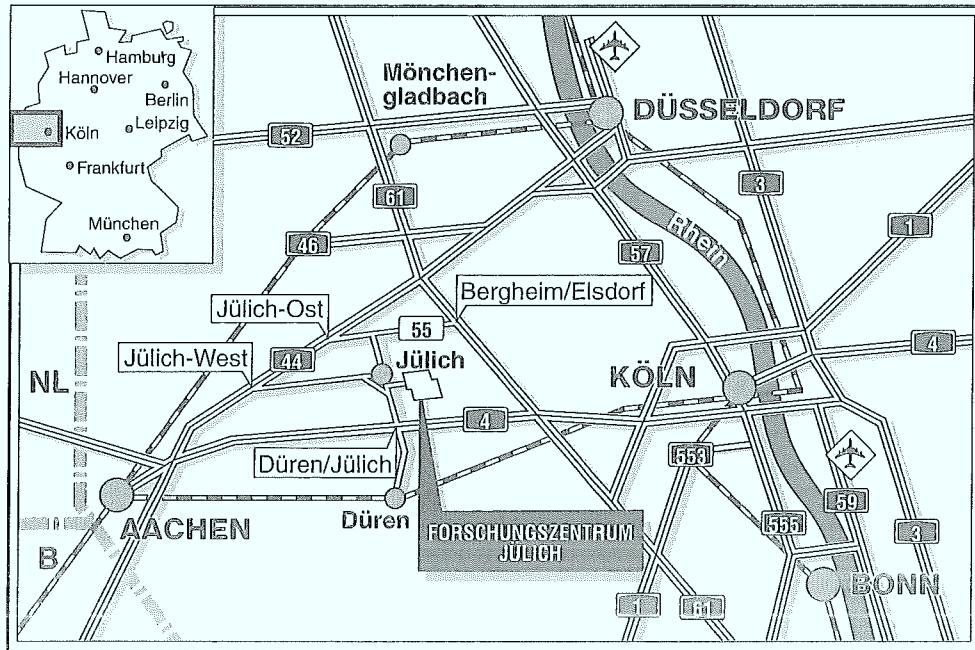




Institut für Nuklearchemie

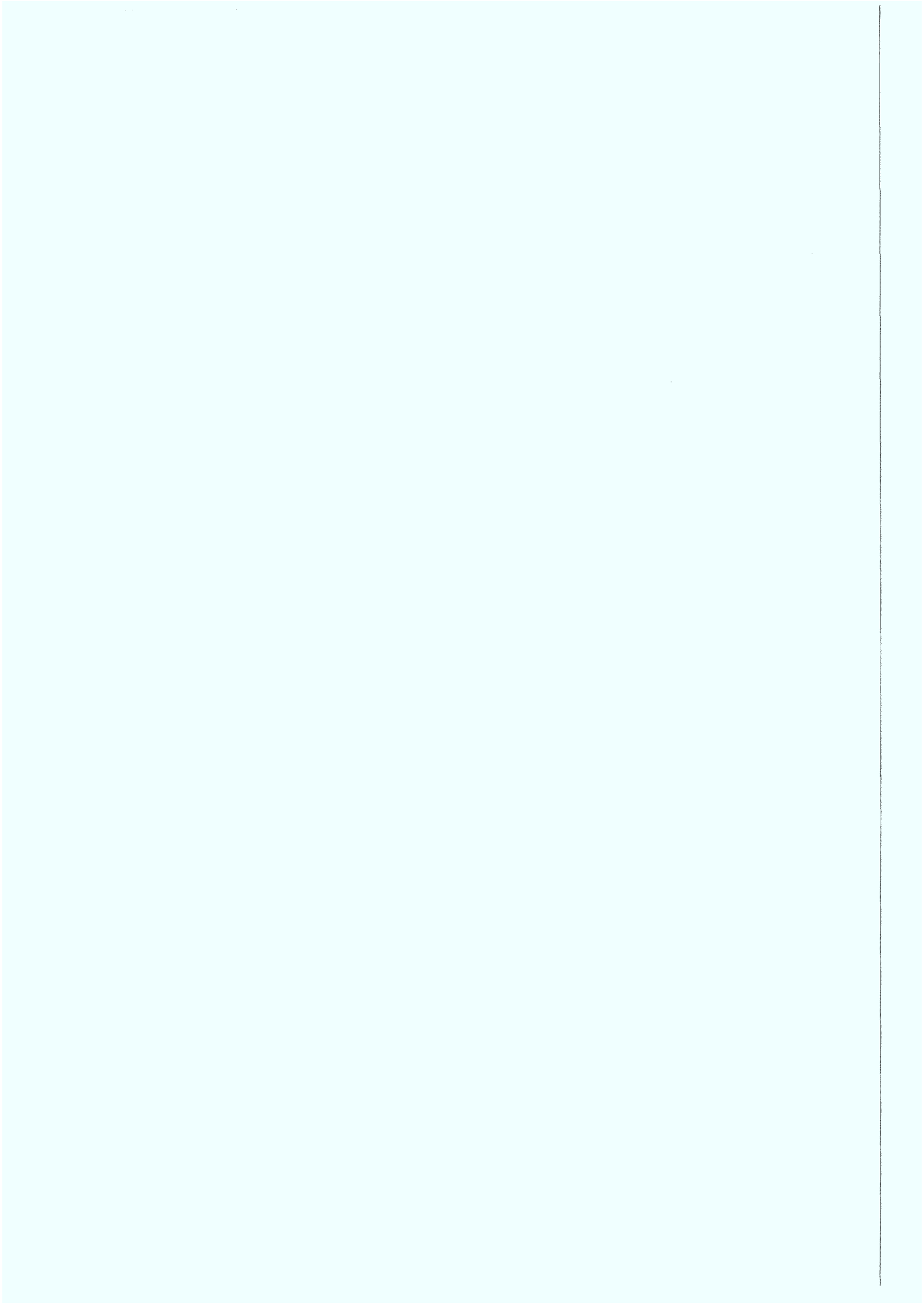
*Untersuchungen zur Komplexierung
des Technetiums mit den Tripodanden
Tris(2-aminoethyl)amin, Tris(2-hydroxy-
ethyl)amin, N,N-Bis(2-Mercaptoethyl)
ethylendiamin und einem Diamindithiol-
Tripodand-Phenylalaninkonjugat*

Uwe Pleger



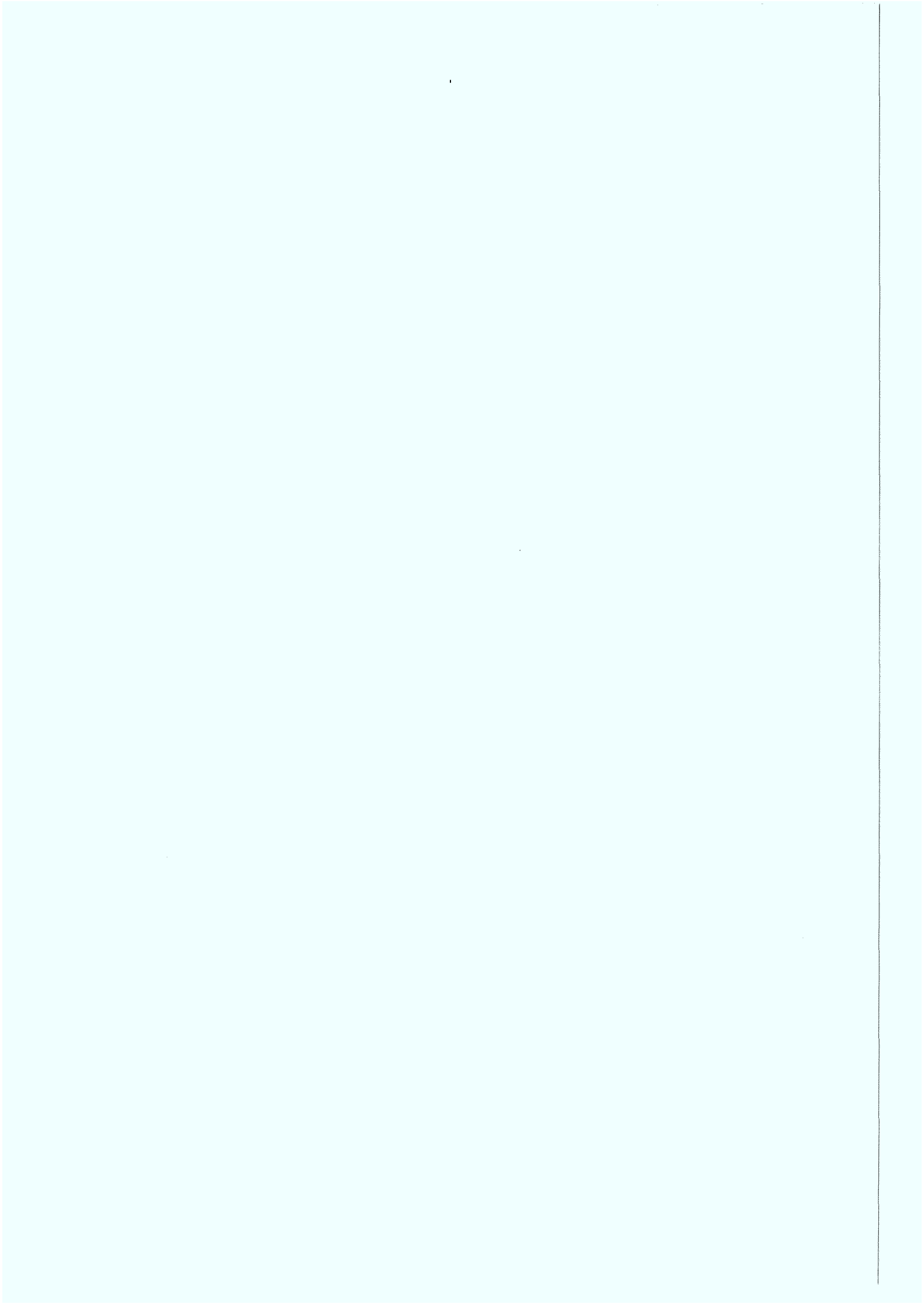
Berichte des Forschungszentrums Jülich ; 3405
ISSN 0944-2952
Institut für Nuklearchemie Jül-3405
D 82 (Diss. RWTH Aachen)

Zu beziehen durch: Forschungszentrum Jülich GmbH · Zentralbibliothek
D-52425 Jülich · Bundesrepublik Deutschland
☎ 02461/61-6102 · Telefax: 02461/61-6103 · e-mail: zb-publikation@fz-juelich.de



***Untersuchungen zur Komplexierung
des Technetiums mit den Tripodanden
Tris(2-aminoethyl)amin, Tris(2-hydroxy-
ethyl)amin, N,N-Bis(2-Mercaptoethyl)
ethylendiamin und einem Diamindithiol-
Tripodand-Phenylalaninkonjugat***

Uwe Pleger



Zusammenfassung

Ein effizienter Transport durch die Blut-Hirn-Schranke ist für den erfolgreichen Einsatz eines Hirnradiopharmakons essentiell.

Da alle zur Zeit verfügbaren Technetium-Hirnradiopharmaka ausschließlich per Diffusion ins Hirn gelangen, wurde ein Ansatz erarbeitet, um einen Carrier-vermittelten Transport durch die Blut-Hirn-Schranke zu ermöglichen. Der Transport sollte unter Verwendung eines chimären Nährstoffs erfolgen, der neben der Carrier-affinen Komponente über eine radiopharmakophore Gruppe verfügt.

Aufgrund des sterischen Einflusses des Pharmakophors kam nur ein Transportsystem geringer Selektivität in Frage, wie es mit dem Carrier für große neutrale Aminosäuren zur Verfügung steht.

Mit Phenylalanin als Aminosäurekomponente des chimären Nährstoffs und einem tripodalen, kleinen und neutralen Technetiumkomplex als pharmakophore Gruppe sollte ein entsprechender Carrier-Transport durch die Blut-Hirn-Schranke realisiert werden.

Nach Abschätzung der sterischen Ansprüche des Technetium-Tripodandkomplexes unter Verwendung der Molecular Modelling Software Alchemy II und Hyperchem 2.0/3.0 kamen nur Podanden mit dreigliedrigen heteroatom-terminierten Armen in Frage.

Zum Erhalt eines stabilen und neutralen Technetium-Tripodandkomplexes wurden zunächst Komplexierungsversuche mit den kommerziell erhältlichen Tripodanden Tris(2-hydroxyethyl)-amin und Tris(2-aminoethyl)amin durchgeführt. Es konnten jedoch nur hydrophile, wenn auch stabile Komplexe erhalten werden.

Laut einschlägiger Literatur handelt es sich bei den Technetium-Diamindithiolkomplexen um Neutralkomplexe hoher Stabilität. Zur Darstellung eines analogen Tripodanden wurde nun N,N-Bis(2-Mercaptoethyl)ethylendiamin-Hydrochlorid in einer 4-stufigen Synthese, ausgehend von Bis(2-Chloethyl)amin-Hydrochlorid über die Intermediate Bis(2-Benzylthioethyl)amin, N,N-Bis(2-Benzylthioethyl)-2-aminoacetonitril und N,N-Bis(2-Benzylthioethyl)ethylendiamin, aufgebaut.

Ausgehend von Ammoniumpertechnetat und N,N-Bis(2-Mercaptoethyl)ethylendiamin konnte mit Natriumborhydrid als Reduktionsmittel der lipophile Komplex N,N-Bis(2-Mercaptoethyl)ethylendiamin-oxotechnetium(V) erhalten werden. Die Komplexierung wurde

bei pH 14 unter kontinuierlicher Produktextraktion in wäßrigem Medium bei Raumtemperatur durchgeführt. Anhand elektrophoretischer Untersuchungen konnte gezeigt werden, daß der Komplex bei pH 7 nur eine geringe Wanderungstendenz zur Kathode zeigt, die mit steigendem pH-Wert gegen Null geht. Der Komplex besitzt ebenso wie TcO-L,L-ECD zwei Aminfunktionen und kann somit als Neutralkomplex mit leicht basischen Eigenschaften angesehen werden.

Da zur Darstellung des Phenylalanin-Tripodandkonjugats eine Bindungsknüpfung zwischen dem bereits synthetisierten Tripodanden und Phenylalanin nicht möglich war, mußte das Molekül unter Verwendung diverser Schutzgruppentechniken in einer 7-stufigen Totalsynthese enantioselektiv aufgebaut werden. Ausgehend von Bis(2-Chlor-ethyl)amin-Hydrochlorid und 4-Brommethylbenzotrinitril konnte (S)-2-Amino-3-{4-[2-amino-1-bis-(2-mercaptoethyl)-aminoethyl]-phenyl}-propansäure mittels konvergenter Syntheseführung über die folgenden Intermediate erhalten werden:

- Bis(2-Tritylthioethyl)amin
- 4-Brommethylbenzaldehyd
- N,N-Bis(2-Tritylthioethyl)-2-amino-2-(4-brommethylphenyl)acetonitril
- (S,S)-2-t-Butyl-1-t-butyloxycarbonyl-3-methyl-5-{4-[cyano-bis-(2-tritylthioethyl)-aminomethyl]-benzyl}-4-imidazolidinon
- (S,S)-2-t-Butyl-1-t-butyloxycarbonyl-3-methyl-5-{4-[2-amino-1-bis(2-tritylthioethyl)-aminoethyl]-benzyl}-4-imidazolidinon
- (S,S)-2-t-Butyl-3-methyl-5-{4-[2-amino-1-bis(2-mercaptoethyl)amino-ethyl]-benzyl}-4-imidazolidinon

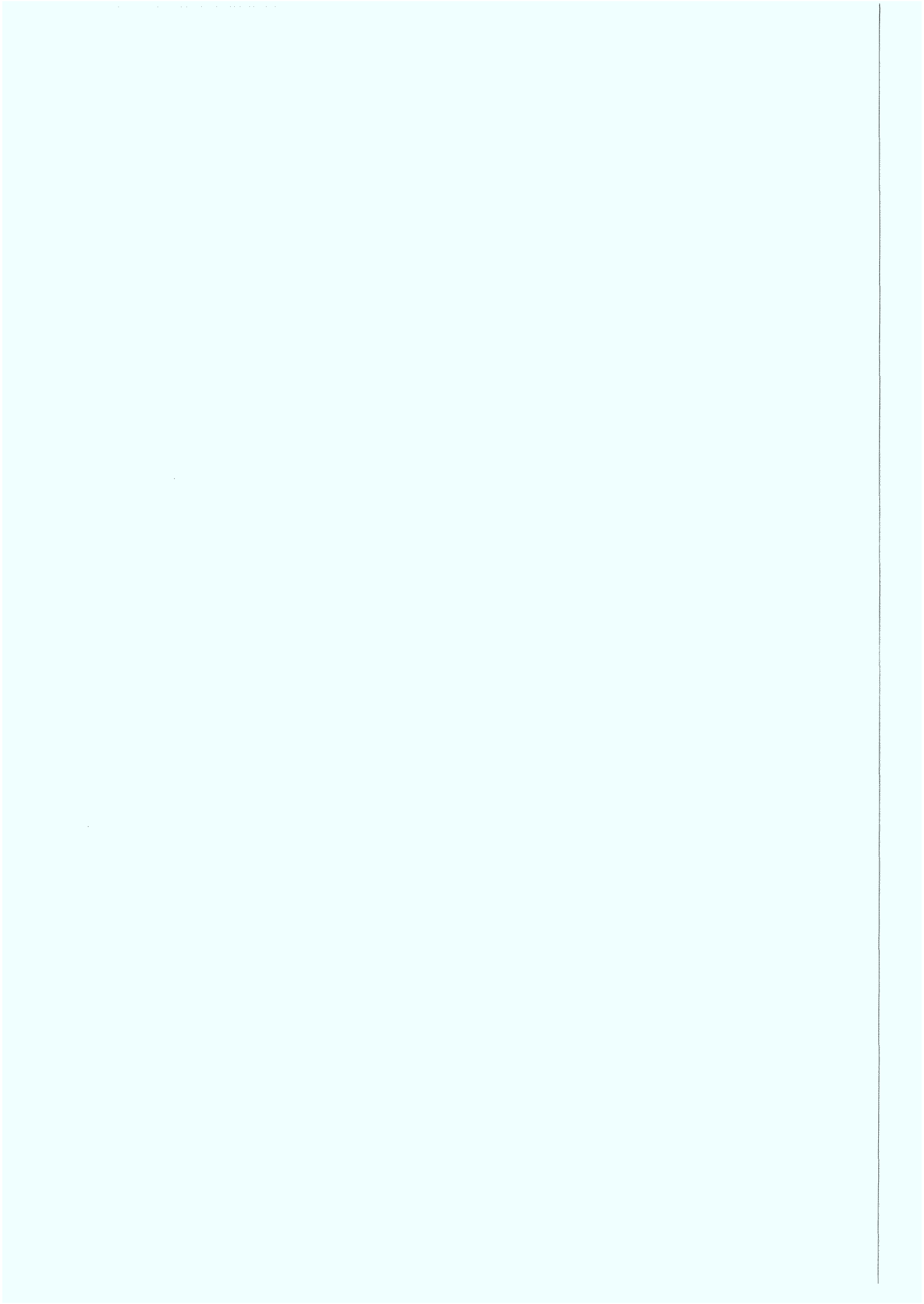
Zur Darstellung des Technetiumkomplexes wurden (S)-2-Amino-3-{4-[2-amino-1-bis-(2-mercaptoethyl)-aminoethyl]-phenyl}-propansäure und Ammoniumpertechnetat in siedendem Ethanol zur Reaktion gebracht. Die Reaktion wurde bei pH 13 - 14 mit Natriumborhydrid als Reduktionsmittel durchgeführt.

Durch Variation der Parameter Reaktionsdauer, Ligand- und Reduktionsmittelmenge wurden die zuvor anhand des langlebigen ^{99g}Tc erarbeiteten Komplexsynthesebedingungen auf ^{99m}Tc übertragen.

In Bioverteilungsexperimenten an NMRI-Mäusen kam es zu einer signifikanten Aktivitätsakkumulation des Komplexes im Herzmuskel. Bei allen Organen konnte ein

erstaunlich langsamer Abbau der Aktivität registriert werden. Der Komplex zeigte trotz Verunreinigung eine geringe aber dennoch deutliche Anreicherung im Hirn. Da aufgrund der geringen Lipophilie des Komplexes eine Diffusion durch die Blut-Hirn-Schranke nicht zu erwarten ist, kann von einem Carrier-vermittelten Transport ausgegangen werden. Unter Berücksichtigung der Aminosäurekomponente des Komplexes sollte der Carrier für große neutrale Aminosäuren involviert sein.

Die Synthese des im Rahmen dieser Arbeit zu synthetisierenden chimären Nährstoffs scheint demnach gelungen zu sein. Eine weitere Bearbeitung der Thematik wäre wünschenswert, in deren Rahmen weitere Bioverteilungsuntersuchungen durchzuführen wären. Zudem wäre auch die Eignung des Komplexes als Herztracer zu prüfen.



Inhaltsverzeichnis

1	Theoretische Grundlagen.....	1
1.1	Technetium	1
1.2	^{99m} Tc-Generatorsäulen	3
1.3	Radiodiagnostika.....	4
1.4	Die Blut-Hirn-Schranke.....	6
1.5	Chimäre Nährstoffe	9
1.6	Polypodandkomplexe	11
1.7	Molecular Modelling Software.....	12
1.7.1	Molecular Mechanics.....	12
1.7.2	Semi-Empirical	13
1.8	Auswahl geeigneter Tripodanden.....	14
2	Aufgabenstellung	18
3	Experimenteller Teil.....	20
3.1	Komplexierungsversuche mit käuflichen Tripodanden.....	20
3.1.1	Komplexierungen mit Tris(2-hydroxyethyl)amin	20
3.1.1.1	Versuchsbeschreibungen	21
3.1.1.1.1	Komplexierung bei Raumtemperatur und hohem Ligand/Reduktions- mittelüberschuß.....	21
3.1.1.1.2	Komplexierung bei 40 °C.....	21
3.1.2	Komplexierungen mit Tris(2-aminoethyl)amin	22
3.1.2.1	Versuchsbeschreibungen.....	22
3.1.2.1.1	Komplexierung bei Raumtemperatur und hohem Ligand / Reduktions- mittelüberschuß.....	22
3.1.2.1.2	Komplexierung bei 40 °C.....	23
3.1.3	Untersuchungen zur Lipophilie der Komplexe	24
3.1.4	Ladungsbestimmung der Komplexe	24
3.1.5	UV / VIS-Messungen.....	25
3.2	Darstellung des N,N-Bis(2-Mercaptoethyl)ethylendiamins	26
3.2.1	Bis(2-Benzylthioethyl)amin	26
3.2.2	N,N-Bis(2-Benzylthioethyl)-2-aminoacetonitril	27
3.2.3	N,N-Bis(2-Benzylthioethyl)ethylendiamin.....	29
3.2.4	N,N-Bis(2-Mercaptoethyl)ethylendiamin	31
3.2.5	Analyse	33
3.2.6	Infrarotspektroskopie.....	33

3.2.7	UV/VIS-Spektrum	34
3.2.8	NMR-Spektren	35
3.2.8.1	¹³ C-NMR-Spektroskopie.....	35
3.2.8.2	¹ H-NMR-Spektroskopie.....	37
3.3	Untersuchungen zur Komplexierung des Technetiums mit N,N-Bis(2-Mercaptoethyl)ethylendiamin.....	39
3.3.1	Komplexierungsversuch ohne pH-Kontrolle mit Natriumborhydrid als Reduktionsmittel.....	39
3.3.2	Komplexierung bei pH 12 mit Natriumborhydrid als Reduktionsmittel	40
3.3.3	Komplexierung bei pH 14 mit Natriumdithionit als Reduktionsmittel.....	41
3.3.4	Komplexierung bei pH 14 mit Natriumborhydrid als Reduktionsmittel und kontinuierlicher Extraktion mit Methylenchlorid.....	42
3.3.5	UV/VIS-Messung	43
3.3.6	Aufarbeitung des Komplexes	43
3.3.7	Komplexierung unter optimierten Reaktionsbedingungen	47
3.3.8	Lagerung des N,N-Bis(2-Mercaptoethyl)ethylendiamin- oxotechnetium(V)-Komplexes	48
3.3.9	UV/VIS-Spektrum	48
3.3.10	¹ H-NMR-Spektroskopie.....	49
3.3.11	Infrarotspektroskopie	55
3.3.12	Diskussion der analytischen Ergebnisse	56
3.3.13	Ladungsbestimmung des N,N-Bis(2-Mercaptoethyl)ethylendiamin- oxotechnetium(V)-Komplexes	56
3.3.13.1	Ionenauchersperimente.....	56
3.3.13.2	Elektrophoreseuntersuchungen des N,N-Bis(2-Mercapto- ethyl)ethylendiamin-oxotechnetium(V)-Komplexes.....	58
3.4	Darstellung des Phenylalanin-Tripodandkonjugats	63
3.4.1	Syntheseplanung	63
3.4.2	Bis(2-Tritylthioethyl)amin.....	66
3.4.2.1	¹ H-NMR-Spektroskopie.....	68
3.4.2.2	Infrarotspektroskopie	68
3.4.3	4-Brommethylbenzaldehyd	69
3.4.3.1	¹ H-NMR-Spektroskopie.....	70
3.4.4	N,N-Bis(2-Tritylthioethyl)-2-amino-2-(4-brommethylphenyl)acetonitril	71
3.4.4.1	¹ H-NMR-Spektroskopie.....	72

3.4.5	(S,S)-2-t-Butyl-1-t-butyloxycarbonyl-3-methyl-5-{4-[cyano-bis-(2-tritylthioethyl)-aminomethyl]-benzyl}-4-imidazolidinon.....	73
3.4.5.1	¹ H-NMR-Spektroskopie	76
3.4.6	(S,S)-2-t-Butyl-1-t-butyloxycarbonyl-3-methyl-5-{4-[2-amino-1-bis(2-tritylthioethyl)-aminoethyl]-benzyl}-4-imidazolidinon.....	78
3.4.6.1	¹ H-NMR-Spektroskopie	79
3.4.7	(S,S)-2-t-Butyl-3-methyl-5-{4-[2-amino-1-bis(2-mercaptoethyl)-amino-ethyl]-benzyl}-4-imidazolidinon	81
3.4.8	(S)-2-Amino-3-{4-[2-amino-1-bis-(2-mercaptoethyl)-aminoethyl]-phenyl}-propansäure	82
3.4.8.1	Lagerung der (S)-2-Amino-3-{4-[2-amino-1-bis-(2-mercaptoethyl)-aminoethyl]-phenyl}-propansäure	83
3.4.8.2	¹ H-NMR-Spektroskopie	84
3.5	Untersuchungen zur Komplexierung des Technetiums mit (S)-2-Amino-3-{4-[2-amino-1-bis-(2-mercaptoethyl)-aminoethyl]-phenyl}-propansäure.....	87
3.5.1	Komplexierung analog zur N,N-Bis(2-Mercaptoethyl)ethylendiamin-oxotechnetium(V)-darstellung.....	87
3.5.2	Komplexierung in siedendem Ethanol	89
3.5.3	UV/VIS-Messung.....	90
3.5.4	Aufarbeitung des (S)-2-Amino-3-{4-[2-amino-1-bis-(2-mercaptoethyl)-aminoethyl]-phenyl}-propansäure-oxotechnetium(V)-Komplexes.....	90
3.5.5	¹ H-NMR-Spektroskopie	92
3.5.6	Untersuchungen zur Bioverteilung.....	93
3.5.7	Diskussion der Ergebnisse	97
4	Anhang.....	98
4.1	Geräteliste.....	98
4.2	Hyperchem-Daten	99
4.3	Abbildungsverzeichnis.....	106
4.4	Tabellenverzeichnis.....	109
5	Literaturverzeichnis	111

1 Theoretische Grundlagen

1.1 Technetium

In der 7. Nebengruppe des Periodensystems der Elemente findet man zwischen Mangan und Rhenium das Übergangselement Technetium. Als Entdecker gelten Perrier und Segré, denen es 1937 durch Deuteronenbeschuß von Molybdänblech gelang, ^{95m}Tc und ^{97m}Tc darzustellen.⁽¹⁻⁴⁾



Technetium ist das leichteste künstliche Element, das durch Kernprozesse erzeugt wurde. Bisher sind 21 Isotope der Massenzahlen 90 bis 110 sowie zahlreiche Kernisomere bekannt, deren Halbwertszeiten zwischen 0,83 Sekunden (^{110}Tc) und $4,2 \cdot 10^6$ Jahren (^{98}Tc) liegen. Laut der Mattauchschen Isobarenregel sind stabile Technetiumisotope nicht zu erwarten.^(3,5) Obwohl die Halbwertszeiten der verschiedenen Technetiumisotope ein primordiales Vorkommen des Elements ausschließen,^(5,6) findet man auf der Erde Spuren von Technetium. Diese entstehen in Uranerzen entweder durch Spontanspaltung von ^{238}U oder durch induzierte Spaltung von ^{235}U durch vagabundierende Neutronen.⁽⁶⁾

Technetium wird heute fast ausschließlich aus Spaltprodukt-Abfallösungen von Kernreaktoren gewonnen. Durch Spaltung von ^{235}U erzeugt ein 100-MW Reaktor täglich ca. 2,5 g ^{99g}Tc . Die Aufarbeitung erfolgt mittels Pyridin-Extraktion.

Mit einer Halbwertszeit von $2,14 \cdot 10^5$ Jahren geht ^{99g}Tc unter β^- -Emission ($E_{\text{max.}} = 0,29$ MeV, $A_s = 17 \mu\text{Ci/mg}$) in stabiles ^{99}Ru über.⁽⁷⁾

Da die relativ niedrigenergetische β^- -Strahlung Wände normaler Glasgeräte nicht durchdringt, läßt sich ^{99g}Tc bis zu einer Menge von etwa 50 mg ohne besondere Strahlenschutzmaßnahmen im gut belüfteten Abzug handhaben. Beim Umgang mit größeren Mengen Technetium muß jedoch das Auftreten von Bremsstrahlung berücksichtigt werden.⁽⁷⁾

Technetium tritt in den Wertigkeiten -1 bis +7 auf und ähnelt in seinem chemischen Verhalten eher Rhenium als Mangan.⁽⁸⁾ Dieses Verhalten ist auf die beim Rhenium noch deutlich bemerkbare Lanthanoidenkontraktion zurückzuführen.^(5,6,9-15) Die Verwandtschaft zum Rhenium zeigt sich unter anderem in der Bevorzugung der Oxidationsstufe +7 und im Vorkommen höherer Koordinationszahlen. Zudem sind viele Verbindungen analoger

Zusammensetzung bekannt, die sich in ihren physikalischen und chemischen Eigenschaften entsprechen. Die in wäßriger Lösung stabilste Ionenform des Technetiums ist das farblose Pertechnetat(VII), das in saurem Medium die flüchtige Pertechnetium-Säure bildet. Ein thermodynamisch stabiler Vertreter der Oxidationsstufe +4 ist das schwarzbraune Technetiumdioxid TcO_2 , das in wäßrigem Medium als schwerlösliches Hydrat vorliegt und leicht bei der Reduktion höherer Oxidationsstufen anfällt.

