ^1H-NMR-Spektrum des Technetium-D-Glucosaminoxim-Komplexes in DMSO-d_6.

Den ^1H-NMR-Spektren der Komplexe zufolge ist anzunehmen, daß Technetium über die beiden Stickstoffatome jedes Liganden koordiniert wird. Mit dem

Abb. 21 ^{1}H-NMR-Spektrum des ^{99}Tc-D-Glucosaminoxim-Komplexes in DMSO-d_6 (Standard: TMS)

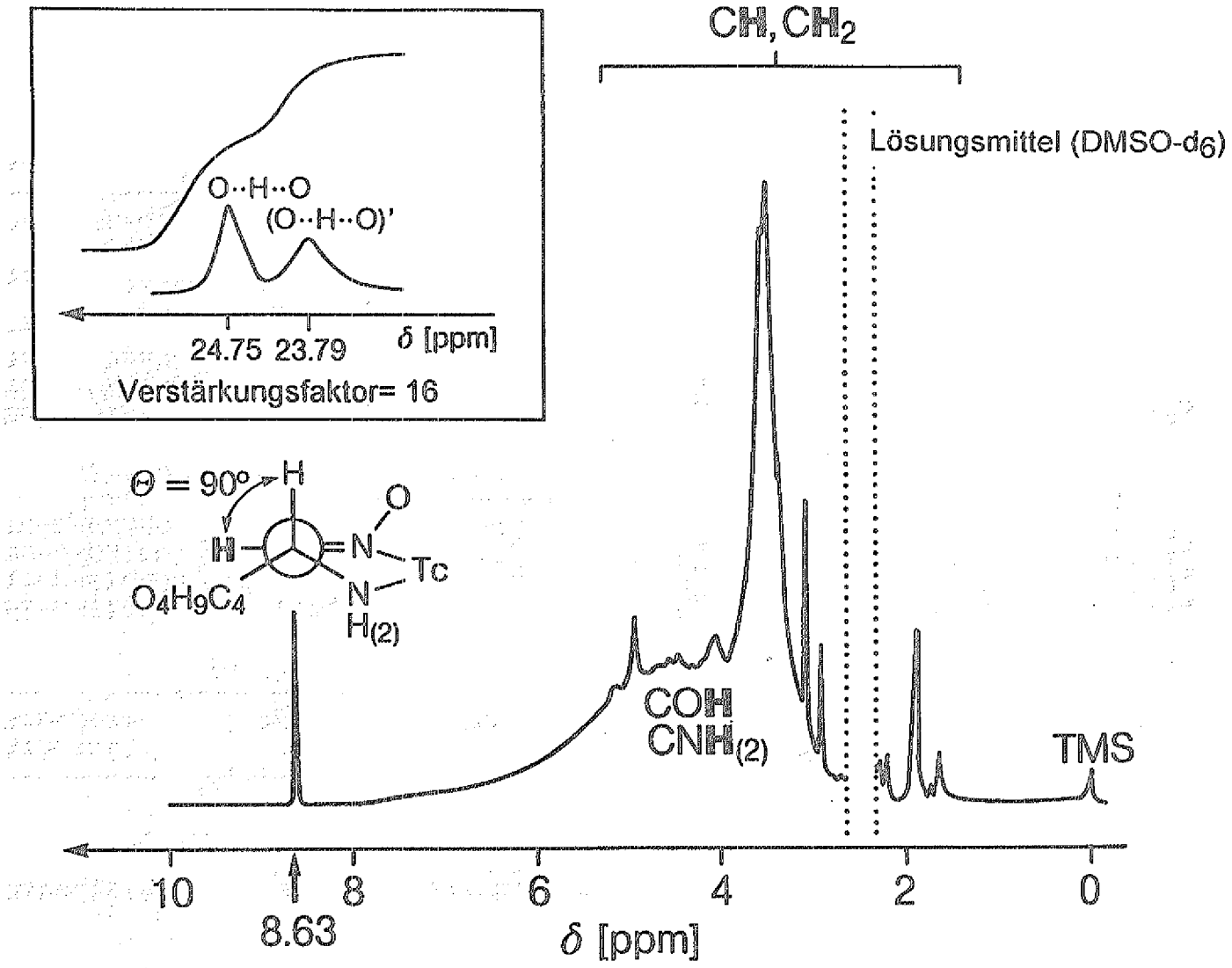


Tabelle 8 Chemische Verschiebungen δ charakteristischer ^{1}H-NMR-Signale der Komplexe.

gelöste Komplexe	δ [ppm]					
	O<u>H</u>O	(O<u>H</u>O)'	$C_1\underline{H}_E$	CO<u>H</u>		C<u>H</u>
in DMSO-d_6 / interner Standard: Trimethylsilan						
Ni-D-GluAO	$18{,}13_s$	-	$7{,}68_s$	5,12	$4{,}61_{br}$	$3{,}7-2{,}8_m$
Tc-D-GluAO	$24{,}75_s$	$23{,}79_s$	$8{,}63_s$	5,20 4,60	4,00	$3{,}8-3{,}0_m$
Tc-D-GalAO	$24{,}46_s$	$23{,}68_s$	$8{,}54_s$	4,44	3,96	$3{,}8-3{,}0_m$
Tc-D-ManAO	$24{,}45_s$	$23{,}68_s$	$8{,}63_s$	4,92	4,52	$3{,}9-2{,}9_m$
in D_2O / interner Standard: Na-3-(trimethylsilyl)-d_4-propionat						
Tc-D-GluAO	-	-	$8{,}38_s$	-	-	$4{,}0-3{,}0_m$
Tc-D-GalAO	-	-	$8{,}30_s$	-	-	$4{,}1-3{,}0_m$
Tc-D-ManAO	-	-	$8{,}38_s$	-	-	$4{,}1-2{,}8_m$
Literaturvergleichswerte für Ni-D-GluAO ($NiC_{12}H_{29}N_4O_{11}Cl$):						
in DMSO-d_6	$18{,}08_s$		$7{,}68_d$	5,20	4,63	$3{,}85-3{,}48_m$

s= Singulett, d= Dublett, m= Multiplett, br= breites Signal,

Ringschluß, der die E-Konfiguration des Liganden erfordert, wird dessen freie Drehbarkeit um die C^1-C^2-Achse aufgehoben. Damit verbunden stellt sich zwischen den vicinalen C^1- und C^2-Protonen ein Torsionswinkel um 90° ein, bei dem man entsprechend der experimentellen Karplus-Conroy-Kurve [172] nur noch eine geringe oder keine Kopplung mehr beobachten kann. Demzufolge waren die C^1(E)-Protonen im ^{1}H-NMR-Spektrum des in DMSO-d_6 gelösten Ni-D-GluAO in Übereinstimmung mit dem Literaturwert [118-119] als Singuletts bei 7,68 ppm zu beobachten. Die Tieffeldverschiebung von 0,45 ppm gegenüber dem C^1H(E)-Dublett des freien D-Glucosaminoxims beruht auf dem Elektronenzug, den das Zentralion ausübt. Wahrscheinlich übt die koordinierte 2-Aminogruppe einen zusätzlichen entschirmenden Effekt aus [118].

Die ^{1}H-NMR-Spektren der Tc-Komplexe zeigten im Erwartungsbereich der C^1(E)- und C^1(Z)-Resonanzen der freien Liganden ebenfalls keine Signale mehr. Erwartungsgemäß erschien tieffeldverschoben bei 8.4 bis 8.6 ppm (in DMSO-d_6) bez. 8,4 ppm bis 8,3 ppm (in D_2O) im jeweiligen Spektrum ein neues intensives Singulett der C^1(E)-Protonen komplexgebundener Liganden. Die gegenber Ni-D-GluAO größere positive Koordinationsverschieung der C^1H-Signale deutete auf eine stärkere Bindung der Liganden in den Tc-Komplexen in der Reihenfolge Tc-D-GluAO ($\Delta\delta$= 1,40 ppm) ≈ Tc-D-ManAO ($\Delta\delta$= 1,38 ppm) > Tc-GalAO ($\Delta\delta$= 1,20 ppm) >> Ni-D-GluAO ($\Delta\delta$= 0,45 ppm) hin. So war auch zu beobachten, daß Ni-D-GluAO in D_2O bei Raumtemperatur innerhalb von 24 Stunden vollständig dissozierte, wohingegen die ^{1}H-NMR-Spektren der ^{99}Tc-Komplexlösungen ohne Hinweise auf freie Liganden unverändert erhalten blieben.

Die ^{1}H-NMR-Spektren der in DMSO-d_6 gelösten ^{99}Tc-Komplexe gaben keine Hinweise auf freie NO<u>H</u>-Protonen. Zur Bestätigung der infrarotspektroskopischen Ergeb-

nisse sollten sich daher auch ^{1}H-NMR-spektroskopisch intramolekulare Wasserstoffbrückenbindungen zwischen Oxim- und Oximat-Gruppen nachweisen lassen. Die Resonanzen ihrer Brückenprotonen erscheinen aufgrund des gehinderten H/D-Austausches ebenfalls nur in aprotischen Lösungsmitteln, sind aber in DMSO-d_6 aufgrund der spezifischen Lösungsmitteleigenschaften weniger deutlich [173]. Sie liegen generell bei sehr tiefem Feld, wobei man für die bisher untersuchten Nickel-, Rhodium- und Technetium-Komplexe chemische Verschiebungen von 18,3 bis 19,65 ppm beobachtet hat. Resonanzen von Protonen anderer funktioneller Gruppen treten hier nicht mehr auf. In den Spektren der in DMSO-d_6 gelösten Technetium-D-Hexosaminoxim-Komplexe erschienen jeweils zwei breite Singuletts im Bereich zwischen δ= 24,8 und δ= 23,6 ppm relativ zu TMS (Abbildung 21). Da D_2O-Lösungen diese Signale nicht aufwiesen, war die Anwesenheit von jeweils zwei unterschiedlichen Wasserstoffbrücken in den Komplexen wahrscheinlich.

Die großen Tieffeldverschiebungen der O<u>H</u>O-Resonanzen der Tc-α-D-hexosaminoxim-Komplexe im Vergleich zu anderen oximhaltigen Übergangsmetall-Komplexen ist interessant. Die Literatur über oximhaltige Komplexe liefert jedoch keine Anhaltspunkte für eine strukturanalytische Deutung ihrer Ursachen. Nach Vergleich der wenigen bisher veröffentlichten röntgenographischen und ^{1}H-NMR-spektroskopischen Daten bestehen keine systematischen Zusammenhänge zwischen Brückenlänge (O-O-Distanz) und chemischer Verschiebung der Brückenprotonen (Tabelle 9). Offensichtlich ist sie auch nicht in einfacher Weise von der Ladungsdichte des Zentralions abhängig. Mononukleare Technetium(III)-Komplexe mit drei über (NO-H··O(N)··H-ON)-Brücken verbundenen Dioximliganden wurden bereits von TREHER et.al. (1989) beschrieben [174]. Aus Symmetriegründen liefern sie nur jeweils ein Brückenprotonen-Signal, für das chemische

Verschiebungen zwischen 14,8 und 18,6 ppm angegeben werden.

Tabelle 9 Röntgenographisch bestimmte Längen und/oder chemische Verschiebungen δ^1H intramolekularer Wasserstoffbrücken in oximhaltigen Komplexen

Komplex	δ(OHO) [ppm]	$\overline{O-O}$ (Å)	Solvens	Literatur
		Nickel(II)		
$Ni(DEG)_2$	17,7	nb.	$CDCl_3$	*)
$Ni(DPG)_2$	17,6	nb.	$CDCl_3$	*)
$[Ni(D\text{-}GluAO)_2\text{-}H]Cl$	18.1	nb.	DMSO-d_6	119)
$Ni(Hao)_2$	18.3	2.420	nb.	173)
$[Ni(HMtenao)]ClO_4$	18.3	2.400	nb.	173)
$[Ni(PnAO)\text{-}H]ClO_4$	18.3	nb.	DMSO-d_6	175)
$[Ni(Hpnao)]Cl$	18.5	2.409	nb.	173)
$[Ni(BnAO\text{-}H)]I\cdot H_2O$	18.5	2.417	nb.	176)
$[Ni(PnAO)\text{-}H]Cl$	18.6	2.409	nb.	176)
$[Ni(AO)_2\text{-}H]Cl_2$	18.7	2.420	nb.	176)
$[Ni(PnAO)\text{-}6H]$	19.1	nb.	DMSO-d_6	175)
		Cobalt(III)		
$Co((AO)_2\text{-}H)(NO_2)_2$	19.1	2.423	$CDCl_3$	177)
		Rhodium(III)		
$[Rh(PnAO\text{-}H)]Cl_2$	18.9	2.474	DMSO-d_6	178)
$[Rh(AO)_2\text{-}H]Cl_2$	19.3	2.459	DMSO-d_6	178)
$[Rh(PyAO)(PyAOH)]Cl_2$	19.4	2.446	DMSO-d_6	179)
$[Rh(BnAO\text{-}H)Cl_2]_2$	19.5	2.387	nb.	176) 180)
$[Rh(HdddO)]Cl_2$	19.7	2.423	DMSO-d_6	181)
		Technetium(III)		
$TcCl(CDO)_3BCH_3$	14.8	2.50	$CDCl_3$	174)
$TcBr(DMG)_3BC_4H_9$	15.1	2.50	$CDCl_3$	174)
$TcCl(CDO)_3$	15.2	nb.	nb.	182)
$TcCl(DMG)_3$	15.3	2.518	nb.	182)
$Tc(DMG)_3(\mu\text{-}OH)SnCl_3$	18.6	2.36	nb.	182)

*) = eigene Messungen
DEG= Diethyldioxim (2,3-Hexandiondioxim)
DPG= Dipropyldioxim (4,5-Octandiondioxim)

3.2.6 C-13-NMR-Spektren der freien Liganden

Die ^{13}C-NMR-Messungen wurden mit einem *Bruker WH-270 FT-NMR-Spektrometer* an D_2O-Lösungen der freien Liganden, des D-Glucosaminoxim Hydrochlorids sowie des 2-Aminoacetaldoxims durchgeführt. Die Aufnahme der ^{13}C-^{1}H-gekoppelten und/oder ^{1}H-Breitband-entkoppelten Spektren erfolgte bei einer Probentemperatur von 30°C unter Verwendung von D_2O als sekundärem Standard. Als Spektrometereinstellungen wurden O1= 35520,0 Hz, SR (D_2O)= 28844 Hz und SF= 67,88 MHz gewählt. Ergänzend wurde mit einem *Varian Unity500 500 MHz FT-NMR-Spektrometer* ein ^{1}H-Breitband-entkoppeltes ^{13}C-Attached Proton Test-Spektrum des D-Glucosaminoxims erstellt. Im APT-Spektrum liefern C-Atome, an die eine gerade Anzahl von Protonen gebunden ist (CH_4, CH_2) positive Signale, die von C-Atomen ohne Protonen oder solchen mit einer ungeraden Protonenzahl (C, CH, CH_3) erscheinen negativ.

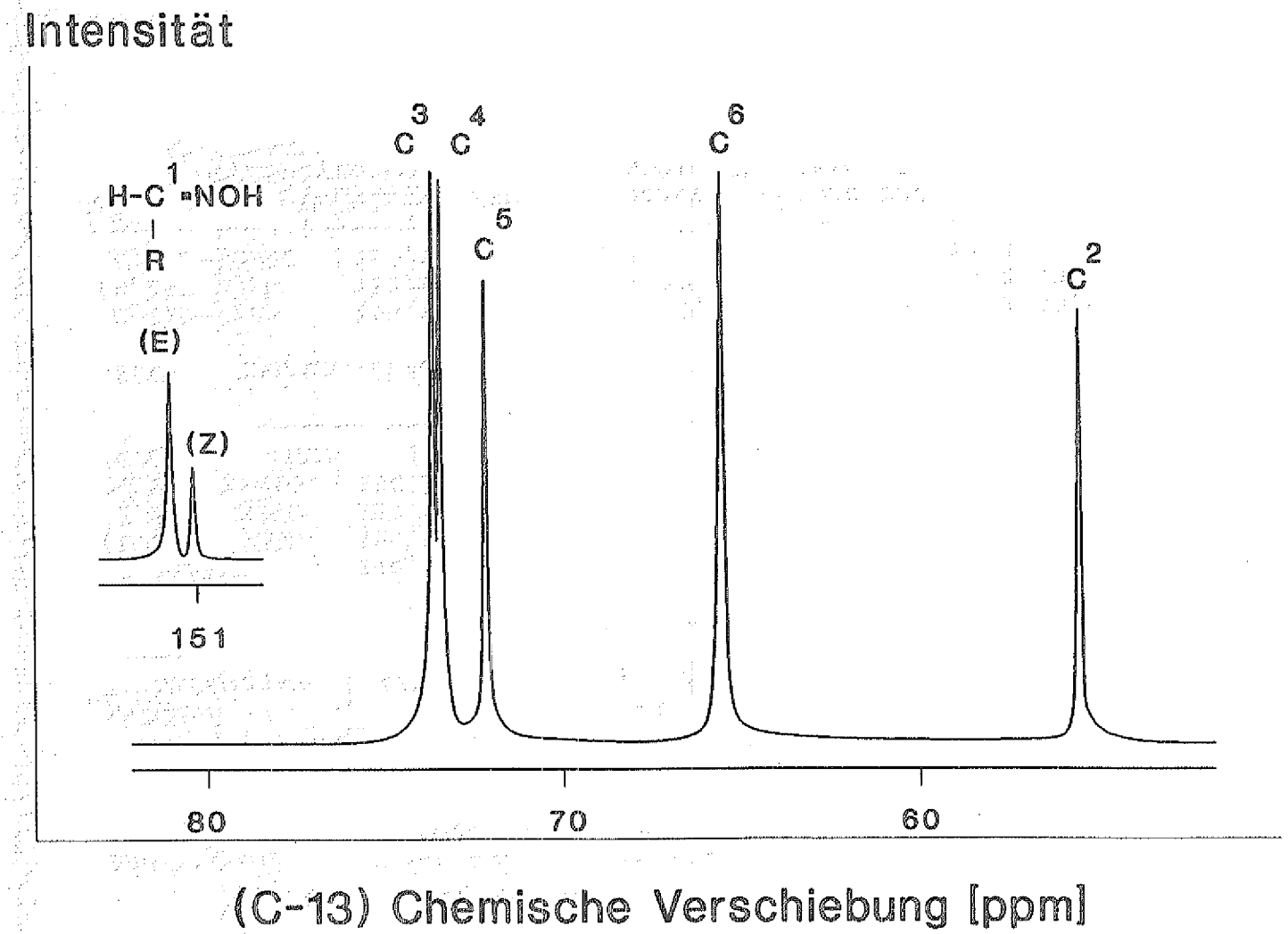
In den ^{1}H-breitbandentkoppelten ^{13}C-NMR-Spektren wurden jeweils die Signale aller C-Atome gefunden. Hinweise auf Verunreinigungen der Substanzen ergaben sich nicht. Die Zuordnung der Signale erfolgte durch Vergleich mit den von SNYDER (1990) [170] für einige Aldopentoseoxime sowie von VanHAVEREN et.al. (1992) [123] für D-Glucosaminoxim in alkalischer Lösung (pH 8,5) dokumentierten Literaturdaten unter Berücksichtigung der Signalaufspaltungen in den ^{13}C-^{1}H-gekoppelten Spektren sowie des APT-Spektrums von D-Glucosaminoxim. In Tabelle 10 sind die ermittelten chemischen Verschiebungen $\delta^{13}C$ einigen Literaturwerten gegenübergestellt. Abbildung 22 zeigt ergänzend das ^{1}H-breitbandentkoppelte ^{13}C-NMR-Spektrum von D-Glucosaminoxim. Die von Van HAVEREN et.al. für D-GluAO (unter Verwendung von tert.-Butanol als Standard) grob angegebenen Bandenlagen wurden durch die eigenen Messungen in etwa bestätigt.

Tabelle 10 Chemische Verschiebungen $\delta^{13}C$ der freien Liganden und einiger Vergleichssubstanzen

gelöste Verbindungen	Zuordnungen C-1 (E)	C-1 (Z)	C-3 (E)	C-3 (Z)	C-4 (E)	C-4 (Z)	C-5 (E)	C-5 (Z)	C-6	C-2 (E)	C-2 (Z)
in D_2O / sekundärer Standard: D_2O											
(E,Z)AAO	148,3	148,1								40,7	37,2
(E,Z)D-GluAO	151,7	151,1	73,6		73,4		72,0		65,6	55,6	
(E,Z)D-GalAO	157,2	156,9	73,7		72,9		72,6		65,9	54,5	
(E,Z)D-ManAO	156,5	156,1	74,1		73,6		72,6		65,6	55,0	
(E)D-GluAO·HCl	148,2		73,4		73,4		70,6		65,5	55,8	
Literaturwerte (in D_2O, Standards s.u.):											
(E,Z)D-AraO	155,0	154,0	73,7	73,0	72,3	72,2	70,1	66,0		64,4	64,2
(E,Z)D-LyxO	153,8	153,3	73,2	73,1	72,0	71,7	70,2	65,0		64,3	
(E,Z D-GluAO	153,5		71,8		72,4		54,3		-	72,4	

$\delta^{13}C$(D-AraO=Arabinoseoxim): interner Standard TSP 170)
(D-LyxO=Lyxoseoxim): interner Standard TSP 170)
(D-GluAO) : interner Standard tert.-Butanol 123)

Abb. 22 ^{1}H-Breitband-entkoppeltes ^{13}C-NMR-Spektrum von D-Glucosaminoxim in D_2O (= sekundärer Standard).



Die ^{13}C-chemischen Verschiebungen von Aldoximfunktionen liegen in einem charakteristischen Bereich zwischen ca. 145 und 163 ppm, wobei C-1(E)- und C-1(Z)-Atome aufgrund sterischer Wechselwirkungen unterschiedliche Signale liefern können. Entsprechend zeigten die ^{1}H-breitbandentkoppelten Spektren von 2-Aminoacetaldoxim sowie die D-Hexosaminoxime jeweils ein Dublett um 148 bez. zwischen ≈ 151 und ≈ 157 ppm, wobei die intensiveren Hochfeldsignale in Übereinstimmung mit dem ^{1}H-NMR-spektroskopisch ermittelten Isomerenverhältnis und entsprechend der meist gültigen Relation $\delta^{13}C$-1(E) > $\delta^{13}C$-1(Z) [183] den (E)-Isomeren zugeordnet werden konnten. Für D-Glucosaminoxim-Hydrochlorid wurde ein Signal bei 148,2 ppm beobachtet, im gekoppelten Spektrum konnten jedoch zwei < 0,1 ppm verschobene Dubletts annähernd gleicher Intensität aufgelöst werden. Anders als von SNYDER für die (E,Z)-Aldopentoseoxime beschrieben, wurden für die übrigen Atome der Kohlenstoffgerüste des D-Glucosaminoxim-Hydrochlorids und der D-Hexosaminoxime keine getrennten Signale beobachtet.

Während SNYDER die C^2-C^4-Signale der Aldopentoseoxime in der Reihe zunehemder Hochfeldverschiebung $\delta(C^3)$ > $\delta(C^4)$ > $\delta(C^2)$ zwischen etwa 74 und 70 ppm, und die C^5-Signale um 60 ppm annimmt, ordnen VanHAVEREN et.al. das bei höchstem Feld liegende Signal dem C^2-Atom zu. Diese Zuordnung steht in Einklang mit der allgemeinen Beobachtung, daß zwischen den ^{13}C-NMR-Signale von Oxim- bzw. Imino-Gruppen und α-ständigen Kohlenstoffen meist Hochfeldverschiebungen > 120 ppm bestehen. PRETSCH et.al. (1986) [171] geben für die α-Methyl-Kohlenstoffe aliphatischer (E/Z)-Oxime δ=31,5 und 27,1 ppm, für α-Methylengruppen in Iminen δ= 50,6 ppm als Richtwerte an. 2-Aminoacetaldoxim zeigte die C^2-Signale zwischen 41 und 37 ppm. Daher wurden die bei etwa 55 ppm liegenden ^{13}C-NMR-Signale der α-Hexosaminoxime in Übereinstimmung mit VanHAVEREN et.al. den C^2-Atomen zugeordnet. Die Signallagen aller Liganden folgen damit der

Beziehung: $\delta(C^1) >> \delta(C^3) \approx \delta(C^4) > \delta(C^5) > \delta(C^6) > \delta(C^2)$.

3.2.7 C-13-NMR-Spektrum des Tc-D-Glucosaminoxim-Komplexes

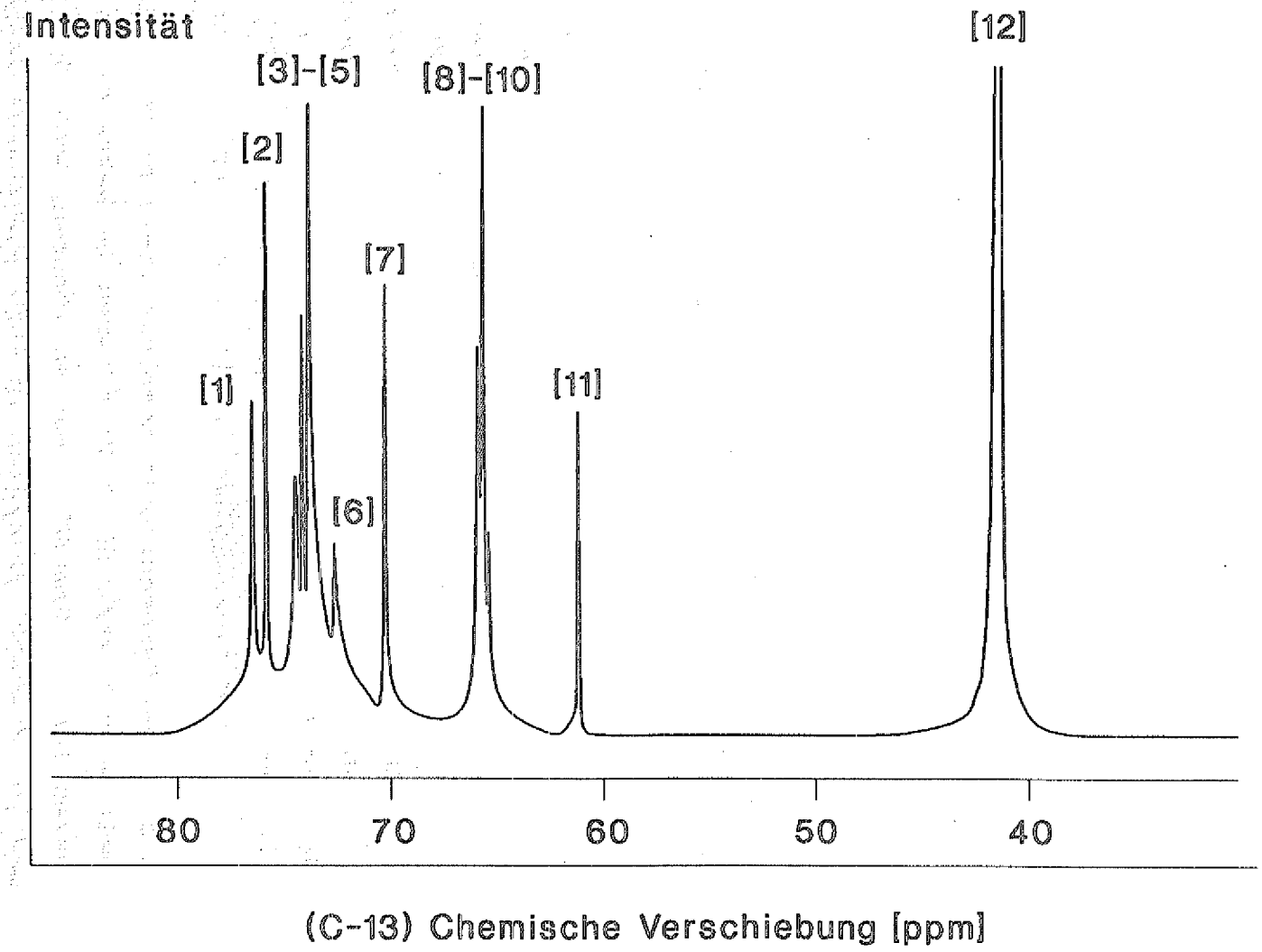
Die Aufnahme eines ^{1}H-Breitband-entkoppelten ^{13}C-NMR-Spektrums des in D_2O gelösten Tc-D-Glucosaminoxims (c ≈ 20 mg · 2,5 ml^{-1}) erfolgte mit dem *Bruker WH-270 FT-NMR-Spektrometer* unter den bereits zuvor beschriebenen Bedingungen. Um zu einem günstigen Signal/Rausch-Verhältnis zu gelangen, war eine Meßzeit von etwa siebzehn Stunden erforderlich. Trotz der langen Meßzeit enthielten aber weder das ^{13}C-NMR-Spektrum, noch ein nachfolgend von der Lösung aufgenommenes ^{1}H-NMR-Spektrum Hinweise auf eine Dissoziation des Komplexes. Auf die Aufnahme von ^{13}C-NMR-Spektren der beiden anderen Komplexe wurde aufgrund des hohen Substanzbedarfes und der begrenzten Aussagefähigkeit der Methode verzichtet.

Das ^{13}C-NMR-Spektrum des Tc-D-Glucosaminoxim-Komplexes bestand aus einigen relativ schwachen Signalen zwischen 80 und 60 ppm sowie einem sehr starken Singulett, das gegenüber den Resonanzen des D-Glucosaminoxims hochfeldverschoben bei 41,5 ppm erschien. Seine Intensität stand zu den individuellen Intensitäten der anderen Signale in Verhältnissen zwischen ≈ 20:1 und ≈ 40:1. Infolge der zu erwartenden negativen Koordinationsverschiebung [184)] fehlte das charakteristische C^1-Signal des freien Liganden bei 148,2 ppm. Abbildung 23 enthält das Spektrum unter Angabe der entsprechenden Signallagen.

Die Dominanz des 41,5 ppm-Signals im ^{13}C-NMR-Spektrum von ^{99}Tc-D-GluAO ist bemerkenswert, jedoch ohne quantitative Bedeutung. Im Gegensatz zu ^{1}H-NMR-Spektren liefert die Integration von *Routine*-^{13}C-NMR-Spektren nämlich keine Aussagen über das Verhältnis nicht äquivalenter Kerne. So hängen die Signalintensitäten von den Relaxationszeiten der zugehörigen ^{13}C-Kerne und bei ^{1}H-Breitband-Entkopplung zusätzlich von den heteronuklearen Kern-Overhauser-Effekten ab. Letztere können Intensitätszunahmen von bis zu 200 % verursachen [185]. Ohne die zusätzlichen Informationen eines hochaufgelösten ^{13}C-^{1}H-Shift-korrelierten NMR-Spektrums war daher die zweifelsfreie Zuordnung individueller ^{13}C-Signale nicht möglich. Da bei Koordination über die Stickstoffatome der α-Aminoxim-Gruppe aber nur ein geringer Einfluß des Zentralatoms auf die chemische Umgebung der endständigen Ligandatome zu erwarten war, sollten die drei eng zusammenliegenden Signale bei 65,7, 65,5 und 65,4 ppm Resonanzen von C^6-Atomen der komplexgebundenen D-Glucosaminoxim-Liganden ($\delta^{13}C(C^6)$= 65,6 ppm) sein. Unter Berücksichtigung der Hochfeldverschiebung der C^1- und C^2-Resonanzen ließ sich in dem intensiven Singulett bei 41,5 ppm ein Kombinationssignal der direkt an die N-Donoratome gebundenen ^{13}C-Kerne vermuten. Unter dieser Voraussetzung ist die Anzahl der gefundenen Signale mit zwölf um drei größer, als für einen unsymmetrischen Komplex mit zwei D-Glucosaminoxim-Liganden maximal zu erwarten gewesen wären. Mit Ausnahme eines Signals bei 61 ppm fallen alle restlichen Signale in das Gebiet der C^3-C^5-Resonanzen des D-Glucosaminoxims zwischen 77 und 70 ppm.

Da die Tc-α-Hexosaminoxim-Komplexe viele polare Gruppen besitzen und erst durch Digerieren in Methanol in den festen Zustand überführt werden konnten, wäre der Einbau von Methanol-Molekülen in ihre Strukturen denkbar. Die bei 50,2 ppm zu erwartende Methylgruppe des nicht

Abb. 23 ^{1}H-Breitband-entkoppeltes ^{13}C-NMR-Spektrum des Tc-D-Glucosaminoxim-Komplexes in D_2O (= sekundärer Standard).



koordinierten Methanols [171] erschien im ^{13}C-NMR-Spektrum des Tc-Komplexes jedoch nicht.

3.3 Untersuchungen zur Zusammensetzung der Tc-99-Komplexe

3.3.1 Massenspektrometrische Untersuchungen an den Tc-99-Komplexen

Die massenspektrometrischen Untersuchungen wurden am Institut für Anorganische Chemie der Universität Göttingen mit einem *Finigan MAT-8230-Spektrometer* mit Fast-Atom-Bombardment- (Kr^+-Ionenquelle) oder Feld-Desorptions-Ionisation am ^{99}Tc-D-Glucosaminoxim- (alternierende FAB-MS positiver und negativer Ionen) und ^{99}Tc-D-Mannosaminoxim-Komplex (FD-MS positiver Ionen) durchgeführt und umfaßten den Bereich der relativen Ionenmassen 100-1000 mu (FAB-MS) bzw. m/z^+= 150-930 (FD-MS). Im Vorgriff auf die später zu diskutierende Struktur (s. Kapitel D.3.4) war die Molmasse 679 zu erwarten.

Die bei der FD-MS verwendeten Ionenemitter bestehen aus dünnen Wolframdrähten, die mit Benzonitril-Pyrolysat beschichtet sind. Feste Proben werden auf den Emitter in gelöster Form aufgetragen und können nach Eindampfen des Lösungsmittels massenspektroskopisch analysiert werden. Um polare Verbindungen besser desorbieren zu können, wird die Emittertemperatur während der Messung üblicherweise über einen Heizstrom kontinuierlich gesteigert. Bei der FAB-MS erfolgt die Ionisation dagegen ohne zusätzliche Zufuhr thermischer Energie aus einer viskosen Lösung. Die Anwendung beider Ionisationstechniken bei der Strukturaufklärung von Technetium-

Komplexen ist in der Literatur vielfach beschrieben worden. In unserer Arbeitsgruppe wurde die FAB-MS bereits zur Analyse von ^{99}Tc-Komplexen mit ß-Diketonen [186], *vic*-Dioximen [124-125] und 1,10-Phenanthrolin [126] eingesetzt.

Die Felddesorption wird meist mit Erfolg angewendet, wenn andere Ionisationstechniken versagen. Da die Ionisierung der Probe mittels eines sehr starken elektrischen Feldes schonend erfolgt und keine vorhergehende Verdampfung erfordert, eignet sie sich aber insbesondere bei thermisch labilen und/oder schwerflüchtigen Verbindungen. Durch die geringe Energiezufuhr werden Fragmentierungen unterdrückt. Im Gegensatz zu den meist recht komplexen FAB-Massenspektren erscheinen daher in den FD-Massenspektren in der Regel nur wenige stabile Ionen.

Im (+)FAB-Massenspektrum des in Glycerin/Wasser-Matrix gelösten Glucosaminoxim-Komplexes (Abbildung 24) erschien als intensivstes nicht der Matrix zugehöriges Signal das Fragmention TcO^+ bei m/z+= 115 (100%). Ein Ion bei m/z^+= 131 (18%) könnte TcO_2^+ zugeordnet werden, wobei aber kein Zusammenhang mit Tc-O-Bindungen im Komplex bestehen muß [187]. Das unter gleichen Bedingungen aufgenommene (-)FAB-Massenspektrum des Komplexes (Abbildung 25) zeigte dagegen zwischen $m/|z^-|$= 110 und $m/|z^-|$= 150 keine relevanten Massenpeaks. Beide Spektren enthielten weiterhin starke Signale von Ligandfragmenten, insbesondere bei m/z^+= 196 (75%) (($^{12}C_6{}^1H_{16}{}^{14}N_2{}^{16}O_5)^+$) und m/z^-= 194 (31%) ($[^{12}C_6{}^1H_{14}{}^{14}N_2{}^{16}O_5]^-$= M^-[Ligand]). Mit niedrigeren Intensitäten traten auch die in den FAB-Massenspektren des freien Liganden dominierenden Massen m/|z-|= 193 sowie m/z^+= 195 auf. Die mit relativ hoher Intensität erscheinenden Komplexfragmente bei m/z^+= 149 (18%), m/z^+= 207 (48%) sowie $m/|z^-|$= 127 (12%) waren ebenfalls in den FAB-Massenspektren des D-Glucosaminoxims enthalten.