Bedingt durch seine radioaktiven Eigenschaften hält sich die Verwendbarkeit von Technetium bisher in Grenzen. Erwähnenswert sind jedoch die folgenden Einsatzgebiete:^(2,3)

- Technetiummetall und Tc_2O_7 eignen sich als Katalysatorbestandteil für zahlreiche chemische Prozesse.
- Pertechnetat ist ein starker Korrosionsinhibitor für Eisen und Stahl.
- Das Metall zeichnet sich durch eine hohe Sprungtemperatur der Supraleitfähigkeit von 8,22 K aus. Daher waren Technetium und seine intermetallischen Verbindungen für die Supraleitungstechnik von Interesse.
- Das Nuklid $^{99\text{m}}\text{Tc}$ ist von überragender Bedeutung für die Nuklearmedizin.

Als Gründe für den hohen radiodiagnostischen Wert dieses Nuklids sind die geringe Halbwertszeit von nur 6 Stunden, die Abwesenheit gewebescheidigender Korpuskularstrahlung⁽¹⁶⁾ und die leicht detektierbare γ -Energie von 140,47 keV zu nennen.⁽¹⁾ Zudem ist eine einfache Bereitstellung mittels kommerzieller $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Generatorsäulen möglich.^(17,18)

1.2 ^{99m}Tc -Generatorsäulen

Der erste säulenchromatographisch arbeitende ^{99m}Tc -Generator wurde bereits Ende der fünfziger Jahre im Brookhaven National Laboratory, USA, entwickelt.^(19,20) ^{99m}Tc -Generatorsäulen verwenden heute als Trägermaterial saures Aluminiumoxid mit Anionenaustauschereigenschaften, wobei im oberen Bereich der Säule ^{99}Mo als Molybdat an das Trägermaterial gebunden ist. Während 12,8% des ^{99}Mo direkt zu ^{99g}Tc zerfallen, gehen 87,2% zunächst in ^{99m}Tc über (Abbildung 1). Durch den Zerfall des Molybdat entstehendes Pertechnetat läßt sich leicht mit isotonischer Kochsalzlösung eluieren, während MoO_4^{2-} sowohl unter sauren als auch unter neutralen Bedingungen fest an das Säulenmaterial gebunden bleibt.^(21,22)

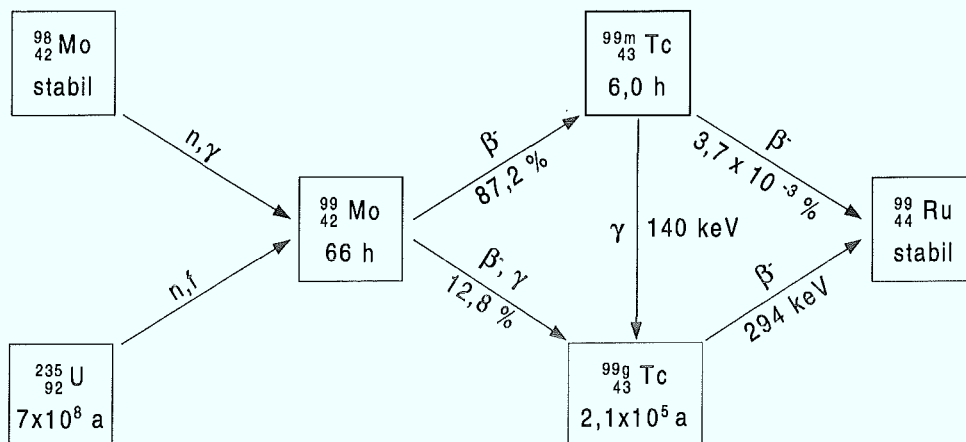


Abbildung 1: Zerfallsschema von ^{99}Mo

Da der Zeitraum zwischen Beladung und klinischem Einsatz des Generators bis zu einer Woche betragen darf, ist es selbst verkehrstechnisch schlecht erreichbaren Kliniken möglich, ^{99m}Tc -Radiopharmaka einzusetzen. Moderne Technetium-99m-Generatoren, sogenannte "Melksysteme" oder "Technetium-Kühe", benutzen eine Elutionstechnik, bei der eine offene Handhabung des Eluats entfällt.

^{99m}Tc geht unter Aussendung von 140,47 keV Gammastrahlung in den Grundzustand über (Abbildung 1).⁽²³⁾ Gammastrahlung dieser Energie ist meßtechnisch gut erfassbar,⁽¹⁷⁾ was zusammen mit der einfachen Verfügbarkeit des ^{99m}Tc dazu geführt hat, daß ^{99m}Tc -Präparate zur Zeit den Radiopharmakamarkt dominieren.

1.3 Radiodiagnostika

Radiodiagnostika sind Strahlung emittierende Substanzen, die sich in bestimmten Organen oder Geweben anreichern und deren Verteilung bzw. Metabolisierung mit Hilfe geeigneter Detektoren außerhalb des Körpers nachweisbar ist.⁽¹⁸⁾ Aufgrund der Verteilung im Organgewebe sind Aussagen bezüglich pathophysiologischer Prozesse möglich.

Strahlung emittierender Bestandteil des Radiodiagnostikums ist ein Radionuklid, dessen Strahlungsreichweite eine Detektion zuläßt. Zur Vermeidung einer zu hohen Strahlenbelastung für den Patienten sind eine geringe Halbwertszeit und die Abwesenheit gewebschädigender Korpuskularstrahlung wichtig. Entsprechend der Verbindung, zu der ein Radionuklid umgesetzt wird, kann die Organspezifität des Radiodiagnostikums erheblich variieren. Basierend auf nur einem Radionuklid ist somit ein ganzes Spektrum an Radiodiagnostika für die Szintigraphie unterschiedlicher Organe zugänglich. Entscheidend für eine kontrastreiche Abbildung des Zielorgans ist neben einer selektiven Anreicherung im Zielgewebe eine möglichst geringe Aktivität im Blut und in benachbarten Organen. Gute regionalspezifische Anreicherungen im Zielorgan und Retentionszeiten, die für nuklearmedizinische Untersuchungen ausreichen, sind weitere Qualitätskriterien für Radiodiagnostika.

Tabelle 1: Geeignete Nuklide für die Radiodiagnostik

Nuklid	Halbwertszeit
^{15}O	2 Minuten
^{13}N	10 Minuten
^{11}C	20 Minuten
^{68}Ga	68 Minuten
$^{113\text{m}}\text{In}$	1,7 Stunden
^{18}F	1,8 Stunden
$^{87\text{m}}\text{Sr}$	2,8 Stunden
$^{99\text{m}}\text{Tc}$	6 Stunden
^{131}J	8 Tage
^{123}J	13,2 Stunden
^{201}Tl	73,1 Stunden
^{133}Xe	5,25 Tage

Zwei nuklearmedizinische Methoden sind gegeneinander abzugrenzen:

- Positron Emission Tomography (PET)
- Single Photon Emission Tomography (SPET)

PET-Untersuchungen zeichnen sich durch hohe Auflösung und gute räumliche Abbildung aus.^(24,25) Da aber zur Produktion von PET-Nukliden ein Cyclotron erforderlich ist und geeignete PET-Nuklide in der Regel kurze Halbwertszeiten aufweisen, wird der

Transportweg vom Cyclotron für viele Kliniken zum Entscheidungskriterium. Ein Lufttransport ist zwar in vielen Fällen möglich, verteuert das Verfahren aber zusätzlich.

Als typische PET-Nuklide sind ^{18}F , ^{11}C und ^{13}N (Tabelle 1) zu nennen. Obwohl SPET gegenüber PET eine schlechtere Auflösung zeigt, wird diese Methode aufgrund problemloser Verfügbarkeit und eines erheblich günstigeren Preises der Nuklide von den meisten Kliniken als radiodiagnostisches Standardverfahren verwendet.⁽²⁶⁾

Typische SPET-Nuklide sind ^{123}I , ^{201}Tl , ^{133}Xe und im besonderen $^{99\text{m}}\text{Tc}$ (Tabelle 1).^(27,28) Neben den nahezu idealen nuklearen Eigenschaften des $^{99\text{m}}\text{Tc}$ haben kommerzielle und logistische Kriterien dazu geführt, daß zur Zeit rund 80% der in Kliniken eingesetzten Radiodiagnostika auf $^{99\text{m}}\text{Tc}$ basieren. Die übrigen hier aufgeführten SPET-Nuklide finden weniger Verwendung.

Während $^{99\text{m}}\text{Tc}$ als Pertechnetat eine gute Organspezifität bezüglich der Schilddrüse zeigt, sind Technetium-Radiodiagnostika zur Untersuchung anderer Organe meist Komplexverbindungen. Zur Darstellung des entsprechenden Tc-Komplexes wird Pertechnetat mit einem geeigneten Liganden meistens in Gegenwart eines Reduktionsmittels zur Reaktion gebracht. In der nuklearmedizinischen Praxis wird hierzu $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Generatoreluat mit Hilfe sogenannter "Kits", das sind Fertigmischungen, die alle Bestandteile zur Bildung des Radiopharmakons enthalten, zum injektionsfertigen Pharmakon umgesetzt.⁽¹⁷⁾ Mittlerweile ist die Szintigraphie einer Vielzahl unterschiedlicher Organe mit Hilfe spezieller Technetiumkomplexe möglich (Tabelle 2).

Als besondere Herausforderung erwies sich bisher die Radiodiagnostik des Hirns. Um

Tabelle 2: Beispiele für $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Radiodiagnostika

Organ	$^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Tracer	Benötigte Aktivität
Hirn	$^{99\text{m}}\text{TcO-d,l-HMPAO}$	259 - 555 MBq
	$^{99\text{m}}\text{TcO-L,L-ECD}$	925 - 1110 MBq
Schilddrüse	Natriumpertechnetat	18,5 - 74 MBq
Herz	$^{99\text{m}}\text{Tc-HEXAMIBI}$	370 - 1110 MBq
Leber	$^{99\text{m}}\text{Tc-HIDA}$ und Derivate	185 - 555 MBq
Nieren	$^{99\text{m}}\text{TcO-MAG}_3$	37 - 740 MBq

ins Hirn zu gelangen, müssen entsprechende Radiopharmaka zunächst die Blut-Hirn-Schranke passieren. Aufgrund ihrer besonderen Struktur verwehrt diese Barriere den meisten Substanzen den Zugang. Untersuchungen der regionalen Hirndurchblutung (regional cerebral blood flow, rCBF) stellen demnach ein besonderes Problem dar.⁽³¹⁾

1.4 Die Blut-Hirn-Schranke

Die Aufrechterhaltung eines stabilen inneren Milieus im Organismus, die Homöostase, ist vor allem für höherentwickelte Lebewesen lebensnotwendig. Während für die meisten Organe geringe Milieuveränderungen unproblematisch sind, ist besonders das Hirn solchen Schwankungen gegenüber äußerst empfindlich. Eine Vielzahl von Stoffen muß demnach vom Interzellularraum des Hirns ferngehalten werden.⁽²⁹⁾

Hierzu zählen toxische Substanzen, die dem Körper von außen zugeführt werden, ebenso wie körpereigene Stoffe, die die Funktionstüchtigkeit des Hirns negativ beeinflussen können. Zu letzteren gehören einige Hormone und Aminosäuren, die als Neurotransmitter das Hirn zum unkontrollierten Aussenden von Nervenimpulsen veranlassen können. Auch Kaliumionen gehören zu den für das Hirn kritischen Substanzen, da sie einen starken Einfluß auf die Weiterleitung von Nervenimpulsen haben. Hieraus ergibt sich, daß alle Wirbeltiere zur Gewährleistung der Hirnhomöostase eine Blut-Hirn-Schranke (BHS) besitzen.⁽³⁰⁻³³⁾

Das Vorhandensein einer solchen Barriere wurde erstmals in den sechziger Jahren durch T. S. Reese und M. J. Karnovsky schlüssig bewiesen.⁽³¹⁾ Nach Injektion des Enzyms Meerrettichperoxidase in die Blutbahn von Tieren reicherte sich die Substanz in den meisten Organen problemlos an, während sie in den Hirnzellen des Tieres nicht nachweisbar war. Als Gegenexperiment injizierten M. W. Brightman und T. S. Reese Meerrettichperoxidase in eine der Hirnkammern.⁽³¹⁾ Das Enzym wanderte zwar in die

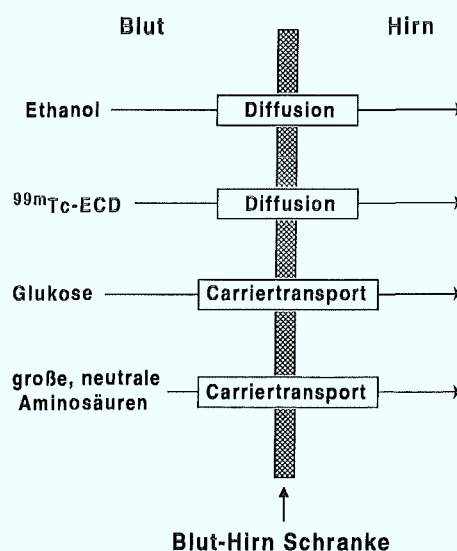


Abbildung 2: Schematische Darstellung der BHS

Hirnrückenmarksflüssigkeit, wurde aber ansonsten am Verlassen des Hirns gehindert, so daß es in keinem der übrigen Organe nachweisbar war.

Funktion und Lokalisierung der Blut-Hirn-Schranke blieben lange Zeit ungeklärt. Heute weiß man, daß die Endothelzellen der Hirnkapillaren die eigentliche Blut-Hirn-Schranke bilden. Zum Aufbau einer lückenlosen Wand sind die Endothelzellen dieser Kapillaren nicht wie normale Zellen miteinander verbunden, sondern überlappen sichelförmig miteinander und bilden sogenannte "tight junctions" (feste Zellkontakte). Ein uneingeschränkter Stofftransport durch die Zwischenräume der Endothelzellen ist somit unterbunden.⁽³⁴⁾

Verständlicherweise stellt die Blut-Hirn-Schranke für die therapeutische und diagnostische Medizin ein erhebliches Problem dar. So wird z.B. Penicillin, ebenso wie viele andere Pharmazeutika, fast quantitativ am Eindringen ins Hirn gehindert. Ein völlig isoliertes Hirn ist jedoch indiskutabel, da die Nährstoffversorgung des Organs nicht gewährleistet und das Eindringen gewisser Drogen in den Interzellularraum des Hirns nicht erklärbar wäre. Für den Stofftransport durch die Blut-Hirn-Schranke sind zwei grundsätzlich verschiedene Mechanismen bekannt (Abbildung 2).

Die Passage mittels Diffusion ist ausschließlich lipophilen Substanzen vorbehalten, so daß eine Vielzahl fettlöslicher Moleküle auf diesem Wege nahezu ungehindert ins Hirn gelangen kann. Die Erklärung für dieses Verhalten liegt im prinzipiellen Aufbau von Zellmembranen begründet. Diese bestehen vorwiegend aus Lipidmoleküldoppelschichten, die als eine Art zweidimensionale Flüssigkeit anzusehen sind. Durch diesen Flüssigkeitsfilm diffundieren fettlösliche Moleküle problemlos hindurch. Lipophile Substanzen, wie Nikotin, Ethanol und Heroin, können auf diesem Wege, trotz ihrer Gefährlichkeit, problemlos ins Hirn eindringen und dessen Funktionstüchtigkeit erheblich beeinträchtigen. Einige Radiopharmaka machen von diesem Mechanismus Gebrauch und können auf diesem Wege ins Hirn gelangen.⁽³⁵⁻³⁹⁾ Abbildung 3 zeigt einige Beispiele hierfür.

Die Nährstoffversorgung des Hirns erfolgt in erster Linie über den zweiten der beiden Transportmechanismen, den Carriertransport.⁽⁴¹⁾ Carrier bestehen aus Proteinkanälen, die die Zellmembran für bestimmte Substanzen passierbar machen oder für deren aktiven Transport sorgen. Die Blut-Hirn-Schranke verfügt über eine Vielzahl unterschiedlicher Carrier, die zum einen die Nährstoffversorgung des Hirns sicherstellen,^(42,43) zum anderen aber auch für den Abtransport kritischer Substanzen verantwortlich sind.

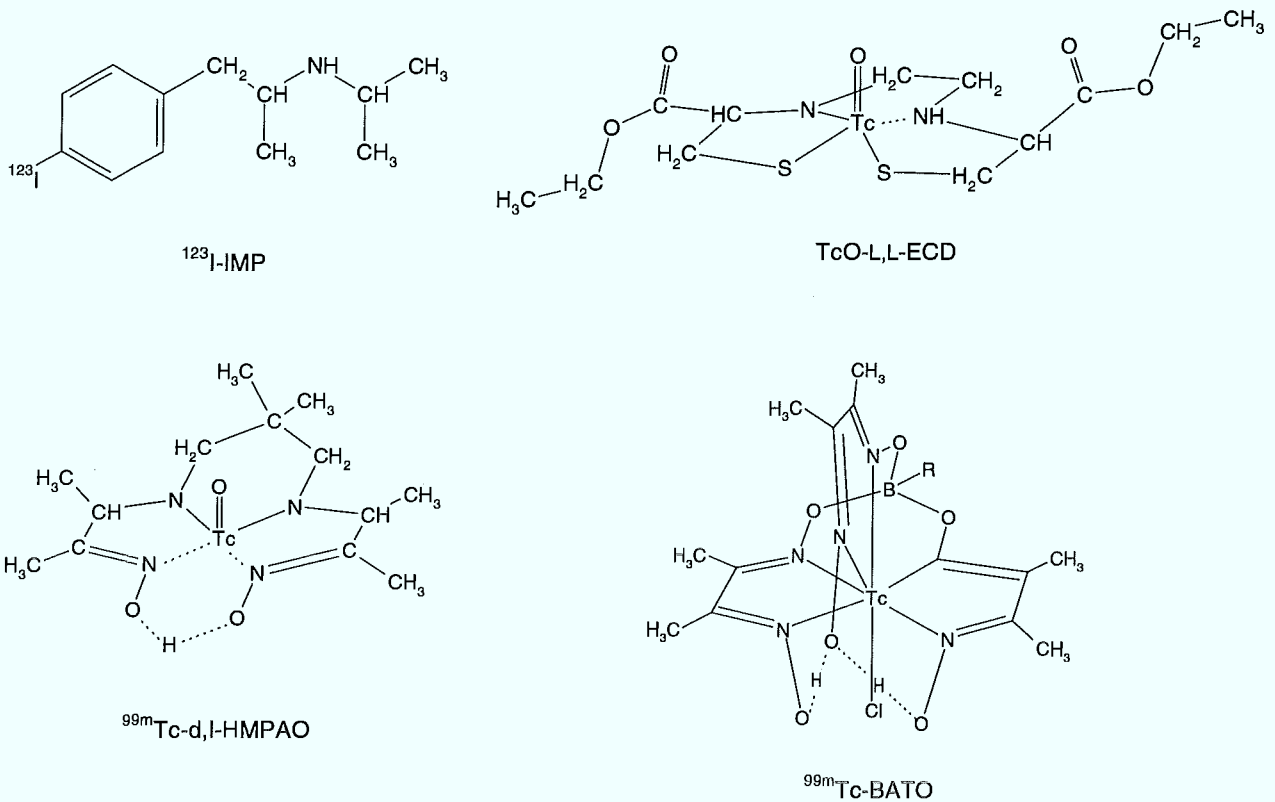


Abbildung 3: Beispiele für lipophile Hirnradiopharmaka

Abkürzungen: ^{123}I -IMP: N-isopropyl-p(^{123}I)-iodoamphetamin

$^{99\text{m}}\text{Tc}$ O-L,L-ECD: N,N'-1,2-ethandiylobis-(L-cysteinylester)oxotechnetium

$^{99\text{m}}\text{Tc}$ -d,l-HMPAO: Hexamethylpropylenaminoxim-oxotechnetium

$^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Bato: Bis[2,3-butanedionedioximato(1-)-O][2,3-butan-dioximato-(2-)-O]2-methyl, 1-propylborato(2-)N,N',N'',N''',N''''',N'''''']chlorotechnetium

Zu den Stoffen, die aus dem Hirn entfernt werden müssen, gehören Kalium und Glycin. Beide haben einen negativen Einfluß auf die Weiterleitung von Nervenimpulsen. Zu den essentiellen Substanzen, die dem Hirn über die Blut-Hirn-Schranke zugeführt werden müssen, gehören sowohl die großen neutralen Aminosäuren als auch der Hauptenergielieferant des Hirns, die Glucose. Letztere wird von einem höchst selektiven Carrier befördert, der nur eines der beiden Glucosestereoisomeren ins Hirn läßt.

Während ins Muskelgewebe sowohl D-, als auch L-Glucose gelangt, wird aufgrund der Stereoselektivität des BHS-Glucosetransporters, ins Hirn nur D-Glucose befördert; die als Energielieferant wertlose L-Glucose kann den Carrier nicht passieren. An diesem Beispiel wird klar, daß jeder essentielle Nährstoff zunächst von seinem Transportsystem erkannt werden muß, bevor er befördert wird.

Daß aber nicht alle Carrier gleich selektiv sind, zeigt der BHS-Aminosäuretransport.⁽⁴⁴⁻⁴⁷⁾ Zehn große neutrale Aminosäuren sind für das Hirn essentiell, da sie zur Proteinsynthese in größeren Mengen benötigt werden. Bemerkenswert hierbei ist, daß nicht jeder einzelnen Aminosäure ein eigenes Transportsystem zur Verfügung steht, sondern alle 10 großen neutralen Aminosäuren um ein und den selben Carrier konkurrieren. Die Selektivität des Carriers beschränkt sich offenbar auf drei Punkte:

- Ist das Molekül eine Aminosäure?
- Ist die Aminosäure neutral?
- Besitzt der Aminosäurerest ein gewisses Mindestvolumen?

Sind alle Kriterien erfüllt, wird die Substanz transportiert. Aufgrund der geringen Selektivität des Aminosäuretransportsystems kann z.B. das Cytostatikum Melphalan (4-[Bis(2-chlorethyl)-amino]-L-phenylalanin), ein chimärer Nährstoff, ins Hirn gelangen und somit zur Therapie von Hirntumoren eingesetzt werden.^(30,48)

1.5 Chimäre Nährstoffe

Chimäre Nährstoffe bestehen aus einer Trägersubstanz, an die ein pharmakologisch wirksamer Rest angeheftet ist.⁽³⁰⁾ Aufgrund der Affinität des Trägers zu einem Carrier- oder Rezeptorsystem wird der Träger zusammen mit der pharmakologisch wirksamen Komponente vom entsprechenden Transportsystem befördert.

Zu den chimären Nährstoffen gehört das bereits erwähnte Cytostatikum Melphalan (4-[Bis(2-chlorethyl)-amino]-L-phenylalanin). An die als Träger fungierende natürlich vorkommende Aminosäure Phenylalanin ist in Paraposition der pharmakologisch wirksame Rest Stickstofflost (Bis(2-chlorethyl)-methylamin) gebunden (Abbildung 4). Aufgrund seiner Phenylalaninkomponente wird Melphalan vom Carrier für große neutrale

Aminosäuren durch die Blut-Hirn-Schranke befördert, wobei die bereits beschriebene geringe Selektivität des Carriers den Transport begünstigt.^(30,48,49)

Um Technetium-Radiopharmaka mit Hilfe dieses Aminosäurecarriers ins Hirn zu befördern, wäre ein chimärer Nährstoff denkbar, bei dem die Paraposition des Phenylalanins durch einen adäquaten Technetiumkomplex besetzt wird (Abbildung 4). Da die Carrier-Transferrate des Melphalans geringer ist als die des Phenylalanins, sollte der entsprechende Technetiumkomplex sterisch weniger anspruchsvoll sein als der Stickstoffrestrest des Melphalans.

Zudem haben Untersuchungen von Greig *et al.* gezeigt, daß die Ladungsneutralität des Parasubstituenten von Bedeutung ist.⁽⁴⁸⁾ Während räumliche Ausdehnung und Ladungsneutralität die Ansprüche des Carriers berücksichtigen, ergibt sich die Forderung nach einer hohen Komplexstabilität aus der Notwendigkeit, daß der Komplex nicht bereits auf dem Weg zum Hirn zerfallen sollte.

Die Berücksichtigung der bisher genannten Kriterien führt zur Substanzklasse der Diaminodithiol-^{99m}Tc-Komplexe, zu der in letzter Zeit umfangreiche Untersuchungen durchgeführt wurden. Ein typischer Vertreter dieser Gruppe ist das bereits erwähnte ^{99m}TcO-L,L-ECD. Obwohl diese Komplexe alle Forderungen bezüglich Stabilität und Neutralität erfüllen, sind sie in Bezug auf ihre sterischen Ansprüche als kritisch anzusehen. Die räumliche Ausdehnung des kleinsten, noch stabilen Vertreters dieser Klasse liegt noch deutlich über der des Melphalan-Parasubstituenten. Es ist zwar nicht auszuschließen, daß eine entsprechende Spezies noch vom Carrier transportiert wird, Auswirkungen auf die Carrier-Transferrate sind jedoch nicht abschätzbar. Sucht man nach kleineren Komplexen, so bieten sich die bereits aus der Komplexchemie bekannten Polypodandkomplexe an.

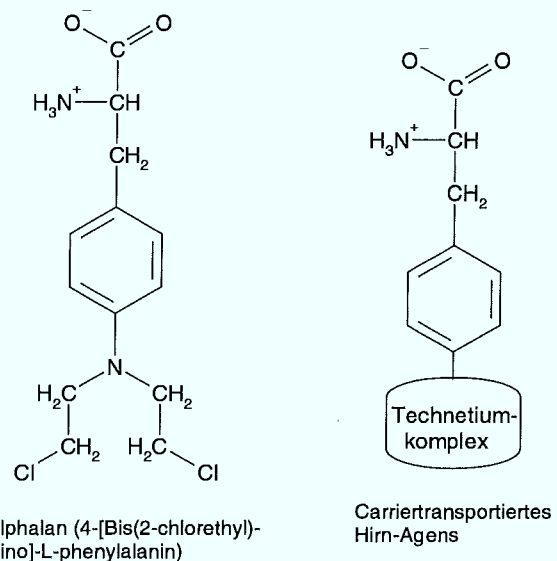


Abbildung 4: Gegenüberstellung Melphalan + Technetiumkomplex-Phenylalaninkonjugat

1.6 Polypodandkomplexe

Polypodanden oder Krakenmoleküle gehören zu den Liganden, die drei oder mehr Arme besitzen, mit denen sie ein Zentralatom im Komplex wie eine Krake umschließen. Besitzt der Ligand nur drei Arme so spricht man von Tripodanden, verfügt er über vier oder mehr Arme so ist von Tetra-, Penta-, Hexapodanden, u.s.w. die Rede. Zu den prominentesten Vertretern dieser Substanzklasse gehören sowohl Ethylendiaminotetraessigsäure (EDTA) nebst Salzen als auch Tris(2-hydroxyethyl)amin und Tris(2-aminoethyl)amin (TREN), die als hervorragende Chelat-Bildner für Metall-Ionen Verwendung finden.

Aufgrund der mehrarmigen Umschließung des Zentralatoms bieten sich Polypodanden zur Bildung kompakter Technetiumkomplexe an. Da die Eigengröße des Liganden ein begrenzender Faktor ist, sind voluminöse Polypodanden wie EDTA gänzlich ungeeignet. Kleine Tripodanden wie TREN kommen aufgrund ihrer geringen Größe eher in Frage.

Entsprechende tripodale Komplexe sind aus der Literatur für Molybdän, Nickel, Kobalt, Mangan, Titan, Chrom, Eisen, Kupfer, Zink und Vanadium bekannt,⁽⁵⁰⁻⁶³⁾ wobei die Ladung des Komplexes je nach Zentralatom variiert (Abbildung 5).

Da Untersuchungen zu Technetiumtripodandkomplexen zu Beginn dieser Arbeit noch nicht vorlagen, waren zunächst theoretische Überlegungen bezüglich eines geeigneten Komplexes nötig. Für entsprechende Planungen bieten sich computergestützte Strukturberechnungen an, wie sie mit Molecular Modelling Programmen durchführbar sind.

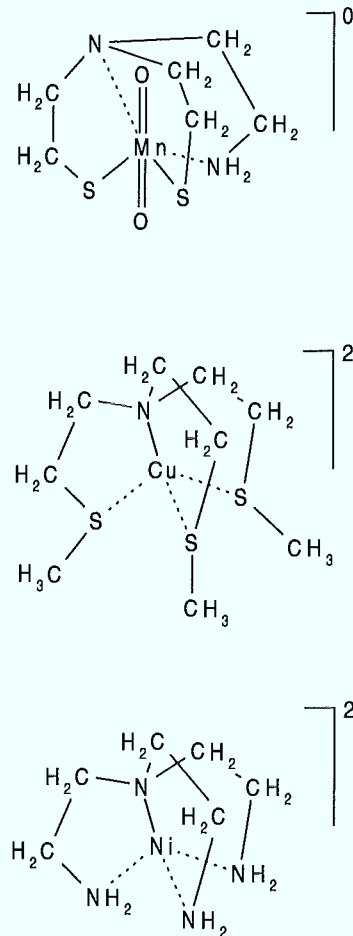


Abbildung 5: Beispiele für Tripodandkomplexe mit Übergangsmetallen

1.7 Molecular Modelling Software

Molecular Modelling Software bietet die Möglichkeit, Strukturberechnungen organischer und anorganischer Verbindungen sowie von Biomolekülen unterschiedlicher Größe durchzuführen.⁽⁶⁴⁻⁶⁸⁾ Nach Vorgabe der Molekülkonfiguration versucht die Software eine energieminierte Konformation zu errechnen. Im Rahmen dieser Arbeit wurden zwei verschiedene Programme verwendet.