Mit m/z+= 483 (2,5%) zeigte das (+)FAB-Massenspektrum des Komplexes den intensivsten Peak oberhalb 400 mu. Dieser könnte zu einem Kation der Zusammensetzung $^{99}Tc^{12}C_{12}{}^{1}H_{24}{}^{14}N_4{}^{16}O_{10}$ (= $[^{99}Tc(Ligand)_2-3H]^+$) gehören. Da aber weder das (+)FAB- noch (-)FAB-Massenspektrum Rückschlüße auf die Gesamtmasse des Komplexes zuließen, wurde von weiteren Versuchen zur FAB-Massenspektrometrie abgesehen.

Nach dem Stand der Literatur über Koordinationsverbindungen des Technetiums (^{99}Tc) wurden außer neutralen borverbrückten Komplexen mit drei Dioximliganden (BATO-Komplexe = Boronic Acid Adducts of Technetium Oximes) [187] bisher der neutrale Zweikernkomplex Monooxobis(ethan-1,2-dithiolato-S,μS')technetium(V)monooxo(ethan-1,2-dithiolato-S,S')technetium(V) $[(TcO)_2(SCH_2CH_2S)_3]$ [188], einige Hexakis(arylisocyanid)technetium(I) hexafluorophosphate $[Tc(CNR)_6)PF_6]$ [189], sowie Salze der Komplexanionen Tris(1,2-dicyan-1,2-dithiolatoethylen)technetat(IV) $[(Phen_4As)(Tc(C_4N_2S_2)_3]$ [188], Hexachlorotechnetat(V) $[(n-Bu_4N)(TcCl_6)]$ [190], Monooxo(bis(1,2-diolato))technetat(V) $[Na(TcO(OCH_2CH_2O)_2)]$ [46], Monoxo(bis(1,2-dithiolatoethylen)technetat(V) $[(Phen_4As)(TcO(SCH_2CH_2S)_2]$ [190], Monooxo(bis(1,2-dithiolatobenzol)technetat(V) $[(n-Bu_4N)(TcO(C_6H_4S_2)_2)]$ [190] und Monooxo(N,N'-ethylen-bis(2-mercaptoacetimido)technetat(V)) $[(n-Bu_4N)(TcO(ema))]$ [191] mittels FD-MS untersucht. Die FD-Massenspektren der genannten Komplexkationen enthielten die Molekülionen M^+ und M^{2+} (BATO-Komplexe). Komplexionen der Ladung +1 oder -1 können mit ihren Gegenionen aber ebenfalls einfach positiv geladene Clusterionen bilden [46][191-192]. So zeigten die FD-Massenspektren der genannten Komplexanionen Clusterionen $(M^-+Kation)^+$ oder $(M^-+2\ Kation)^+$. Weniger häufig ionisierten sie auch unter Bildung der protonierten Molekülionen $(M^-+2H^+)^+$. Beim neutralen $(TcO)_2(SCH_2CH_2S)_3$ fand sich $(M^0-H)^+$.

Abb. 24 (+)FAB-Massenspektrum von ^{99}Tc-D-GluAO (Matrix: Glycerin/Wasser).

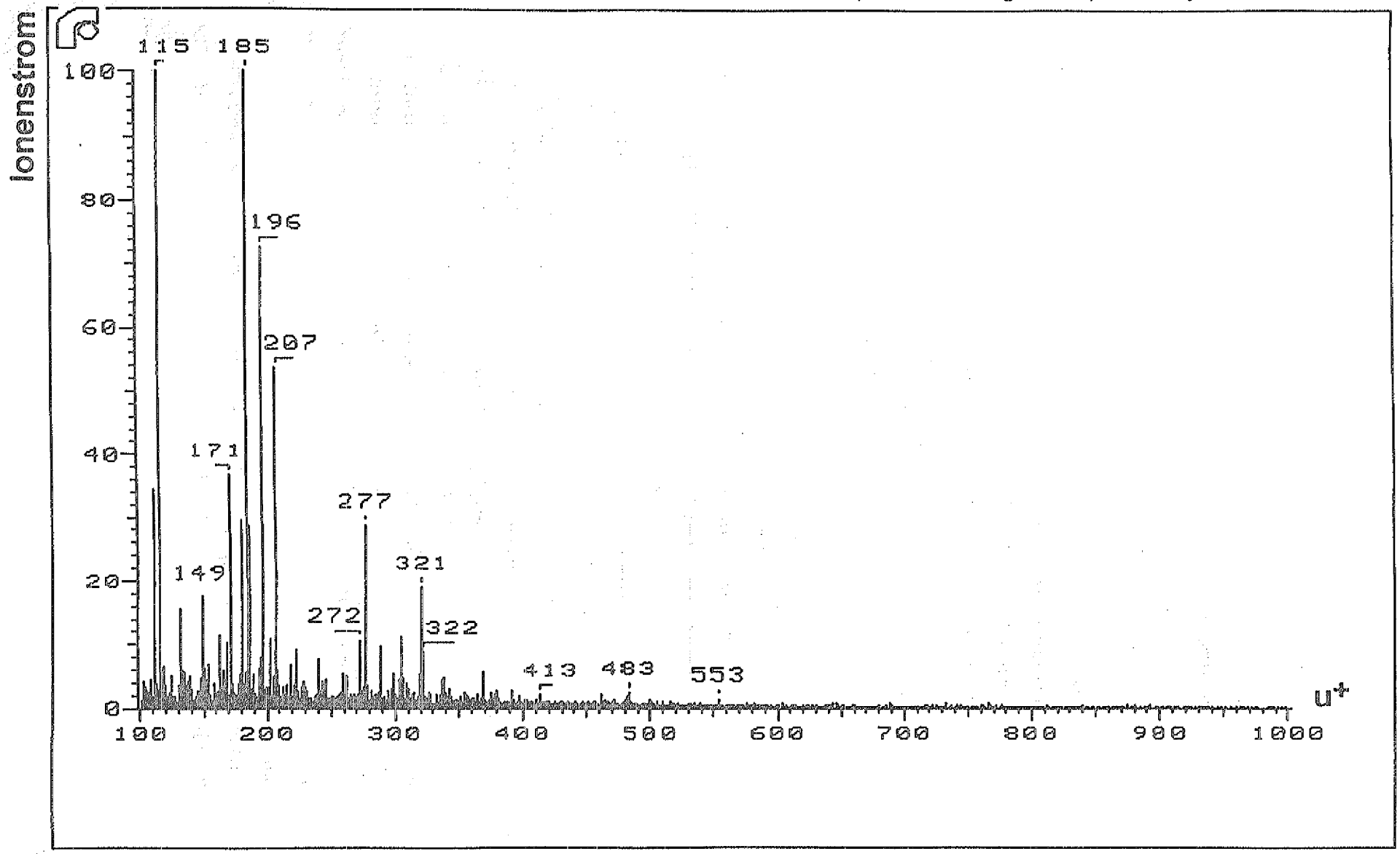
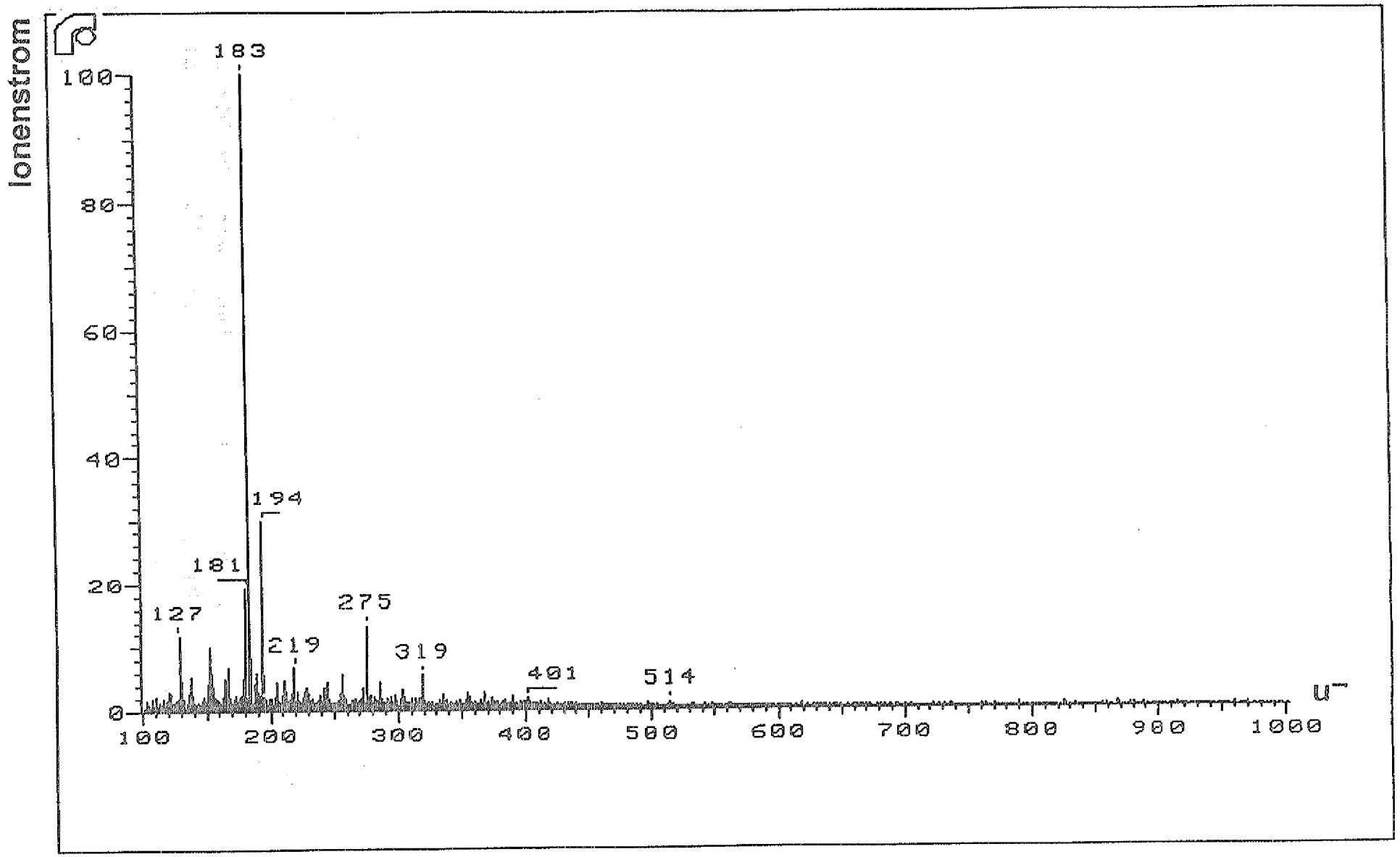


Abb. 25 (-)FAB-Massenspektrum von ^{99}Tc-D-GluAO (Matrix: Glycerin/Wasser).



Da sich die Emitterdrähte nur sehr schwer durch wässrige Lösungen benetzen lassen, verwendet man zum Probenauftrag meist flüchtige Lösungsmittel mit niedriger Oberflächenspannung. Im Falle der FD-MS des polaren $Na(TcO(OCH_2CH_2O)_2)$ wurde der Emitter so durch Eintauchen in eine methanolische Lösung des Komplexsalzes beladen [46].

In Anlehnung an dieses Verfahren wurden die festen Komplexe zunächst intensiv mit Methanol geschüttelt und aus den nahezu farblosen Lösungen durch wiederholtes Auftragen und Eindampfen bei Raumtemperatur auf dem Emitter konzentriert. Bei den nachfolgenden FD-MS-Analysen konnten jedoch nur im Falle von ^{99}Tc-D-ManAO ausreichende Ionenströme gemessen werden. Daher gehört das bei 335°-450°C Emittertemperatur erhaltene Massenspektrum (Abbildung 26) möglicherweise zu einem verunreinigenden Nebenkomplex. Es wies zwischen dem schwersten Fragment bei m/z^+= 934 (5%) und m/z^+= 519 (6%) keine Ionen auf und zeigte neben dem Hauptpeak bei m/z^+= 327 (100%) die intensivsten Signale bei m/z^+= 305 (48%) und 343 (45%). Bei m/z^+= 193 (6%) erschien ein Ligandsignal, bei m/z+= 309 (9%) ein Ion der möglichen Zusammensetzung $[TcO(Ligand)]^+$ (berechnet: 309,1 mu). In Analogie zum 483 mu-Signal im (+)FAB-Massenspektrum von ^{99}Tc-D-GluAO könnte ein kleinerer Peak bei m/z^+= 484 ein Fragmention der Zusammensetzung $[^{99}Tc(Ligand)_2-2H]^+$ repräsentieren.

Wesentlich besser konnten die Komplexe in Gemischen aus Methanol und geringen Anteilen Dimethylsulfoxid (< 5%) gelöst werden. So wurde nach vorsichtigem Eindampfen des Lösungsmittels auf dem erwärmten Emitter das in Abbildung 27 enthaltene Massenspektrum von ^{99}Tc-D-ManAO aufgezeichnet. Aus organisatorischen Gründen konnte das Ergebnis allerdings nicht durch Vergleichsmessungen mit den beiden anderen Komplexen weiter abgesichert werden.

Abb. 26 (+)FD-Massenspektrum von ^{99}Tc-D-ManAO (aus Methanol).

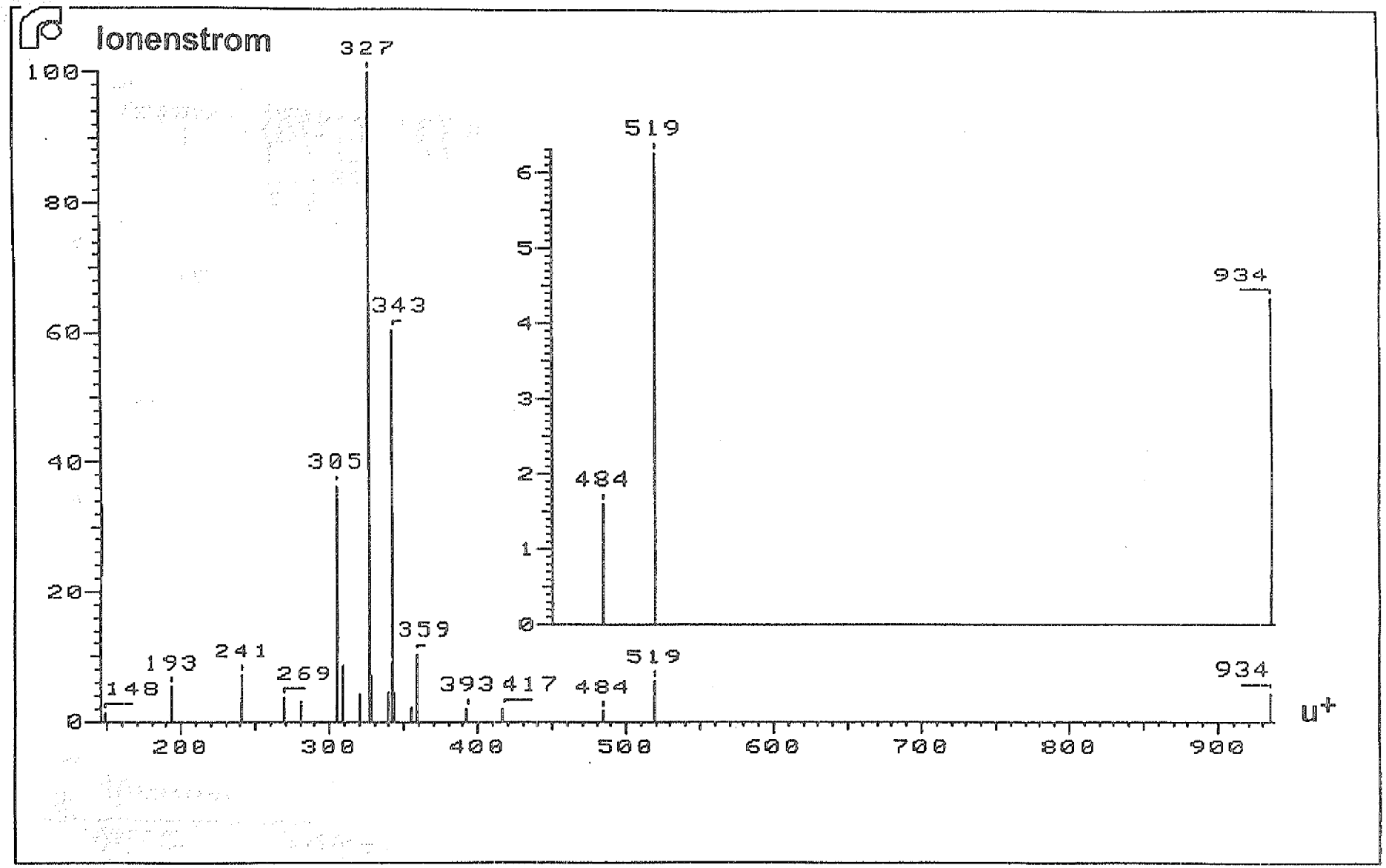
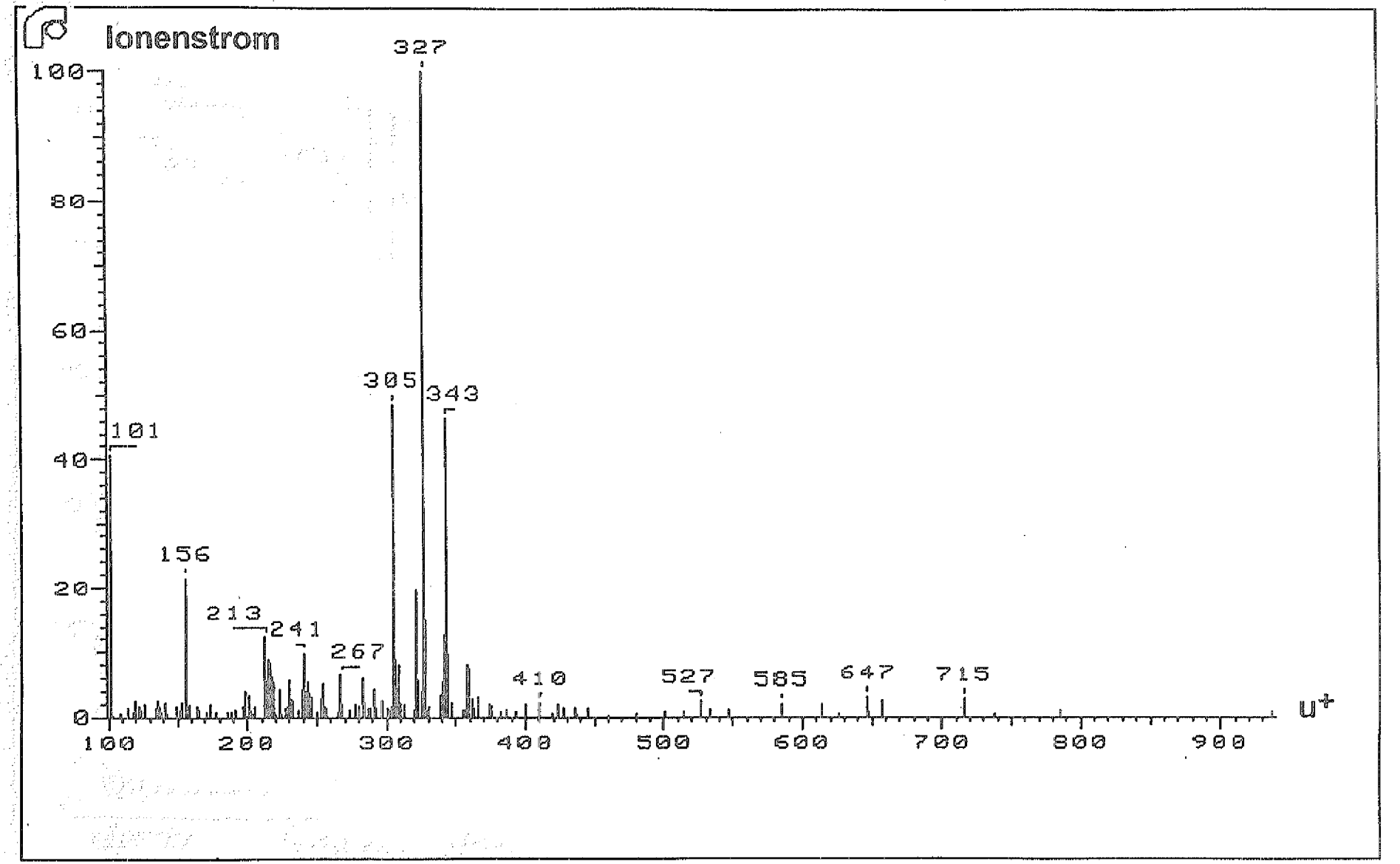


Abb. 27 (+)FD-Massenspektrum von ^{99}Tc-D-ManAO (aus DMSO/MeOH-Lösung).