Zu Beginn dieser Arbeit stand lediglich die Molecular Modelling Software Alchemy II der Firma Tripos Associates, Inc. zur Verfügung. Da Berechnungen von Technetium-komplexen mit der Originalversion nicht möglich waren, mußten entsprechende Anpassungen vorgenommen werden. Technetiumspezifische Daten bezüglich Elektronegativität, Van-der-Waals-Radien, Bindungsgeometrien, Bindungslängen zu Sauerstoff, Stickstoff, Schwefel, Chlor und Phosphor wurden hinzugefügt. Zu diesem Zweck mußten die folgenden ASCII-Dateien ergänzt bzw. modifiziert werden:

- ATOMDEF.TAB
- BNDINFO.TAB
- MINBND.TAB
- MINVDWR.TAB

Spezielle Optionen zur Auswahl verschiedener Berechnungsmethoden waren bei diesem Produkt nicht vorhanden, so daß eine exakte Anpassung an die jeweilige Problemstellung nur bedingt möglich war.⁽⁶⁹⁻⁷¹⁾

Bedeutend exaktere Berechnungen waren mit der, erst nach Beginn dieser Arbeit verfügbaren Software Hyperchem 2.0, bzw. dem Update auf Version 3.0, der Firma Autodesk Inc. möglich. Dieses Programm bietet zwei Haupt- und eine Vielzahl von Unteroptionen, mit deren Hilfe eine exakte Anpassung des Berechnungsalgorithmus an die jeweilige Problematik möglich ist. Bei den Hauptoptionen handelt es sich um Molecular Mechanics und Semi-Empirical.^(72,73)

1.7.1 Molecular Mechanics

Diese Methode behandelt Atome als Newtonsche Massenpunkte, die über eine Potentialenergiefunktion miteinander wechselwirken. Die potentielle Energie ergibt sich aus Bindungslängen, Bindungswinkeln, Torsionswinkeln und zwischenmolekularen

Kräften wie Wasserstoffbrückenbindungen, Van-der-Waals-Kräften und elektrostatischen Wechselwirkungen.

Vier verschiedene Berechnungsmethoden ermöglichen eine exakte Anpassung an die jeweilige Problemstellung:

- Zur Berechnung organischer Moleküle stellt **MM+** die ideale Methode dar.
- **BIO+** wurde zur Berechnung biologischer Makromoleküle entwickelt.
- **Amber** eignet sich zur Berechnung von Proteinen und Nukleinsäuren.
- Als Weiterentwicklung von Amber steht **OPLS** zur Verfügung. Zwischenmolekulare Wechselwirkungen werden bei OPLS exakter berücksichtigt.

1.7.2 Semi-Empirical

Um die elektronischen Eigenschaften von Atomen und Molekülen zu beschreiben, wird die Schrödinger-Gleichung unter Einsatz verschiedener Näherungsmethoden verwendet. Um Näherungsfehler zu eliminieren und aufwendige Berechnungen zu vermeiden werden experimentell ermittelte Parameter in die Kalkulation mit einbezogen. Hier stehen insgesamt sechs verschiedene Berechnungsmethoden zur Verfügung.⁽⁷⁴⁻⁷⁷⁾

- **Extended Hückel** ist eine sinnvolle Methode zur Berechnung von Molekülorbitalen. Zur Geometrieoptimierung ist das Verfahren ungeeignet.
- **CNDO** ist die einfachste Methode dieser Gruppe, mit der Berechnungen energie-minimierter Konformationen möglich sind. Es werden jedoch nur die Elemente Wasserstoff bis Argon und darüber hinaus Germanium, Arsen, Selen und Brom unterstützt.
- Eine Weiterentwicklung von CNDO steht mit **INDO** zur Verfügung. Es kommen jedoch keine weiteren Elemente hinzu.
- **MINDO3** verwendet für eine Vielzahl von Wechselwirkungen Parameter anstelle von Berechnungen und unterstützt bedeutend weniger Elemente als CNDO und INDO. Berücksichtigung finden neben Wasserstoff bis Fluor noch die Elemente Silicium bis Chlor. Das Verfahren eignet sich zur Berechnung großer organischer Moleküle.
- Mit **MNDO** steht eine Weiterentwicklung von MINDO3 zur Verfügung. Es werden außerdem die Elemente Iod und Germanium unterstützt.

- Bei **AM1** handelt es sich im Vergleich zu MNDO und MINDO3 um das genaueste Berechnungsverfahren. Zusätzlich finden die Elemente Brom und Zink Berücksichtigung.

Ab Version 3.0 steht mit **ZINDO/1** eine Methode zur Verfügung, die besonders zur Berechnung anorganischer, metallorganischer und bioanorganischer Verbindungen geeignet ist. Zu diesem Zweck stehen mit Ausnahme der Edelgase, die Elemente Wasserstoff bis Calcium und darüber hinaus die Übergangsmetalle Scandium bis Cadmium zur Verfügung. Zur Berechnung von Komplexen mit größeren organischen Liganden ist die Methode jedoch weniger geeignet, da selbst auf leistungsfähigen Computersystem extrem lange Berechnungszeiten erforderlich sind. Auf einem Computer mit 80486-DX2 66 Prozessor wäre alleine für den tripodalen Liganden eine Berechnungszeit von ca. 6 Wochen erforderlich gewesen.

Sowohl für Semi-Empirical als auch für Molecular Mechanics stehen die Minimierungsalgorithmen *Steepest Descent*, *Fletcher Reeves*, und *Polak-Ribiere* zur Verfügung. Ausschließlich für MM+ kann zusätzlich *Block Diagonal Newton Raphson* eingesetzt werden.

Grundsätzlich gilt für den Einsatz von Molecular Modelling, daß selbst bei Verwendung schneller Berechnungsmethoden ein relativ hoher Zeitaufwand einzukalkulieren ist. Es sollte folglich eine sorgfältige Vorauswahl der zu berechnenden Moleküle stattfinden.

1.8 Auswahl geeigneter Tripodanden

Wie bereits in Kapitel 1.6 gezeigt, bieten sich Technetium-Tripodandkomplexe aufgrund ihrer geringen Größe als Parasubstituenten für Phenylalanin an. Die Beispiele aus Abbildung 5 (Kapitel 1.6) zeigen, daß Stickstoff als Verzweigungsstelle der Alkylketten-arme sinnvoll ist. Über das freie Elektronenpaar des Stickstoffs ist eine weitere koordinative Bindung zum Zentralatom möglich. Die Alkylkettenenden des Tripodanden sollten mit Schwefel, Stickstoff oder Sauerstoff besetzt sein, da Technetium zu diesen Atomen eine hohe Affinität besitzt.

Die Diaminodithiol-^{99m}Tc-Komplexe haben gezeigt, daß bei Verwendung zweier Schwefel-, und zweier Stickstoff-Donoratomen eine hohe Wahrscheinlichkeit besteht, einen stabilen neutralen Komplex zu erhalten. Auf tripodale Verhältnisse übertragen sollte

diese Kombination zu einem stabilen, neutralen und kompakten Technetiumkomplex führen.

Zur Abschätzung der sterischen Verhältnisse in entsprechenden Technetiumkomplexen wurden Berechnungen mit Alchemy II durchgeführt, die später mit Hyperchem bestätigt werden konnten. Von besonderem Interesse waren Aussagen bezüglich der idealen Alkylkettenlänge der Polypodandarme. Zu Vergleichszwecken wurde zusätzlich die Berechnung eines ^{99m}Tc -DADT-Komplexes durchgeführt.

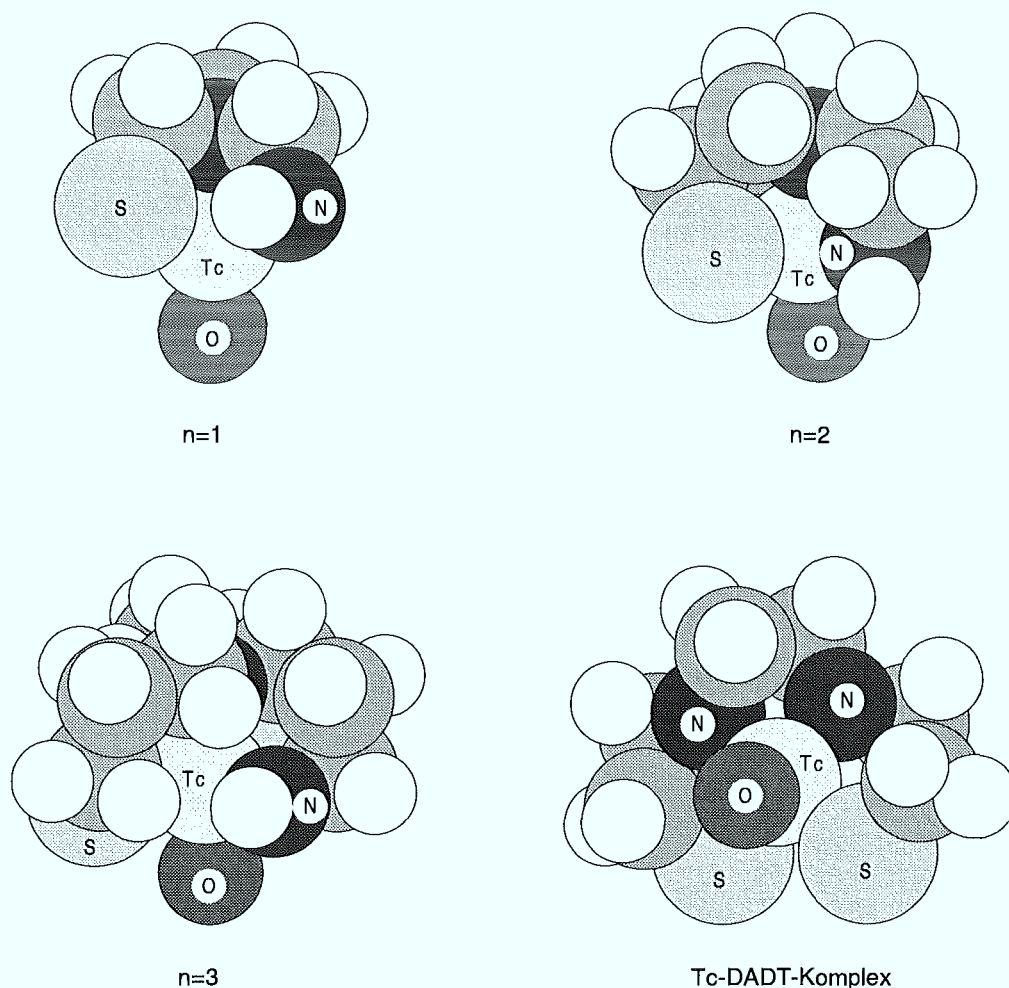


Abbildung 6: Mögliche Technetiumpodandkomplexe der Struktur $\text{N}((\text{CH}_2)_n\text{S})_2(\text{CH}_2)_n\text{NHTcO}$ mit unterschiedlicher Alkylkettenlänge und der kleinste Tc-DADT-Komplex (Hyperchemberechnung)

Verwendete Programmoptionen für Alchemy II:

- Maximum Iterations: 32000
- Minimizer Cutoff: 0,001

Verwendete Programmoptionen für Hyperchem:

- Molecular Mechanics Force Field: MM+
- Molecular Mechanics Optimization Algorithm: Polak-Ribiere
- Termination Condition RMS Gradient of: 0,01 kcal/(Å mol) or max. 800 cycles

Die Ergebnisse dieser Berechnungen (Abbildung 6) zeigen, daß Tripodanden mit nur einer CH₂-Gruppe und einem Heteroatom je Arm zu Komplexen mit sehr hoher Ringspannung führen. Tripodanden, deren Arme aus drei CH₂-Gruppen und einem Heteroatom bestehen, bilden sterisch zu anspruchsvolle Komplexe. Ideale Eigenschaften bezüglich Größe und Ringspannung zeigen Komplexe, deren Podandarme aus je zwei CH₂-Gruppen und einem Heteroatom aufgebaut sind.

Um Einflüsse der Phenylalanin- auf die Komplexkomponente des chimären Nährstoffs zu berücksichtigen, wurde mit Alchemy II und später mit Hyperchem die energieminierte Konformation des Technetium-Tripodandkomplex-Phenylalaninkonjugats berechnet. Zur Gegenüberstellung der beiden chimären Nährstoffe wurde eine entsprechende Berechnung auch für Melphalan durchgeführt. Von besonderem Interesse hierbei waren die Abmessungen der beiden Parasubstituenten. Für beide Programme wurden dieselben Optionen wie zuvor verwendet.

Das Ergebnis der Berechnung mit Alchemy II zeigt, daß die maximale Ausdehnung des Tripodandkomplex-Parasubstituenten mit 0,60 nm unter der des Melphalan-Parasubstituenten mit 0,63 nm liegt.

Die später mit Hyperchem durchgeführten, exakteren Berechnungen (Kapitel 4.2, Tabelle 38) ergaben sogar eine größere Differenz zwischen den beiden Molekülen. Die maximale Ausdehnung des Tripodandkomplex-Parasubstituenten liegt mit 0,61 nm deutlich unter der des Melphalan-Parasubstituenten mit 0,72 nm (Abbildung 7). Eine zusätzlich durchgeführte Vermessung des einfachsten DADT-Tc-Komplexes ergab einen Wert von 0,79 nm.

Somit hat ein Technetium-Tripodandkomplex-Phenylalaninkonjugat aus sterischer Sicht gute Chancen vom Carrier für große neutrale Aminosäuren ins Hirn befördert zu werden.

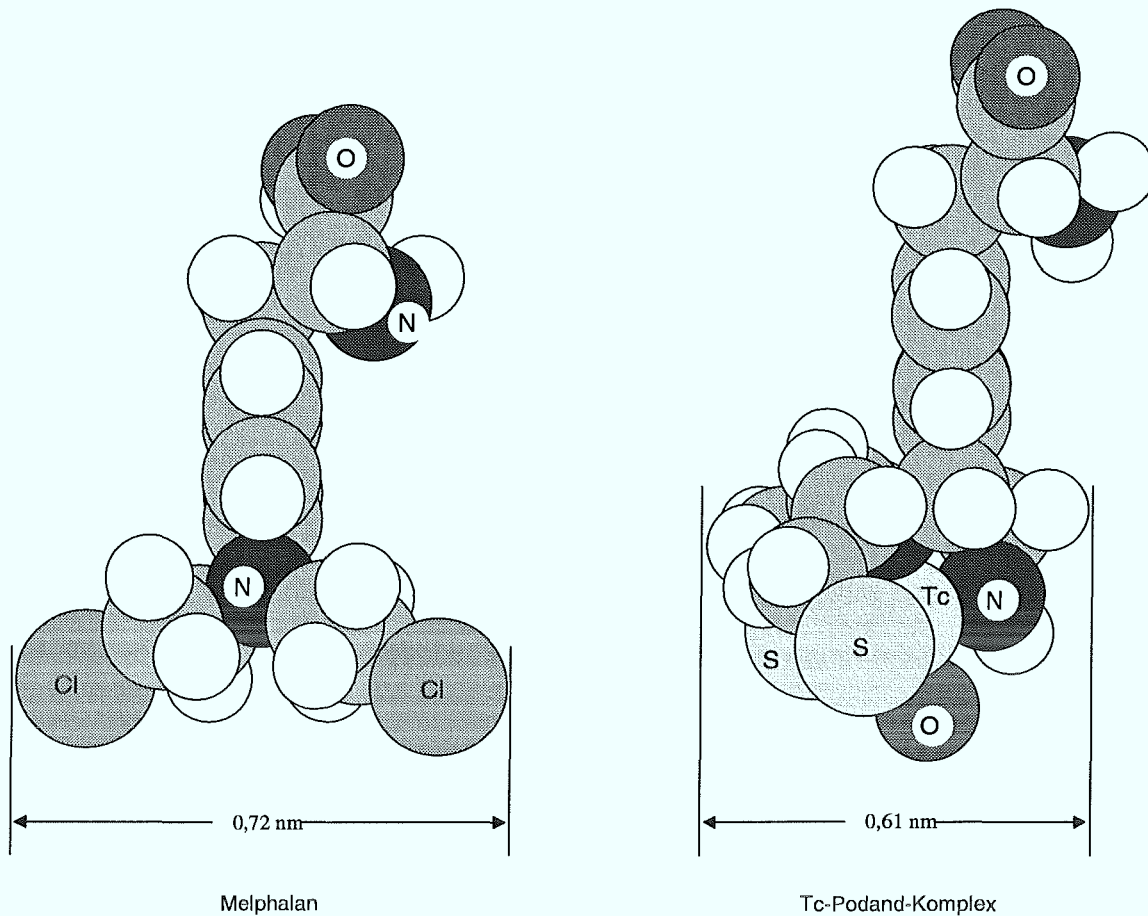


Abbildung 7: Maximale Ausdehnung der Phenylalaninsubstituenten (Hyperchemberechnung)

Greig *et al.* haben jedoch gezeigt, daß neben einer geringen Affinität zum Carrierprotein auch die Bindung an Blutplasmabestandteile wie Serum Albumin ein begrenzender Faktor sein kann.⁽⁴⁸⁾ Da diesbezügliche Vorhersagen jedoch kaum möglich sind, können nur experimentelle Untersuchungen klären, ob es zu einer Bindung zwischen Technetium-Tripodandkomplex-Phenylalaninkonjugat und Blutplasmabestandteilen kommt.

2 Aufgabenstellung

Ziel der Arbeit war die Synthese eines Technetium-Radiopharmakons, daß als chimärer Nährstoff mit Hilfe des Carriers für große neutrale Aminosäuren ins Hirn gelangen sollte. Als Trägerkomponente des chimären Nährstoffs sollte Phenylalanin und als radiopharmakologisch wirksamer Bestandteil ein in Paraposition gebundener Technetium-Tripodandkomplex dienen. Der Komplex sollte die folgenden Eigenschaften aufweisen:

- Ladungsneutralität
- geringe räumliche Ausdehnung
- hohe thermodynamische und kinetische Stabilität

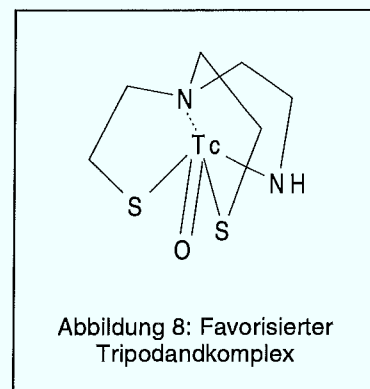
Zunächst sollte ein geeigneter Technetium-Tripodandkomplex ohne Phenylalanin-komponente synthetisiert werden. Die Podandarme des Liganden sollten aus je zwei CH_2 -Gruppen und einem Heteroatom aufgebaut sein.

Komplexierungsversuche sollten mit kommerziell erhältlichen Tripodanden wie Tris(2-hydroxyethyl)amin und Tris(2-aminoethyl)amin (TREN) durchgeführt werden.

Sollten diese Arbeiten nicht zu einem stabilen neutralen Komplex führen, wäre der Tripodand N,N-Bis(2-Mercaptoethyl)ethylendiamin zu synthetisieren. Aufgrund zweier Schwefel- und zweier Stickstoffdonoratome bringt dieser Tripodand optimale Voraussetzungen zur Bildung eines stabilen neutralen Technetiumkomplexes mit, jedoch ist zur Darstellung eine mehrstufige organische Synthese erforderlich.

Nach Erhalt des Tripodanden sollten Komplexierungsversuche mit Technetium sowie Untersuchungen zur Ladungsneutralität durchgeführt werden (Abbildung 8).

Anschließend sollte das Phenylalanin-Tripodandkonjugat synthetisiert werden. Da eine direkte Bindungsknüpfung zwischen Tripodand und Phenylalanin nicht durchführbar war, sollte das Molekül in einer vielstufigen organischen Synthese unter Verwendung diverser Schutzgruppen-



techniken vollständig neu aufgebaut werden.

Nach Abschluß der Ligandsynthese sollten Komplexierungsversuche mit ^{99g}Tc durchgeführt werden.

Schließlich sollten die zuvor anhand des langlebigen ^{99g}Tc erarbeiteten Komplexsynthesebedingungen auf den ^{99m}Tc -Bereich übertragen werden.

Mit dem so erhaltenen chimären Nährstoff sollten zeitabhängige Organverteilungsexperimente an Mäusen durchgeführt werden.

3 Experimenteller Teil

Auf der Suche nach geeigneten Parasubstituenten für Phenylalanin wurden zunächst Komplexierungsversuche mit verschiedenen Tripodanden durchgeführt.

3.1 Komplexierungsversuche mit käuflichen Tripodanden

Aus ökonomischen Gründen wurden zunächst kommerziell erhältliche Tripodanden mit Technetium zur Reaktion gebracht. Zum Einsatz kamen Tris(2-hydroxyethyl)amin und Tris(2-aminoethyl)amin. Es wurde eine Vielzahl von Vorversuchen durchgeführt, in deren Verlauf verschiedene Reaktionsparameter, wie Temperatur, Reduktionsmittelart und -menge, Reaktionszeit und Konzentration der Edukte variiert wurden. Als geeignetes Reduktionsmittel erwies sich Natriumborhydrid. Bei Verwendung von Natriumdithionit bildete sich nur mit Tris(2-aminoethyl)amin ein Technetiumkomplex, mit Tris(2-hydroxyethyl)amin kam es zur Bildung von Technetiumdioxid-Hydrat.

Aufgrund unterschiedlicher Reaktionsbedingungen konnten insgesamt vier verschiedene Technetiumkomplexe erhalten werden. Entscheidend für die Entstehung unterschiedlicher Komplexe bei gleichem Liganden waren vor allem Reaktionstemperatur, Reduktionsmittel- und Ligandmenge. Die im folgenden beschriebenen Verfahren beruhen auf einer weitgehenden Optimierung hinsichtlich der Reaktionsführung.

3.1.1 Komplexierungen mit Tris(2-hydroxyethyl)amin (Abbildung 9)

Je nach Reaktionsbedingung wurde ein dunkelvioletter bzw. ein braunroter Komplex erhalten.

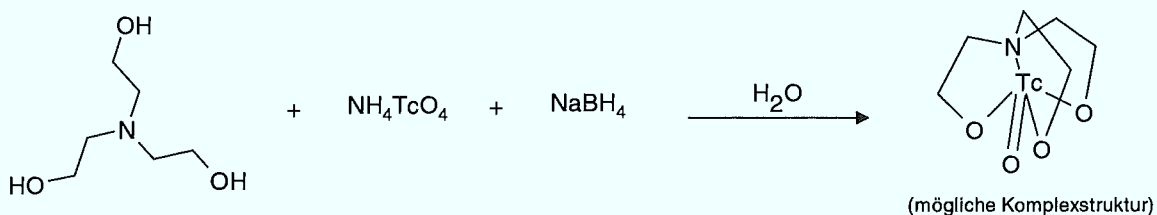


Abbildung 9: Darstellung eines Tris(2-hydroxyethyl)amin-Technetiumkomplexes

3.1.1.1 Versuchsbeschreibungen

3.1.1.1.1 Komplexierung bei Raumtemperatur und hohem Ligand/Reduktionsmittelüberschuß

Ansatz:

Tris(2-hydroxyethyl)amin:	1 ml(7,5 mmol)
Ammoniumperthetnat (1 %ige wäBr. Lsg.):	0,5 ml (0,0277 mmol)
H ₂ O (bidest.):	4 ml
Natriumborhydrid (30,3 %ige wäBr. Lsg.):	2 ml(16 mmol)

Durchführung:

Die Reaktion wurde bei Raumtemperatur in einem 10 ml Rundkolben pH-kontrolliert durchgeführt. 1 ml Tris(2-hydroxyethyl)amin wurde vorgelegt und mit 0,5 ml Ammoniumperthetnatlösung versetzt. Nach Zugabe von 4 ml Wasser wurden 2 ml Natriumborhydridlösung unter kräftigem Rühren zugetropft. Während einer Reaktionsdauer von 45 Minuten konnte eine kontinuierliche Farbintensivierung von hell- nach dunkelviolet beobachtet werden.

Der zu Anfang der Reaktion abgelesene pH-Wert von 12 blieb während der gesamten Reaktionszeit konstant. Nach Reaktionsende lag eine tief dunkelviolet Lösung vor.

3.1.1.1.2 Komplexierung bei 40 °C

Ansatz:

Tris(2-hydroxyethyl)amin (1 vol%ige wäBr. Lsg.):	2 ml (0,15 mmol)
Ammoniumperthetnat (1 %ige wäBr. Lsg.):	1 ml (0,0553 mmol)
H ₂ O (bidest.):	2 ml
Natriumborhydrid (1 %ige wäBr. Lsg.):	2,1 ml (0,555 mmol)

Durchführung:

Die Reaktion wurde bei 40 °C in einem, mit Intensivrückflußkühler versehenem, thermostatisierbaren Zweihalsreaktionsgefäß durchgeführt. 2 ml Tris(2-hydroxyethyl)amin wurden vorgelegt und 1 ml Ammoniumperthetnatlösung zugegeben. Nach Auffüllen mit

2 ml Wasser wurden unter kräftigem Rühren 2,1 ml Natriumborhydridlösung zugetropft. Unmittelbar nach der Borhydridzugabe setzte eine Farbreaktion ein.

Während der Reaktionsdauer von 45 Minuten war eine kontinuierliche Farbintensivierung von braunrot nach dunkelbraunrot zu beobachten. Die pH-Bestimmung ergab einen Wert von 10,1. Die Temperatur im Innenraum des Reaktionsgefäßes wurde auf exakt 40 °C gehalten. Nach Reaktionsende lag eine dunkelbraunrote Lösung vor.

3.1.2 Komplexierungen mit Tris(2-aminoethyl)amin (Abbildung 10)

Je nach Reaktionsbedingung wurde ein goldbrauner bzw. ein dunkelgrüner Komplex erhalten.

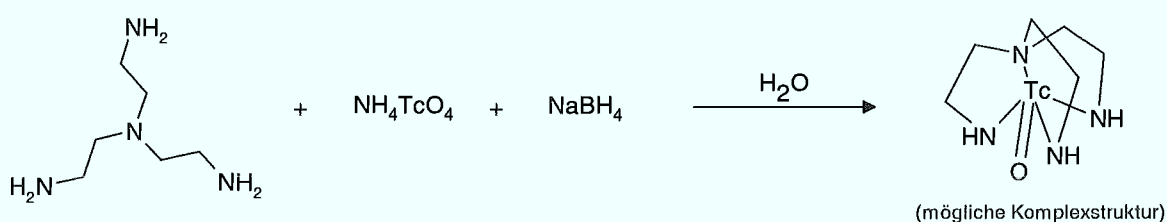


Abbildung 10: Darstellung eines Tris(2-aminoethyl)amin-Technetiumkomplexes

3.1.2.1 Versuchsbeschreibungen

3.1.2.1.1 Komplexierung bei Raumtemperatur und hohem Ligand/Reduktionsmittelüberschuß

Ansatz:

Tris(2-aminoethyl)amin:	1,13 ml	(7,5 mmol)
Ammoniumpertechnetat (1 %ige wäbr. Lsg.):	0,5 ml	(0,0277 mmol)
H ₂ O (bidest.):	4 ml	
Natriumborhydrid (30,3 %ige wäbr. Lsg.):	2 ml	(16 mmol)

Durchführung:

Die Reaktion wurde bei Raumtemperatur in einem 10 ml Rundkolben durchgeführt. 1,13 ml Tris(2-aminoethyl)amin wurde vorgelegt und mit 0,5 ml Ammoniumpertechnetatlösung versetzt. Nach Zugabe von 4 ml Wasser wurden unter kräftigem Rühren 2 ml

Natriumborhydridlösung zugetropft. Während einer Reaktionsdauer von 45 Minuten konnte eine kontinuierliche Farbintensivierung von hell- nach tief goldbraun beobachtet werden.

3.1.2.1.2 Komplexierung bei 40 °C

Ansatz:

Tris(2-aminoethyl)amin (1 vol%ige wäbr. Lsg.):	2,25 ml	(0,15 mmol)
Ammoniumperthentat (1 %ige wäbr. Lsg.):	1 ml	(0,0553 mmol)
H ₂ O (bidest.):	2 ml	
Natriumborhydrid (1 %ige wäbr. Lsg.):	2,1 ml	(0,555 mmol)

Durchführung:

Die Reaktion wurde bei 40 °C in einem, mit Intensivrückflußkühler versehenem, thermostatisierbaren Zweihalsreaktionsgefäß durchgeführt. 2,25 ml Tris(2-hydroxyethyl)amin wurden vorgelegt und mit 1 ml Ammoniumperthentatlösung versetzt. Nach Zugabe von 2 ml Wasser wurden unter kräftigem Rühren 2,1 ml Natriumborhydridlösung zugetropft. Eine Minute nach der Borhydridzugabe setzte eine Farbreaktion ein. Während der Reaktionsdauer von 60 Minuten war eine kontinuierliche Farbintensivierung von dunkelgrün nach tief dunkelgrün zu beobachten. Die pH-Bestimmung ergab einen Wert von 9,1. Die Temperatur im Innenraum des Reaktionsgefäßes wurde auf exakt 40 °C gehalten. Nach Reaktionsende lag eine tief dunkelgrüne Lösung vor.

3.1.3 Untersuchungen zur Lipophilie der Komplexe

Um Aussagen über die Lipophilie der Komplexe zu erhalten, wurden pH-abhängige Extraktionsversuche mit 1-Octanol und Diethylether durchgeführt. Der Verteilungskoeffizient 1-Octanol/Wasser wird in der Regel zur Lipophiliebestimmungen von Substanzen verwendet.

Die Untersuchungen wurden in einem pH-Bereich von pH 6,9 bis pH 14 durchgeführt. Die Einstellung des pH-Werts erfolgte jeweils mittels 1 %iger HCl bzw. 1 %iger NaOH. Bei keinem der Komplexe kam es zu einer Anreicherung in der organischen Phase.