Bei Desorptionstemperaturen um 350°C und darüber erschienen neben dem intensivsten Ion bei m/z^+= 327 auch hier wieder die charakteristischen Peaks bei m/z^+= 305 und 343. Als schwerstes Ion wurde m/z^+= 936 gefunden. Im Unterschied zum vorhergehenden Versuch traten zwischen m/z^+= 514 und m/z^+= 784 traten jedoch viele weitere Signale auf, was auf einen Komplex mit drei D-Mannosaminoxim-Liganden deutet. Oberhalb m/z^+= 343 dominierte ein Peak bei m/z+= 715, der unter der Voraussetzung von zwei Wasserstoffbrücken im Komplex einem massenspektrometrischen Clusterion der Zusammensetzung $[^{99}Tc^{III}(Ligand)(Ligand\text{-}H)_2Cl]^+$ zugeordnet werden könnte (berechnet: 714,7 mu). Entsprechende M^+- oder $(M^+\pm H)^+$-Ionen waren zwar nicht nachweisbar, jedoch könnte der ebenfalls sehr signifikante Peak bei m/z+= 657 $(M^+\text{-}H)^+\text{-}H_2O$ sein (berechnet: 657,1 mu).

3.3.2 Bestimmung der Summenformel über Elementaranalyse, β-Szintillationsmessungen und Ionenchromatographie

Die isolierten ^{99}Tc-Komplexe wurden mittels der *Rapid N-A* Verbrennungsanalyse auf ihren Gehalt an Kohlenstoff, Stickstoff und Wasserstoff untersucht. Die quantitative Bestimmung des Technetiums erfolgte über Flüssigkeitszintillationsmessungen. Aufgrund der festgestellten positiven Ladung wurden die Komplexe außerdem mittels Anionenchromatographie analysiert. Sie enthielten erwartungsgemäß stöchiometrische Mengen an Chlorid. Bei der chromatographischen Analyse liefen die Komplexe als unretardierte Substanzen mit der Lösungsmittelfront. Die über die genannten Methoden ermittelten Elementgehalte sind in Tabelle 11 zusammengestellt. Als Vergleichswerte sind die für das Chlorid eines

Tabelle 11 Zusammensetzung der Technetium-Komplexe
(in % Gewicht bezogen auf 100% Festsubstanz)

Komplex		C	H	N	Cl^-	Tc
Tc-D-GluAO	gefunden:	31,4 ±0,2	5,7 ±0,1	7,5 ±0,2	5,4	12,1
Tc-D-GalAO	gefunden:	29,8 ±0,1	5,4 ±0,1	8,0 ±0,2	5,7	11,6
Tc-D-ManAO	gefunden:	31,2 ±0,4	5,9 ±0,2	9,9 ±0,2	4,9	11,0
Mittelwerte für $TcC_{22}H_{48,2}N_{5,2}O_{17}Cl_{1,3}$:		30,8	5,7	8,5	5,3	11,6
Vergleichswerte für						
$TcC_{18}H_{41}N_6O_{15}Cl$	:	30,2	5,8	11,7	5,0	13,8
$TcC_{18}H_{41}N_6O_{15}Cl \cdot H_2O$	:	29,5	5,6	11,5	4,8	13,5

einfach positiv geladenen Komplex-Kations mit zwei Hexosaminoxim- und einem Hexosaminoximat-Liganden ohne oder mit einem Molekül Strukturwasser (s. Kapitel D.3.4) zu erwartenden Prozentzahlen aufgeführt.

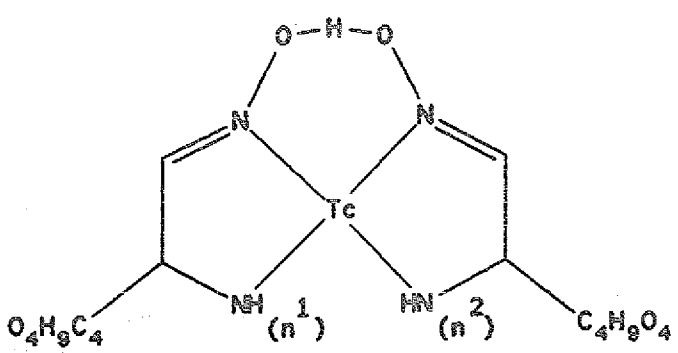
Anstelle des C:H:N-Verhältnisses der freien Liganden von 6:14:2 findet sich bei den Komplexen in Mittel das Verhältnis 6:13,2:1,4. Während eine Erhöhung des C:H-Quotienten durch Deprotonierung der Amino- und/oder Oximgruppen der komplexgebundenen Liganden erklärbar ist, sollte eine Eliminierung von Stickstoff aus den Liganden unter den Bedingungen der Komplexsynthese und Aufarbeitung nicht erfolgen. Daher ist fraglich, ob die Stickstoffgehalte nicht aufgrund apparativ/methodischer Gründe zu niedrig angezeigt wurden.

3.4 Diskussion der experimentellen Ergebnisse

Die vorliegenden Ergebnisse zeigen, daß es sich bei den isolierten ^{99}Tc-Komplexen um Isomere handelte. Aus den in Tabelle 11 für die Zusammensetzung der Komplexe tabellierten Prozentzahlen ergibt sich die mittlere Bruttoformel $TcC_{22}H_{48,2}N_{5,2}O_{17}Cl_{1,3}$. Die Standardabweichungen sind $\pm 1,6$ für C, $\pm 4,4$ für H, $\pm 1,0$ für N und $\pm 0,1$ für Cl. Die Anzahl der Sauerstoffatome ist aus den Mittelwerten errechnet. Damit deutet die gefundene Zusammensetzung auch unter Berücksichtigung des unsicheren Stickstoffwertes auf Komplexkationen mit drei Liganden und Chlorid als Anion. Die analytischen Daten ergaben keine Hinweise auf mehrkernige Komplexe. Infolge des sehr polaren Charakters könnte auch Strukturwasser in den Komplexen vorkommen. So nahmen auch NAGEL [118] und NAGEL et.al. [119] für Ni-D-GluAO aufgrund der Elementaranalyse je ein Molekül Struktur-

wasser pro Komplexmolekül an. Ein Einbau von Methanol in die ^{99}Tc-Komplexe kann nach den infrarot- und ^{13}C-kernresonanz-spektroskopischen Untersuchungen dagegen wohl ausgeschlossen werden. Die ^{1}H-NMR-Spektren sind wegen ihrer unzureichenden Auflösung dazu nicht aussagefähig.

Alle vorhergehend beschriebenen Untersuchungen können mit kationischen Tris-Chelat-Komplexen des Technetiums mit D-Glucosaminoxim, D-Galactosaminoxim und D-Mannosaminoxim in Einklang gebracht werden. Die Koordination der Liganden erfolgt entsprechend den ^{1}H-NMR- und ^{13}C-NMR-Untersuchungen über die Stickstoffatome der 2-Amino-1-oxim-Einheiten. Weder die IR-Spektren der Komplexe noch das ^{13}C-NMR-Spektrum des D-Glucosaminoxim-Komplexes ergaben Anhaltspunkte für eine zusätzliche Koordination von Sauerstoffatomen der Hydroxygruppen an das Technetium-Zentralatom. Die durch die IR/^{1}H-NMR- und evt. auch die UV-Spektren angezeigten intramolekularen Wasserstoffbrücken erfordern das

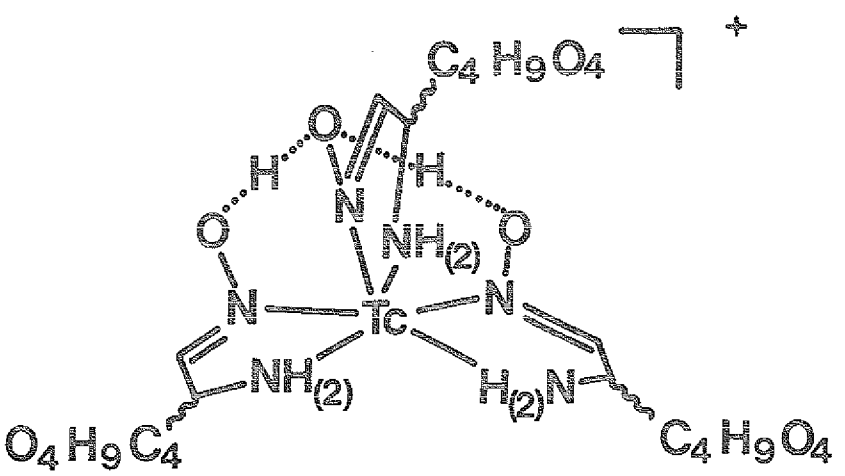


n≈ 1,2

(36)

Strukturelement (36), dessen Masse abhängig von der Deprotonierung der beiden Aminogruppen bei 484,2 mu ($n^{1,2}$=1), 485,2 mu (n^1=1, n^2=2 bzw. n^1=2, n^2=1) oder 486,2 mu ($n^{1,2}$=2) liegt. In den Massenspektren bei m/z^+= 483 (FAB-MS) und m/z^+= 484 oder m/z^+= 481 (FD-MS) ge-fundene Peaks können mit (36) in Zusammenhang gebracht werden, wobei Deprotonierung einiger Hydroxygruppen und /oder Aminogruppen anzunehmen ist.

Da ^{1}H-NMR-spektroskopisch zwei Wasserstoffbrückenbindungen nachgewiesen wurden, wird -in Anlehnung an die bereits bekannten Tris-Chelate des Technetium(III) mit drei vierfach verbrückten *vic*-Dioxim-Liganden [182]- für die Tc-α-hexosaminoxim-Komplexe die Struktur (37) vorgeschlagen. Die für das Erscheinen zweier O<u>H</u>O-Signale in den ^{1}H-NMR-Spektren erforderliche Asymmetrie der Struktur kann durch die Chiralitätszentren an den C^2-Atomen der Liganden begründet werden. Unter Annahme von Tc^{III}, Tc^{IV} oder Tc^{V} erfordert die Struktur die Deprotonierung einer (Tc^{III}) bis aller (Tc^{V}) Ligand-



(37)

Aminogruppen. Für Tc^{III} sprechen die im FD-Massenspektrum von ^{99}Tc-D-ManAO bei m/z^{+}= 715 und m/z^{+}= 657 gefundenen Peaks. Zur Klärung der Existenz und Anzahl von Aminogruppen in den Komplexen erscheint noch die Aufnahme von ^{15}N-NMR-Spektren und die Auswertung der zu erwartenden ^{1}H-^{15}N-Kopplungsmuster interessant. Die entsprechende apparative Einrichtung stand jedoch nicht zur Verfügung.

Für ergänzende Untersuchungen erscheinen homologe ^{99}Tc-α-Aminoximzucker-Komplexe mit kleineren Liganden geeigneter. So könnte bei geringerer Hydrophilie die Kristallisation eines hochreinen Komplexes aus methanolischer Lösung gelingen, wodurch röntgenographische sowie präzise magnetische Messungen möglich wären. Der Übergang zu mehr methanollöslichen Komplexen ist auch im Hinblick auf die geeignetere Anwendbarkeit der FAB- und/oder FD-Massenspektroskopie sowie die einfachere Interpretation der IR- und NMR-Spektren lohnend. Weiterhin scheint auch noch der Vergleich der ^{99}Tc-Aminoximzucker-Komplexe mit ^{99}Tc-Oximzucker-Komplexen interessant. Nach eigenen Vorversuchen bildet sich bei der Reduktion von Pertechnetat mit Natriumdithionit in wässriger Lösung in Gegenwart von D-Arabinoseoxim ein ebenfalls gelbbrauner, jedoch gut methanollöslicher Komplex.

E. Studien zur Bioverteilung und in-vitro-Stabilität

Zur Analyse von Struktur/Bioverteilungs-Beziehungen sowie zur Prüfung auf radiodiagnostische Eignung wurde die Organverteilung der ^{99m}Tc-D-glucosaminoxim- ("^{99m}Tc-D-GluAO") und ^{99m}Tc-D-galactosaminoxim- ("^{99m}Tc-D-GalAO") Präparate in weißen Mäusen des NMRI-Stammes bestimmt. Nachstehend noch beschriebene Untersuchungen an Lösungen der ^{99}Tc-Komplexe in Humanblutplasma belegten ihre in-vitro-Stabilität. Alle Bioverteilungsstudien erfolgten im Institut für Nuklearchemie der Forschungszentrum (KFA) Jülich GmbH.

Die Synthese der ^{99m}Tc-Präparate erfolgte ausgehend von ^{99m}Tc-Generatoreluat der Aktivitäten A_o= 2,0 (Tc-D-GluAO) bzw. 2,4 (Tc-D-GalAO) GBq (54 bzw. 65 mCi) nach der in Kapitel D.2.4 angegebenen Arbeitsvorschrift mit den als günstig ermittelten Ansätzen m($Na_2S_2O_4$)= 8,4 mg und m(Ligand)= 8,7 mg. Nach Anionenaustausch und Eindampfen der Produktlösung wurde der jeweils erhaltene Rückstand in 2 ml heliumbegastem Wasser gelöst und die Radioaktivität bestimmt. Die radiochemische Ausbeute betrug in beiden Fällen 30%. Mittels HPLC war kein überschüssiges Pertechnetat nachweisbar. Anschließend wurden Aliquote dieser Lösungen mit 0,9%iger (physiologischer) NaCl-Lösung auf Aktivitätskonzentrationen von 1,11 MBq (30 μCi)$\cdot$ml^{-1} verdünnt. Pro Versuchstier wurden 100 μl (111 KBq, 3 μCi) der so hergestellten Lösungen intravenös über eine der drei Schwanzvenen injiziert. Da Mäuse über die Durchblutung dieser Adern ihre Körpertemperatur regulieren, wurden die Tiere vor Injektion unter einer Heizlampe erwärmt, wodurch eine möglichst rasche Verteilung der radioaktiven Substanz im Organismus gewährleistet wurde.

Die Bioverteilungsstudien erfolgten mit jeweils zwölf Versuchstieren, wobei die Organverteilungen nach Inkubationszeiten t_I von 1 min an fünf Mäusen, 10 min an vier Mäusen und 100 min an drei Mäusen bestimmt wurden. Vergiftungserscheinungen oder Änderungen im Verhalten der Tiere während der Inkubationszeiten konnten nicht registriert werden. Zu den genannten Zeitpunkten wurden die Versuchstiere rasch und schmerzlos (durch Genickbruch) getötet und nach Entnahme eines Blutvolumens seziert. Die im Blut sowie in Herz, Lunge, Leber, Hirn und Nieren enthaltenen Aktivitäten wurden in einem Auto-Gammacounter bei Meßzeiten von 10 min bestimmt und nach Wägung des Blutes und der Organe in $\%Dosis \cdot g^{-1}$ Blut bzw. Organ umgerechnet. In den Herzkammern noch verbliebene Blutreste wurden vor den Messungen mit physiologischer NaCl-Lösung ausgespült. Die Tabellen 12 und 14 enthalten die Ergebnisse der Bioverteilungsstudien als Mittelwerte aus den Einzelmessungen unter Angabe ihrer mittleren Fehler und ihrer Standardabweichungen s (in Klammern). Die zugehörigen semilogarithmischen Diagramme finden sich in den Abbildungen 29 und 30. Berechnete Anreicherungsverhältnisse der Organe können den Tabellen 13 und 15 entnommen werden.

Um die Stabilität der reinen Komplexe unter physiologischen Bedingungen abzuschätzen, wurden Lösungen der Konzentration 0,3 $mg \cdot ml^{-1}$ ^{99}Tc-D-GluAO oder ^{99}Tc-D-GalAO in Humanserum hergestellt und bei 37°C thermostatisiert. Entsprechend den in den Tierversuchen gewählten Inkubationszeiten wurden je 500 µl dieser Lösungen nach 1, 10 und 100 min mit dem gleichen Volumen Acetonitril versetzt, die als cremefarbene Niederschläge gefällten Eiweiße durch Ultrazentrifugieren (10 min bei $10 \cdot 10^3$ upm) sedimentiert und das überstehende Blutserum/Acetonitril-Gemisch in das gewählte Standard-HPLC-System injiziert. Dabei traten keine signifikanten Unterschiede im Verhalten von ^{99}Tc-D-GluAO und ^{99}Tc-D-

GalAO zutage. Zur Beurteilung der Chromatogramme wurden nach dem gleichen Verfahren Blindversuche ohne Komplex durchgeführt. Abbildung 28 zeigt exemplarisch das Chromatogramm der nach 10 min bei 37°C erhaltenen ^{99}Tc-D-GalAO-Lösung. Bei Detektion der 405 nm-Absorption erschienen die im Serum verbliebenen Komplexe bei den erwarteten Retentionszeiten. Noch gelöste Eiweiße absorbierten zwar ebenfalls im blauen Spektralbereich, störten den Nachweis aufgrund ihrer wesentlich höheren Retentionszeiten aber nicht.

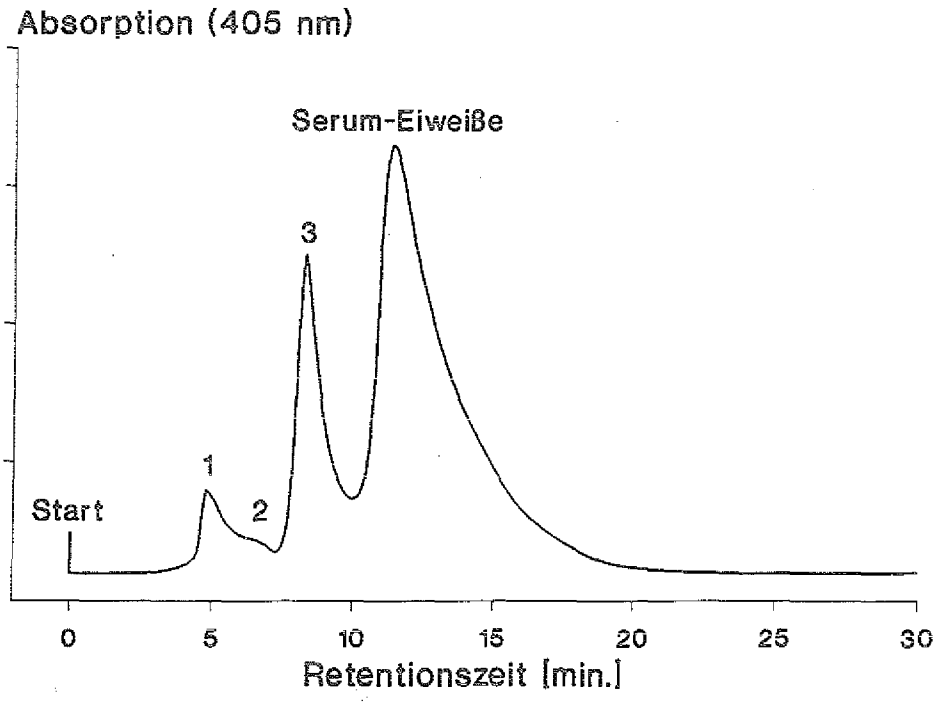


Abb. 28 ^{99}Tc-D-GalAO in Humanblutserum (t_I= 10 min bei 37°C). (3) ursprünglicher Komplex, (1,2) Zerfallsprodukte.

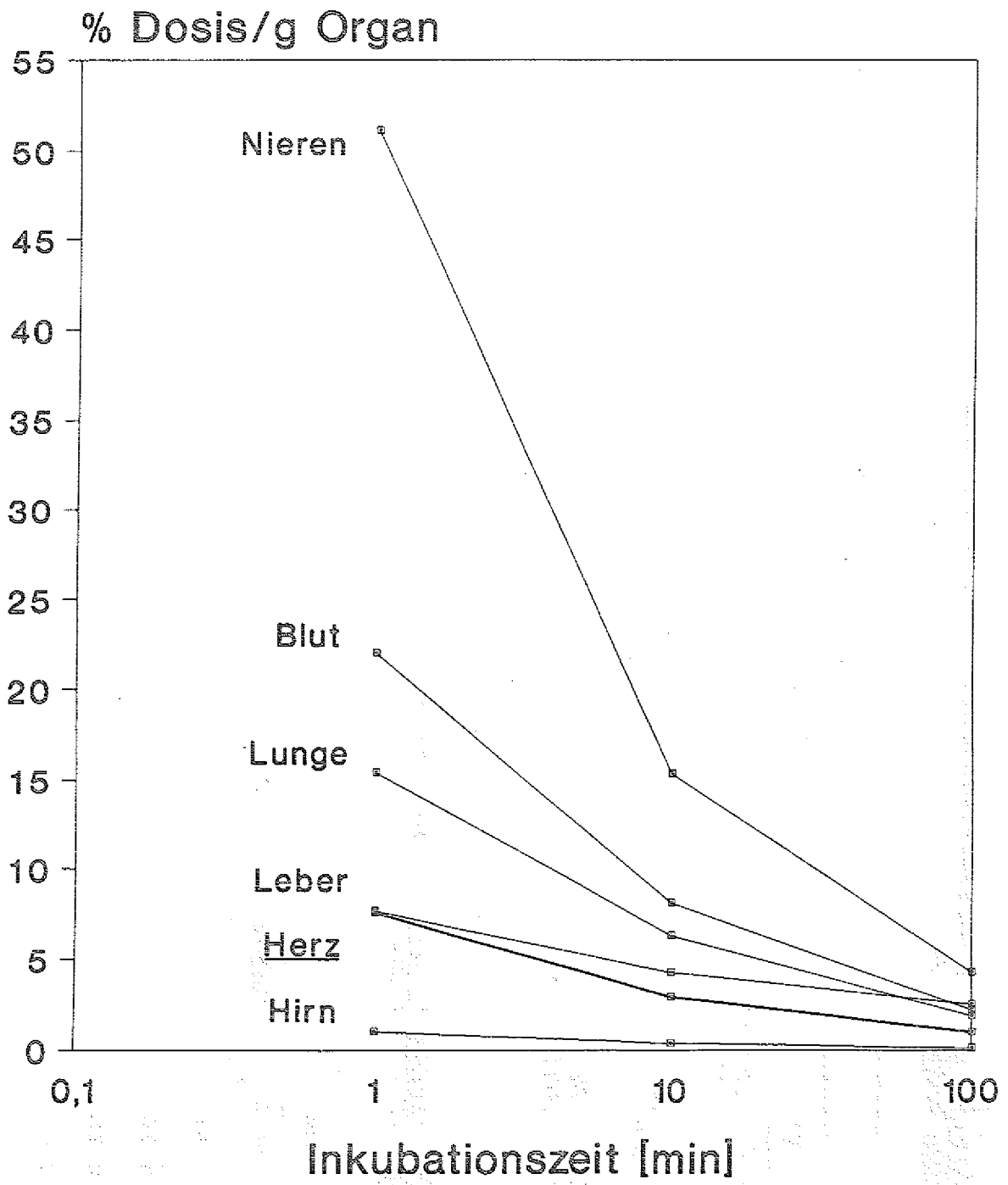


Abbildung 29 Bioverteilung von ^{99m}Tc-D-GalAO in weißen NMRI-Mäusen.

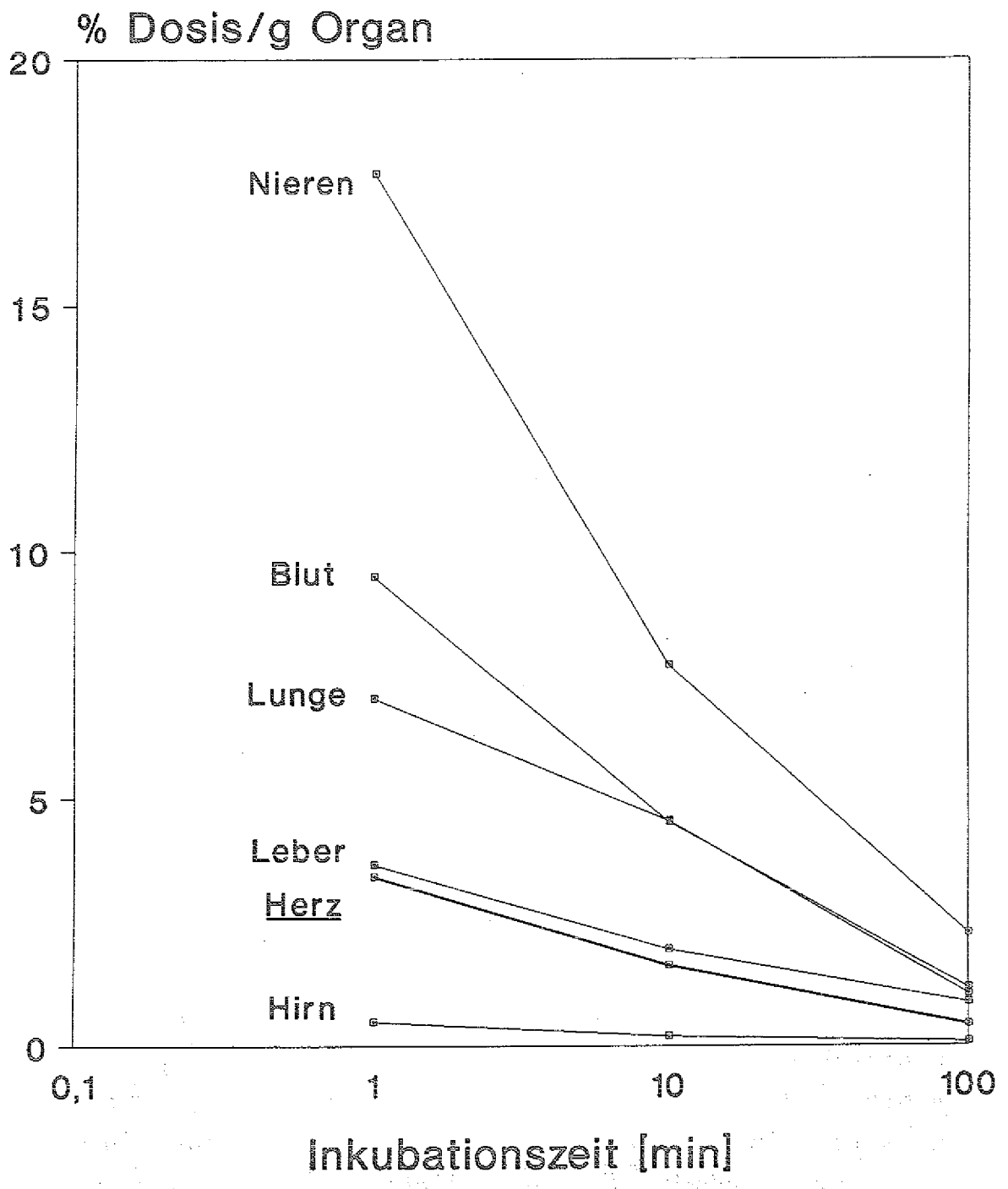


Abbildung 30 Bioverteilung von ^{99m}Tc-D-GluAO in weißen NMRI-Mäusen

Nach 10 min waren noch 90%, nach 100 min noch etwa 80% der Komplexe unverändert im Serum vorhanden. Mit geringeren Peakflächen waren in beiden Fällen bei R_T= 6 min und R_T= 5 min Zerfallsprodukte nachweisbar, deren Anteil mit steigender Inkubationszeit jedoch nur geringfügig anstieg. Bei ersteren handelt es sich wahrscheinlich um Komplexe, die -wie in den Kapiteln D.2.3 und D.2.3.1 gezeigt wurde- auch bei den Synthesen der ^{99}Tc/^{99m}Tc-hexosaminoximzucker-Komplexe entstehen.

^{99m}Tc-D-GluAO und ^{99m}Tc-D-GalAO wurden nach Injektion zunächst in allen untersuchten Organen mehr oder weniger angereichert, aus diesen jedoch sehr schnell wieder ausgewaschen. In Übereinstimmung mit dem für hydrophile, körperfremde Substanzen erwarteten Verhalten wurden sie rasch über die Nieren ausgeschieden. Maximal wurde eine Anreicherung von 51,1 ± 11,5 %Dosis·g^{-1} Nierengewebe für ^{99m}Tc-D-GalAO bestimmt, welche innerhalb von 100 min. auf 4,3 ± 0,2 %Dosis·g^{-1} abfiel. Die Nieren/Blut-Aktivitätsverhältnisse lagen bei beiden Präparaten recht konstant um 2,0 ± 0,3. Aufgrund des zeitlichen Verlaufs der Organverteilung fallen die Substanzen damit -wie alle nach dem derzeitigen Stand der Literatur in vivo getesteten kohlenhydrathaltigen ^{99m}Tc-Komplexe- in die Gruppe der "flow-tracer", deren Akkumulation in den Organen mit der Konzentration und Konzentrationsänderung im Blut korreliert. Die Organverteilung des ^{99m}Tc-D-glucosaminoxim-Präparates ergab im Vergleich zu den analogen Daten mit ^{99m}Tc-D-galactosaminoxim bei ähnlichen Organ/Organ bzw. Blut/Organ-Verhältnissen allerdings jeweils etwa um die Hälfte niedrigere Anreicherungswerte. Dieses bemerkenswerte Ergebnis wurde für ^{99m}Tc-D-glucosaminoxim in einem Kontrollversuch mit zwei Mäusen bei 1 min Inkubationszeit verifiziert. Da sich aus den Nieren- und Leberanreicherungen keine wesentlichen Unterschiede zum Ausscheidungsverhalten des ^{99m}Tc-D-GalAO ergeben,

ist anzunehmen, daß ^{99m}Tc-D-GluAO stärker in den nicht untersuchten Organen akkumuliert.

Interessant ist, daß ^{99m}Tc-D-GluAO und ^{99m}Tc-D-GalAO die Blut/Hirn-Schranke zwar nicht oder kaum durchdrangen, sich unmittelbar nach Injektion jedoch signifikant im Herzmuskel akkumulierten. Im Hinblick auf den stark hydrophilen Charakter der Komplexe und ihre im Vergleich zu D-Glucose größere räumliche Ausdehnung erscheint es dabei unwahrscheinlich, daß die Komplexe die Membranen der Herzmuskelzellen mittels einfacher Diffusion überwinden können (s. Kapitel B.1), so daß ein Transportmechanismus involviert sein sollte. Die 1 min. nach Injektion festgestellte %Dosis·g^{-1} Herzmuskel des ^{99m}Tc-D-GluAO" liegt in der Größenordnung der von uns in vorhergehenden Arbeiten untersuchten kationischen ^{99m}Tc-*vic*-Dioxim-Komplexe. ^{99m}Tc-D-GalAO übertrifft die Herzwerte dieser relativ lipophilen Komplexe und zeigt mit 7,6 ± 0,4 %Dosis·g^{-1} Herzmuskel 1 min nach Injektion anfangs auch höhere Herzanreicherung als die in der Arbeitsgruppe synthetisierten und in vivo getesteten fettsäurehaltigen kationischen ^{99m}Tc-(FA-DIARS)$_2$Cl$_2$]$^+$- (6,9 %Dosis/g Herz) und ^{99m}Tc-(FA-DMPE)$_2$Cl$_2$]$^+$-Komplexe (4,8 %Dosis/g Herz) [19]. ^{99m}Tc-D-GalAO ergibt bis zu einer Stunde nach Injektion ebenfalls bessere Herzanreicherungen als die kürzlich von MAGATA et.al. (1991) [193] beschriebenen und in Mäusen getesten ^{125}I-markierten N-(iodo-benzoyl)-D-glucosamin-(=BGA) Derivate. Abbildung 30 zeigt dazu ein vergleichendes Diagramm. Die höchste von MAGATA et.al. gefundene Herzanreicherung lag bei 5,3 ±1,1 %Dosis·g^{-1} Herzmuskel für "m-BGA" und wurde 5 min. nach Injektion ermittelt. Wie MAGATA et.al. außerdem berichten, zeigen die BGA-Derivate in vitro Wechselwirkungen mit dem Enzym Hexokinase, weshalb sie von den Autoren als Stammverbindungen neuer Radiotracer für den Kohlenhydratstoffwechsel propagiert werden. Auch bei ^{99m}Tc-D-GluAO und ^{99m}Tc-D-GalAO schließt der für das

rasche Absinken der im Herzmuskel anfänglich gespeicherten Aktivität verantwortliche Auswascheffekt eine vorherige Metabolisierung der komplexgebundenen α-Hexosaminoxim-Liganden nicht aus. Obschon nicht in Mäusen getestet, scheint sich auch das kürzlich in mehreren Publikationen beschriebene ^{99m}Tc-D-Glucarat mit 0,04-0,21 %Dosis·g^{-1} Herz 30 min nach i.v. Applikation in Ratten oder 0,06 %Dosis·g^{-1} Herzmuskel 60 min. nach i.v. Applikation in Guinea-Schweinen wesentlich schlechter als die beiden ^{99m}Tc-hexosaminoximzucker-Komplexe im Herzen anzureichern (s. Kapitel B.3.3.2).

Der zeitliche Verlauf der Herzanreicherung, die hohen Blutwerte und die auch unter Berücksichtigung des Lunge/Herz-Volumenverhältnisses von ca. 3 ungünstigen, zeitlich nahezu konstanten Herz/Lunge-Aktivititätsverhältnisse um 0,5 wären unter Voraussetzung der Übertragbarkeit auf den menschlichen Organismus für nuklearmedizinische Anwendungen noch ungünstig. Gleichwohl sollten sich bei Applikation analoger Komplexe mit kleineren (d.h. weniger hydrophilen) α-Aminoximzucker-Liganden in Mäusen günstigere Verhältnisse einstellen. Unter dem Aspekt, daß ^{99m}Tc-Gluconat und ^{99m}Tc-Glucoheptonat als Tracer bei Herzinfarkten, Schädigungen der Blut/Hirn-Schranke und zur Tumordiagnostik klinisch eingesetzt wurden und das neuere ^{99m}Tc-D-Glucarat ähnlich angewendet werden kann, erscheinen diesbezügliche weitere Untersuchungen an den ^{99m}Tc-α-aminoximzucker-Komplexen noch interessant.