3.1.4 Ladungsbestimmung der Komplexe

Stellvertretend für alle vier entstandenen Komplexe wurden der braunrote Tris(2-hydroxyethyl)amin-Technetiumkomplex und der dunkelgrüne Tris(2-aminoethyl)amin-Technetiumkomplex zur Ladungsbestimmung ausgewählt. Die Komplexlösungen wurden zum einen auf eine mit Kationen-, zum anderen auf eine mit Anionentauscher beladene Säule gegeben. Als Kationentauscher kam Dowex 50 W x 8, 50-100 mesh in der Na⁺-Form und als Anionentauscher Dowex 1 x 8, 50-100 mesh in der Cl⁻-Form zum Einsatz.

Hierbei wurde von der Annahme ausgegangen, daß ein Komplex, der auf einer Kationentauschersäule retardiert, kationische Eigenschaften aufweist, wohingegen ein Komplex, der auf einer Anionentauschersäule retardiert, anionische Eigenschaften erkennen läßt. Ein kationischer Komplex sollte demnach durch ein Eluens hoher Kationenkonzentration wieder von der Kationentauschersäule zu eluieren sein, während ein anionischer Komplex mit Hilfe eines Eluens hoher Anionenkonzentration von der Anionentauschersäule zu eluieren sein sollte.

Die durchgeführten Untersuchungen ergaben, daß es sich bei dem braunroten Tris(2-hydroxyethyl)amin-Technetiumkomplex um ein Anion, bei dem dunkelgrünen Tris(2-aminoethyl)amin-Technetiumkomplex hingegen um ein Kation handelte.

3.1.5 UV/VIS-Messungen

Der braunrote Tris(2-hydroxyethyl)amin-Technetiumkomplex zeigte deutliche Maxima bei 525 und 585 nm; der dunkelgrüne Tris(2-aminoethyl)amin-Technetiumkomplex nur ein Maximum bei 490 nm.

Da somit davon ausgegangen werden mußte, daß ein neutraler Komplex mit Hilfe kommerziell erhältlicher Tripodanden nicht zu realisieren ist, wurde die Synthese des Diaminodithiol-Tripodanden N,N-Bis(2-Mercaptoethyl)ethylendiamin in Angriff genommen.

3.2 Darstellung des N,N-Bis(2-Mercaptoethyl)ethyldiamins

Der im folgenden beschriebenen vierstufigen Synthese liegen Arbeiten von James Corbin *et al.* zugrunde.⁽⁵⁰⁾

3.2.1 Bis(2-Benzylthioethyl)amin (Abbildung 11)

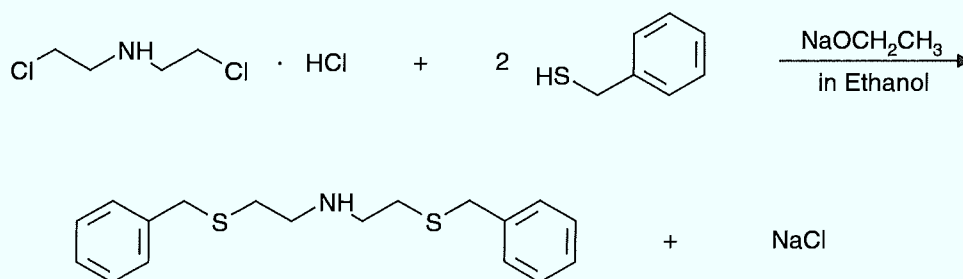


Abbildung 11: Darstellung des Bis(2-Benzylthioethyl)amins

Ansatz:

Natrium:	32,3 g	(1,4 mol)
Ethanol:	920 ml	(15,76 mol)
Bis(2-Chlorethyl)amin-Hydrochlorid:	83 g	(0,465 mol)
Benzylmercaptan:	116,75 g	(0,94 mol)

Durchführung:

Zur Natriumethanolatdarstellung wurden 32,3 g zerkleinertes Natrium unter Eiskühlung und kräftigem Rühren in 460 ml Ethanol eingetragen. Nach 3 Stunden wurde unter Rückfluß zum Sieden erhitzt, bis eine farblose Lösung entstanden war.

In einem thermostatisierbaren 2 l Reaktionsgefäß mit aufgesetztem Rückflußkühler wurden 83 g Bis(2-Chlorethyl)amin zusammen mit 460 ml Ethanol vorgelegt. Nach Zugabe von 116,75 g Benzylmercaptan wurde solange bei 60 °C erhitzt, bis eine klare Lösung entstanden war. Es wurde auf 5 °C abgekühlt und innerhalb von 2 ½ Stunden bei kräftigem Rühren die zuvor dargestellte Natriumethanolatlösung zugegeben.

Anschließend wurde die Lösung zum Sieden gebracht und 2 ½ Stunden unter Rückfluß auf Siedetemperatur gehalten. Zur Abtrennung des ausgefallenen Natriumchlorids wurde durch einen Büchnertrichter abgesaugt und der Filtrerrückstand mit Ethanol gewaschen. Das orangefarbene Filtrat wurde bei 60 °C und 100 mbar innerhalb von 2 ½ Stunden

destillativ im Vakuum eingeengt. Der Rückstand wurde in Benzen aufgenommen und dreimal mit je 50 ml Wasser gewaschen. Das Benzen wurde destillativ im Vakuum entfernt und der Rückstand anschließend in 400 ml Ethanol aufgenommen.

Zur Reindarstellung und Lagerung des Produkts wurde zum Hydrochlorid derivatisiert. Hierzu wurde das Rohprodukt zunächst mit 42 ml konz. HCl und anschließend mit 800 ml Diethylether versetzt. Während der Diethyletherzugabe kam es zu einer so starken Ausfällung des Hydrochlorids, daß nach vollständiger Zugabe des Ethers eine nahezu feste Masse aus Nadelkristallen vorlag. Es wurde auf $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ abgekühlt, abgesaugt und der Rückstand dreimal mit einer Mischung aus Ethanol und Diethylether im Verhältnis 6/1 (v/v) gewaschen. Das erhaltene schneeweiße Produkt wurde ca. 20 Stunden im Vakuum getrocknet.

Ausbeute: 127,45 g (71,72 %)

Schmelzpunkt: 127,7 $^{\circ}\text{C}$

3.2.2 N,N-Bis(2-Benzylthioethyl)-2-aminoacetonitril (Abbildung 12)

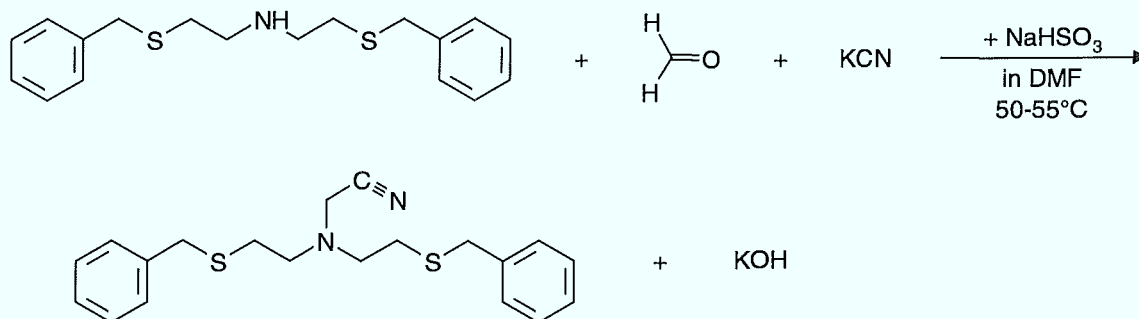


Abbildung 12: Darstellung des N,N-Bis(2-Benzylthioethyl)-2-aminoacetonitrils

Ansatz:

Bis(2-Benzylthioethyl)amin: 25,4 g (80 mmol)
 Formaldehydlösung (36,5 %ig): 7,58 ml (entspricht 100 mmol Formaldehyd)
 Natriumdisulfit: 9,5 g (entspricht 100 mmol NaHSO₃)

Kaliumcyanid: 7,04 g (108 mmol)
 Dimethylformamid: 40 ml

Durchführung:

Darstellung der freien Base:

100 mmol Bis(2-Benzylthioethyl)amin-Hydrochlorid wurden in 200 ml Benzen suspendiert und mit 55 ml 2 N Natriumhydroxidlösung versetzt. Es wurde zunächst für 2 Stunden auf 40 °C erwärmt und anschließend bei 30 °C 15 Stunden kräftig gerührt. Nach Abtrennung der organischen Phase und destillativem Entfernen des Benzens im Vakuum wurde ein farbloses Öl erhalten.

Umsetzung:

Zur Aktivierung des Formaldehyds⁽⁷⁸⁾ (Abbildung 13) wurde in einem thermostatisierbaren Dreihalsreaktionsgefäß mit Tropftrichtern und Rückflußkühler eine Suspension aus 9,5 g Na₂S₂O₅, 0,9 ml H₂O und 30 ml Dimethylformamid vorgelegt und anschließend unter kräftigem Rühren 7,58 ml Formaldehydlösung zugetropft. Es wurde auf 50 °C erhitzt und bei dieser Temperatur 30 Minuten kräftig gerührt. Nach weiteren 30 Minuten bei Raumtemperatur wurden 25,4 g Bis(2-Benzylthioethyl)amin zugetropft und der Tropftrichter mit 10 ml Dimethylformamid nachgespült. Eine Lösung aus 7,04 g Kaliumcyanid in 12 ml H₂O wurde zur Reaktionssuspension gegeben, woraufhin sich eine pastöse Masse bildete, die sich erst nach Erwärmen auf 50 °C wieder befriedigend rühren ließ. Nach 15-stündigem Rühren bei 50 °C und anschließendem Abkühlen auf Raumtemperatur wurde dreimal mit je 120 ml Diethylether extrahiert.

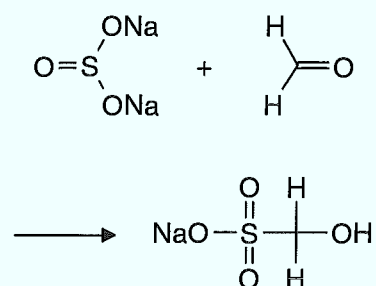


Abbildung 13: Adduktbildung zur Aktivierung des Aldehyds

Zur Reindarstellung und Lagerung des Produkts wurde zum Hydrochlorid derivatisiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden ca. 25 Minuten mit HCl durchgast. Die untere Phase des so entstandenen Zweiphasensystems wurde abgetrennt und kräftig gerührt, was zum spontanen Auskristallisieren des Hydrochlorids führte. Es wurde durch einen Büchnertrichter abgesaugt und der Filtrückstand mit Diethylether gewaschen. Der Rückstand wurde nochmals in Diethylether suspendiert, nach kurzem, kräftigen Rühren erneut abgesaugt und dreimal mit Diethylether gewaschen. Es wurde 24 Stunden im Vakuum getrocknet.

Wichtiger Hinweis:

Da das Produkt Metalloberflächen angreift, sollte anstelle eines Metallspatels ein Porzellanspatel verwendet werden.

Ausbeute: 22,07 g (70,2 %)

Schmelzpunkt: 115,3° - 118,6 °C

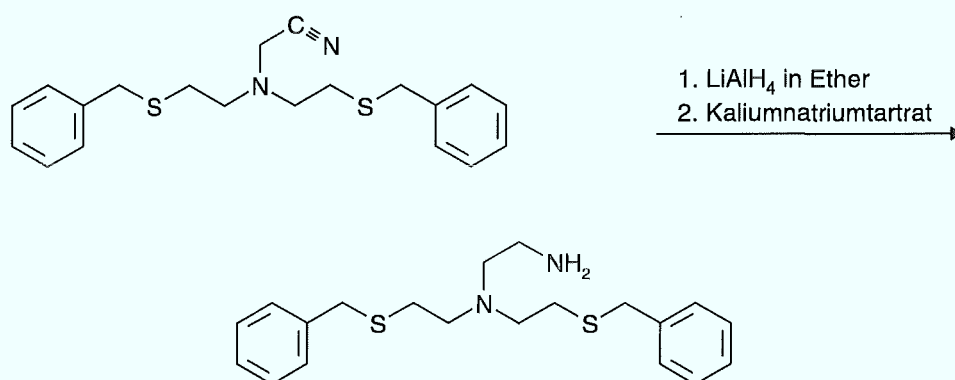
3.2.3 N,N-Bis(2-Benzylthioethyl)ethylendiamin (Abbildung 14)

Abbildung 14: Darstellung des N,N-Bis(2-Benzylthioethyl)ethylendiamins

Ansatz:

N,N-Bis(2-Benzylthioethyl)-2-aminoacetonitril-Hydrochlorid:	10 g (25,45 mmol)
Chloroform:	100 ml
Natriumhydroxidlösung (1 N):	30 ml
Ether (über LiAlH ₄ getrocknet u. fraktioniert):	100 ml
Lithiumaluminiumhydrid (LiAlH ₄):	1,9 g (50 mmol)
Kaliumnatriumtartrat (gesätt. wäßr. Lsg.):	50 ml
Pikrinsäure:	12,49 g (54,5 mmol)
Ethanol:	175 ml

Durchführung:Darstellung der freien Base:

Zur Überführung des Nitril-Hydrochlorids in die freie Base wurden 10 g N,N-Bis(2-Benzylthioethyl)-2-aminoacetonitril-Hydrochlorid in 100 ml Chloroform suspendiert und mit 30 ml 1 N Natriumhydroxidlösung versetzt. Nach 15-stündigem kräftigen Rühren wurde die organische Phase abgetrennt und das Lösungsmittel destillativ im Vakuum entfernt.

Umsetzung:

Das entstandene hellgelbe Öl wurde in 50 ml trockenem Diethylether gelöst und die so erhaltene Lösung innerhalb von 30 Minuten zu einer gut gerührten Suspension aus 1,9 g Lithiumaluminiumhydrid in 50 ml trockenem Diethylether getropft.

Nach 3 ½-stündigem Sieden unter Rückfluß und anschließendem Abkühlen auf Raumtemperatur wurden 50 ml gesättigte Kaliumnatriumtartratlösung zugetropft. Es empfiehlt sich, äußerst vorsichtig zuzutropfen, da die Reaktionslösung sehr stark aufschäumt. Die etherische Phase wurde dekantiert und zweimal mit destilliertem Wasser gewaschen. Nach 24-stündigem Trocknen über Kaliumcarbonat wurde das Lösungsmittel destillativ im Vakuum entfernt, worauf ein hellgelbes Öl erhalten wurde.

Da das Hydrochlorid des Produkts nur als Öl anfiel, erfolgte die Aufarbeitung diesmal über das Diprikat.

Zu einer siedenden Pikrinsäurelösung aus 12,49 g Pikrinsäure in 125 ml Ethanol wurde das in 50 ml Ethanol gelöste Rohprodukt langsam und unter kräftigem Rühren zugetropft. Das zunächst ausgefallene orange Öl kristallisierte erst nach kräftigem Rühren des Zweiphasensystems. Es wurde abgesaugt und der Rückstand aus zwei Liter Ethanol umkristallisiert.

Bis zum quantitativen Auskristallisieren vergingen drei Tage. Es wurde erneut abgesaugt und das intensivgelbe, kristalline Produkt 3 Tage über P_2O_5 bei 10^{-3} Torr getrocknet.

Ausbeute: 14,09 g (67,8 %)

Schmelzpunkt: 161 °C

3.2.4 N,N-Bis(2-Mercaptoethyl)ethylendiamin (Abbildung 15)⁽⁷⁹⁾

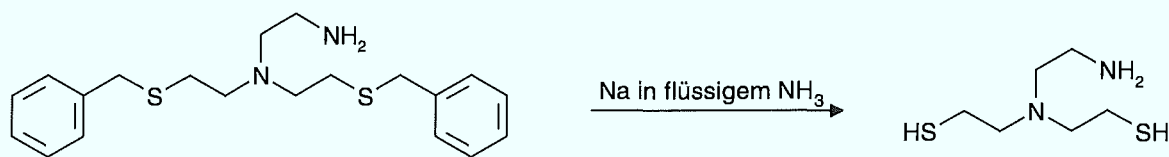


Abbildung 15: Darstellung des N,N-Bis(2-Mercaptoethyl)ethylendiamins

Ansatz:

N,N-Bis(2-Benzylthioethyl)ethylendiamindipikrat:	14,09 g (17,25 mmol)
Benzen:	250 ml
Natriumhydroxidlösung (0,2 N):	525 ml
Ether:	160 ml
Ammoniak (verflüssigt):	ca. 250 ml
Salzsäure (1 N):	140 ml
Ethanol/2-Propanol (Mischungsverhältnis 2:1):	200 ml
Chloroform:	100 ml

Durchführung:

Darstellung der freien Base:

Zur Überführung des Dipikrats in die freie Base wurden 14,09 g N,N-Bis(2-Benzylthioethyl)ethylendiamindipikrat in 250 ml Benzen suspendiert und mit 375 ml Natriumhydroxidlösung (0,2 N) versetzt. Nach kräftigem Rühren wurde die organische Phase abgetrennt, dreimal mit je 50 ml Natriumhydroxidlösung und ein weiteres Mal mit 50 ml Wasser gewaschen. Es wurde über Kaliumcarbonat getrocknet und das Lösungsmittel anschließend destillativ im Vakuum entfernt. Das so erhaltene bernsteinfarbene Öl wurde 15 Stunden bei $5 \cdot 10^{-2}$ Torr getrocknet und anschließend in 20 ml Diethylether gelöst.

Umsetzung:

Sowohl die weitere Reaktion als auch die Aufarbeitung wurden vollständig unter Argon-Schutzgasatmosphäre durchgeführt. Zum Rühren mußte ein Glasrührfisch verwendet werden, da ein PTFE-Rührfisch unter den hier beschriebenen Reaktionsbedingungen vom Reaktionsmedium angegriffen wird.

In einen mit Aceton-Trockeneis auf -73 °C gekühlten Dreihalsrundkolben wurde so lange gut getrocknetes Ammoniakgas eingeleitet bis ca. 250 ml Ammoniak einkon-

densiert waren. Nach Zugabe des in 20 ml Ether gelösten N,N-Bis(2-Benzylthioethyl)ethylendiamins wurde unter kräftigem Rühren so lange Natrium in ca. 100 mg Stücken zugegeben, bis die hierdurch hervorgerufene Tiefschwarzblaufärbung der Reaktionslösung auch nach 15-minütiger Wartezeit nicht wieder verschwand. Anschließend wurde der restliche Ammoniak innerhalb von 15 Stunden im Argonstrom aus dem Reaktionsgefäß vertrieben.

Der Rückstand wurde mit einer Mischung aus 140 ml 1N HCl und 140 ml Ether versetzt. Die wäßrige Phase wurde abgetrennt, das Wasser destillativ im Vakuum entfernt und der kristalline Rückstand ca. 3 Tage über P_2O_5 bei 10^{-2} Torr getrocknet.

Der erhaltene Feststoff wurde gründlich zerkleinert und mit 200 ml eines siedenden Gemischs aus 134 ml Ethanol und 66 ml 2-Propanol versetzt. Es wurde unter kräftigem Rühren 3 Stunden refluxiert, wobei darauf zu achten war, daß die beim Rühren entstehende gummiartige Masse den Rührfisch nicht festsetzt. Ein großer elliptischer Rührfisch und ständige Kontrolle des Reaktionsgefäßes waren zwingend erforderlich. Der Feststoff wurde mittels Heißfiltration abgetrennt und das Filtrat mit 100 ml Chloroform versetzt. Zum möglichst quantitativen Auskristallisieren wurde die Lösung 15 Stunden stehen gelassen.

Nach dieser Zeit hatten sich farblose Nadeln gebildet. Es wurde unter Argon durch eine 5er Fritte abgesaugt und der Rückstand wiederum unter Argon dreimal mit 2-Propanol gewaschen. Das aus großflächigen weißen Plättchen bestehende Produkt wurde 3 Tage bei 10^{-3} Torr über P_2O_5 getrocknet.

Ausbeute: 1,83 g (41,9 %)

Schmelzpunkt: 118° - 119,5 °C

3.2.5 Analyse

gemessen:

Kohlenstoff:	28,60 % ($\pm 0,1$ %)
Stickstoff:	11,10 % ($\pm 0,2$ %)
Wasserstoff:	7,62 % ($\pm 0,18$ %)
Schwefel:	26,3 % ($\pm 0,6$ %)

berechnet:

Kohlenstoff:	28,46 %
Stickstoff:	11,06 %
Wasserstoff:	7,16 %
Schwefel:	25,32 %

3.2.6 Infrarotspektroskopie⁽⁸⁰⁻⁸⁴⁾

N,N-Bis(2-Mercaptoethyl)ethylendiamin-Hydrochlorid wurde im KBr-Preßling gegen Luft gemessen. Die problemlose Zuordnung der Infrarotbanden bestätigt die Struktur des Produkts (Tabelle 3).

Tabelle 3: Zuordnung der gemessenen Infrarotbanden des N,N-Bis(2-Mercaptoethyl)ethylendiamin-Hydrochlorids

Wellenzahl	Zuordnung	Literatur	Anmerkung
3425 cm ⁻¹	NH	3350 \pm 3550 cm ⁻¹	-
2960 cm ⁻¹	CH ₂ -Gruppe	2855 - 2940 cm ⁻¹	2 Banden
2635 cm ⁻¹	S-H Oberschwingung	2630 - 2780 cm ⁻¹	-
2490 cm ⁻¹	R-S-H	2500 - 2600 cm ⁻¹	S-H v-Schwingung
2420 cm ⁻¹	HNR ₃ ⁺ Cl ⁻	~ 2500 cm ⁻¹	-
2170 cm ⁻¹	-NH ₃ ⁺	1820 - 2220 cm ⁻¹	-
1583 cm ⁻¹ u. 1479 cm ⁻¹	R-NH ₃ ⁺	1500 cm ⁻¹ u. 1600 cm ⁻¹	NH ₃ ⁺ δ -Schwingung
1446 cm ⁻¹	CH ₂ -Gruppe	1455 \pm 10 cm ⁻¹	CH ₂ δ -Schwingung

Tabelle 3: Zuordnung der gemessenen Infrarotbanden des N,N-Bis(2-Mercaptoethyl)ethylendiamin-Hydrochlorids (Fortsetzung)

Wellenzahl	Zuordnung	Literatur	Anmerkung
1350 cm ⁻¹	C-S	1280 - 1400 cm ⁻¹	-
1284 cm ⁻¹	CH ₂ -Gruppe	1300 ± 20 cm ⁻¹	CH ₂ δ-Schwingung
1257 cm ⁻¹	CH ₂ -SH	~ 1250 cm ⁻¹	CH ₂ δ-Schwingung
1166 cm ⁻¹ u. 1143 cm ⁻¹	R-CH ₂ -NH ₂	1115 ± 85 cm ⁻¹	2 Banden
1069 cm ⁻¹	CH ₂ -Gruppe	~ 1060 cm ⁻¹	-
977 cm ⁻¹	C-N	950 - 1000 cm ⁻¹	CN δ-Schwingung
952 cm ⁻¹	CH ₂ -Gruppe	955 30 cm ⁻¹	CH ₂ δ-Schwingung
878 cm ⁻¹	CH ₂ -Gruppe	875 ± 15 cm ⁻¹	CH ₂ δ-Schwingung
832 cm ⁻¹	CH ₂ -Gruppe	820 ± 30 cm ⁻¹	-
783 cm ⁻¹	R-CH ₂ -NH ₂	810 ± 100 cm ⁻¹	-
717 cm ⁻¹	CH ₂ -Gruppe	~ 720 cm ⁻¹	-
554 cm ⁻¹	C-S	500 - 600 cm ⁻¹	CS δ-Schwingung
502 cm ⁻¹	NR ₃	480 - 510 cm ⁻¹	-

3.2.7 UV/VIS-Spektrum

Die Messung des N,N-Bis(2-Mercaptoethyl)ethylendiamin-Hydrochlorids wurde in Methylenchlorid durchgeführt. Das Hydrochlorid zeigt ein Maximum bei 220 nm und ein weiteres bei 251 nm.

Die Messung des N,N-Bis(2-Mercaptoethyl)ethylendiamins wurde in Chloroform durchgeführt. Der freie Ligand zeigt ein Maximum bei 254 nm.

3.2.8 NMR-Spektren^(81,85-91)

Alle NMR-Spektren wurden in D₂O aufgenommen.

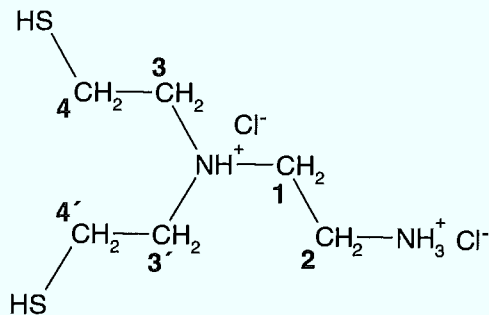


Abbildung 16: Numerierung der Atome des N,N-Bis(2-Mercaptoethyl)ethylenediamin-Hydrochlorids zur Zuordnung der gemessenen ¹H- und ¹³C-Resonanzen

3.2.8.1 ¹³C-NMR-Spektroskopie

Das Spektrum zeigt die folgenden vier Signale:

$\delta = 22,53$ ppm, $\delta = 38,16$ ppm, $\delta = 52,44$ ppm und $\delta = 58,65$ ppm.

Diskussion des ¹³C-NMR-Spektrums

¹³C-Verschiebungen lassen sich anhand empirischer Inkrement-Systeme berechnen.⁽⁸¹⁾

Für aliphatische Verbindungen gilt die folgende Formel:

$$\delta_i = -2,3 + \sum_k A_k n_k + S_{i\alpha} \quad \text{für alle } C_i \quad (\text{Grant-Paul-Regel})$$

$\delta = -2,3$ entspricht dem Verschiebungswert von Methan, zu dem die Inkremente $A_k n_k$ addiert werden. Relativ zum berechneten Kohlenstoff wird über alle Positionen $k = \alpha, \beta, \gamma, \delta, \epsilon$ summiert. n_k steht für die Anzahl der Kohlenstoffatome in k-Stellung. Für A_k gelten die folgenden Zahlenwerte:

$$\begin{array}{lll} A_\alpha = +9,1 & A_\gamma = -2,5 & A_\epsilon = +0,2 \\ A_\beta = +9,4 & A_\delta = +0,3 & \end{array}$$

Für tertiäre und quartäre Kohlenstoffatome und ihre direkten Nachbarn muß zusätzlich eine sterische Korrektur $S_{i\alpha}$ vorgenommen werden (Tabelle 4).

Tabelle 4: Angabe der sterischen Korrekturwerte $S_{i\alpha}$ ⁽⁸¹⁾

C_i (betrachtetes C-Atom)	C_α (höchstsubstituiertes Nachbar-C-Atom)			
	$-\text{CH}_3$	$-\text{CH}_2-$	$-\overset{ }{\text{C}}\text{H}-$	$-\overset{ }{\text{C}}-$
primär: $-\text{CH}_3$	0	0	-1,1	-3,4
sekundär: $-\text{CH}_2-$	0	0	-2,5	-7,4
tertiär: $-\overset{ }{\text{C}}\text{H}-$	0	-3,7	-9,5	-15,0
quartär: $-\overset{ }{\text{C}}-$	-1,5	-8,4	-15	-25

Zur Berücksichtigung funktioneller Gruppen gilt die folgende Formel:

$$\delta_i(\text{RX}) = \delta_i(\text{RH}) + I_{\text{Xk}} + S_{i\alpha} \quad (k = \alpha, \beta, \gamma, \delta) \quad \text{für alle } C_i$$

Werte für I_{Xk} sind entsprechenden Tabellenwerken zu entnehmen. Die Werte zur Berechnung des Polypodanden sind in Tabelle 5 aufgeführt.

Tabelle 5: Verwendetes Inkrementensystem zur Abschätzung der ^{13}C -Verschiebungen⁽⁸¹⁾

Substituent X	$k = \alpha$	$k = \beta$	$k = \gamma$	$k = \delta$
-SH	10,6	11,4	-3,6	-0,4
$-\text{NR}_3^+$	30,7	5,4	-7,2	-1,4

Inkrementberechnungen der Kohlenstoffatome des N,N-Bis(2-Mercaptoethyl)-ethylendiamin-Hydrochlorids:

C1:

$$-2,3 + A_\alpha(9,1) + 2 \cdot A_\beta(9,4) + 2 \cdot A_\gamma(-2,5) + S_{i\alpha}(-2,5) + k_\alpha(30,7) + k_\beta(5,4) + 2 \cdot k_\gamma(-0,4)$$

= **53,4 ppm**

C2:

$$-2,3 + A_\alpha(9,1) + 2 \cdot A_\gamma(-2,5) + 2 \cdot A_\delta(0,3) + S_{i\alpha}(0) + k_\alpha(30,7) + k_\beta(5,4)$$

= **38,5 ppm**

C3/C3':

$$-2,3 + A_{\alpha}(9,1) + 2 \cdot A_{\beta}(9,4) + A_{\gamma}(-2,5) + S_{\alpha}(-2,5) + k_{\alpha}(30,7) + k_{\delta}(-1,4) + k_{\alpha}(11,4) + k_{\delta}(-0,4)$$

$$= \underline{60,9 \text{ ppm}}$$

C4/C4':

$$-2,3 + A_{\alpha}(9,1) + 2 \cdot A_{\gamma}(-2,5) + A_{\delta}(0,3) + A_{\delta}(0,3) + S_{\alpha}(0) + k_{\alpha}(10,6) + k_{\beta}(5,4)$$

$$= \underline{18,4 \text{ ppm}}$$

Es ergibt sich somit eine eindeutige Zuordnung (Tabelle 6):

Tabelle 6: Zuordnung der gemessenen und berechneten ^{13}C -NMR-Verschiebungen des N,N-Bis(2-Mercaptoethyl)ethylendiamin-Hydrochlorids

Kohlenstoff Nr.	δ gemessen	δ berechnet	Abweichung
1	52,44 ppm	53,4 ppm	1,83 %
2	38,16 ppm	38,5 ppm	0,89 %
3, 3'	58,65 ppm	60,9 ppm	3,84 %
4, 4'	22,53 ppm	18,4 ppm	18,33 %

3.2.8.2 ^1H -NMR-Spektroskopie

Tabelle 7: Zuordnung der gemessenen ^1H -NMR-Verschiebungen des N,N-Bis(2-Mercaptoethyl)ethylendiamin-Hydrochlorids

Nr.	δ gemessen	Integral in mm	Protonen	Vergleichsspektren	δ Vergleichssubstanz
[CH ₂]-1	3,33 ppm	110,01	2	(CH ₃ CH ₂) ₃ NH ⁺ Br ⁻	3,18 ppm
[CH ₂]-2	3,22 ppm	101,10	2	H ₂ NCH ₂ CH ₂ NH ₂ · 2HCl	3,41 ppm
[CH ₂]-3, 3'	3,15 ppm	206,38	4	(CH ₃) ₂ NCH ₂ CH ₂ SH H ₂ NCH ₂ CH ₂ SH	3,45 ppm 3,0 ppm
[CH ₂]-4, 4'	2,8 ppm	204,7	4	CH ₃ CH ₂ SH CH ₃ CH ₂ CH ₂ SH	2,44 ppm 2,54 ppm

Diskussion des $^1\text{H-NMR-Spektrums}$

Zur eindeutigen $^1\text{H-NMR}$ -Signalzuordnung waren Inkrementberechnungen nicht erforderlich, da entsprechende Vergleichsspektren zur Verfügung standen.