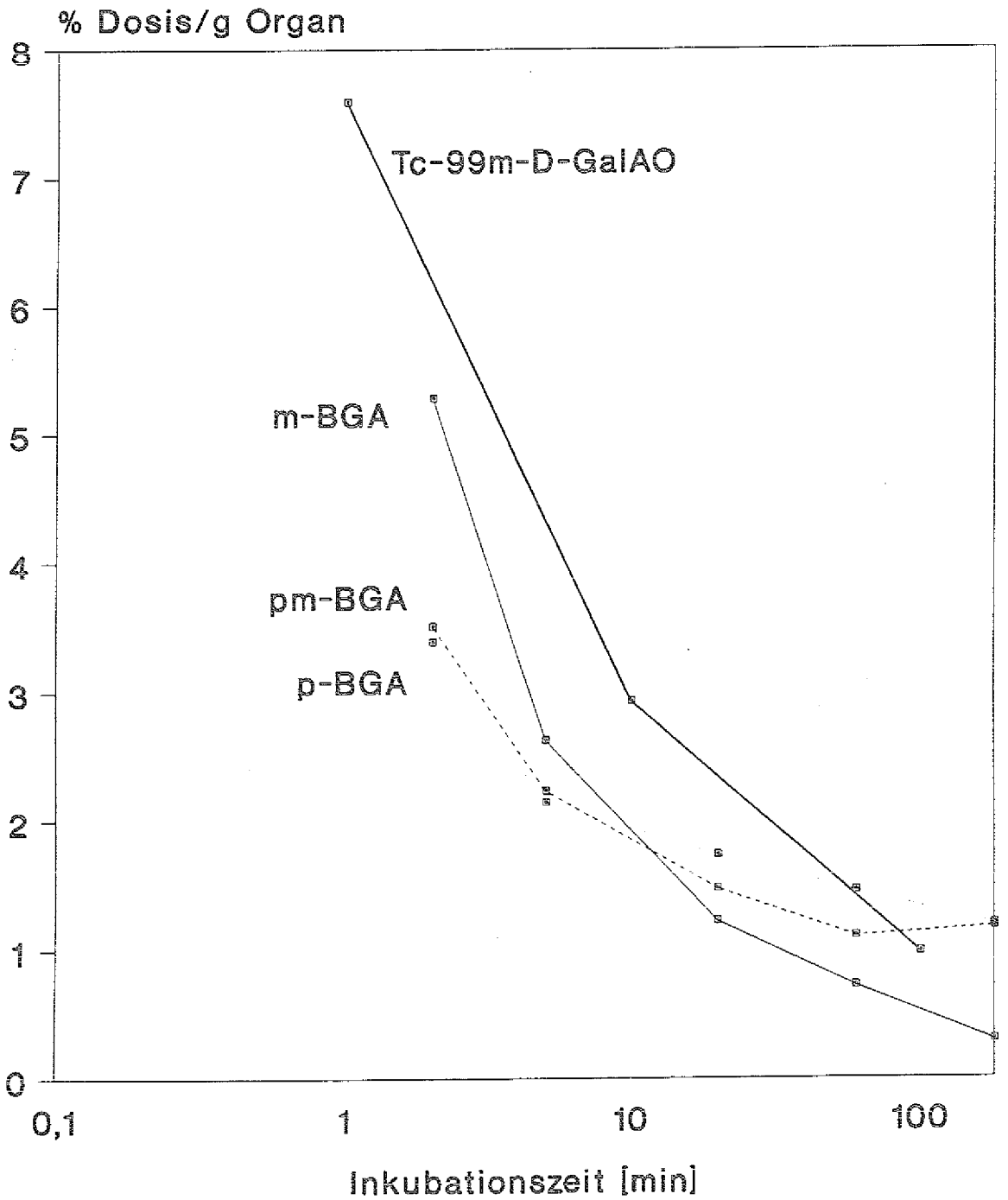


Abbildung 31 Vergleich der zeitabhängigen Herzanreicherungen von ^{99m}Tc-D-GalAO und BGA-Derivaten in Mäusen (m= meta-, p= para-substituiert).

Für eine vergleichende Diskussion der hier ermittelten Bioverteilung von "^{99m}Tc-D-Glucosaminoxim" mit der beschriebenen Verteilung von "^{99m}Tc-D-Glucosamin" fehlen noch genauere Angaben in den entsprechenden Publikationen [58-60]. Da sich das ^{99m}Tc-Aminozucker Präparat aber offensichtlich nicht im Herzmuskel anreichert, scheint sich die aufgrund der bisherigen Erfahrungen mit kohlenhydrathaltigen ^{99m}Tc-Komplexen naheliegende Hypothese zu bestätigen, daß ^{99m}Tc-Komplexen mit offenkettigen Kohlenhydratderivaten bessere Ansätze zur Entwicklung "glucoseanaloger ^{99m}Tc-Tracer" bieten.

F. Literaturverzeichnis

[1] K.Schwochau, "Some fundamental aspects of technetium chemistry". In: M.Nicolini, G.Bandoli, U.Mazzi (Hsg.) : *Technetium in Chemistry and Nuclear Medicine* 2, Raven Press, New York 1985, 13.

[2] B.Voland, "Zur Geschichte der Entdeckung des Elementes Technetium", *Isotopenpraxis* 24(11/12) (1988) 445.

[3] K.Schwochau, "Technetium", *Chemiker Zeitung* 102(10) (1978) 329.

[4] K.Schwochau, "The Analytical Chemistry of Technetium". In: *Topics in Current Chemistry (Inorganic Chemistry)* 96, Springer Verlag, Berlin-Heidelberg- New York 1981.

[5] I.B.deAlleluia, C.Keller, "Occurence of Technetium". In: *Gmelin (Technetium-Tc)*, 8thEd., Supplement 1, 12.

[6] K.Schwochau, "Handling of Technetium". In: *Gmelin (Technetium-Tc)*, 8thEd., Supplement 1, Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York 1982, 210.

[7] H.J.Luxenburger, H.Schüttelkopf: *Vorkommen und Verhalten von Tc in der Umwelt (Literaturstudie)*, KfK-3418, Kernforschungszentrum Karlsruhe, Aug.1984.

[8] N.Boukis: *Zur Chemie des Technetiums im Hinblick auf den PUREX-Prozeß*, KfK-4362, Kernforschungszentrum Karlsruhe, Jan.1988.

[9] K.H.Lieser, A.Krüger, R.N.Singh, "Extraktionsverhalten von Technetium im Purex-Prozeß". In: F.Baumgärtner, K.Ebert, E.Gelfort, K.H.Lieser: *Nukleare Entsorgung - Nuclear Fuel Cycle* 1, Verlag Chemie, Weinheim-Deerfield Beach-Basel-Florida 1981, 247.

[10] J.Vida: *Zum chemischen Verhalten des Technetiums bei der Behandlung des hochradioaktiven Abfalls*, KfK-4642, Kernforschungszentrum Karlsruhe, Dez.1989.

[11] E.Brown, R.B.Firestone, V.S.Shirley: *Table of Radioactive Isotopes*, J.Wiley & Sons, New York 1986.

[12] H.Münzel, "Nuclear Properties and Synthesis of the Tc Isotopes". In: *Gmelin (Technetium-Tc)*, 8thEd., Supplement 1, Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York 1982, 81.

[13] H.J.Hermann: *Nuklearmedizin*, Urban & Schwarzenberg, München-Wien-Baltimore 1982.

[14] H.Braun, Dissertation, "Zur Bestimmung der Radionuklidreinheit in den Eluaten von Radionuklidgeneratoren", TH Darmstadt 1983.

[15] T.C.Pinkerton, C.P.Desilets, D.J.Hoch, M.V.Mikelsons, G.M.Wilson, "Bioinorganic Activity of Technetium Radiopharmaceuticals", *J.Chem.Ed.* 62(11) (1985) 965.

[16] C.Keller, G.Stöcklin, H.Glantz, H.Vogg, A.Gerve, K.-H.Bremer, G.Schulze-Pillot, A.Seidel, "Radionuklide". In: *Ullmanns Encyklopädie der technischen Chemie* 20, 4.Aufl., Verlag Chemie, Weinheim 1981.

[17] C.J.Jones, "Applications in the Nuclear Fuel Cycle and Radiopharmacy". In: G.Wilkinson, R.D.Gillard, J. A.McCleverty (Hsg.): *Comprehensive Coordination Chemistry* 2, Pergamon Press, Frankfurt 1987, 963.

[18] L.G.Marzilli, A.V.Kramer, H.D.Burns, L.A.Epps, "Design of technetium radiopharmaceuticals", In: E. Deutsch, M.Nicolini, H.N.Wagner jr. (Hsg.): *Technetium in Chemistry and Nuclear Medicine*, Cortina International, Verona 1983, 63.

[19] L.Astheimer, K.H.Linse, N.Ramamoorthy, K.Schwochau, "Synthesis, Characterization and Evaluation of ^{99}Tc/^{99m}Tc DIARS and DMPE Complexes Containing Pentadecanoic Acid", Nucl.Med.Biol. 14(6) (1987) 545.

[20] A.L.Lehninger: *Biochemie*. 2.Aufl., Verlag Chemie, Weinheim 1987.

[21] L.H.Opie, "Substrate and Energy Metabolism of the Heart". In: N.Sperelakis: Physiology and Pathophysiology of the Heart. 2nd Ed., Kluwer Academic Publishers, Boston-Dordrecht-Lancaster 1989, 327.

[22] G.Löffler, P.E.Petrides: *Physiologische Chemie*. 4. Aufl., Springer Verlag, Berlin-Heidelberg-New York-London-Paris-Tokio 1988

[23] R.A.Hawkins, "Transport of essential nutrients across the blood-brain barrier of individual structures", *Federation Proceedings* 45(7) (1986) 2055.

[24] O.Christensen, H.Lund-Andersen, A.Betz, D.D.Gilboe, "Transport of glucose across the blood-brain-barrier: Reevaluation of the accelerative exchange diffusion", *Acta Physiol.Scand.* 115 (1982) 233.

[25] E.Frömter, "Stofftransport durch biologische Membranen", In: W.Hoppe, W.Lohmann, H.Markl, H.Ziegler (Hsg.): *Biophysik.* 2.Aufl., Springer Verlag, Berlin-Heidelberg-New York 1982.

[26] R.M.Krupka, "Expression of Substrate Specificity in Facilitated Transport Systems", *J.Membrane Biol.* 117 (1990) 69.

[27] S.Vilaro, M.Palacin, P.F.Pilch, X.Testar, A.Zorzano, "Expression of an insulin-regulatable glucose carrier in muscle and fat endothelial cells", *Nature* 342 (1989) 798.

[28] "Relationship of Blood-Brain-Barrier Glucose Transport to Circulating Glucose Supply", *Nutrition Reviews* 45(7) (1987) 218.

[29] H.Mueckler, C.Caruso, S.A.Baldwin, M.Panico, I. Blench, H.R.Morris, W.J.Allard, G.E.Lienhard, H.F. Lodish, "Sequence and Structure of a Human Glucose Transporter", *Science* 229 (1983) 941.

[30] M.N.Jones, J.K.Nickson, "Monosaccharide Transport Proteins of the Human Erythrocyte Membrane", *Biochimica et. Biophysica Acta* 650 (1981) 1.

[31] J.E.G.Barnett, G.D.Holman, K.A.Munday, "Structural Requirements for Binding to the Sugar-Transport System of the Human Erythrocyte", *Biochem.J.* 131 (1973) 211.

[32] J.E.G.Barnett, G.D.Holman, R.A.Chalkley, K.A.Munday, Evidence for Two Asymmetric Conformational States in the Human Erythrocyte Sugar-Transport System", *Biochem.J.* 145 (1975) 417.

[33] P.J.W.Midgley, B.A.Parker, G.D.Holman, "A new class of sugar analogues for use in the investigation of sugar transport", *Biochim.Biophys.Acta* 812 (1985) 33.

[34] G.Kloster, P.Laufer, W.Wutz, G.Stöcklin, "^{75,77}Br- and ^{123}I-Analogues of D-Glucose as Potential Tracers for Glucose Utilisation in Heart and Brain", *Eur.J.Nucl.Med.* 8 (1983) 237.

[35] K.Vyska, H.M.Mehdorn, H.-J.Machulla, E.J.Knust, "Use of 3-fluoro-deoxyglucose for the assesment of cerebral perfusion and glucose transport", *Neurological Research* 7 (1985) 63.

[36] D.E.Fenton, "Alkali-Metals and Group IIA Metals". In: G.Wilkinson, R.D.Gillard, J.A.McCleverty (Hsg.): *Comprehensive Coordination Chemistry 3 (Main Group and Early Transition Elements)*, Pergamon Press, Frankfurt 1987, 24.

[37] S.H.Laurie, "Naturally Occuring Ligands". In: G.Wilkinson, R.D.Gillard, J.A.McCleverty (Hsg.): *Comprehensive Coordination Chemistry 2 (Ligands)*, Pergamon Press, Frankfurt 1987, 984.

[38] S.J.Angyal, "Complex Formation between Sugars and Metal Ions", *Pure Appl.Chem.* 35 (1973) 131.

[39] P.J.Charley, B.Sarkar, C.F.Stitt, P.Saltman, "Chelation of Iron by Sugars", *Biochim.Biophys.Acta* 69 (1963) 313.

[40] M.Tonkovic, S.Music, O.Hadzija, I.Nagy-Czako, A.Vertes, "Mössbauer Study of Iron-Sugar Complexes", *Acta Chim.Acad.Sci.Hung.* 110(2) (1982) 197.

[41] M.Tonkovic, O.Hadzija, "Preparation and Properties of Fe(III)-Sugar Complexes", *Inorg.Chim.Acta* 80 (1983) 251.

[42] J.Alvarez, C.Arriaga, R.Maass, "On a New Radiopharmaceutical for Kidney Imaging", *Int.J.Appl.Radiat.Isotop.* 25 (1974) 283.

[43] R.Münze, Schutzrecht 127 200 (1977-09-14). Akademie der Wissenschaften der DDR.

[44] R.Münze, B.Johannsen, H.Spies, "Einige neue Ergebnisse über den chemischen Zustand von ^{99m}Tc-Radiopharmaka", *Isotopenpraxis* 15(5) (1979) 115.

[45] R.Münze, "Verbindungen des Technetium(IV) mit Glykol und Glycerin", *Radiochem.Radioanal.Letters* 31(1) (1977) 51.

[46] A.Davison, B.V.DePamphilis, A.G.Jones, K.J.Franklin, C.J.L.Lock, "Synthesis and Characterization of Complexes Containing the Bis(1,2-diolato)oxotechnetium(V) Core", *Inorg.Chim.Acta* 128 (1987) 161.

[47] R.Alberto, G.Anderegg, K.May, "Synthesis of Tc(IV) Alcoholato Complexes with Methanol, Ethyleneglycol and 1,2,4-Butanetriol", *Polyhedron* 5(12) (1986) 2107.

[48] G.Huber, G.Anderegg, K.May, "Synthesis and Characterization of a Tc(V) Glycolato Complex", *Polyhedron* 6(8) (1987) 1707.

[49] L.L.Y. Hwang, N.Ronca, N.A.Solomon, J.Steigman, "Complexes of Technetium with Polyhydric Ligands", *Int.J. Appl.Radiat.Isot.* 36(6) (1985) 475.

[50] Steigman, L.Hwang, S.Srivastava, "Complexes of Reduced Tc- with Polyhydric Compounds", *J.Label.Comp. Radiopharm.* 13(2) (1977) 160.

[51] E.Lebowitz, N.Solomon, N.Siddhivarn, J.Steigman, M.De Graff, S.Lorber, R.Kappes, H.Atkins, J.Klopper, P. Richards, J.Baranosky, "Development of ^{99m}Tc-Mannitol for Renal Visualization", *J.Nucl.Med.* 13 (1972) 786.

[52] U.P.S.Chauhan, J.Chander, P.Mishra, R.C.Sarin, R.V. Narayanan, B.Singh, "^{99m}Tc(Cu)-Mannitol Complex: a New Agent for Dynamic Renal Function Studies", *Nucl. Med.Biol.* 16(3) *(Int.J.Radiat.Appl.Instrum.PartB)* (1989) 283.

[53] G.Subramanian, J.G.McAfee, E.G.Bell, M.Sandler, R.E.Keesee, C.Henry, "New ^{99m}Tc-Labeled Radiopharmaceuticals for Renal Imaging", *J.Nucl.Med.* 12(6) (1971) 399.

[54] H.Deckart, J.Weiland, A.Blottner, "^{99m}Tc-Sn-Thioglucose - ein neues Radiopharmakon für die statische Nierenszintigraphie", *Radiobiologia·Radiotherapia* 17 (1976) 674.

[55] N.D.Heindel, H.D.Burns, T.Honda, L.W.Brady (Hsg.): *The Chemistry of Radiopharmaceuticals*. Masson Publishing USA, New York-Paris-Barcelona-Mailand 1978.

[56] B.Johannsen, R.Syhre, H.Spies, "Untersuchungen zum Zusammenhang zwischen chemischer Struktur und pharmakokinetischen Eigenschaften von Tc-Thiolato-Komplexen", *Nuc Compact* 11(4) (1980) 42.

[57] V.R.Risch et.al., "Distribution of various labeled thioglucoses in rats: Effect of administration route on pancreatic specificity", *Radiology* 124 (1977) 837.

[58] B.Wösle, E.Henze, H.-A.Brune, M.Clausen, W.E.Adam, "Erste Erfahrungen bei der Synthese von Tc-99m Aminozucker-Komplexen", *Nucl.-Med.* 29 (1990) A46.

[59] B.Woesle, F.Marschall, H.Wolf, E.Henze, "Synthese und Applikation von Tc-99m-Komplexen von Kohlenhydratderivaten und Aminoalkoholen", Nucl.-Med. 30(1991) A10.

[60] T.Schoenweiss, N.Scheffold, B.Woesle, R.Lietzenmeyer, M.Clausen, E.Henze, "Initials Studies on the Pharmacokinetics of Tc-99m Glucosamine, A New Potential Tracer for Carbohydrate Metabolism", *Eur.J.Nucl.Med.* 16(7) (1990) 451.

[61] A.G.Jones, B.V. dePamphilis, A.Davison, "Preparation and Crystal Structure of Tetraphenylarsonium Bis(2-mercaptoethanolato)oxotechnetate", *Inorg.Chem.* 20 (1981) 1617.

[62] E.Deutsch, "Technetium(III/II) Imaging Agents". Schutzrecht PCT/US89/02169 (1989-12-28). University of Cincinnati.

[63] M.J.Adam, L.D.Hall, "Synthesis of metal-chelates of amino sugars: Schiff's base complexes", *Can.J.Chem.* 60 (1982) 2229.

[64] A.Duatti, A.Marchi, L.Magon, J.L.Vanderheyden, E. Deutsch, "Tc(V) complexes with Schiff base derivatives of glucosamine", *in:* M.Nicolini, G.Bandoli, U. Mazzi (Hsg.): *Technetium in Chemistry and Nuclear Medicine* 2, Cortina International/Raven Press, Verona /New York 1986, 131.

[65] A.Duatti, A.Marchi, L.Magon, E.Deutsch, V.Bertolasi, G.Gilli, "Synthesis and Structure of an Amino Sugar-Schiff Base Complex of Technetium(V) Containing Salicylaldehyde in an Unusual Coordination Mode", *Inorg.Chem.* 26 (1987), 2182.

[66] W.Bartley, L.M.Birt, P.Banks: *Biochemie - Eine Einführung für Mediziner*. Verlag Chemie, Weinheim 1970.

[67] D.T.Sawyer, "Metal-Gluconate Complexes", *Chem.Rev.* 64 (1964) 633.

[68] E.Macdonald, C.T.Bahner, "Hafnium Complexes for Biological Investigation", *Proc.Soc.Exptl.Biol.Med.* 83 (1953) 801.

[69] O.Charamza, M.Budikova, "Herstellungsmethode eines ^{99m}Tc-Zinn-Komplexes für die Nierenszintigraphie", *Nuklearmedizin (Stuttgart)* 8 (1969) 301.

[70] R.E.Boyd, J.Robson, F.C.Hunt, P.J.Sorby, I.P.C. Murray, W.J.McKay, "^{99}Tc^{m} gluconate complexes for renal scintigraphy", *British J.Radiology* 46 (1973) 604.

[71] P.Hambright, J.McRae, P.E.Valk, A.J.Bearden, B.A. Shipley, "Chemistry of Technetium Radiopharmaceuticals. I.Exploration of the Tissue Distribution and Oxidation State Consequences of Technetium (IV) in Tc-Sn-Gluconate and Tc-Sn-EHDP using Carrier ^{99}Tc", *J.Nucl.Med.* 16(6) (1975) 478.

[72] R.W.Arnold, G.Subramanian, J.G.McAfee, R.J.Blair, F.D.Thomas, "Comparison of ^{99m}Tc Complexes for Renal Imaging", *J.Nucl.Med.* 16(5) (1975) 357.

[73] J.Leveille, C.Pison, Y.Karakand, R.Lemieux, B.J.Vallieres, "Technetium-99m Glucoheptonate in Brain-Tumor Detektion: An Important Advance in Radiotracer Techniques", *J.Nucl.Med.* 18 (1977) 957.

[74] R.W.Arnold, G.Subramanian, J.G.McAfee, M.E.Rosenstreich, M.E.Gebhardt, "New Complexes of ^{99m}Tc for Renal Imaging", *J.Nucl.Med.* 15(6) (1975) 475.

[75] M.Chattopadhyay, K.N.Jalan, A.K.Pal, S.N.Banerjee, "^{99m}Tc-Cystine: A Faster Excreting ^{99m}Tc-Glucoheptanoate Analogue", *Nucl.Med.Biol.* 15(5) *(Int.J.Radiat. Appl.Instrum.Part B)* (1988) 535.

[76] A.D.Waxman, D.Tanacescu, J.K.Siemsen, R.S.Wolfstein, "Technetium-99m-Glucoheptonate as a Brain Scanning Agent: Critical Comparison with Pertechnetate", *J.Nucl.Med.* 17(5) (1976) 345.

[77] M.Vorne, S.Sakki, K.Järvi, S.Vähätalo, "Tc-99m Glucoheptonate in Detection of Lung Tumors", *J.Nucl.Med.* 23 (1982) 250.

[78] M.Vorne, K.Alanko, K.Järvi, T.Lantto, R.Mokka, K. Sahlström, S.Sakki, P.Sallinen, S.Vähätalo, "Comparison of Gallium-67 Citrate and Technetium-99m Glucoheptonate in the Evaluation of Pulmonary Malignancies", *J.Nucl.Med.* 28 (1987) 442.

[79] C.D.Russel, A.G.Speiser, "Complexes of Technetium with Hydroxycarboxylic Acids: Gluconic, Glucoheptonic, Tartaric, and Citric", *J.Nucl.Med.* 21(11) (1980) 1086.

[80] P.M.Passamonte, R.M.Seger, R.A.Holmes, D.J.Hurst, "Technetium-99m Glucoheptonate Imaging in Lung Cancer and Benign Lung Diseases: Concise Communication", *J.Nucl.Med.* 24(11) (1983) 997.

[81] J.Rivera, C.A.Rabito, "Transport Mechanism of Tc-99m Glucoheptonate by Renal and Lung Tumor Cells", *J.Nucl.Med.* 30(5) (1989) 912.

[82] D.J.Rossman, J.Rouleau, H.W.Strauss, B.Pitt, "Detection and Size Estimation of Acute Myocardial Infarction using ^{99m}Tc-Glucoheptonate", *J.Nucl.Med.* 16(11) (1975) 980.

[83] D.Fink/Bennett, H.J.Dworkin, Y.-H.Lee, "Myocardial Imaging of the Acute Infarct", *Radiology* 113 (1974) 449.

[84] D.J.Rossman, M.E.Siegel, B.H.Friedman, H.W.Strauss, B.Pitt, "Accumulation of ^{99m}Tc-Glucoheptonate in Acutely Infarcted Myocardium", *J.Nucl.Med.* 15(6) (1974) 529.

[85] W.DeKieviet, "Technetium Radiopharmaceuticals: Chemical Characterization and Tissue Distribution of Tc-Glucoheptonate Using Tc-99m and Carrier Tc-99", *J.Nucl.Med.* 22 (1981) 703.

[86] S.Vilcek, M.Kalincak, V.Machan, "^{99m}Tc-Labelled Compounds Prepared with Sodium Dithionite as Reducing Agent", *Nuklearmedizin (Stuttgart)* 20(6) (1981) 283.

[87] A.Owunwanne, J.Marinsky, M.Blau, "Determination of the Net Charge of Some Tc-99m Radiopharmaceuticals", *J.Nucl.Med.* 17 (1976) 562.

[88] A.Owunwanne, J.Marinsky, M.Blau, "Ion Exchange Studies of Reduced Technetium Species and Some Technetium-99m Radiopharmaceuticals", *J.Label.Comp.Radiopharm.* 13(2) (1977) 159.

[89] B.Johannsen, R.Syhre, "Untersuchungen zur Komplexierung von ^{99}Tc mit Gluconat", *Radiochem.Radioanal. Letters* 36(2-3) (1978) 107.

[90] I.Hoffmann, "Untersuchungen zur Charakterisierung der durch Reduktion von Technetat(VII) mit Zinn(II)-chlorid im Ligandmedium gebildeten Technetium-Hydroxycarbonsäurechelate", Dissertation, ZfK Rossendorf.

[91] J.G.Velasco, J.Ortega, J.Sancho, "On the Composition and Stability of Some D(+)Saccharic Acid Complexes", *J.Inorg.Nucl.Chem.* 38 (1976) 889.

[92] T.Uehara, M.Ahmad, B.A.Khaw, A.J.Fischman, K.Y.Pak, H.Berger, H.W.Strauss, "Tc-99m-Glucarate: A Marker of Acute Cerebral Damage", *J.Nucl.Med.* 30(5) (1989) 901.

[93] K.Y.Pak, M.A.Nedelman, P.E.Daddona, "Visualization of Experimental Tumor Model: Application of a New Tc-99m Labeled Compound", *J.Nucl.Med.* 30(5) (1989) 906.

[94] C.I.tenKate, A.J.Fischman, R.A.Wilkinson, L.Du, C.Y. Pak, H.Berger, B.A.Khaw, H.W.Strauss, "Tc-99m-Glucaric Acid: A Glucose Analog", *Eur.J.Nucl.Med.* 16(7) (1990) 451.

[95] C.Orlandi, P.D.Crane, D.S. Edwards, S.H.Platts, L. Bernard, J.Lazewatsky, M.J.Thoolen, "Early Scintigraphic Detection of Experimental Myocardial Infarction in Dogs with Technetium-99m-Glucaric Acid", *J.Nucl.Med.* 32(2) (1991) 263.

[96] H.Yaoita, T.Uehara, A.L.Brownell, C.A.Rabito, M.Ahmad, B.A.Khaw, A.J.Fischman, H.W.Strauss, "Localization of Technetium-99m-Glucarate in Zones of Acute Cerebral Injury", *J.Nucl.Med.* 32(2) (1991) 272.

[97] J.R.Ballinger, A.Proulx, T.D.Ruddy, "Stable Kit Formulation of Technetium-99m Glucarate", *Appl. Radiat.Isot. (Int.J.Radiat.Appl.Instrum.Part A)* 42(4) (1991) 405.

[98] T.S.T.Wang, P.Hosain, R.P.Spencer, F.Hosain, "Pyrophosphate Derivatives of Glucose: Synthesis and Labeling with ^{99m}Tc", *Nuklearmedizin (Stuttgart)* 16(2) (1977) 89.

[99] A.Yokoyama, A.Yamada, Y.Arano, K.Horiuchi, K.Yamamoto, K.Torizuka, "Tc-99m bifunctional radiopharmaceutical from a glucose derivative: a potential agent for brain studies", in: E.Deutsch, M.Nicolini, H.N. Wagner Jr (Hsg.): *Technetium in Chemistry and Nuclear Medicin*, Cortina International, Verona 1983, 109.

[100] A.Yokoyama, H.Tanaka; A.Yamada, Y.Arano, Schutzrecht EP-A1-0074429 (1981-09-16). Nihon-Physics Co., Ltd.

[101] A.Yokoyama, Y.Terauchi, K.Horiuchi, H.Tanaka, T.Odori, R.Morita, T.Mori, K.Torizuka, "Technetium-99m-Kethoxal-bis(thiosemicarbazone), an Uncharged Complex with a Tetravalent ^{99m}Tc State, and Its Excretion into the Bile", *J.Nucl.Med.* 17(9) (1976) 816.

[102] A.Yokoyama, K.Horiuchi, "Mononuclear and Dinuclear Complexes of ^{99m}Tc", *Int.J.Appl.Radiat.Isot.* 33(1982) 929.

[103] Y.Arano, A.Yokoyama, Y.Magata, H.Saji, K.Horiuchi, K.Torizuka, "Synthesis and Evaluation of a New Bifunctional Chelating Agent for ^{99m}Tc Labeling Proteins: *p*-Carboxyethylphenylglyoxal-di(N-methylthiosemicarbazone)", *Int.J.Nucl.Med.Biol.* 12(6) (1986) 425.

[104] T.Hosotani, A.Yokoyama, Y.Arano, K.Horiuchi, H.Wasaki, H.Saji, K.Torizuka, " In the Procurement of a Neutral and Compact Monomeric Complex of Dithiosemicarbazone (DTS) Derivative: ^{99m}Tc-KTS", *Int.J. Nucl.Med.Biol.* 12(6) (1986) 431.

[105] T.Hosotani, A.Yokoyama, Y.Arano, K.Horiuchi, H.Saji, K.Torizuka, "Design of Bifunctional Radiopharmaceutical for the Development of ^{99m}Tc Complexes for Myocardial Imaging Agents", *Int.J.Radiat.Appl. Instrum. Part B: Nucl.Med.Biol.* 13(6) (1986) 603.

[106] A.Yokoyama, H.Tanaka, A.Yamada, Y.Arano, Schutzrecht US-P-4,444,743 (1984-04) Nihon-Physics Co., Ltd.

[107] I.K.Wilson, "Studies in the Development of Bifunctional Chelation of the Labeling Glucose with Gallium-67 and Technetium-99m", Dissertation, University of Southern California (1987).

[108] M.T.Ganzerli Valentini, R.Stella, L.Maggi, Synthesis and characterization of a new Tc(V)-glucosazine complex", in: M.Nicolini, G.Bandoli, U.Mazzi (Hsg.): *Technetium and Rhenium in Chemistry and Nuclear Medicine* 3, Cortina International/Raven Press, Verona /New York 1990, 149.

[109] H.Simon, A.Kraus, "Mechanistische Untersuchungen über Glykosylamine, Zuckerhydrazone, Amadori-Umlagerungsprodukte und Osazone", *Fortschr.chem.Forsch.* 14(4) (1970).

[110] E.Mitts, R.M.Hixon, "The Reaction of Glucose with Some Amines", *J.Am.Chem.Soc.* 66 (1944) 483.

[111] J.M.McLeod, "Synthesis and Hydrolysis of N,N'-Diglycopyranosylethylenediamines", *Carbohydr.Res.* 75 (1979) 71.

[112] Gattermann-Wieland: *Die Praxis des organischen Chemikers*. 43.Aufl., DeGruyter, Berlin-New York 1982.

[113] C.E.Holloway, C.P.J.Vuik, "Kinetics of the Z-E Isomerization of Acetaldoxime", *Tetrahedron Lett.* 12 (1979), 1017.

[114] R.K.Murmann, "The Interaction of 2-Methyl-2-amino-3-butanone Oxime with Some Transition Metal Ions", *J.Am.Chem.Soc.* 79 (1957) 521.

[115] S.Jurisson, E.O.Schlemper, D.E.Troutner, L.R.Canning, D.P.Nowotnik, R.D.Neirinckx, "Synthesis, Characterization and X-Ray Structural Determinations of Technetium(V) Oxo Tetradentate Amine Oxime Complexes", *Inorg.Chem.* 25 (1986) 543.

[116] C.K.Fair, D.E.Troutner, E.O.Schlemper, R.K.Murmann, M.L.Hoppe, "Oxo[3,3'-(1,3-propanediyldiimino)bis(3-methyl-2-butanone oximato)(3-)N,N',N'',N''']technetium (V), [$TcO(C_{13}H_{25}N_4O_2$]", *Acta Cryst.* C40 (1984), 1544.

[117] S.Jurisson, K.Aston, C.K.Fair, E.O.Schlemper, P.R. Sharp, D.E.Troutner, "Effect of Ring Size on Properties of Technetium Amine Oxime Complexes. X-ray Structures of $TcO_2Pent(AO)_2$, Which Contains an Unusual Eight-Membered Chelate Ring, and of $TcOEn(AO)_2$", *Inorg.Chem.* 26 (1987) 3576.

[118] Y.Nagel: *Neue Übergangsmetallkomplexe mit Monosaccharid-Derivaten als Liganden.* Dissertation, Universität München 1984.

[119] Y.Nagel, W.Beck, "Metallkomplexe mit biologisch wichtigen Liganden, XLIII [1]. Metallkomplexe mit ungeschützten acyclischen Monosaccharid-Derivaten (Amin-, Oxim-, Schiffbase-, Thiazolidin- und 1,3-Dithian-Liganden)", *Z.Naturforsch.* 41b (1986) 1447.

[120] E.Winterstein, "Über das Oxim des salzsauren Glucosamins", *Ber.dtsch.chem.Gesellschaft* 29 (1893) 1392.

[121] S.Chapelle, J.F.Verchere, "Structures of the Borate Complexes of D-Allose, D-Talose, and D-Psicose in Aqueous Solution: An ^{11}B- and ^{13}C-N.M.R. Study", *Carbohydr.Res.* 191 (1989) 63.

[122] R.J.Ferrier, "Carbohydrate Boranates". In: R.S.Tipson, D.Horton (Hsg.): *Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry* 35, (1978).

[123] J.vanHaveren, J.A.Peters, J.G.Batelaan, H.vanBekkum, "Metal ion sequestering by borate-(amino)polyhydroxy oxime systems in aqueous solution; a ^{11}B, ^{13}C and ^{113}Cd NMR Study", *Inorg.Chim.Acta* 192 (1992) 261.

[124] K.Schwochau, K.H.Linse, H.J.Steinmetz, L.Astheimer, "Synthesis, characterization and biodistribution of cationic technetium dioxime complexes", in: M.Niccolini, G.Bandoli, U.Mazzi (Hsg.): *Technetium and Rhenium in Chemistry and Nuclear Medicine* 3, Cortina International/Raven Press, Verona/New York 1990, 463.

[125] Z.F.Su, K.H.Linse, H.J.Steinmetz, K.Schwochau, "Preparation and Evaluation of Cationic $^{99}Tc/^{99m}Tc$ Dimethoxy- and Diethoxy-Hexanedione Dioxime Complexes", *J.Label.Comp.Radiopharm.* 31(1) (1992) 61.

[126] K.Schwochau, K.H.Linse, Z.F.Su, "Synthesis, Characterization and Biodistribution of the Cationic Technetium(II) 1,10-Phenanthroline Chelate", *J.Appl. Radiat.Isot., Int.J.Radiat.Appl.Instrum. Part A*, 9 (1992) 1079.

[127] A.Wohl, "Über Glukosoxim und Lävulosoxim", *Ber.dtsch. chem.Gesellschaft.* 24 (1891) 995.

[128] D.Martin, H.C.Hauthal: *Dimethylsulfoxid.* Akademie Verlag, Berlin 1971, 135.

[129] J.J.Liljamaa, A.A.Hallen, "Sugar borate chromatography using refractometry for monitoring", *J.Chromatogr.* 57 (1971) 153.

[130] R.D.Rocklin, C.A.Pohl, "Determination of Carbohydrates by Anion Exchange Chromatography with Pulsed Amperometric Detection", *J.Liq.Chromatogr.* 6(9) (1983) 1577.

[131] C.Jansen, "Neuere Entwicklungen in der HPLC von Kohlenhydraten", *GIT Fachz.Lab.* (1990) 6.

[132] J.S.Hobbs, J.G.Lawrence, "The Separation and Quantification of Carbohydrates on Cation-Exchange Resin Columns having Organic Counterions", *J.Chromatogr.* 72 (1972) 311.

[133] A.J.Alpert, "Hydrophilic-Interaction Chromatography for the Separation of Peptides, Nucleic Acids and other Polar Compounds", *J.Chromatogr.* 499 (1990) 177.

[134] Z.L.Nikolov, P.J.Reilly: "Retention of carbohydrates on silica and amine-bonded silica stationary phases: application of the hydration model", *J.Chromatogr.* 325 (1985) 287.

[135] L.A.Th.Verhaar, B.F.Kuster, "Contribution to the Elucidation of the Mechanism of Sugar Retention on Amine-Modified Silica in Liquid Chromatography", *J.Chromatogr.* 234 (1982) 57.