N,N-Bis(2-Mercaptoethyl)ethylendiamin-Hydrochlorid besitzt in unmittelbarer Nachbarschaft zum Schwefel zwei und in unmittelbarer Nachbarschaft zu einem positiv geladenen Stickstoff vier Kohlenstoffatome. Es ergeben sich somit zwei Gruppen. Anhand von Vergleichsspektren (Tabelle 7) kann eindeutig gezeigt werden, daß die Protonen an C4 und C4' die niedrigsten Verschiebungswerte aufweisen müssen. Aufgrund der chemischen Äquivalenz beider Kohlenstoffe sollten die Protonen von C4 und C4' die gleichen Verschiebungen zeigen. Die Integration über das entsprechende Triplet sollte 4 Protonen ergeben, was durch das Spektrum bestätigt wird.

Bezüglich der vier verbleibenden Kohlenstoffe ist zu berücksichtigen, daß zwei Kohlenstoffe sowohl in α -, als auch in β -Position einen Stickstoffnachbarn aufweisen. Die beiden verbleibenden Kohlenstoffe haben in α -Position einen Stickstoff- in β -Position einen Schwefelnachbarn. Vergleicht man die Spektren von $\text{H}_2\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2 \cdot 2\text{HCl}$ ($C_\alpha = 3,41$ ppm) und $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{NH}_2 \cdot \text{HCl}$ ($C_\alpha = 3,08$ ppm) so zeigt sich, daß CH_2 -Protonen, deren Kohlenstoff ausschließlich in α -Position ein Stickstoffatom aufweisen, die deutlich niedrigeren Verschiebungswert zeigen. Auch hier sollten aufgrund der chemischen Äquivalenz beider Kohlenstoffe die Protonen von C3 und C3' die gleichen Verschiebungswerte zeigen. Die Integration über das entsprechende Triplet sollte 4 Protonen ergeben, was durch das Spektrum bestätigt wird.

Die beiden noch nicht zugeordneten Kohlenstoffatome unterscheiden sich darin, daß ein Kohlenstoff einen tertiären, und der andere Kohlenstoff einen primären Stickstoff als direkten Nachbarn besitzt. Vergleicht man die Spektren von $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{NH}_2 \cdot \text{HCl}$ ($C_\alpha = 3,08$ ppm) und $\text{CH}_3\text{CH}_2)_3\text{NH}^+ \text{Br}^-$ ($C_\alpha = 3,18$ ppm), so zeigt sich, daß Protonen, deren Kohlenstoff einen primären Stickstoffnachbarn aufweist, die eindeutig niedrigeren δ -Werte aufweisen. Die Integrale der beiden zuletzt zugeordneten Triplets sollten jeweils 2 Protonen entsprechen, was wiederum durch das Spektrum bestätigt wird.

Alle vier Signale spalten in Triplets auf, was bedeutet, daß jedes der Triplets einer CH_2 -Gruppe bzw. zwei chemisch äquivalenten CH_2 -Gruppen zuzuordnen ist.

Alle Triplets zeigen einen deutlichen Dacheffekt, ein Hinweis darauf, daß sowohl C1 und C2, als auch C3 und C4 bzw. C3' und C4' einander unmittelbar benachbart sind.

3.3 Untersuchungen zur Komplexierung des Technetiums mit N,N-Bis(2-Mercaptoethyl)ethylendiamin

3.3.1 Komplexierungsversuch ohne pH-Kontrolle mit Natriumborhydrid als Reduktionsmittel (Abbildung 17)

Zunächst wurde Technetium mit N,N-Bis(2-Mercaptoethyl)ethylendiamin-Hydrochlorid nach Reduktion von TcO_4^- mit Natriumborhydrid komplexiert. Da die Reaktion nicht pH-kontrolliert durchgeführt wurde, kam es ausschließlich zur Bildung von Technetiumdioxid-Hydrat.

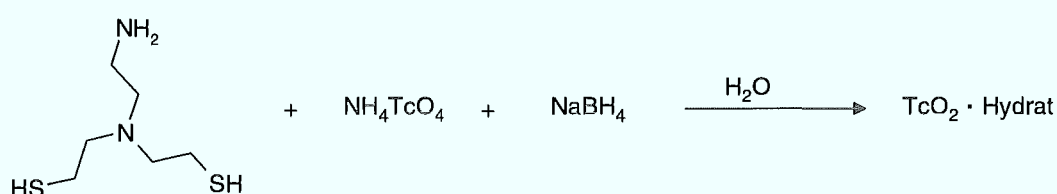


Abbildung 17: Komplexierung des N,N-Bis(2-Mercaptoethyl)ethylendiamins mit NaBH_4 als Reduktionsmittel

Ansatz:

N,N-Bis(2-Mercaptoethyl)ethylendiamin-Hydrochlorid

(0,42 %ige wäβr. Lsg.): 1 ml (16,66 μmol)

Ammoniumpertechnetat (1 %ige wäβr. Lsg.): 0,1 ml (5,52 μmol)

Natriumborhydrid (1 %ige wäβr. Lsg.): 2 ml (528,7 μmol)

Durchführung:

Zu 1 ml einer 0,42 %igen N,N-Bis(2-Mercaptoethyl)ethylendiamin-Hydrochloridlösung wurden unter kräftigem Rühren zunächst 0,1 ml 1 %ige Ammoniumpertechnetatlösung und anschließend 1 ml einer 1 %igen Natriumborhydridlösung zugetropft. Unmittelbar nach Zugabe der Borhydridlösung kam es zur Bildung eines dunkelbraunen Technetiumdioxid-Hydrat-Niederschlags.

3.3.2 Komplexierung bei pH 12 mit Natriumborhydrid als Reduktionsmittel (Abbildung 18)

Die Reaktion wurde nun bei verschiedenen pH-Werten durchgeführt. Unterhalb von pH 12 kam es jeweils zur Bildung von Technetiumdioxid-Hydrat. Oberhalb von pH 12 bildete sich jedoch ein Technetiumkomplex, der mit 1-Octanol extrahiert werden konnte.

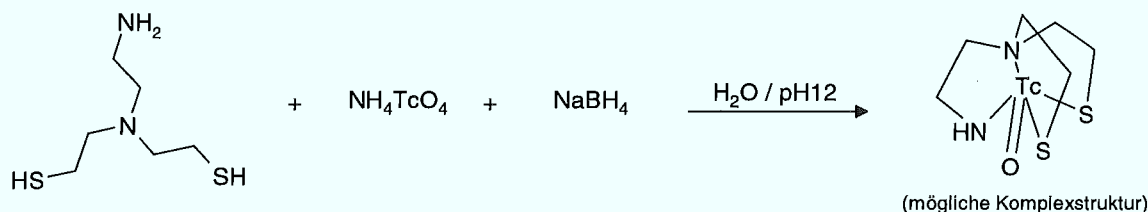


Abbildung 18: Komplexierung des N,N-Bis(2-Mercaptoethyl)ethylendiamins mit NaBH₄ als Reduktionsmittel bei pH 12

Ansatz:

N,N-Bis(2-Mercaptoethyl)ethylenediamin-Hydrochlorid

(0,42 %ige wäBr. Lsg.):	1 ml	(16,66 μmol)
Ammoniumpertechnetat (1 %ige wäBr. Lsg.):	0,1 ml	(5,52 μmol)
Natronlauge (4 %ige wäBr. Lsg.):	1 ml	
Natriumborhydrid (1 %ige wäBr. Lsg.):	2 ml	(528,7 μmol)
1-Octanol:	5 ml	

Durchführung:

Durch Zugabe von 1 ml 4 %iger Natronlauge zu 1 ml einer 0,42 %igen N,N-Bis-(2-Mercaptoethyl)ethylenediamin-Hydrochloridlösung wurde die Reaktionslösung auf einen pH-Wert von 12 eingestellt. Unter kräftigem Rühren wurde zunächst 0,1 ml 1 %ige Ammoniumpertechnetatlösung und anschließend 1 ml einer 1 %igen Natriumborhydridlösung zugetropft. Nach Zugabe der Borhydridlösung kam es nur langsam zur Bildung einer goldgelben Lösung. Durch Extraktion mit 1-Octanol trat ein Teil des Komplexes in die organische Phase über. 45 Minuten nach Reaktionsbeginn hatte sich die wässrige Phase rotbraun gefärbt und nach weiteren 2 Stunden war zusätzlich Technetiumdioxid-Hydrat ausgefallen. Es war demnach sowohl ein lipophiler, als auch ein hydrophiler Komplex entstanden.

Aufgrund der Bildung von Technetiumdioxid-Hydrat mußte von einer geringen Stabilität des hydrophilen Komplexes ausgegangen werden. Die nur mäßige Anreicherung des lipophilen Komplexes in der organischen Phase machte es erforderlich, nach einem geeigneteren Extraktionsmittel zu suchen. Während sich Lösungsmittel wie Diethylether und Toluol als gänzlich ungeeignet erwiesen, ließ sich der Komplex mit Chloroform und Methylenchlorid problemlos extrahieren.

Ein weiteres Problem ergab sich aus der Bildung zweier Komplexe. Um die Bildung des hydrophilen Komplexes zu Gunsten des lipophilen Komplexes zurückzudrängen, war eine bedeutend selektivere Reaktionsführung erforderlich.

Nach Variation verschiedener Reaktionsparameter wie pH-Wert, Temperatur, Reduktionsmittel, Extraktionstechnik, Reaktionsdauer, Stöchiometrie und Reaktionsmedium erwiesen sich die Parameter Reduktionsmittel, Extraktionstechnik und pH-Wert als entscheidende Kriterien. Es war somit je nach Reaktionsführung möglich, entweder den lipophilen oder den hydrophilen Komplex weitgehend selektiv zu erhalten.

3.3.3 Komplexierung bei pH 14 mit Natriumdithionit als Reduktionsmittel (Abbildung 19)

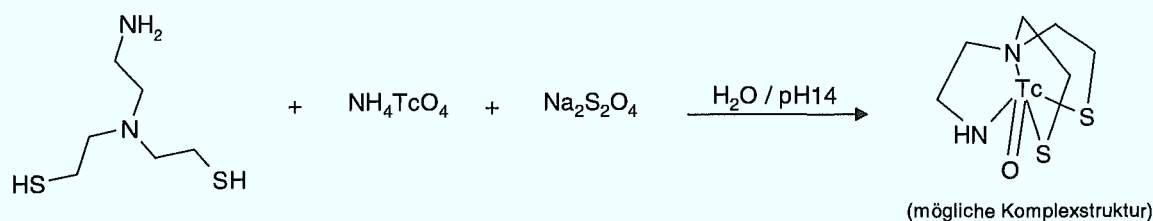


Abbildung 19: Komplexierung des N,N-Bis(2-Mercaptoethyl)ethylendiamins mit $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ als Reduktionsmittel

Ansatz:

N,N-Bis(2-Mercaptoethyl)ethylendiamin-Hydrochlorid:	70 mg (276,4 μmol)
Ammoniumpertechnetat (1 %ige wäßr. Lsg.):	0,5 ml (27,63 μmol)
Natriumdithionit:	50 mg (287,18 μmol)

Durchführung:

60 mg N,N-Bis(2-Mercaptoethyl)ethylendiamin-Hydrochlorid wurden in 1 ml H₂O und unter kräftigem Rühren mit 4 %iger Natronlauge auf einen pH-Wert von 14 eingestellt. Nach Zutropfen von 0,5 ml einer 1 %igen Ammoniumpertechnetatlösung wurden 50 mg Natriumdithionit zugegeben. Unmittelbar nach Zugabe des Dithionits färbte sich die Reaktionslösung rotbraun. Die Extraktion eines Komplexes war weder mit 1-Octanol noch mit anderen Lösungsmitteln möglich.

3.3.4 Komplexierung bei pH 14 mit Natriumborhydrid als Reduktionsmittel und kontinuierlicher Extraktion mit Methylenchlorid (Abbildung 20)

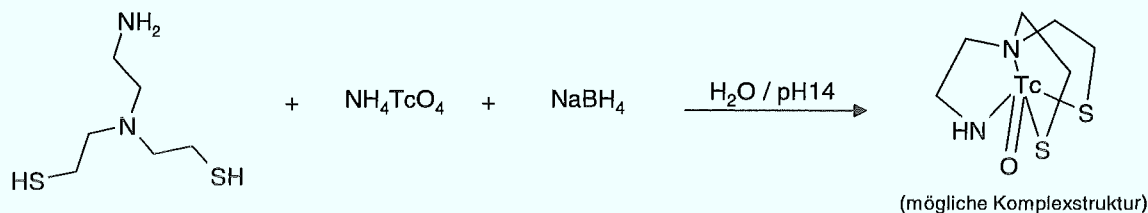


Abbildung 20: Komplexierung des N,N-Bis(2-Mercaptoethyl)ethylendiamins mit NaBH_4 als Reduktionsmittel und kontinuierlicher Extraktion mit Methylenchlorid

Ansatz:

N,N-Bis(2-Mercaptoethyl)ethylendiamin-Hydrochlorid (0,76 %ige wäßr. Lsg.):	10 ml (0,3 mmol)
Ammoniumpertechnetat (0,905 %ige wäßr. Lsg.):	2 ml (0,1 mmol)
Natronlauge (4 %ige wäßr. Lsg.):	20 ml
Natriumborhydrid (3,78 %ige wäßr. Lsg.):	10 ml (10 mmol)
Methylenchlorid:	ca. 300 ml

Durchführung:

10 ml einer 0,76 %igen N,N-Bis(2-Mercaptoethyl)ethylendiamin-Hydrochloridlösung wurden unter kräftigem Rühren mit 20 ml einer 4 %igen Natronlauge auf einen pH-Wert von 14 gebracht. Nach Zugabe von 2 ml einer 0,905 %igen Ammoniumpertechnetat-

lösung wurden unter kräftigem Rühren 10 ml einer 3,78 %igen Natriumborhydridlösung zugetropft. Während der ersten 10 Minuten nach Zugabe der Borhydridlösung war keine Farbreaktion zu beobachten. Erst nach dieser Zeit kam es langsam zur Bildung einer bernsteinfarbenen Lösung. Nach 15 Minuten wurde damit begonnen alle 5 Minuten mit jeweils 30 ml Methylenchlorid zu extrahieren. Bezüglich der Extraktionsausbeute wurde innerhalb der folgenden 50 Minuten ein Maximum durchlaufen. Nach dieser Zeit war die Reaktion so weit zum Stillstand gekommen, daß kaum noch Komplex in die organische Phase übertrat.

Die vereinigten organischen Phasen wurden 3 Stunden über Kaliumcarbonat getrocknet. Vor dem Einsatz von Molsieb ist zu warnen, da der Komplex vom Trockenmittel quantitativ adsorbiert wird. Die Komplexlösung wurde bis auf 20 ml eingeeengt und das Produkt als Lösung gelagert.

3.3.5 UV/VIS-Messung

Der Komplex zeigt in Methylenchlorid ein deutliches Maximum bei 430 nm.

3.3.6 Aufarbeitung des Komplexes

Die Aufarbeitung des Komplexes wurde durch die folgenden Faktoren erschwert:

Der einmal zur Trockne gebrachte oder ausgefallene Komplex war weder in Methylenchlorid noch in 1-Octanol wieder vollständig löslich. Mit keinem anderen Lösungsmittel war das Präzipitat wieder quantitativ in Lösung zu bringen. Eine Aufarbeitung durch Umkristallisation kam folglich nicht in Betracht.

Es wurden dünnschichtchromatographische, säulenchromatographische, und HPL-chromatographische Untersuchung zur Analytik und Aufarbeitung des Komplexes durchgeführt. Da bei den HPLC-Untersuchungen UV/VIS-Detektion und RI-Detektion gemeinsam zum Einsatz kamen, konnten auch UV-aktive Lösungsmittel wie Nitrobenzol als Mischungskomponente verwendet werden.

Die folgenden chromatographischen Systeme wurden in verschiedenen Mischungsverhältnissen getestet (Tabellen 8-13).

Tabelle 8: Lösungsmittelgemische für Kieselgel als stationäre Phase

	Komponente 1	Komponente 2	Komponente 3	Komponente 4
1.	Methanol	-	-	-
2.	Methylenchlorid	-	-	-
3.	Methylenchlorid	n-Hexan	-	-
4.	Toluol	Ethanol	-	-
5.	Methanol	Methylenchlorid	-	-
6.	Benzylalkohol	Methylenchlorid	Chloroform	-
7.	Ethanol	Methylenchlorid	Chloroform	-
8.	Ethanol	Toluol	Chloroform	-
9.	Ethanol	Ethylenchlorid	Chloroform	-
10.	Benzylalkohol	Methylenchlorid	Nitromethan	-
11.	Benzylalkohol	Methylenchlorid	Nitrobenzol	-
12.	Benzylalkohol	Methylenchlorid	Benzen	-
13.	Benzylalkohol	Toluol	Chloroform	-
14.	Benzylalkohol	Ethylenchlorid	Chloroform	-
15.	Ethanol	Acetonitril	Chloroform	-
16.	Ethanol	Methylenchlorid	Acetonitril	-
17.	Acetonitril	Methylenchlorid	Chloroform	-
18.	Ethanol	Methylenchlorid	Chloroform	Methanol
19.	Ethanol	Methylenchlorid	Chloroform	n-Hexan
20.	Ethanol	Toluol	Chloroform	n-Hexan
21.	Ethanol	Ethylenchlorid	Chloroform	n-Hexan
22.	Ethanol	Nitromethan	Chloroform	n-Hexan
23.	Ethanol	Nitromethan	Methylenchlorid	n-Hexan
24.	Ethanol	Nitromethan	Ethylenchlorid	n-Hexan
25.	Benzylalkohol	Methylenchlorid	Nitromethan	n-Hexan
26.	Benzylalkohol	Methylenchlorid	Nitrobenzol	n-Hexan
27.	Benzylalkohol	Methylenchlorid	Benzen	n-Hexan
28.	Benzylalkohol	Ethylenchlorid	Chloroform	n-Hexan
29.	Benzylalkohol	Toluol	Chloroform	n-Hexan

Tabelle 9: Lösungsmittelgemische für RP-8 als stationäre Phase

	Komponente 1	Komponente 2	Komponente 3	Komponente 4
1.	Methanol	Wasser	-	-
2.	Tetrahydrofuran	Acetonitril	Methanol	-
3.	Ethanol	Nitromethan	Methylenchlorid	n-Hexan

Tabelle 10: Lösungsmittelgemische für RP-18 als stationäre Phase

	Komponente 1	Komponente 2	Komponente 3	Komponente 4
1.	Methanol	Wasser	-	-
2.	Tetrahydrofuran	Acetonitril	Methanol	-
3.	Ethanol	Nitromethan	Methylenchlorid	n-Hexan

Tabelle 11: Lösungsmittelgemische für RP-18 (endcapped) als stationäre Phase

	Komponente 1	Komponente 2	Komponente 3	Komponente 4
1.	Methanol	Wasser	-	-
2.	Methylenchlorid	n-Hexan	-	-
3.	Ethanol	Methylenchlorid	Chloroform	-
4.	Ethanol	Methylenchlorid	Chloroform	n-Hexan
5.	Ethanol	Methylenchlorid	Chloroform	Triethanolamin

Tabelle 12: Lösungsmittelgemische für Zellulose als stationäre Phase

	Komponente 1	Komponente 2	Komponente 3	Komponente 4
1.	Methylenchlorid	-	-	-
2.	Ethylacetat	n-Hexan	-	-
3.	Methanol	Methylenchlorid	-	-
4.	Methylenchlorid	n-Hexan	-	-
5.	Ethanol	Methylenchlorid	Ethylacetat	-

Tabelle 12: Lösungsmittelgemische für Zellulose als stationäre Phase (Fortsetzung)

	Komponente 1	Komponente 2	Komponente 3	Komponente 4
6.	Methylenchlorid	Ethylacetat	n-Hexan	-
7.	Ethanol	Chloroform	Methylenchlorid	n-Hexan
8.	Ethanol	Nitromethan	Methylenchlorid	n-Hexan
9.	Ethanol	Nitromethan	Methylenchlorid	n-Hexan
10.	Methanol	Methylenchlorid	Ethylacetat	n-Hexan

Tabelle 13: Lösungsmittelgemische für Aluminiumoxid als stationäre Phase

	Komponente 1	Komponente 2	Komponente 3	Komponente 4
1.	Ethylacetat	n-Hexan	-	-
2.	Ethanol	Chloroform	Methylenchlorid	n-Hexan

Mit keinem der untersuchten chromatographischen Systeme war eine Abtrennung des Komplexes möglich.

Die Affinität des Komplexes zum Trägermaterial war bei allen Materialien außer Zellulose so hoch, daß die Retentionszeiten gegen unendlich gingen. Durch Endcappen des RP-18-Materials mit Methyltriflat war zwar eine Verbesserung möglich, brauchbare Retentionszeiten konnten durch diese Maßnahme jedoch nicht erreicht werden.

Mit Zellulose als Trägermaterial trat das Affinitätsproblem bei den Gemischen Methanol/Methylenchlorid und Ethanol/Chloroform/Methylenchlorid/n-Hexan nicht auf. Die Trennleistung dieser Systeme war jedoch unbrauchbar.

Eine Aufarbeitung mittels selektiver Extraktion war ebenfalls nicht möglich. Ligand und Komplex lösen sich in 1-Octanol, Methylenchlorid und Chloroform gleich gut. In Acetonitril, Diethylether, n-Pentan und Toluol ist nur der Ligand löslich. Da der Komplex dem Gleichgewicht bereits während der Synthese extraktiv entzogen wird, liegt nach Reaktionsende eine organische Komplexlösung vor. Eine Rückextraktion in Wasser ist aufgrund der hohen Lipophilie des Komplexes nicht durchführbar. Auch das Ausfällen bzw. zur Trockne bringen des Komplexes ist, wie bereits beschrieben, nicht möglich.

Durch eine weitere Optimierung der Reaktionsführung war es möglich, das Produkt so sauber zu erhalten, daß eine eindeutige $^1\text{H-NMR}$ - und IR-spektroskopische Charakterisierung des Komplexes gelang. Aufgrund äquimolarer Mengen Ammoniumpertechnetat und N,N-Bis(2-Mercaptoethyl)ethylendiamin-Hydrochlorid erübrigte sich die Abtrennung des Liganden bei vollständiger Umsetzung. Hierzu war eine Optimierung der Reduktionsmittelmenge erforderlich.

3.3.7 Komplexierung unter optimierten Reaktionsbedingungen

(Abbildung 21)

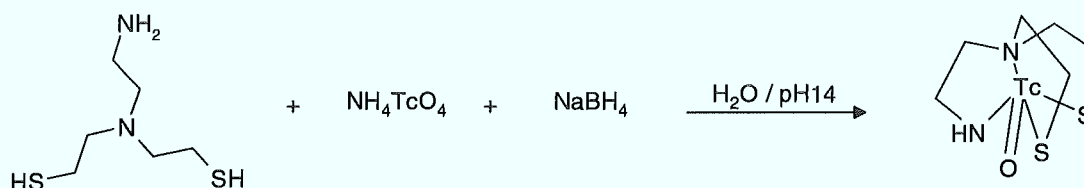


Abbildung 21: Darstellung des N,N-Bis(2-Mercaptoethyl)ethylendiamin-oxotechnetium(V)-Komplexes

Ansatz:

N,N-Bis(2-Mercaptoethyl)ethylendiamin-Hydrochlorid:	38 mg (0,15 mmol)
Ammoniumpertechnetat (0,905 %ige wäbr. Lsg.):	3 ml (0,15 mmol)
Natronlauge (4 %ige wäbr. Lsg.):	13 ml
Natriumborhydrid (3,78 %ige wäbr. Lsg.):	5 ml (5 mmol)
Chloroform:	ca. 150 ml

Durchführung:

38 mg N,N-Bis(2-Mercaptoethyl)ethylendiamin-Hydrochlorid wurden in 10 ml 4 %iger Natronlauge gelöst, wodurch sich für die Reaktionslösung ein pH-Wert von 14 ergab. Nach Zugabe von 3 ml einer 0,905 %igen Ammoniumpertechnetatlösung wurden unter kräftigem Rühren 5 ml einer 3,78 %igen Natriumborhydridlösung zugetropft. Erst 20 Minuten nach Reaktionsbeginn war eine schwache Goldgelbfärbung zu beobachten. Nach dieser Zeit wurde alle 4 Minuten mit je 10 ml Chloroform extrahiert.

Nach Ablauf von einer Stunde war die Reaktion so weit zum Stillstand gekommen, daß kaum noch Komplex in die organische Phase übertrat. Die vereinigten, organischen

Phasen wurden zweimal mit 0,5 N Natronlauge gewaschen und anschließend mit wenig Natriumsulfat getrocknet. Es empfiehlt sich, nicht mehr Natriumsulfat als erforderlich zu verwenden, da es zur Adsorption des Komplexes an das Trockenmittel kommt. Die Lösung wurde destillativ auf 15 ml eingengt und anschließend in flüssigem Stickstoff gelagert.

3.3.8 Lagerung des N,N-Bis(2-Mercaptoethyl)ethylendiamin-oxotechnetium(V)-Komplexes

Der Komplex sollte in Chloroform oder Methylenchlorid in flüssigem Stickstoff gelagert werden.

Bei Trockenlagerung unter Argon über P_2O_5 ist der Feststoff nach 25 Tagen nur noch zu ca. 10 % wieder in Lösung zu bringen.

Die Lagerung in Chloroform oder Methylenchlorid bei Raumtemperatur führt innerhalb kurzer Zeit zur Bildung von löslichen, UV/VIS-spektroskopisch nachweisbaren Nebenprodukten. Darüber hinaus kommt es bereits nach einem Tag zur Ausfällung eines braunen, unlöslichen Feststoffs. Der in Chloroform oder Methylenchlorid gelöste Komplex ist nach 25 Tagen zu ca. 90% zerfallen.

3.3.9 UV/VIS-Spektrum

Es wurde ein bedeutend besser aufgelöstes Spektrum als zuvor erhalten. Das UV/VIS-Spektrum wurde in Chloroform aufgenommen. Der Komplex zeigt bei 439 nm und 262 nm eindeutige Maxima und bei 345 nm eine deutliche Schulter.

Das zu Vergleichszwecken aufgenommene Spektrum des freien Liganden zeigt ein Maximum bei 254 nm.

3.3.10 $^1\text{H-NMR-Spektroskopie}^{(81,85-91)}$

Da der Komplex nicht zur Trockne gebracht werden durfte (s. Kapitel 3.3.8), war zur Aufnahme des $^1\text{H-NMR-Spektrums}$ eine spezielle Probenvorbereitung erforderlich.

5 ml der Komplexchloroformlösung wurden destillativ bis auf 1 ml eingengt. Es wurde 1 ml Deuteriochloroform zugegeben und erneut bis auf 1 ml eingengt. Durch fünfmalige Wiederholung dieser Prozedur konnte das Chloroform weitestgehend gegen Deuteriochloroform ersetzt werden. Von der so erhaltenen Komplexdeuteriochloroformlösung wurde ein gut aufgelöstes $^1\text{H-NMR-Spektrum}$ aufgenommen.

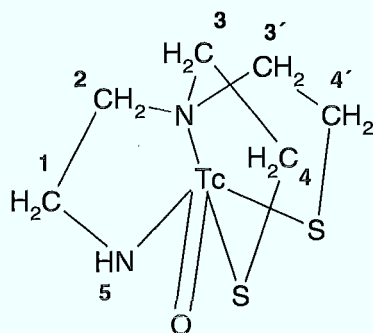


Abbildung 22: Numerierung der Protonen des N,N-Bis(2-Mercaptoethyl)ethylen-diamin-oxotechnetium(V)-Komplexes zur Zuordnung der gemessenen $^1\text{H-Resonanzen}$

Tabelle 14: Zuordnung der gemessenen $^1\text{H-NMR-Verschiebungen}$ des N,N-Bis(2-Mercaptoethyl)ethylen-diamin-oxotechnetium(V)-Komplexes

Nr.	δ	Integral	Protonen	Aufspaltung
1	2,91 ppm	80 mm	4	Multipllett
2				
3, 3'	3,23 ppm	83 mm	4	Multipllett
4, 4'	2,76 ppm	93 mm	4	Multipllett
5	1,5 ppm	25 mm	1	Singulett

Diskussion des $^1\text{H-NMR-Spektrums}$

Das Spektrum spaltet in drei eindeutig gegeneinander abgegrenzte Multipletts auf. Diese Multiplettstruktur war zu erwarten, da die CH_2 -Gruppen aufgrund ihrer Fixierung im tricyclischen System nicht mehr frei drehbar sind. Es war demnach nur eine Zuordnung der Multipletts und nicht der einzelnen Signale möglich.

^1H -Verschiebungen lassen sich ebenso wie ^{13}C -Verschiebungen anhand empirischer Inkrement-Systeme berechnen. Zur Abschätzung von Methylenprotonen gilt die modifizierte Schoolery Regel:⁽⁸¹⁾

$$\delta = 1,25 + I_1 + I_2$$

Werte für I_1 und I_2 sind entsprechenden Tabellenwerken zu entnehmen. Die Werte zur Berechnung der Komplexverschiebungen sind in Tabelle 15 aufgeführt.

Tabelle 15: Verwendetes Inkrementensystem zur Abschätzung der ^1H -Verschiebungen⁽⁸¹⁾

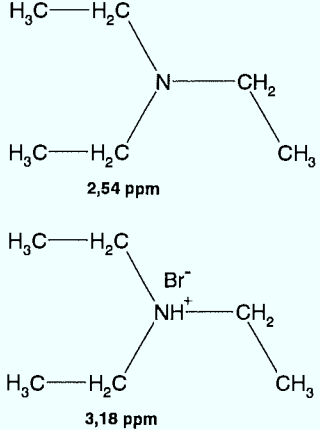
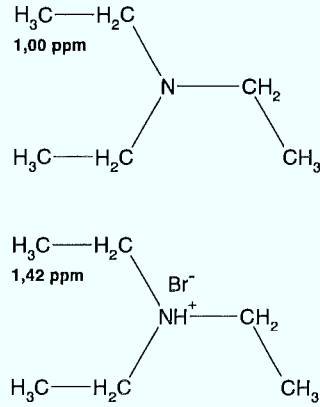
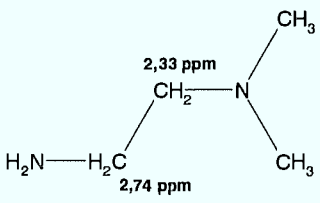
Substituent	Inkrement I
-Alkyl	0
-SH, -S-Alkyl	1,3
-NH ₂ , -NH-Alkyl, -N(Alkyl) ₂	1,0

Anhand von Referenzsubstanzen wurde das obige System erweitert (Tabelle 16):

Tabelle 16: Verwendete Referenzsubstanzen für Korrekturfaktoren

Referenzsubstanz	Definition	Korrekturfaktor
$\text{H}_3\text{C}-\text{CH}_2-\text{CH}_3$ 0,91 ppm $\text{H}_3\text{C}-\text{CH}_2-\text{SH}$ 1,3 ppm	Schwefel in β -Stellung (Korr ₁)	0,4 ppm
$\text{H}_3\text{C}-\text{CH}_2-\text{CH}_3$ 0,91 ppm $\text{H}_3\text{C}-\text{CH}_2-\text{NH}_2$ 1,1 ppm	NH ₂ -Gruppe in β -Stellung (Korr ₂)	0,2 ppm

Tabelle 16: Verwendete Referenzsubstanzen für Korrekturfaktoren (Fortsetzung)

 <p>2,54 ppm</p> <p>3,18 ppm</p>	Hydrohalogenid in α -Stellung (Korr ₃)	0,64 ppm
 <p>1,00 ppm</p> <p>1,42 ppm</p>	Hydrohalogenid in β -Stellung (Korr ₄)	0,42 ppm
 <p>2,33 ppm</p> <p>2,74 ppm</p>	Unterschiedliche Verschiebungswerte primärer und tertiärer Amine (Korr ₅)	0,4 ppm

Inkrementberechnungen der Protonen des N,N-Bis(2-Mercaptoethyl)ethylendiamin-oxotechnetium(V)-Komplexes :

Protonen zu Nr. 1:

$$1,25 \text{ ppm} + 1,0 \text{ ppm (Amin)} + 0,42 \text{ ppm (Korr}_4) + 0,4 \text{ ppm (Korr}_5) = \mathbf{3,07 \text{ ppm}}$$

Protonen zu Nr. 2:

$$1,25 \text{ ppm} + 1,0 \text{ ppm (Amin)} + 0,2 \text{ ppm (Korr}_2) + 0,64 \text{ ppm (Korr}_3) = \mathbf{3,09 \text{ ppm}}$$

Protonen zu Nr. 3, 3':

$$1,25 \text{ ppm} + 1,0 \text{ ppm (Amin)} + 0,4 \text{ ppm (Korr}_1) + 0,64 \text{ ppm (Korr}_3) = \mathbf{3,29 \text{ ppm}}$$

Protonen zu Nr. 4, 4':

$$1,25 \text{ ppm} + 1,3 \text{ ppm (Schwefel)} + 0,42 \text{ ppm (Korr}_4) = \mathbf{2,97 \text{ ppm}}$$

Alle berechneten Werte fallen geringfügig höher aus als die gemessenen Verschiebungswerte (Tabelle 17).

Tabelle 17: Gemessene und berechnete $^1\text{H-NMR}$ -Verschiebungswerte des N,N-Bis(2-Mercaptoethyl)ethylen-diamin-oxotechnetium(V)-Komplexes

Nr.	δ gemessen	δ berechnet	Protonen
1	2,91 ppm	3,07 ppm	2
2	2,91 ppm	3,09 ppm	2
3, 3'	3,23 ppm	3,29 ppm	4
4, 4'	2,76 ppm	2,97 ppm	4

Der tertiäre Stickstoff weist zusätzlich zu den drei kovalenten Bindungen eine koordinative Bindung zum Technetium auf. Um dies bei den Inkrementberechnungen zu berücksichtigen, wurde der tertiäre Stickstoff rein rechnerisch wie ein Hydrohalogenid behandelt (Tabelle 16). Die Elektronegativität des Technetiums ist jedoch mit 1,4 bedeutend niedriger als die des Wasserstoffs mit 2,2. Wasserstoff wirkt deutlich stärker entschirmend als Technetium. Von den berechneten Werten ist demnach jeweils ein geringer Betrag abzuziehen. Unter Berücksichtigung dieses Korrekturfaktors stimmen die berechneten Werte sehr gut mit den gemessenen überein.

Zur eindeutigen Zuordnung des Signals bei 1,5 ppm wurde das Stickstoffproton gegen Deuterium ausgetauscht. Wie erwartet war das Signal bei 1,5 ppm aufgrund der Substitution nicht mehr auffindbar.

Vergleicht man die erhaltenen Verschiebungswerte mit Literaturangaben zu anderen Technetiumkomplexen der Oxidationsstufe +5, so weist der vorliegende Komplex keine Besonderheiten auf. Literaturwerte vergleichbarer Komplexe liegen im Bereich von 1,9 bis 4,68 ppm.⁽⁹²⁻⁹⁵⁾ Die Verschiebungswerte des vorliegenden Komplexes stützen die An-

nahme der Oxidationsstufe +5, da Technetiumkomplexe anderer Oxidationsstufen häufig δ -Werte unterhalb 0 ppm oder deutlich oberhalb 9 ppm zeigen.

Zu Vergleichszwecken wurde ein $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum des freien Liganden aufgenommen.

Nach Neutralisation des N,N-Bis(2-Mercaptoethyl)ethyldiamin-Hydrochlorids mit Natronlauge wurde mit Chloroform extrahiert und das Lösungsmittel anschließend destillativ im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde in Deuteriochloroform aufgenommen und von der so erhaltenen Lösung ein $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum aufgenommen.

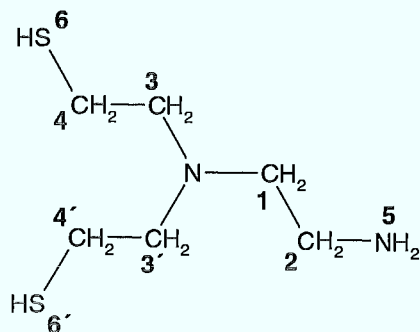


Abbildung 23: Numerierung der Protonen des N,N-Bis(2-Mercaptoethyl)ethyldiamins zur Zuordnung der gemessenen ^1H -Resonanzen

Tabelle 18: Gemessene $^1\text{H-NMR}$ -Verschiebungen des freien Liganden N,N-Bis(2-Mercaptoethyl)ethyldiamin

Nr.	δ	Integral	Protonen	Aufspaltung
1	2,64 ppm	67 mm	8	Multipllett
2				
3, 3'				
4, 4'	2,76 ppm	35 mm	4	Tripllett
5	1,75 ppm	35 mm	4	Singulett
6, 6'				

Diskussion des $^1\text{H-NMR-Spektrums}$

Das Spektrum zeigt ein Triplett, ein Singulett und einen Multiplättbereich. Da es in aprotischen Lösungsmitteln nicht zur Bildung von Wasserstoffbrückenbindungen zwischen freiem Ligand und Lösungsmittel kommen kann, ist mit inter- und intramolekularen Wasserstoffbrückenbindungen des Liganden zu rechnen. Die hierauf beruhende eingeschränkte freie Drehbarkeit der CH_2 -Gruppen führt zu Multiplättstrukturen.

Das bereits zur $^1\text{H-Spektreninterpretation}$ des Technetiumkomplexes eingesetzte Inkrementsystem wurde auch für den freien Liganden verwendet.

Protonen zu Nr. 1:

$$1,25 \text{ ppm} + 1,0 \text{ ppm (Amin)} + 0,2 \text{ ppm (Korr}_2) = \mathbf{2,45 \text{ ppm}}$$

Protonen zu Nr. 2:

$$1,25 \text{ ppm} + 1,0 \text{ ppm (Amin)} + 0,4 \text{ ppm (Korr}_5) = \mathbf{2,65 \text{ ppm}}$$

Protonen zu Nr. 3, 3':

$$1,25 \text{ ppm} + 1,0 \text{ ppm (Amin)} + 0,4 \text{ ppm (Korr}_1) = \mathbf{2,65 \text{ ppm}}$$

Protonen zu Nr. 4, 4':

$$1,25 \text{ ppm} + 1,3 \text{ ppm (Schwefel)} + 0,2 \text{ ppm (Korr}_2) = \mathbf{2,75 \text{ ppm}}$$

Tabelle 19: Gemessene und berechnete $^1\text{H-NMR-Verschiebungswerte}$ des N,N-Bis(2-Mercaptoethyl)-ethylendiamins

Atom Nr.	δ gemessen	δ berechnet	Protonen
1	2,64 ppm	2,45 ppm	2
2	2,64 ppm	2,65 ppm	2
3, 3'	2,64 ppm	2,65 ppm	4
4, 4'	2,76 ppm	2,75 ppm	4

Bis auf die Methylenprotonen zu Nr. 1 ergibt sich eine gute Übereinstimmung der berechneten mit den gemessenen Werten (Tabelle 19). Es ist davon auszugehen, daß die Abweichung für diese Protonen im Zusammenhang mit den bereits erwähnten inter- und intramolekularen Wasserstoffbrückenbindungen steht, deren Einfluß nur schwer rechnerisch zu berücksichtigen ist.

Das gemeinsame Signal der NH₂- und SH-Protonen setzt einen schnellen Austausch der Schwefel- und Stickstoffprotonen untereinander voraus. Entsprechende Protonenaustauschreaktionen sind durch die bereits erwähnten inter- bzw. intramolekularen Wasserstoffbrückenbindungen zu erklären.

3.3.11 Infrarotspektroskopie⁽⁸⁰⁻⁸⁴⁾

Der Komplex wurde im KBr-Preßling gegen Luft gemessen.

Tabelle 20: Zuordnung der gemessenen Infrarotbanden des N,N-Bis(2-Mercaptoethyl)ethylendiamin-oxotechnetium(V)-Komplexes

Wellenzahl	Zuordnung	Literatur	Anmerkung
3415 cm ⁻¹	N-H	3550- 3350 cm ⁻¹	N-H v-Schwingung
2915 cm ⁻¹ und		2925 cm ⁻¹ und	CH ₂ v-Schwingung
2850 cm ⁻¹	-CH ₂ -	2850 cm ⁻¹	CH ₂ v-Schwingung
1887 cm ⁻¹	NR ₄ ⁺	2050 - 1800 cm ⁻¹	-
1589 cm ⁻¹	N-H	1650 - 1560 cm ⁻¹	N-H δ-Schwingung
1449 cm ⁻¹	-CH ₂ -	1470 - 1400 cm ⁻¹	CH ₂ δ-Schwingung
1268 cm ⁻¹	C-S	1400 - 1280 cm ⁻¹	-
1098 cm ⁻¹	C-N	1300 - 900 cm ⁻¹	C-N v-Schwingung
910 cm ⁻¹	Tc=O	900 - 1020 cm ⁻¹	Tc=O v-Schwingung
729 cm ⁻¹	-CH ₂ -	780 - 720 cm ⁻¹	CH ₂ δ-Schwingung
715 cm ⁻¹	C-S	800 - 600 cm ⁻¹	-

Neben der problemlosen Zuordnung der Ligandbanden war vor allem die Existenz der Tc=O-Bande von entscheidender Bedeutung für die Strukturbeschreibung des Komplexes. Darüber hinaus ist in Komplexen mit organischen Liganden das Vorhandensein eines Tc=O-Cores oft ein Charakteristikum für die Oxidationsstufe +5 des Technetiums.^(38,92,95)

3.3.12 Diskussion der analytischen Ergebnisse

Die eindeutige ¹H-NMR-Zuordnung zeigt, daß es zur Komplexbildung zwischen Technetium und N,N-Bis(2-Mercaptoethyl)ethylendiamin gekommen war. Während das ausschließliche Auftreten von Multipletts im ¹H-NMR-Spektrum für eine tricyclische Struktur spricht, legt die Existenz eines Tc=O-Cores die Oxidationsstufe +5 des Komplexes nahe. Es ist somit anzunehmen, daß der beschriebene Komplex erhalten wurde.

Zur Ladungsbestimmung des Komplexes wurden Ionentauscherexperimente und elektrophoretische Untersuchungen durchgeführt.

3.3.13 Ladungsbestimmung des N,N-Bis(2-Mercaptoethyl)ethylendiamin-oxotechnetium(V)-Komplexes

3.3.13.1 Ionentauscherexperimente

Da der Komplex als konzentrierte Lösung auf die Ionentauschersäule aufgegeben werden sollte, wurden zunächst Lösungsversuche durchgeführt. Ein geeignetes Lösungsmittel sollte einerseits den Komplex lösen und andererseits die beim Ionenaustausch freiwerdenden Ionen aufnehmen können. Die bisher verwendeten Komplexlösungsmittel Chloroform und Methylenchlorid kamen folglich nicht in Frage. Außer einer geringen Löslichkeit in Wasser war der Komplex in den beiden folgenden Lösungsmittelgemischen gut löslich:

- Aceton/Ethanol: Mischungsverhältnis 1 / 1 (v/v)
- Ethanol/Wasser: Mischungsverhältnis 1 / 1 (v/v)

Da es die besseren Voraussetzungen zum Lösen freiwerdender Ionen mitbringt, wurde das Lösungsmittelgemisch Ethanol/Wasser (Mischungsverhältnis 1/1) als Eluens ausgewählt. Als Kationen- und Anionentauschermaterialien wurden Produkte der Firma Biorad verwendet:

- Kationentauscher: AG-MP-50 100-200 mesh Na⁺-Form
- Anionentauscher: AG-MP-1 100-200 mesh Cl⁻-Form

Von zwei 25 cm-Flüssigkeitschromatographiesäulen wurde eine mit Kationen- und die andere mit Anionentauschermaterial befüllt. Beide Säulen wurden vor Gebrauch mit dem Eluens konditioniert. 2 ml Methylenchloridkomplexlösung wurden im Vakuum destillativ zur Trockne gebracht und der verbleibende Rückstand in 1 ml Eluens so weit wie möglich gelöst. Die unlöslichen Bestandteile wurden über einen Sartorius RC 25 Spritzenfilter abgetrennt und das Filtrat auf die Anionentauschersäule gegeben. Da der Komplex ohne merkliche Wechselwirkung mit dem Anionentauschermaterial von der Säule eluiert wurde, konnte dies als Hinweis auf einen nichtanionischen Komplex gewertet werden.

Das Kationentauscherexperiment wurde analog zum Anionentauscherexperiment durchgeführt. Nach Auftragung der Komplexlösung auf die Kationentauschersäule kam es am Kopf der Säule zur Ausbildung eines violettbraunen Bereichs, dessen Position sich auch nach einstündigem Eluieren nicht verändert hatte.

Ebenso wie das als völlig neutral geltende TcO-L,L-ECD enthält der Tripodandkomplex Aminkomponenten. Da demnach beide Komplexe protonierbar sind, kann aufgrund des beobachteten Verhaltens nicht zweifelsfrei auf ein Komplekxkation geschlossen werden. Der Komplex sollte folglich im Basischen wieder von der Säule zu eluieren sein. Die experimentelle Bestätigung gelang mit dem Eluens, dessen pH-Wert mit Natronlauge auf 14 eingestellt worden war.

Kationentauschersäulen lassen sich mit Eluenten hoher Na⁺-Ionenkonzentration wieder regenerieren, wobei die gebundenen Kationen von den im Überschuß vorliegenden Na⁺-Ionen verdrängt werden. Da die Elution des Komplexes somit auch als Verdrängung des Komplekxkations interpretiert werden konnte, waren eindeutige Aussagen zur Ladungsneutralität des Komplexes aufgrund des Kationentauscherexperiments nicht möglich. Zur Klärung der Komplexladung wurden Elektrophoreseuntersuchungen durchgeführt.

3.3.13.2 Elektrophoreseuntersuchungen des *N,N*-Bis(2-Mercaptoethyl)ethylendiamin-oxotechnetium(V)-Komplexes

Zur Berücksichtigung von Protonierungseinflüssen wurde der Komplex bei pH 7, pH 8 und pH 9 elektrophoretisch untersucht. Die Flachbettelektrophorese wurde in einer Desaga Desaphor-Kammer bei exakt 18°C unter Argon durchgeführt. Als Elektrolyte wurden Borat-Puffer-Methanolgemische eingesetzt, die wie folgt erhalten wurden:

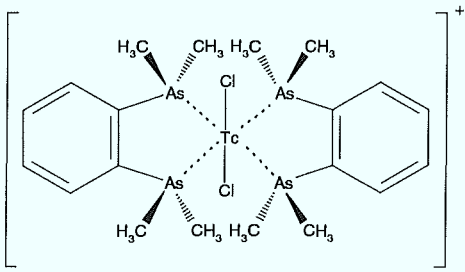
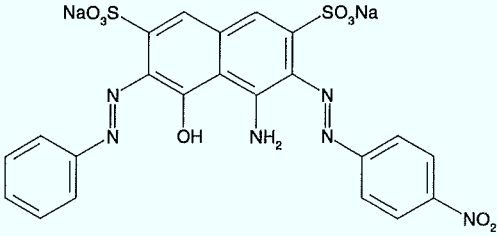
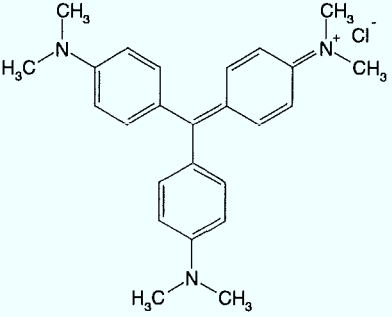
Ein Gemisch aus 37,2 g H_3BO_3 , 24 g NaOH und 44,76 g KCl wurde in 6 Liter H_2O gelöst und mit 1 N HCl auf pH 8 eingestellt. Die Lösung wurde auf drei Gefäße verteilt. Um Lösungen der pH-Werte 7, 8 und 9 zu erhalten, wurden zwei der Lösungen mittels 1N HCl und 1N NaOH auf pH 7 bzw. pH 9 gebracht. Ausgehend von diesen Pufferlösungen wurden durch Methanolzugabe Pufferlösung - Methanolgemische im Verhältnis 40/60 (v/v) hergestellt.

Als Trägermaterial wurde handelsübliches Fließpapier der Firma Schleicher und Schüll verwendet. Die stabilisierte Spannung von 500 Volt wurde durch ein Desaga Desatronic 2000/300-Netzteil bereitgestellt. Neben dem Komplex wurden drei Referenzsubstanzen mit definierter Ladung vermessen (Tabelle 21).

Zur Auftragung wurden gesättigte Lösungen verwendet, wobei die Referenzsubstanzen in Ethanol und der Komplex in Methylenchlorid vorlagen. Auf das trockene Trägermaterial wurden zwei Substanzflecke des Komplexes und je ein Substanzfleck der Referenzsubstanzen aufgetragen. Nach vollständiger Trocknung der Auftragungsbereiche wurde das Fließpapier angefeuchtet und unter Vermeidung von Luftblasen auf die Kühlplatte der Apparatur aufgebracht. Das Fließpapier wurde so plaziert, daß das eine Ende in das Anodenbecken und das andere Ende in das Kathodenbecken der Apparatur tauchte. Papier und Elektroden waren mittels Diffusionssperren räumlich voneinander getrennt.

Da ein Austrocknen des Fließpapiers während der Messung in jedem Fall zu vermeiden ist, war die Apparatur mit einer Plexiglashaube abgedeckt und die Papieraufgabe mit einer Kühlvorrichtung versehen.

Tabelle 21: Struktur der Referenzsubstanzen für die Elektrophorese

<p>1. $[^{99}\text{Tc}(\text{DIARS})_2\text{Cl}_2]^+$ als eindeutig kationischer Technetiumkomplex</p>	
<p>2. Naphtholblauschwarz B (Amidoschwarz) als eindeutig anionischer organischer Farbstoff</p>	
<p>3. Kristallviolett (Methylviolett) als eindeutig kationischer organischer Farbstoff</p>	

Die eigentliche Elektrophoresephase dauerte für jede der drei Messungen 2 Stunden. Nach Ablauf dieser Zeit wurde wie folgt ausgewertet:

Das gut getrocknete Fließpapier wurde entlang der Laufrichtung der Tc-Komplexe mit einer konstanten Geschwindigkeit von $1 \text{ cm} \cdot \text{min}^{-1}$ unter der Meßsonde eines Telefunken Strahlungsmonitors vom Typ MS Str 558/2 vorbeigeführt. Das Fenster der Sonde war für die Auswertung zu einem Meßschlitz verengt worden. Die Impulsraten wurden von einem ABB-Schreiber in einem Weg-Zeit-Diagramm aufgezeichnet.

Zur mathematischen und graphischen Auswertung der Meßdaten wurde die Tabellenkalkulationssoftware Excel 4.0/5.0 der Firma Microsoft verwendet.

Die einzelnen Meßwerte ergaben sich aus der gemessenen Impulsrate in Abhängigkeit von der Distanz zum Startpunkt der Elektrophorese, wobei in Abständen von 5 mm

ausgewertet wurde. Die beiden Laufstrecken des Tripodandkomplexes wurden ebenso wie die Laufstrecke des Referenzkomplexes je dreimal gescannt. Nach Nullwertkorrektur wurden die einzelnen Meßwerte in Relation zur Gesamtaktivität gesetzt, wodurch die Meßergebnisse als Prozentangaben anfielen. Aufgrund doppelter Auftragung ergaben sich für den Tripodandkomplex 6 Aktivitätsmeßwerte und für den Referenzkomplex aufgrund einfacher Auftragung 3 Aktivitätsmeßwerte pro Distanzpunkt. Für jeden Meßwert wurden Mittelwert und Standardabweichung bestimmt.

Das Ergebnis der elektrophoretischen Untersuchungen stellt sich wie folgt dar:

Sowohl der kationische als auch der anionische organische Farbstoff bewegten sich entsprechend ihrer Ladung deutlich in die erwarteten Richtungen, was aufgrund der intensiven Färbungen problemlos zu verfolgen war. Die Migration der beiden Technetiumkomplexe war rein optisch nur schwer wahrnehmbar. Um so eindeutiger war das Ergebnis der meßtechnischen Auswertung des Trägermaterials.

Während sich der Referenzkomplex bei pH 7, pH 8 und pH 9 deutlich auf die Kathode zu bewegt hatte (Abbildung 25 und Abbildung 27), konnte für den Tripodandkomplex nur für pH 7 (Abbildung 24) eine leichte Wanderungstendenz zur Kathode hin beobachtet werden. Mit steigendem pH-Wert nahm die Migrationsneigung des Tripodandkomplex deutlich ab. Während bei pH 8 (Abbildung 26) nur noch minimale Mengen des Komplexes zur Kathode wanderten, ging die entsprechende Menge für pH 9 noch weiter zurück.

Beim Tripodandkomplex handelt sich demnach nicht um ein Komplekation. Es ist davon auszugehen, daß die geringe Wanderungstendenz bei pH 7 einer leichten Protonierungsneigung des Komplexes zuzuschreiben ist. Da der Komplex ebenso wie TcO-L,L-ECD zwei Aminfunktionen enthält, ist dieses Verhalten zu erwarten. Es kann demnach ein Neutralkomplex mit leicht basischen Eigenschaften angenommen werden.

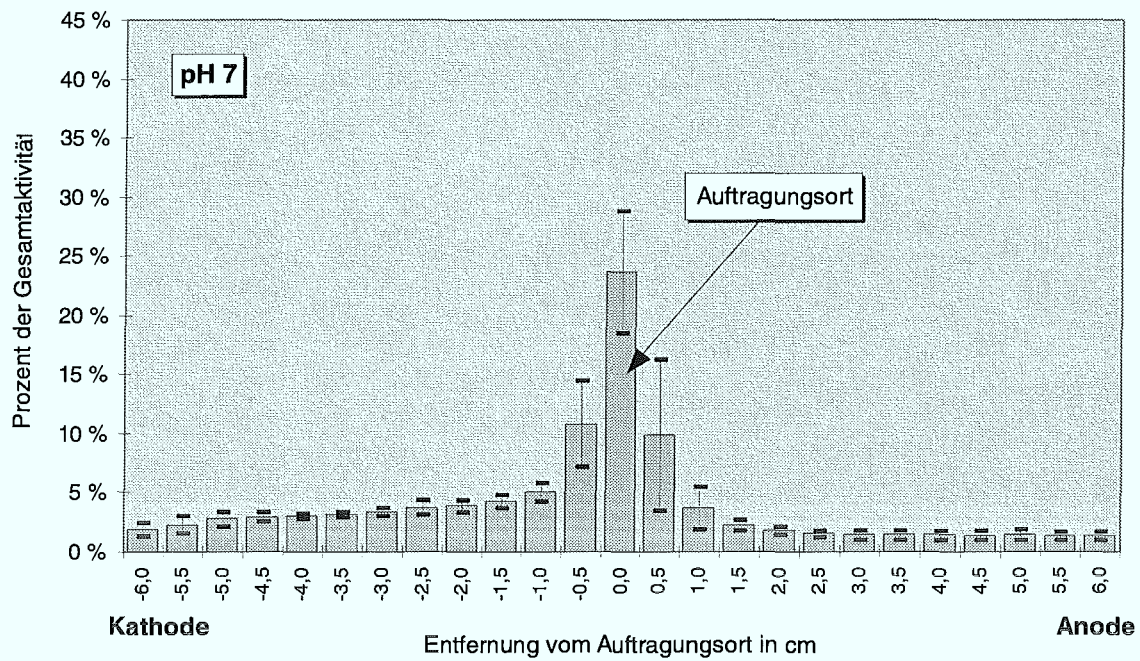


Abbildung 24: Elektrophorese des N,N-Bis(2-Mercaptoethyl)ethylenediamin-oxotechnetium(V)-Komplexes bei pH 7

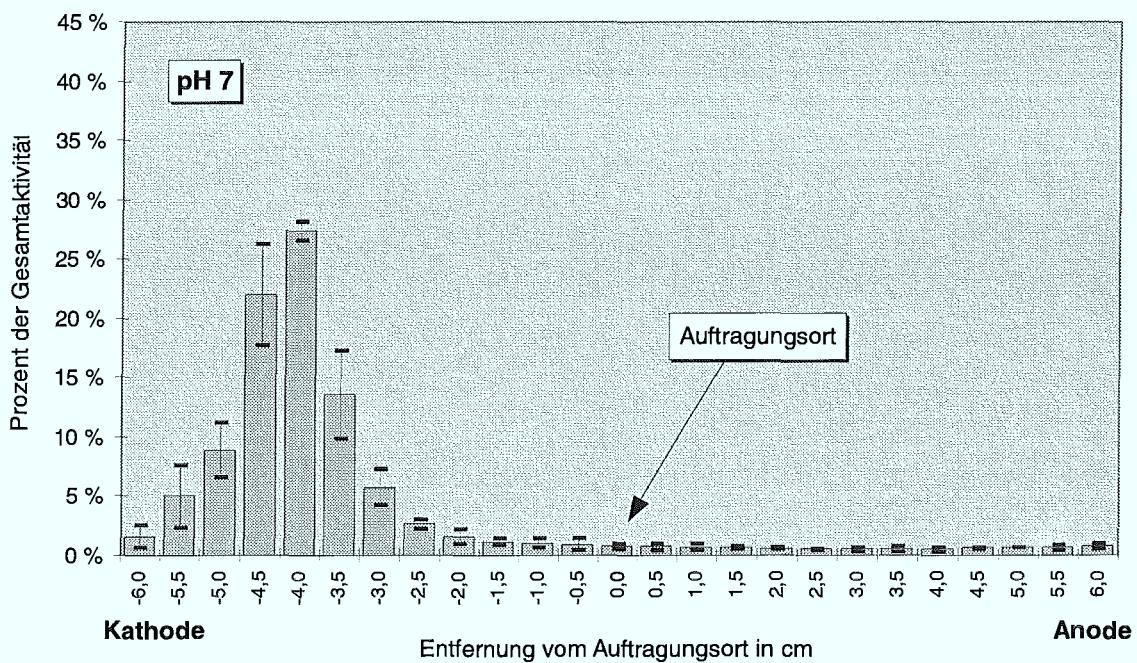


Abbildung 25: Elektrophorese des $[^{99}\text{Tc}(\text{DIARS})_2\text{Cl}_2]^+$ -Komplexes als Referenzsubstanz bei pH 7