[136] B.Bendiak, J.Orr, I.Brockhausen, G.Vella, C.Phoebe, "Separation of Neutral Reducing Oligosaccharides Derived from Glycoproteins by HPLC on a Hydrated Polymeric Support", *Anal.Biochem.* 175 (1988) 96.

[137] C.Brons, C.Olieman, "Study of the High-Performance Liquid Chromatographic Separation of Reducing Sugars, Applied to the Determination of Lactose in Milk", *J.Chromatogr.* 259 (1983) 79.

[138] M.Verzele, F.vanDamme, "Polyol Bonded to Silica Gel as Stationary Phase for High-Performance Liquid Chromatography", *J.Chromatogr.* 362 (1986) 23.

[139] R.Herb, "Kapillarelektrophorese - Apparative Grundlagen und Trennmechanismen", Teil 1, *GIT Fachz.Lab.* 3 (1990) 299.

[140] R.Herb, "Kapillarelektrophorese - Apparative Grundlagen und Trennmechanismen", Teil 2, *GIT Fachz.Lab.* 4 (1990) 426.

[141] F.W.Küster, A.Thiel: *Rechentafeln für die Chemische Analytik*. 103.Aufl., DeGruyter, Berlin-New York 1985.

[142] K.Burger, I.Ruff, F.Ruff, "Infra-Red and Ultra-Violett Spectrophotometric Study of the Dimethylglyoxime Complexes of Transition Metals", *J.Inorg.Nucl.Chem.* 27 (1965) 179.

[143] H.Spedding, "Infrared Spectroscopy". in: R.L.Whistler, M.L.Wolfrom (Hsg.): *Methods in Carbohydrate Chemistry*, Vol.1, Academic Press, New York-London (1962), 539.

[144] E.Uhlig, J.Becher, K.Gloe, P.Mühl, J.Beger, "Metallextraktion und Komplexbildung mit α-Aminoximen", *Z.anorg.allg.Chem.* 518 (1984) 187.

[145] S.A.Barker, E.J.Bourne, D.H.Whiffen, "Use of Infrared Analysis in the Determination of Carbohydrate Structure". in: D.Glick (Hsg.): *Methods of Biochemical Analysis*, Vol.3, Interscience Publishers, New York (1956), 213.

[146] H.Bredereck, A.Wagner, D.Hummel, H.Kreiselmeier, "Über acetylierte Fructose-oxime", *Chem.Ber.* 89 (1956) 1532.

[147] N.B.Colthup, L.H.Daly, S.E.Wiberley: *Introduction to Infrared and Raman Spectroscopy*, 3rd ed., Academic Press, Boston-San Diego-New York-London-Sydney-Tokyo-Toronto 1990.

[148] P.Finch, Z.Merchant, "The Structures of D-Arabinose and D-Glucose Oximes", *J.Chem.Soc.Perkin Trans.I* (1975) 1682.

[149] J.G.H.DuPreez, T.I.A.Gerber, M.L.Gibson, "Unusual binuclear technetium complexes of the ligand 3,6-bis-(2'-pyridyl)-1,2,4,5-tetrazine", in: M.Nicolini, G. Bandoli, U.Mazzi: *Technetium in Chemistry and Nuclear Medicine* 3, Cortina International-Raven Press, Verona-New York 1990, 169.

[150] A.Davison, C.Orvig, H.S.Trop, M.Sohn, B.V.DePamphilis, A.G.Jones, "Preparation of Oxobis(dithio-lato) Complexes of Technetium(V) and Rhenium(V)", *Inorg. Chem.* 19 (1980) 1988.

[151] H.-J.Pietzsch, H.Spies, S.Hoffmann, "Lipophilic Technetium Complexes VI. Neutral Oxotechnetium (V) Complexes with Monothiole/Tridentate Dithiole Coordination", *Inorg.Chim.Acta* 165 (1989) 163.

[152] D.S.Edwards, E.H.Cheesman, M.W.Watson, L.J.Maheu, S. A.Nguyen, L.Dimitre, T.Nason, A.D.Watson, R.Walovitch, "Synthesis and characterization of technetium and rhenium complexes of N,N'-1,2-ethylenediylbis-L-cysteine. Neurolite[R] and its metabolites", in: M.Nicolini, G.Bandoli, U.Mazzi: *Technetium in Chemistry and Nuclear Medicine* 3, Cortina International-Raven Press, Verona-New York 1990, 433

[153] F.Tisato, F.Refosco, A.Moresco, G.Bandoli, U.Mazzi, M.Niccolini, A.Duatti, "Technetium(V) and rhenium(V) oxo-complexes with Schiff base ligand containing the ONN donor atom set. First complexes with N-imino group trans to Tc=O". in: M.Nicolini, G.Bandoli, U.Mazzi: *Technetium in Chemistry and Nuclear Medicine* 3, Cortina International-Raven Press, Verona-New York 1990, 133.

[154] J.G.H.DuPreez, T.I.A.Gerber,M.L.Gibson, "Synthesis of Neutral and Cationic Technetium(V) Complexes of Heterocyclic-*N,O* Ligands", *J.Coord.Chem.* 22 (1990) 159.

[155] A.G.Jones, A.Davison, M.R.LaTegola,, J.W.Brodack, C.Orvig, M.Sohn, A.K.Toothaker, C.J.L.Lock, K.J.Franklin, C.E.Costello, S.A.Carr, K.Biemann, M.L.Kaplan, *J.Nucl.Med.* 23 (1982) 801.

[156] A.Davison, A.G.Jones, C.Orvig, M.Sohn, "A new class of oxotechnetium(5+) chelate complexes containing a $TcON_2S_2$ core", *Inorg.Chem.* 20 (1981) 1629.

[157] A.G.Jones, B.V.DePamphilis,, A.Davison, "Preparation and crystal structure of tetraphenylarsonium bis(2-mercaptoethanolato)oxotechnetate", *Inorg.Chem.* 20 (1981) 1617.

[158] B.V.DePamphilis, A.G.Jones, M.A.Davis, A.Davison, "Preparation and Crystal Structure of Oxotechnetium Bis(thiomercaptoacetate) and Its Relationsship to Radiopharmaceuticals Labeled with ^{99m}Tc", *J.Am.Chem. Soc.* 100(17) (1978) 5570.

[159] A.Davison, C.Orvig, H.S.Trop, M.Sohn, B.V.De Phamphilis, "Preparation of Oxobis(dithiolato) Complexes of Technetium(V) and Rhenium(V)", *Inorg.Chem.* 19 (1980) 1988.

[160] E.F.Byrne, J.E.Smith, "Technetium Complexes of Aliphatic Thiols: Synthesis and Characterization of Oxobis(1,2- and 1,3-dithiolato)technetate(V) Anions", *Inorg.Chem.* 18 (1979) 1832.

[161] A.Davison, B.V.DePamphilis, A.G.Jones, K.J.Franklin,, C.J.L.Lock, "Synthesis and Chararacterization of Complexes Containing the Bis(1,2-diolato)-oxo technetium(V) Core", *Inorg.Chim.Acta* 128 (1987) 161.

[162] A.Davison, A.G.Jones, M.J.Abrams, "New 2,2'-bipyridine and 1,10-phenanthroline oxohalide complexes of technetium(VII) and (V)", *Inorg.Chem.* 20 (1981) 4330.

[163] F.A.Cotton, A.Davison,, V.W.Day,, L.D.Gage, H.S.Trop, "Preparation and Structural Characterization of Salts of Oxotetrachlorotechnetium(V)", *Inorg.Chem.* 18 (1979) 3024.

[164] W.Preetz, G.Peters, "Darstellung und Charakterisierung der Tetrabutylammoniumsalze der Tetrahalogenooxotechnetate(V), $[TcOCl_4]^-$ und $[TcOBr_4]^-$", *Z.Naturforsch.* 35b (1980) 1355.

[165] A.Zuckman, G.M.Freeman, D.E.Troutner, W.A.Volkert, R.A.Holmes, G.VanDerveer, E.K.Barefield, "Preparation and X-ray Structure of *trans*-Dioxo(1,4,8,11-tetraazacyclotetradecane)technetium(V) Perchlorate Hydrate", *Inorg.Chem.* 20 81981) 2386.

[166] M.E.Kastner, M.J.Lindsay, M.J.Clarke, "Synthesis and Structure of *trans*-$[O_2(en)_2Tc^V]^+$", *Inorg.Chem.* 21 (1982) 2037.

[167] C.Keller, R.D.Peacock, K.Schwochau, "Compounds of Technetium". In: *Gmelin (Technetium-Tc)*, 8^{th}Ed., Supplement 1, Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York 1982, 112.

[168] C.Keller, R.D.Peacock, K.Schwochau, "Compounds of Technetium". In: *Gmelin (Technetium-Tc)*, 8^{th}Ed., Supplement 1, Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York 1982, 113.

[168] C.Keller, R.D.Peacock, K.Schwochau, "Compounds of Technetium". In: *Gmelin (Technetium-Tc)*, 8thEd., Supplement 1, Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York 1982, 113.

[169] M.J.Clarke, "Low Symmetry, Mixed valent, μ-Oxo technetium Complexes with Pyridine and Halide Ligands", *J.Am.Chem.Soc.* 110 (1988) 1818.

[170] J.R.Snyder, "An N.M.R. Investigation of the Aldopentose Oximes", *Carbohydr.Res.* 198 (1990) 1.

[171] E.Pretsch, T.Clerc, J.Seibl, W.Simon: *Tabellen zur Strukturaufklärung organischer Verbindungen*. 3.Aufl., Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York-London-Paris-Tokyo 1986.

[172] H.Günther: *NMR-Spektroskopie*. 2.Auflage, Thieme-Verlag, Stuttgart-New York 1983.

[173] M.S. Hussain, S.A.A. Al-Hamoud, M.Z. El-Faer, A.Khan, "A Short Hydrogen Bonded Columnar Structure: Synthesis, Spectroscopic Studies and X-Ray Structure of a Palladium(II) Complex of Alfa-Furil Dioxime", *J.Coord.Chem.* 14 (1985) 91.

[174] E.N.Treher, L.C.Francesconi, J.Z.Gougoutas, M.F. Malley, A.D.Nunn, "Monocapped Tris(dioxime) Complexes of Technetium(III): "Synthesis and Structural Characterization of TcX(dioxime)$_3$B-R (X=Cl,Br; dioxime = Dimethyldioxime, Cyclohexanedione Dioxime; R= CH_3, C_4H_9)", *Inorg.Chem.* 28 (1989) 3411.

[175] E.G.Vassian, R.K.Murmann, "Aromatization of an Aliphatic Amine Oxime Nickel(II) Complex by Molecular Oxygen", *Inorg.Chem.* 6 (11) (1967) 2043.[180]

[176] J.Pal, R.K.Murmann, E.O.Schlemper, C.K.Fair, "Intramolecular Hydrogen Bonding: Synthesis and Crystal Structure of Nickel(II) and Copper(II) Complexes of a Tetradentate Amine Oxime", *Inorg.Chim.Acta* 115 (1986) 153.

[177] D.E.Murray, E.O.Schlemper, S.Siripaisarnpipat, R.K. Murmann, "A Structural and Isotopic NO_2^- Exchange Rate Comparison of *trans*-[Co(ao-h-ao)$(NO_2)_2$] and *cis*-[Co(Hao)$_2(NO_2)_2$]NO_3", *J.Chem.Soc.Dalton Trans.* (1986) 1759.

[178] S.Siripaisarnpipat, E.O.Schlemper, "Preparation, Spectra, and Crystal Structures of Two Rhodium(III) Complexes with Short Intramolecular Hydrogen Bonds", *Inorg.Chem.* 23 (1984) 330.

[179] T.Lynde-Kernell, E.O.Schlemper, "Preparation, Characterization and Crystal Structures of Two Amine-Oxime Rhodium Complexes", *J.Coord.Chem.* 16 (1988) 347.

[180] S.Siripaisarnpipat, E.O.Schlemper, "Dinuclear Rhodium (III) Complexes: Synthesis and Crystal and Molecular Structures of Two Amine-Oxime Complexes of Rhodium(III)", *Inorg.Chem.* 22 (1983) 282.

[181] R.K.Murmann, "The Interaction of 2-Methyl-2-amino-3-butanone Oxime with Nickel(II) and Copper(II) Ions", *J.Am.Chem.Soc.* 80 (1958) 4174.

[182] K.E.Lindner, M.F.Malley, J.Z.Gougoutas, S.E.Unger, A.D.Nunn, "Neutral, Seven-Coordinate Dioxime Complexes of Technetium(III): Synthesis and Characterization", *Inorg.Chem.* 29 (1990) 2428.

[183] E.Breitmaier, W.Voelter: Carbon-13 NMR Spectroscopy. 3rd Ed., Verlag Chemie, Weinheim 1987.

[184] H.J.Keller: *NMR-Untersuchungen an Komplexverbindungen.* in: P.Diehl, E.Fluck, R.Kosfeld (Hsg.): *NMR - Basic Principles and Progress (Grundlagen und Fortschritte)* 2, Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York 1970.

[185] M.Hesse, H.Meier, B.Zeeh: *Spektroskopische Methoden in der organischen Chemie.* Thieme-Verlag, Stuttgart 1979.

[186] K.Leesmeister, K.Schwochau, "Synthesis, Characterization and Biodistribution of Tris(ß-diketonato) technetium(III) Complexes", *Int.J.Radiat.Appl.Instrum. Part B, Nucl.Med.Biol.* 19(1) (1992) 73.

[187] S.E.Unger, T.J.McCormick, "Comparison of Desorption Ionization Methods for the Analysis of Neutral Seven-Coordinate Technetium Radiopharmaceuticals", *Anal. Chem.* 59 (1987) 1145.

[188] A.Davison, B.V.DePhamphilis, R.Faggiani, A.G.Jones, C.J.L.Lock, C.Orvig, "The preparation, characterization, and crystal and molecular structure of oxobis(ethan-1,2-dithiolato-S,μS')technetium(V)oxo(ethan-1,2-dithiolato-S,S')technetium(V) $[(TcO)_2(SCH_2CH_2S)_3]$. A Tc(V) compound containing metal-sulfur-metal bridges", *Can.J.Chem.* 63 (1985) 319.

[189] M.J.Abrams, A.Davison, A.G.Jones, C.E.Costello, H.Pang, "Synthesis and Characterization of Hexakis (alkyl isocyanide) and hexakis(aryl isocyanide) Complexes of Technetium(I)", *Inorg.Chem.* 22(20) (1983) 2798.

[190] B.W.Wilson, C.E.Costello, S.A.Carr, K.Biemann, "Field Desorption Mass Spectrometry of Complex Anions Containing Rhenium and Technetium", *Anal.Lett.* 12(A3) (1979) 303.

[191] A.G.Jones, A.Davison, M.R.LaTegola, J.W.Brodack, C. Orvig, M.Sohn, A.K.Toothaker, C.J.L.Lock, K.J. Franklin, C.E.Costello, S.A.Carr, K.Biemann, M.L. Kaplan, "Chemical and in Vivo Studies of the Anion oxo(N,N'-ethylenebis(2-mercaptoacetimido) Technetate (V)", *J.Nucl.Med.* 23 (1982) 801.

[192] C.N.McEwen, S.D.Ittel, "Field Desorption Mass Spectrometry of Air Sensitive Transition Metal Complexes", *Organic Mass Spectrometry* 15(1) 1(1980) 35.

[193] Y.Magata, H.Saji, Y.Ohmomo, C.Tanaka, J.Konishi, Y. Yokoyama, "Development of a Novel Radioionated Glucose Derivative with Interaction to Hexokinase", J.Label.Comp.Radiopharm. 31(4) (1992) 317.

D a n k s a g u n g

Diese Arbeit entstand in der Zeit von September 1989 bis August 1992 am Institut für Nuklearchemie der Forschungszentrum (KFA) Jülich GmbH unter der Anleitung und Betreuung durch Herrn Prof.Dr. K.Schwochau.

Für das mit entgegengebrachte fördernde Wohlwollen, die vielfachen Diskusionen und wertvollen Ratschläge sowie die Unterstützung in schwierigen Zeiten möchte ich ihm ganz besonders danken.

Herrn Institutsdirektor Prof.Dr. G.Stöcklin gilt mein herzlicher Dank für die Bereitstellung des Arbeitsplatzes, die vielseitige Unterstützung meiner Arbeit sowie sein stetes Interesse an ihrem Fortschritt.

Herrn Institutsdirektor Prof.Dr. W.Bronger, Institut für Anorganische Chemie der RWTH Aachen, danke ich für die Übernahme des Korreferates.

Den Kollegen unserer Arbeitsgruppe, Herrn Dr. Astheimer, Herrn Dr. Su, Herrn Dipl.-Chem. Leesmeister, Herrn Dipl.-Chem. Pleger und insbesondere Herrn Linse, danke ich vielmals für die gute Zusammenarbeit und Hilfsbereitschaft bei der Lösung theoretischer und praktischer Probleme.

Herr Wutz hat die experimentellen Arbeiten zur Untersuchung der Organverteilungen ausgeführt, Herr Dipl.-Ing. Unterlugauer hat viel Zeit für die Aufnahme von Kernresonanzspektren erübrigt. Die Strahlenschutzbeauftragten, Herr Printz und Herr Knieper, haben meine Experimente in vielfacher Weise unterstützt. Für ihre außerordentliche Mühe und ihr Entgegenkommen bin ich Ihnen allen sehr verpflichtet. Den anderen Mitarbeitern des Instituts danke ich für die freundliche Aufnahme und angenehme Arbeitsatmosphäre.

Herr Dipl.-Ing. Kröner und Herr Müller vom der Zentralabteilung für chemische Analysen der KFA haben die Ionenchromatographien und Elementaranalysen, Herr Soyka die β^--Szintillationsmessungen ausgeführt. Herrn Dr. Vogel vom Analytischen Labor der Hoechst AG (Frankfurt/Main), Herrn Dr. Böhler vom Institut für Anorganische Chemie der Universität Göttingen und ihren Mitarbeitern danke ich für die Durchführung und Diskussion massenspektroskopischer Messungen, Herrn Emmerich und Herrn Gossen vom Institut für Anorganische Chemie der RWTH Aachen für die Aufnahme von ^{13}C-NMR-Spektren. Sie alle haben viel zum Gelingen der Arbeit beigetragen.

FORSCHUNGSZENTRUM JÜLICH GmbH

KFA

Jül-2777
Mai 1993
ISSN 0944-2952