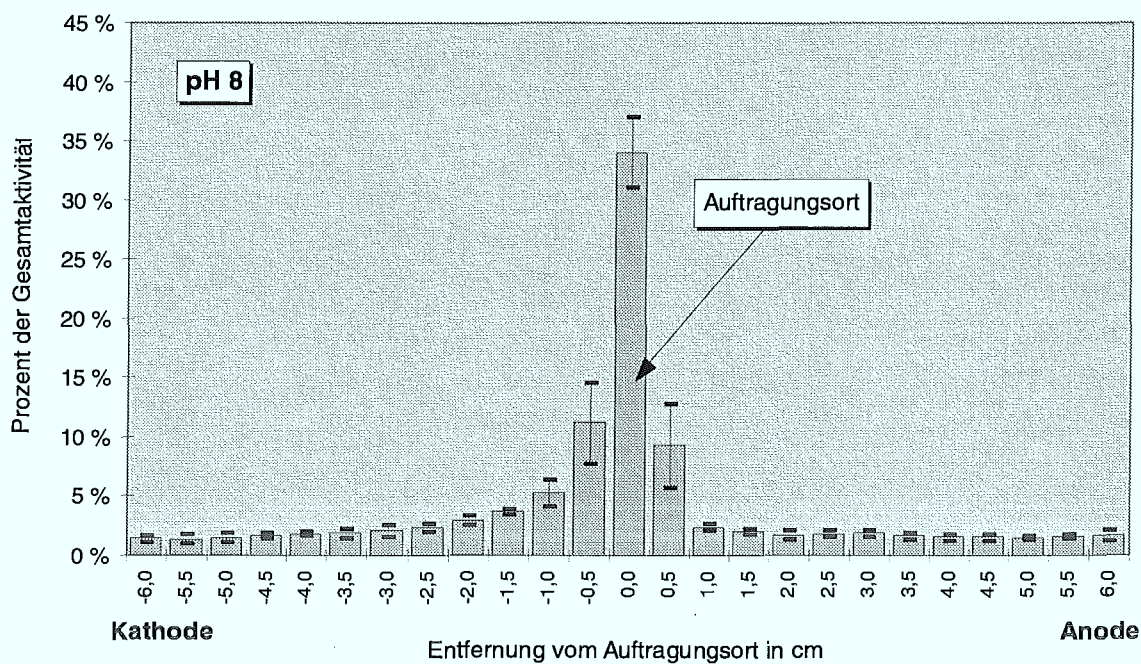


Abbildung 26: Elektrophorese des N,N-Bis(2-Mercaptoethyl)ethylen-diamin-oxotechnetium(V)-Komplexes bei pH 8

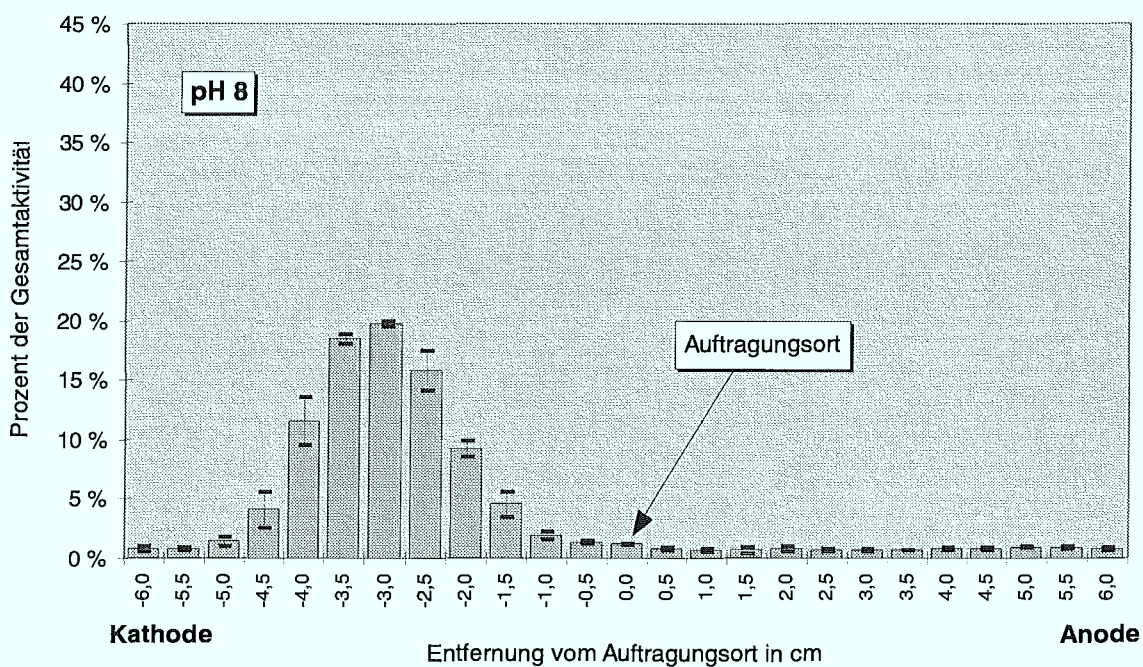


Abbildung 27: Elektrophorese des $[^{99}\text{Tc}(\text{DIARS})_2\text{Cl}_2]^+$ -Komplexes als Referenzsubstanz bei pH 8

3.4 Darstellung des Phenylalanin-Tripodandkonjugats

3.4.1 Syntheseplanung⁽⁹⁶⁻¹¹⁴⁾

Da zur Darstellung des Phenylalanin-Tripodandkonjugats eine Bindungsknüpfung zwischen dem bereits synthetisierten Tripodanden und Phenylalanin nicht möglich war, mußte das Molekül in einer Totalsynthese neu aufgebaut werden. Planungstechnisch waren die folgenden Kriterien zu beachten:

- Enantioselektive Synthese des L-Phenylalaninderivats
- Schutz funktioneller Gruppen
- Regioselektive Reaktionsführung
- Konvergente Syntheseführung
- Selektive Abspaltbarkeit der Schutzgruppen
- Maximale Ausbeute der einzelnen Reaktionsstufen

Es wurde der in Abbildung 28 gezeigte siebenstufige Syntheseplan erarbeitet bzw. im Laufe der experimentellen Arbeiten modifiziert. Folgende Punkte verdienen besondere Beachtung:

1. Da nur L-Phenylalanin vom Organismus metabolisiert wird, war eine enantioselektive Reaktionsführung erforderlich. Basierend auf Arbeiten von Seebach *et al.* wurde die Aminosäurekomponente des Moleküls entsprechend Stufe 4 des Syntheseplans enantioselektiv aufgebaut.
2. Die für die Synthese des N,N-Bis(2-Mercaptoethyl)ethylendiamins verwendete Benzylschutzgruppe konnte nicht eingesetzt werden, da deren Abspaltung zur Zerstörung des Moleküls geführt hätte. Nach entsprechenden Vorversuchen erwies sich die Tritylschutzgruppe als am besten geeignet. Jedoch mußte aufgrund der hohen sterischen Ansprüche dieser Gruppe mit einer Abschirmung des reaktiven Zentrums bei Stufe 3 und 4 gerechnet werden, was eine angepaßte Reaktionsführung erforderlich machte.
3. Der ursprüngliche Syntheseplan sah den mit 3', 4' und 5' gekennzeichneten Weg vor. Da eine selektive benzyliche Bromierung entsprechend Stufe 5', jedoch nicht realisierbar war, mußte der ursprüngliche Syntheseplan modifiziert werden.

4. Stufe 3 war ausschließlich propionsäurekatalysiert durchführbar.
5. Als extrem verlustreich erwies sich Reaktionsschritt Nr. 5, da zum Auffinden eines geeigneten, selektiven Reduktionsmittels fast 90 % an Edukt verbraucht wurden.
6. Die Reaktionsschritte 5 bis 7 mußten vollständig unter Schutzgas durchgeführt werden.
7. Aufgrund der erheblichen Molekülgröße war die Kristallisation einiger Produkte stark behindert bzw. unmöglich. Es konnten in diesen Fällen nur amorphe Gemische erhalten werden.

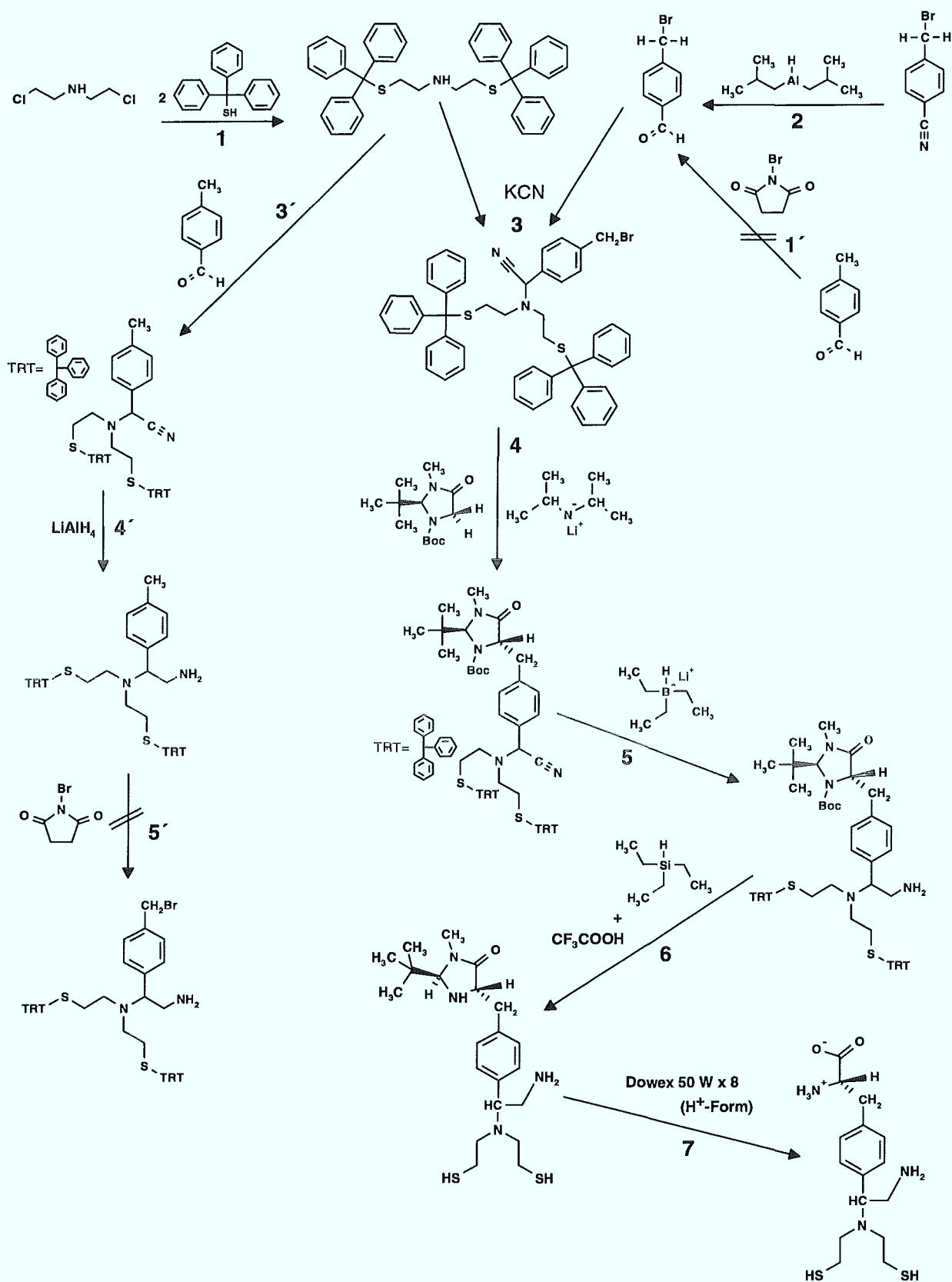


Abbildung 28: Synthesepfad der (S)-2-Amino-3-{4-[2-amino-1-bis-(2-mercaptoethyl)-amino-ethyl]-phenyl}-propionsäure

3.4.2 Bis(2-Tritylthioethyl)amin

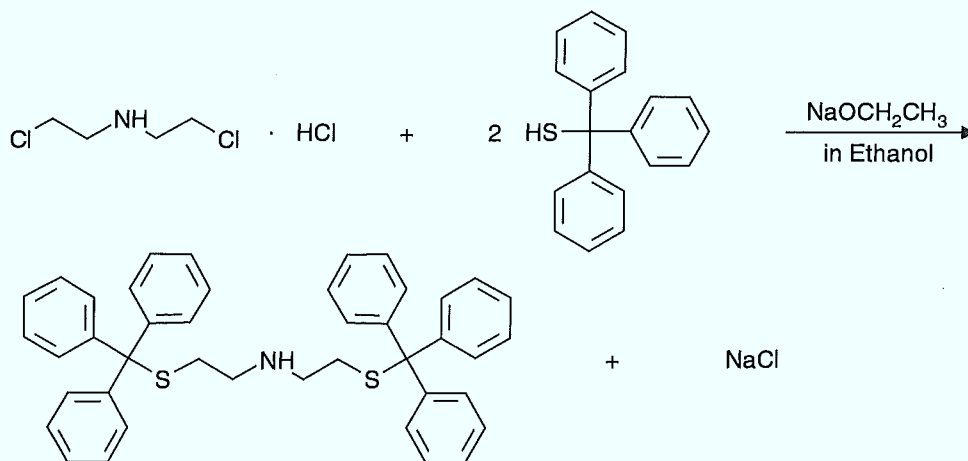


Abbildung 29: Darstellung des Bis(2-Tritylthioethyl)amins

Ansatz:

Bis(2-Chlorethyl)amin-Hydrochlorid:	79,43 g	(0,445 mol)
Tritylmercaptan:	248,76 g	(0,9 mol)
Natrium:	30,93 g	(1,345 mol)
Ethanol:	960 ml	
HCl (konz.):	40,2 ml	

Durchführung:

Natriumethanolatdarstellung:

Zu 30,93 g feinzerkleinertem Natrium wurden unter Rückfluß und kräftigem Rühren 520 ml Ethanol getropft. Nach zweistündigem Rühren bei Raumtemperatur wurde 1 Stunde unter Rückfluß zum Sieden erhitzt.

Umsetzung:

In einem mit P₂O₅-Trockenrohr versehenem thermostatisierbaren 2 l Reaktionsgefäß wurden 79,43 g Bis(2-Chlorethyl)amin-Hydrochlorid und 248,76 g Tritylmercaptan in 440 ml Ethanol suspendiert. Innerhalb einer Stunde wurde die zuvor hergestellte Natriumethanolatlösung unter kräftigem Rühren zugetropft. Die Reaktionssuspension wurde währenddessen auf exakt 5 °C gehalten. Es wurde 2 ½ Stunden unter Rückfluß und kräftigem Rühren auf 83 °C gehalten und anschließend unter Rühren auf Raumtemperatur abkühlen gelassen.

Die Reaktionssuspension wurde dekantiert und der an Gefäßboden und -wand haftende schwefelgelbe Rückstand (Rückstand 1) zunächst im verschlossenen Gefäß belassen. Es wurde durch eine 4rer Fritte abgesaugt, viermal mit Ethanol gewaschen und das Produkt wie folgt aus dem Filtrerrückstand herausgewaschen:

Der Rückstand wurde in Essigsäureethylester suspendiert, ca. 5 Minuten unter kräftigem Rühren und Rückfluß zum Sieden erhitzt und durch eine 4rer Fritte abgesaugt. Diese Prozedur wurde zweimal wiederholt.

Die Filtrate wurden vereinigt, langsam auf Raumtemperatur abgekühlt und zur quantitativen Kristallisation mehrere Tage stehengelassen. Nach dieser Zeit wurde dekantiert und der Feststoff viermal mit Ethanol gewaschen. Es wurde im Exsikkator bei ca. 10^{-2} Torr 24 Stunden über P_2O_5 getrocknet.

Der im Reaktionsgefäß verbliebene gelbe Feststoff (Rückstand 1) wurde in 350 ml Benzen suspendiert und durch eine 4rer Fritte abgesaugt. Das Filtrat wurde destillativ auf ca. 100 ml eingeeengt und mit 350 ml Ethanol versetzt. Nach 24stündigem Stehenlassen bei Raumtemperatur wurde das Präzipitat aus Kristallen und gelbem Öl abgetrennt und aus Essigsäureethylester umkristallisiert. Zur quantitativen Kristallisation des Produkts waren mehrere Tage erforderlich.

Nach Absaugen durch eine 4rer Fritte wurde viermal mit Ethanol gewaschen. Es wurde 24 Stunden im Exsikkator bei ca. 10^{-2} Torr über P_2O_5 getrocknet. Beide Produktchargen wurden DC-rein erhalten (stationäre Phase: Kieselgel 60 F-254; mobile Phase: Essigsäureethylester/Heptan Mischungsverhältnis 2/3 (v/v); Entwicklung mit 0,2%iger ethanolischer Ninhydrinlösung).

Ausbeute: 109,0 g (39,4 %)

Schmelzpunkt: 130,6 °C

3.4.2.1 ¹H-NMR-Spektroskopie^(81,85-91)

Tabelle 22: Zuordnung der gemessenen ¹H-NMR-Verschiebungswerte des Bis(2-Tritylthioethyl)amins

Gruppe	δ	Integral	Protonen	Aufspaltung
Trityl-	7,35 ppm	45 mm	30	Multiplett
-CH ₂ -S-	2,31 ppm	6 mm	4	Triplett
-CH ₂ -N-	2,30 ppm	6 mm	4	Triplett
-NH-	1,35 ppm	3 mm	1	Singulett

Das ¹H-NMR-Spektrum wurde in Deuteriochloroform aufgenommen. Die eindeutige Signal- und Integralzuordnung bestätigt Zusammensetzung und Struktur des Produkts.

3.4.2.2 Infrarotspektroskopie⁽⁸⁰⁻⁸⁴⁾

Das Produkt wurde im KBr-Preßling gegen Luft gemessen.

Tabelle 23: Zuordnung der gemessenen Infrarotbanden des Bis(2-Tritylthioethyl)amins

Wellenzahl	Zuordnung	Anmerkung
3440 cm ⁻¹	N-H	N-H v-Schwingung
3050 cm ⁻¹	Aromat	C-H v-Schwingung
2920 cm ⁻¹	CH ₂ -Gruppe	C-H v-Schwingung
1442 cm ⁻¹ und 1488 cm ⁻¹	Aromat	C=C v-Schwingung
1114 cm ⁻¹	C-N	C-N v-Schwingung
699 cm ⁻¹ und 742 cm ⁻¹	Aromat	C-H δ -Schwingung (charakteristisches Muster für monosubstituierte Aromaten)
621 cm ⁻¹	C-S	C-S v-Schwingung

Die gemessenen IR-Banden entsprechen der erwarteten Produktstruktur und -zusammensetzung.

3.4.3 4-Brommethylbenzaldehyd

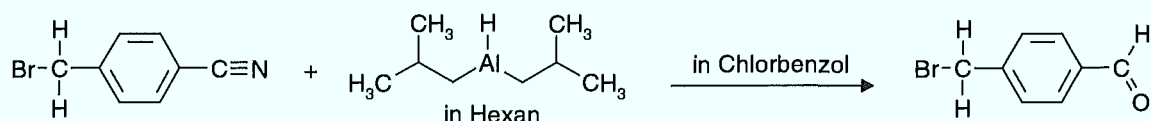


Abbildung 30: Darstellung des 4-Brommethylbenzaldehyds

Ansatz:

4-Brommethylbenzonitril:	6 g	(30,6 mmol)
Diisobutylaluminiumhydrid:	5,23 g	(36,8 mmol)
Chlorbenzol:	60 ml	

Durchführung:

Zu einer Lösung aus 6 g 4-Brommethylbenzonitril in 60 ml Chlorbenzol wurden bei 0 °C unter kräftigem Rühren innerhalb von 25 Minuten 5,23 g in 36,8 ml Hexan gelöstes Diisobutylaluminiumhydrid getropft. Nach einstündigem, kräftigem Rühren bei 0 °C wurde die Reaktionslösung in einen 500 ml Schütteltrichter überführt. Zunächst wurden 100 ml Chloroform und anschließend 100 ml 10 %ige HCl zugegeben. Nach zehnminütigem, kräftigem Schütteln wurde die organische Phase abgetrennt und die wäßrige Phase noch zweimal mit je 50 ml Chloroform gewaschen. Die organischen Phasen wurden vereinigt und mit Na₂SO₄ getrocknet. Das Lösungsmittel wurde destillativ im Vakuum entfernt und das bereits kristalline Produkt aus ca. 15 ml Benzol umkristallisiert. Es wurde durch eine 4rer Fritte abgesaugt, dreimal mit Diethylether gewaschen, und das aus weißen Nadeln bestehende Produkt bei 10⁻² Torr getrocknet.

Ausbeute: 3,1 g (50,1 %)

Schmelzpunkt: 97,7 °C

3.4.3.1 $^1\text{H-NMR-Spektroskopie}$ ^(81,85-91)

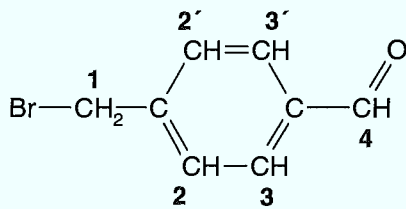


Abbildung 31: Numerierung der Protonen des 4-Bromomethylbenzaldehyds zur Zuordnung der gemessenen $^1\text{H-Resonanzen}$

Tabelle 24: Zuordnung der gemessenen $^1\text{H-NMR-Verschiebungen}$ des 4-Bromomethylbenzaldehyds

Nr.	δ	Integral	Protonen	Aufspaltung
1	4,52 ppm	40 mm	2	Singulett
2, 2'	7,05 ppm	40 mm	2	Duplett mit Feinstruktur
3, 3'	7,85 ppm	40 mm	2	Duplett mit Feinstruktur
4	10,025 ppm	18 mm	1	Singulett

Das $^1\text{H-NMR-Spektrum}$ wurde in Deuteriochloroform aufgenommen. Von besonderer Bedeutung waren das Carbonyl- und das CH_2Br -Signal. Während das Carbonylsignal bei 10,025 ppm ein Beweis für die Umsetzung der Cyanogruppe zur Carbonylgruppe war, konnte aufgrund des CH_2Br -Signals bei 4,52 ppm davon ausgegangen werden, daß die CH_2Br -Gruppe wie gefordert nicht reagiert hatte.

Anhand der eindeutigen Signal- und Integralzuordnung konnten somit Zusammensetzung und Struktur des Produkts bestätigt werden.

3.4.4 N,N-Bis(2-Tritylthioethyl)-2-amino-2-(4-brommethylphenyl)acetonitril

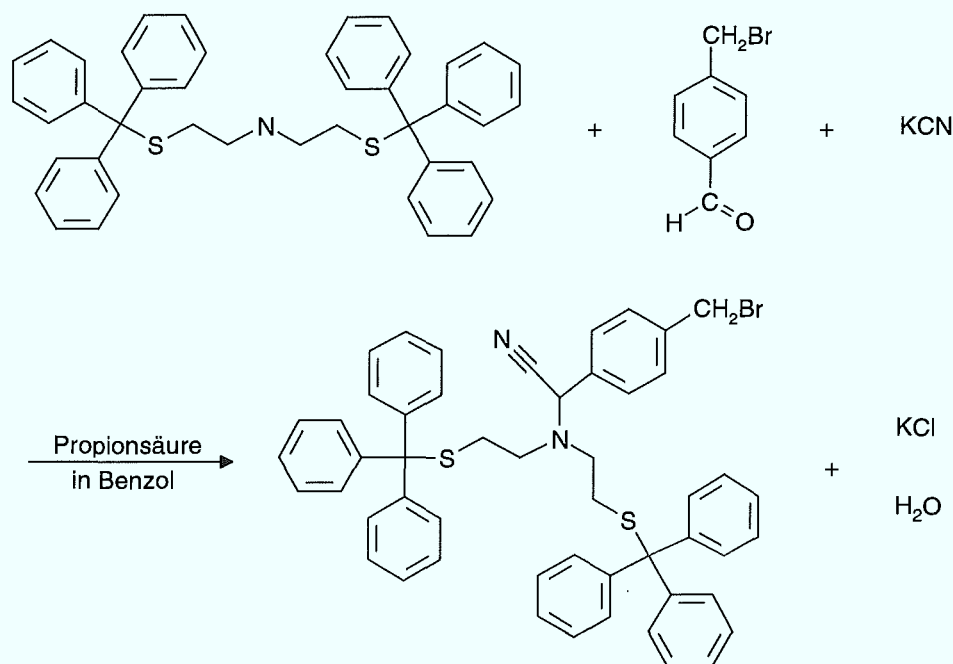


Abbildung 32: Darstellung des N,N-Bis(2-Tritylthioethyl)-2-amino-2-(4-brommethylphenyl)acetonitrils

Ansatz:

4-Brommethylbenzaldehyd:	1 g	(5 mmol)
Bis(2-Tritylthioethyl)amin:	1,77 g	(2,84 mmol)
Kaliumcyanid:	0,26 g	(3,94 mmol)
Propionsäure:	2,5 ml	(33,5 mmol)
Benzol:	15 ml	
Natriumhydrogensulfit (38-40 %ige Lsg.):	3 ml	(15,5 mmol)

Durchführung:

Nach Zugabe von 0,26 g feingemörsertem Kaliumcyanid zu einer Lösung aus 1,77 g Bis(2-Tritylthioethyl)amin in 7 ml Benzol wurden 2,5 ml Propionsäure langsam unter kräftigem Rühren zugetropft. Innerhalb von 10 Minuten wurde unter weiterem kräftigem Rühren der in 6 ml Benzol gelöste 4-Brommethylbenzaldehyd zugetropft. Es wurde mit 2 ml Benzol nachgespült und 5 Tage bei Raumtemperatur gerührt.

Anschließend wurde dreimal mit je 40 ml 1 N NaOH gewaschen. Zur Abtrennung des überschüssigen Brommethylbenzaldehyds wurde dreimal mit je 3 ml 38-40 %iger Natriumhydrogensulfidlösung gewaschen, wobei jedesmal mindestens 20 Minuten kräftig geschüttelt wurde. Nach 12stündigem Trocknen mit Na₂SO₄ wurde die organische Phase über einen Sartorius RC 15 Spritzenfilter gegeben. Das Lösungsmittel wurde destillativ im Vakuum entfernt und das erhaltene, fast glasartige Öl in der Siedehitze in 70 ml absolutiertem Ethanol gelöst.

30% des Lösungsmittels wurden anschließend destillativ im Vakuum entfernt und die entstandene Suspension so lange unter Rückfluß zum Sieden erhitzt bis wieder eine klare Lösung entstanden war. Die noch heiße Lösung wurde möglichst schnell über einen Sartorius RC 25 Spritzenfilter gegeben und das Filtrat mindestens 8 Stunden im Kühlschrank stehen gelassen. Es wurde durch eine 5er Fritte abgesaugt, zweimal mit kaltem Ethanol gewaschen und der weiße Rückstand 24 Stunden im Exsikkator bei 10⁻² Torr getrocknet.

Ausbeute: 1,12 g (47 %)

3.4.4.1 ¹H-NMR-Spektroskopie^(81,85-91)

Tabelle 25: Zuordnung der gemessenen ¹H-NMR-Verschiebungen des N,N-Bis(2-Tritylthioethyl)-2-amino-2-(4-brommethylphenyl)acetonitrils

Gruppe	δ	Integral	Protonen	Aufspaltung
alle aromatischen Protonen	7,275 ppm	200 mm	34	Multipllett
-CHR-CN	4,5 ppm	5,5 mm	1	Singulett
-CH ₂ -Br	4,475 ppm	10,5 mm	2	Singulett
-CH ₂ -S- und -CH ₂ -N-	2,225 ppm	42 mm	8	Tripllett

Das ¹H-NMR-Spektrum wurde in Deuteriochloroform aufgenommen. Von besonderer Bedeutung war das CHR-CN-Signal bei 4,5 ppm und das CH₂-Br-Signal bei 4,475 ppm.

Anhand des gemeinsamen Auftretens dieser beiden Signale und des passenden Integralverhältnisses kann davon ausgegangen werden, daß es zur gewünschten Reaktion zwischen der Carbonylgruppe des 4-Brommethylbenzaldehyds und der Aminfunktion des Bis(2-Tritylthioethyl)amins kam.

Anhand der eindeutigen Signal- und Integralzuordnung konnten somit Struktur und Zusammensetzung des Produkts bestätigt werden.

3.4.5 (S,S)-2-t-Butyl-1-t-butyloxycarbonyl-3-methyl-5-{4-[cyano-bis-(2-tritylthioethyl)-aminomethyl]-benzyl}-4-imidazolidinon

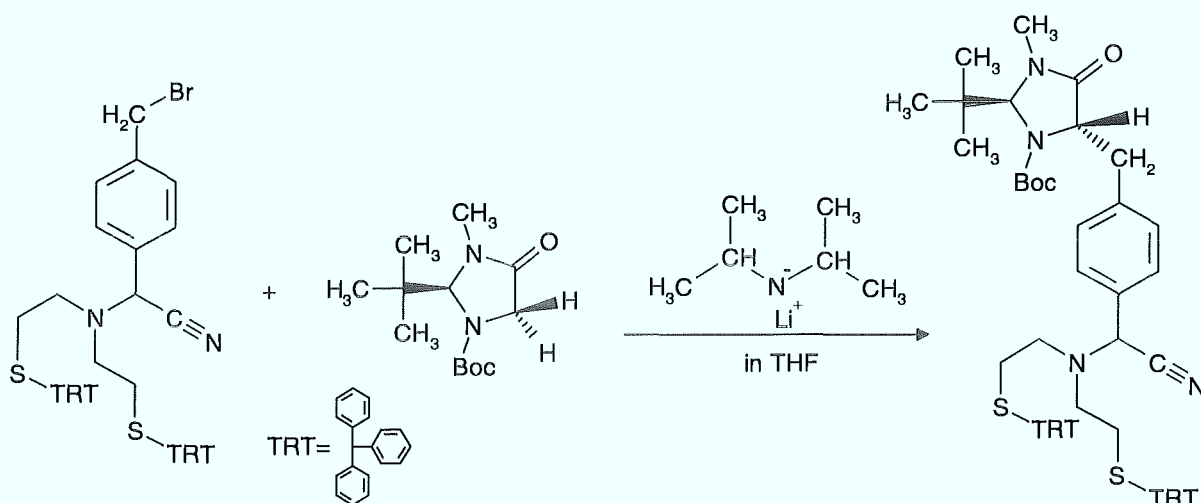


Abbildung 33: Darstellung des (S,S)-2-t-Butyl-1-t-butyloxycarbonyl-3-methyl-5-{4-[cyano-bis-(2-tritylthioethyl)-aminomethyl]-benzyl}-4-imidazolidinons

Ansatz:

N,N-Bis(2-Tritylthioethyl)-2-amino-2-(4-brommethylphenyl)acetonitril: 35 g (42,17mmol)
 (S)-2-t-Butyl-1-t-butyloxycarbonyl-3-methyl-4-imidazolidinon: 13,46 g (52,5 mmol)
 Lithiumdiisopropylamid-THF-Komplex (1,5 M Lsg. in Cyclohexan): 35 ml (52,5 mmol)

Durchführung:

Die Reaktion wurde in gut getrockneten Glasgeräten unter Argon durchgeführt. Zur Trocknung der Glasgeräte wurden diese unmittelbar vor der Reaktion mittels Gasbrenner ausgeheizt und mit trockenem Argon gespült. Es wurde absolut trockenes

Tetrahydrofuran verwendet, das unmittelbar vor der Reaktion durch dynamische Trocknung über Molsieb 0,5 nm vollständig entwässert worden war. Für die Reaktion wurde ein 250 ml Einhalskolben mit Naturkautschukseptumaufsatz verwendet. Zur Kühlung der Reaktion wurde ein Aceton/Trockeneis-Kältebad verwendet.

Zu 35 ml 1 M Lithiumdiisopropylamidlösung wurden langsam bei -50 °C unter kräftigem Rühren mittels Injektionsspritze 13,46 g in 70 ml Tetrahydrofuran gelöstes (S)-2-t-Butyl-1-t-butyloxycarbonyl-3-methyl-4-imidazolidinon getropft. Zur quantitativen Lithiumenolatbildung wurde 40 Minuten bei -50 °C weitergerührt. Es wurde auf -75 °C abgekühlt und bei dieser Temperatur 35 g in 52,5 ml Tetrahydrofuran gelöstes N,N-Bis(2-Tritylthioethyl)-2-amino-2-(4-brommethylphenyl)acetonitril zügig über eine Injektionsspritze zugegeben. Nach fünfstündigem Rühren bei -75 °C wurde innerhalb von 20 Minuten auf Raumtemperatur erwärmt und mit 62 ml einer gesättigten Ammoniumchloridlösung gewaschen. Die organische Phase wurde filtriert und das Lösungsmittel destillativ im Vakuum entfernt.

Die weitere Aufarbeitung erfolgte mittels MPL-Chromatographie (MPLC). Das Rohprodukt wurde in 60 ml einer 56/200 (v/v) THF/Hexan-Mischung aufgenommen und unter den folgenden Bedingungen chromatographiert:

- Eluens: THF/Hexan 560ml/2000ml
- Innenmaße der Säule: 230 mm x 49 mm
- Säulenfüllung: Kieselgel Si 60
- Detektion: UV 254 nm
- Flow: 30 ml/min
- Druck: 3 bar
- Zeitdauer: 100 min
- Aufgabemenge: 5 ml Produktlösung
- Probenvorbereitung: Filterung über Sartorius SRP 25 Spritzenfilter

Trotz besserer Auflösung bei 1 ml Aufgabemenge (Abbildung 34) wurden aus Zeitgründen 5 ml Produktlösung pro Trennung (Abbildung 35) aufgegeben. Bei 1 ml Aufgabemenge wäre zur Aufarbeitung des Produkts eine Zeitdauer von 100 Stunden und eine Lösungsmittelmenge von 180 Litern erforderlich gewesen. Da jeweils nur die Fraktion von 48 bis 65 Minuten weiterverarbeitet wurde, konnte trotz schlechterer Auflösung ein hochreines Produkt erhalten werden.

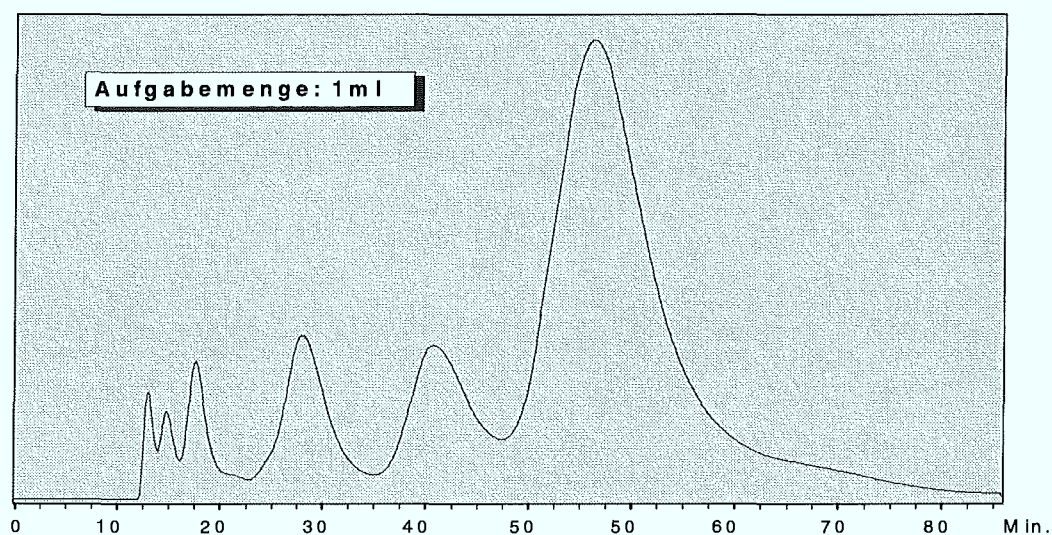


Abbildung 34: MPL-Chromatogramm der (S,S)-2-t-Butyl-1-t-butyloxycarbonyl-3-methyl-5-(4-[cyano-bis-(2-tritylthioethyl)-aminomethyl]-benzyl)-4-imidazolidinon-Abtrennung
Aufgabemenge: 1 ml

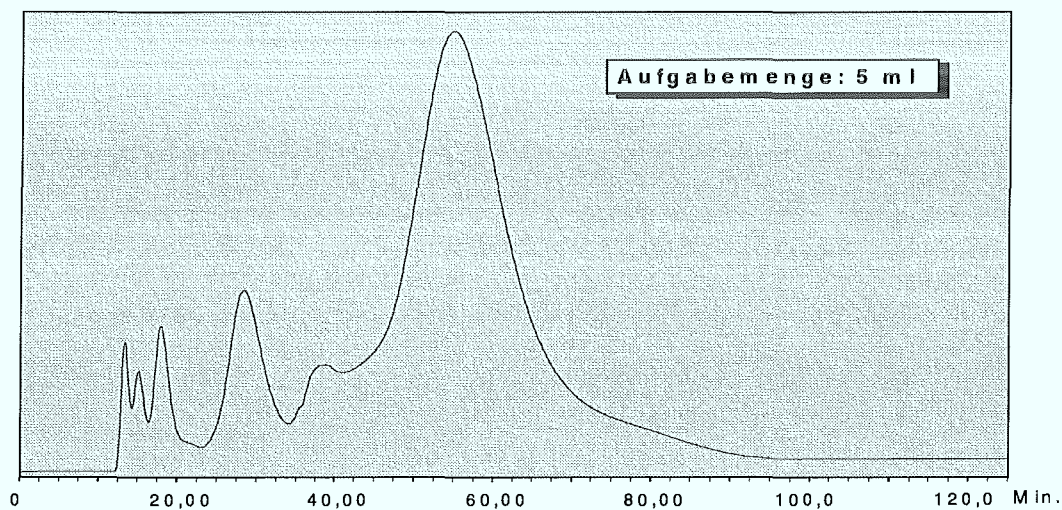


Abbildung 35: MPL-Chromatogramm der (S,S)-2-t-Butyl-1-t-butyloxycarbonyl-3-methyl-5-(4-[cyano-bis-(2-tritylthioethyl)-aminomethyl]-benzyl)-4-imidazolidinon-Abtrennung
Aufgabemenge: 5 ml

Nach Abschluß der MPL-Chromatographie wurden die Produktfraktionen vereinigt und das Lösungsmittel destillativ im Vakuum entfernt.

Zum Entfernen des Lösungsmittels sollte ein möglichst großer Kolben verwendet werden, da das Produkt kurz vor der Trockne sehr stark aufschäumt. Es wurde im Exsikkator bei 10^{-2} Torr getrocknet. Das Produkt wurde DC-rein erhalten (stationäre Phase: Kieselgel 60 F-254; mobile Phase: Essigsäureethylester/Tetrahydrofuran Mischungsverhältnis 1/2 (v/v); Entwicklung in der Jodkammer).

Ausbeute: 15 g (35,5 %)

3.4.5.1 $^1\text{H-NMR-Spektroskopie}^{(81,85-91)}$

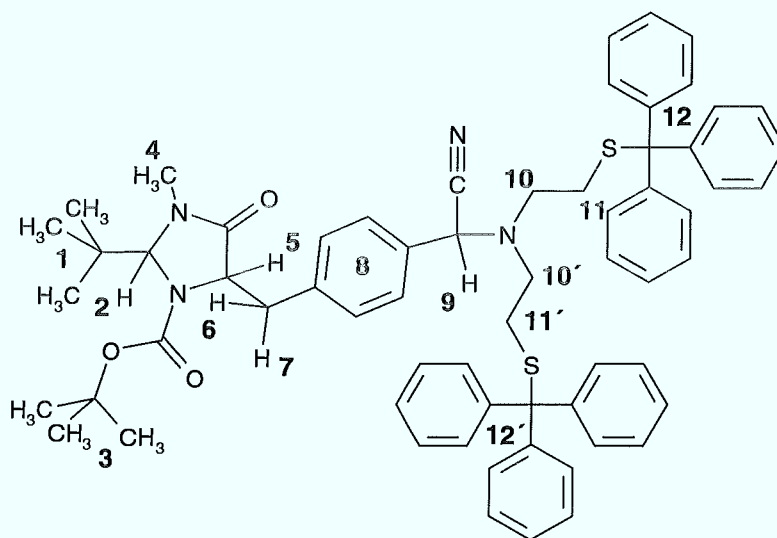


Abbildung 36: Numerierung der Protonen des (S,S)-2-t-Butyl-1-t-butyloxycarbonyl-3-methyl-5-{4-[cyano-bis-(2-tritylthioethyl)-aminomethyl]-benzyl}-4-imidazolidinons zur Zuordnung der gemessenen $^1\text{H-Resonanzen}$

Das $^1\text{H-NMR-Spektrum}$ wurde in Deuteriochloroform aufgenommen. Das Spektrum zeigt fast alle Signale der beiden Komponenten N,N-Bis(2-Tritylthioethyl)-2-amino-2-(4-brommethylphenyl)acetonitril und (S)-2-t-Butyl-1-t-butyloxycarbonyl-3-methyl-4-imidazolidinon im korrekten Integralverhältnis.

Das Fehlen des CH₂-Br-Signals zeigt, daß eine Substitution des Broms stattgefunden hat. Die geminalen Protonen der ehemaligen CH₂-Br-Gruppe spalten nun in Dupletts gleicher Kopplungskonstante auf, was durch eine eingeschränkte freie Drehbarkeit der CH₂-Gruppe zu erklären ist. Aufgrund des sterisch sehr anspruchsvollen Moleküls war ein entsprechendes Verhalten zu erwarten.

Anhand der eindeutigen Signal- und Integralzuordnung konnten somit Struktur und Zusammensetzung des Produkts bestätigt werden.

Tabelle 26: Zuordnung der gemessenen ¹H-NMR-Verschiebungen des (S,S)-2-t-Butyl-1-t-butyloxycarbonyl-3-methyl-5-{4-[cyano-bis-(2-tritylthioethyl)-aminomethyl]-benzyl}-4-imidazolidinons

Nr.	δ	Integral	Protonen	Aufspaltung
1	0,92 ppm	29 mm	9	Singulett
2	4,6 ppm	2,5 mm	1	Singulett
3	1,49 ppm	28 mm	9	Singulett
4	2,75 ppm	7,5 mm	3	Singulett
5	4,3 ppm	3 mm	1	Multipllett
6	3,2 ppm	2,5 mm	1	Duplett (14 Hz)
7	3,825 ppm	2,5 mm	1	Duplett (14 Hz)
8 u. 12, 12'	7,25 ppm	110 mm	34	Multipllett
9	4,5 ppm	2,5 mm	1	Singulett
10, 10' u. 11, 11'	2,2 ppm	23 mm	8	Multipllett

3.4.6 (S,S)-2-t-Butyl-1-t-butyloxycarbonyl-3-methyl-5-{4-[2-amino-1-bis(2-tritylthioethyl)-aminoethyl]-benzyl}-4-imidazolidinon

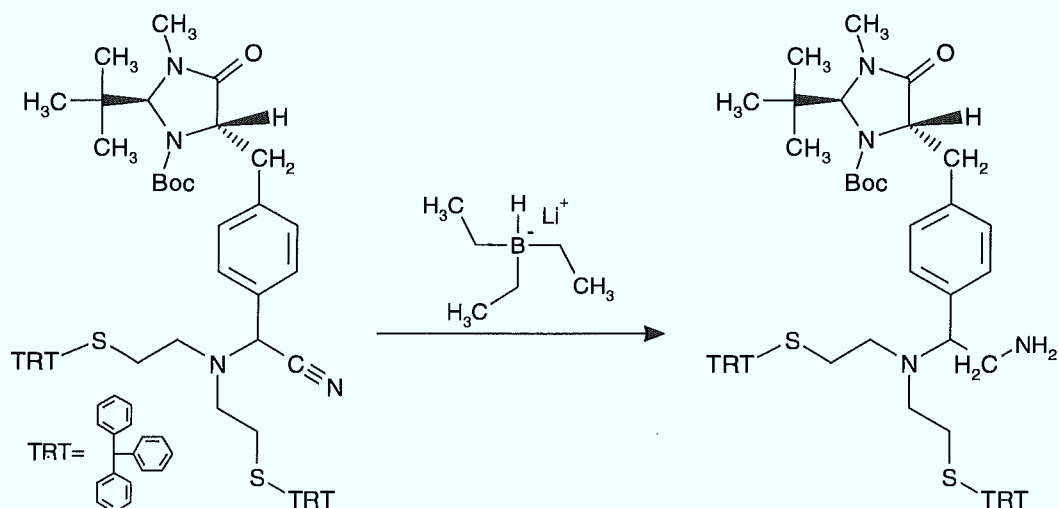


Abbildung 37: Darstellung des (S,S)-2-t-Butyl-1-t-butyloxycarbonyl-3-methyl-5-{4-[2-amino-1-bis(2-tritylthioethyl)-aminoethyl]-benzyl}-4-imidazolidinons

Ansatz:

(S,S)-2-t-Butyl-1-t-butyloxycarbonyl-3-methyl-5-{4-[cyano-bis-(2-tritylthioethyl)-aminomethyl]-benzyl}-4-imidazolidinon:	1,508 g	(1,5 mmol)
Lithiumtriethylborhydrid (1 M Lösung in Tetrahydrofuran):	6 ml	(6 mmol)
Tetrahydrofuran:	12 ml	

Durchführung:

Die Reaktion wurde in einem mit Gummiseptum verschlossenen 25 ml Kolben unter Feuchtigkeitsausschluß durchgeführt. Hierzu wurde vor Reaktionsbeginn durch den mit Septum verschlossenen Kolben via Einlaß- bzw. Auslaßinjektionsnadel 15 Minuten trockenes Argon hindurchgeleitet. Es wurde absolut trockenes Tetrahydrofuran verwendet, das unmittelbar vor der Reaktion durch dynamische Trocknung über Molsieb 0,5 nm vollständig entwässert wurde.

Zu 6 ml einer auf 0°C gekühlten 1 M Lithiumtriethylborhydrid-Tetrahydrofuranlösung wurden unter kräftigem Rühren über eine Injektionsspritze das in 6 ml Tetrahydrofuran gelöste (S,S)-2-t-Butyl-1-t-butyloxycarbonyl-3-methyl-5-{4-[cyano-bis-(2-tritylthioethyl)-

aminomethyl]-benzyl)-4-imidazolidinon bei konstant 0°C zügig zugegeben. Nach 75 Minuten bei 0°C wurde mit 12 ml H₂O hydrolysiert.

Das Lösungsmittel wurde destillativ im Vakuum entfernt und der Rückstand unter kräftigem Rühren in Tetrahydrofuran aufgenommen. Nach Abtrennung der unlöslichen Bestandteile mittels Sartorius RC 25 Spritzenfilter wurde über Natriumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde destillativ im Vakuum entfernt und der Rückstand 12 Stunden bei 10⁻² Torr getrocknet.

Zum Entfernen des Lösungsmittels sollte ein möglichst großer Kolben verwendet werden, da das Produkt kurz vor der Trockne sehr stark aufschäumt.

Ausbeute: 1,1 g (73,3 %)

3.4.6.1 ¹H-NMR-Spektroskopie^(81,85-91)

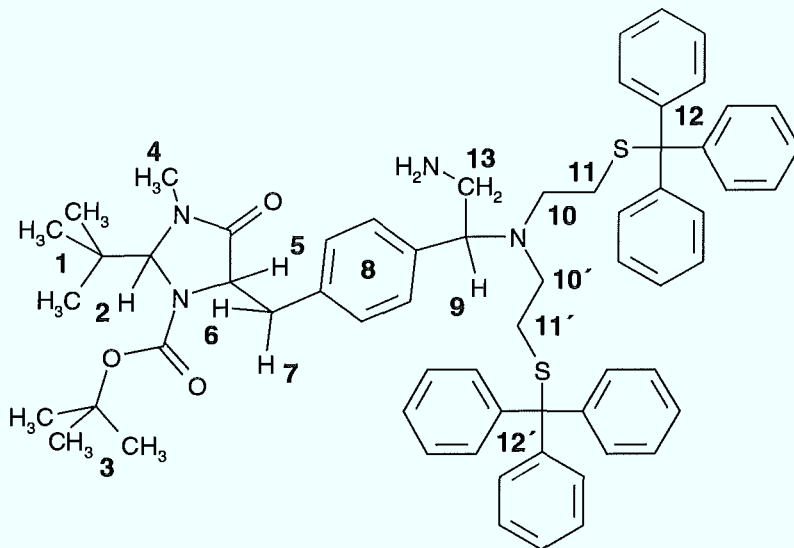


Abbildung 38: Numerierung der Protonen des (S,S)-2-t-Butyl-1-t-butyloxycarbonyl-3-methyl-5-{4-[2-amino-1-bis(2-tritylthioethyl)-aminoethyl]-benzyl}-4-imidazolidinons zur Zuordnung der gemessenen ¹H-Resonanzen

Tabelle 27: Zuordnung der gemessenen ^1H -NMR-Verschiebungen des (S,S)-2-t-Butyl-1-t-butyloxycarbonyl-3-methyl-5-{4-[2-amino-1-bis(2-tritylthioethyl)-aminoethyl]-benzyl}-4-imidazolidinons

Nr.	δ	Integral	Protonen	Aufspaltung
1	0,9 ppm	21 mm	9	Singulett
2	4,56 ppm	2 mm	1	Singulett
3	1,45 ppm	21 mm	9	Singulett
4	2,3 ppm	7,5 mm	3	Singulett
5	4,26 ppm	2 mm	1	Multipllett
6	3,14 ppm	2 mm	1	Duplett (14 Hz)
7	Von Lösungsmittelsignalgruppe verdeckt			
8 u. 12, 12'	7,25 ppm	68 mm	34	Multipllett
9	3,65 ppm	2 mm	1	Multipllett (<i>partiell von Lösungsmittelsignalgruppe verdeckt</i>)
10, 10' u. 11, 11'	2,14 ppm	15 mm	8	Multipllett
13	2,24 ppm	4 mm	2	Multipllett

Das ^1H -NMR-Spektrum wurde in Tetrahydrofuran- d_8 aufgenommen. Im Vergleich zum Vorläuferspektrum ist aufgrund der CN-Hydrolyse ein Multipllett bei 2,24 ppm hinzugekommen, das den CH_2 -Protonen der $\text{CH}_2\text{-NH}_2$ -Gruppe (Nr. 13) entspricht. Proton Nr. 9 zeigt eine deutliche Hochfeldverschiebung, die mit dem Wegfall der entschirmenden Cyanogruppe zu erklären ist. Eine Zuordnung von Proton Nr. 7 war nicht möglich, da der entsprechende Bereich von einer der beiden Lösungsmittelsignalgruppen verdeckt wurde.

Anhand der eindeutigen Signal- und Integralzuordnung konnten somit Struktur und Zusammensetzung des Produkts bestätigt werden.

3.4.7 (S,S)-2-t-Butyl-3-methyl-5-{4-[2-amino-1-bis(2-mercaptoethyl)amino-ethyl]-benzyl}-4-imidazolidinon

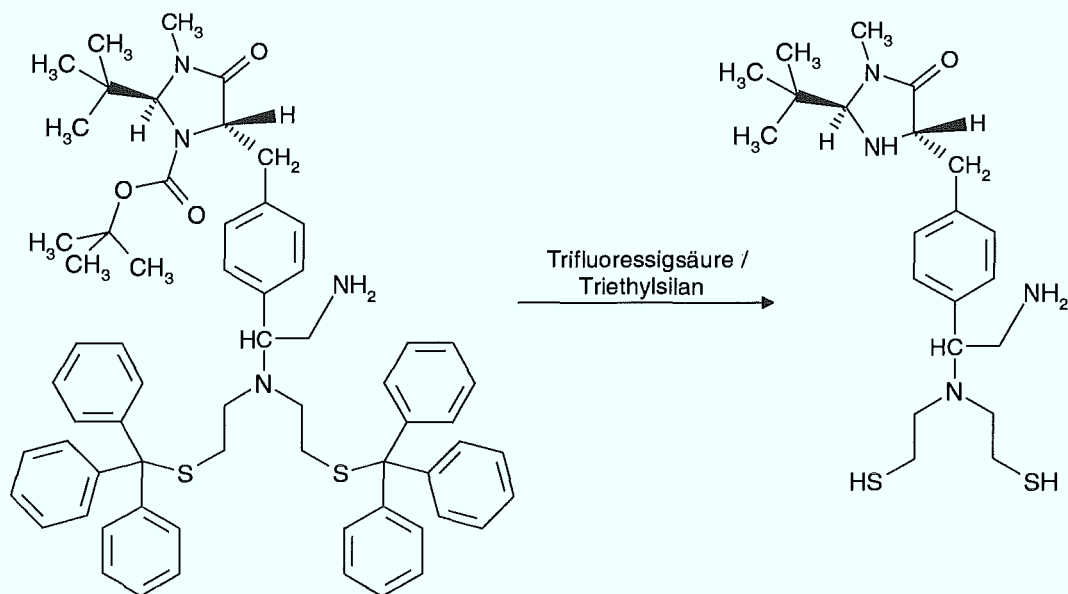


Abbildung 39: Darstellung des (S,S)-2-t-Butyl-3-methyl-5-{4-[2-amino-1-bis(2-mercaptoethyl)amino-ethyl]-benzyl}-4-imidazolidinons

Ansatz:

(S,S)-2-t-Butyl-1-t-butyloxycarbonyl-3-methyl-5-{4-[2-amino-1-bis(2-tritylthioethyl)-amino-ethyl]-benzyl}-4-imidazolidinon: 1,5 g (1,485 mmol)
 Triethylsilan: 0,95 ml (6 mmol)
 Trifluoressigsäure: 36 ml

Durchführung:

Die Reaktion wurde vollständig unter Argon durchgeführt.

Zu 1,5 g (S,S)-2-t-Butyl-1-t-butyloxycarbonyl-3-methyl-5-{4-[2-amino-1-bis(2-tritylthioethyl)-aminoethyl]-benzyl}-4-imidazolidinon wurden unter kräftigem Rühren 36 ml Trifluoressigsäure zugegeben. Nach Zutropfen von 950 μ l Triethylsilan wurde 2 Stunden bei Raumtemperatur kräftig gerührt.

Nach Abtrennung der unlöslichen Bestandteile über einen Sartorius SRP 15 Spritzenfilter wurde das Lösungsmittel bei 55°C mit Argon vertrieben. Hierzu war der Kolben mit einem innenseitig teflonbeschichteten Spezialseptum verschlossen, durch das zum Durchleiten des Argons zwei dünne Teflonschläuche gestoßen waren. Die aus dem

Kolben herausgetriebene Trifluoressigsäure wurde in einem gekühlten Gefäß kondensiert.

Das nur noch wenig Trifluoressigsäure enthaltende Produkt wurde ohne weitere Aufarbeitung in die Folgereaktion eingesetzt. Der während der Reaktion ausgefallene Feststoff konnte anhand von $^1\text{H-NMR}$ -Vergleichsspektren eindeutig als Triphenylmethan identifiziert werden. Die Abspaltung der Tritylgruppen war demnach gelungen.

Ausbeute (Rohprodukt): 591 mg (93,7 %)

3.4.8 (S)-2-Amino-3-{4-[2-amino-1-bis-(2-mercaptoethyl)-aminoethyl]-phenyl}-propansäure

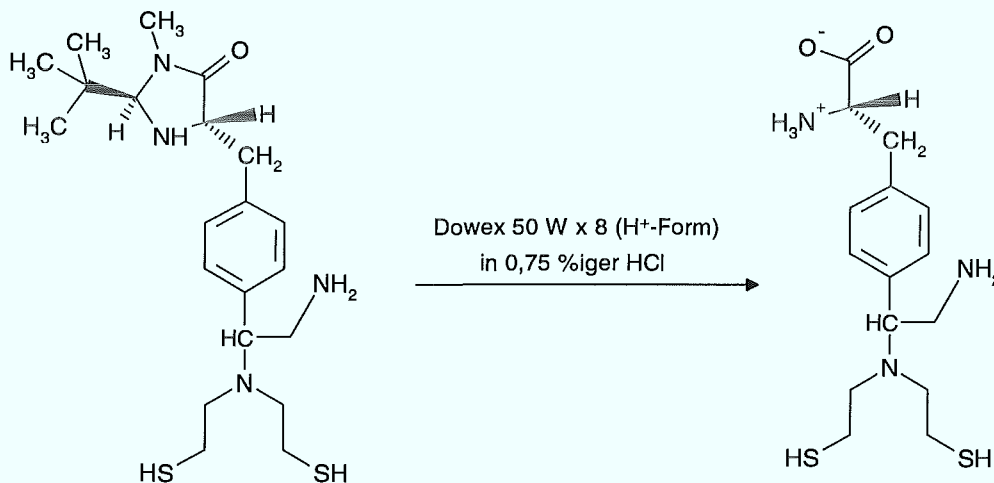


Abbildung 40: Darstellung der (S)-2-Amino-3-{4-[2-amino-1-bis-(2-mercaptoethyl)-aminoethyl]-phenyl}-propansäure

Ansatz:

(S,S)-2-t-Butyl-3-methyl-5-{4-[2-amino-1-bis(2-mercaptoethyl)amino-ethyl]-benzyl}-4-imidazolidinon (Rohprodukt):	57 mg
Dowex 50 W x 8:	2 ml
Essigsäure (96%ig):	0,25 ml
Salzsäure (0,75 %ig):	2 ml

Durchführung:

Aufgrund der extremen Sauerstoffempfindlichkeit der Reaktion wurde jedes Lösungsmittel und jede Lösung für mindestens eine halbe Stunde mit Helium entgast. Darüber hinaus wurde jeder Reaktions- und Aufarbeitungsschritt vollständig unter Argon durchgeführt. Dementsprechend schwierige Schritte, wie das Überführen des Ionentauschers auf die Säule und das anschließende Eluieren, erforderten den Einsatz einer Glovebox.

Für die Reaktion wurde ein mit Septumaufsatz verschlossenes thermostatisierbares Reaktionsgefäß verwendet, dessen Innenraum ständig unter geringem Argonüberdruck gehalten wurde. Der zum Abziehen des Lösungsmittels verwendete Rotationsverdampfer wurde ausschließlich mit Argon belüftet. Es wurde nur doppelt destilliertes Wasser verwendet.

Zu einer Suspension aus 56,9 mg (S,S)-2-t-Butyl-3-methyl-5-{4-[2-amino-1-bis(2-mercaptoethyl)amino-ethyl]-benzyl}-4-imidazolidinon, 0,25 ml 96 %iger Essigsäure und 2 ml 0,75 %iger Salzsäure wurden 2 ml Kationentauscher Dowex 50 W x 8 zugegeben, der zuvor mit 10 %iger Salzsäure aktiviert worden war. Nach 22 Stunden bei 100 °C wurde der Kationentauscher auf eine kleine Glassäule überführt. Das Produkt wurde mit 40 ml Ethanol und 60 ml H₂O gespült und anschließend mit 50 ml 10%iger NH₃-Lösung vom Ionentauscher eluiert. Das Lösungsmittel wurde destillativ im Vakuum entfernt und der Rückstand bei 10⁻² Torr getrocknet.

Ausbeute: 18 mg (39 %)

3.4.8.1 Lagerung der (S)-2-Amino-3-{4-[2-amino-1-bis-(2-mercaptoethyl)-aminoethyl]-phenyl}-propansäure

Aufgrund der Sauerstoffempfindlichkeit des Produkts wurde unter Argon in flüssigem Stickstoff gelagert.

3.4.8.2 $^1\text{H-NMR-Spektroskopie}^{(81,85-91)}$

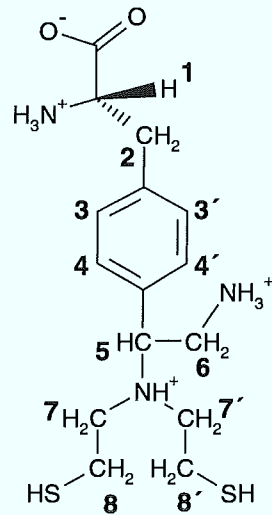


Abbildung 41: Numerierung der Protonen der (S)-2-Amino-3-{4-[2-amino-1-bis-(2-mercaptoethyl)-aminoethyl]-phenyl}-propansäure zur Zuordnung der gemessenen $^1\text{H-Resonanzen}$ in DCI-saurem D_2O

Tabelle 28: Zuordnung der gemessenen $^1\text{H-NMR-Verschiebungen}$ der (S)-2-Amino-3-{4-[2-amino-1-bis-(2-mercaptoethyl)-aminoethyl]-phenyl}-propansäure

Nr.	δ	Integral	Protonen	Aufspaltung
1	4,42 ppm	5 mm	1	Triplett
5	3,875 ppm	$\text{D}_2\text{O-Seytenbande stört Integralablesung}$	1	Multiplett
3	7,55 ppm	9 mm	2	Duplett (8 Hz)
4	7,725 ppm	9 mm	2	Duplett (8 Hz)
2	3,1 - 3,5 ppm	37 mm	8	Multiplett
6				
7				
8	2,85 ppm	16,5 mm	4	Multiplett

Zu Vergleichszwecken wurde ein $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum des Phenylalanins aufgenommen.

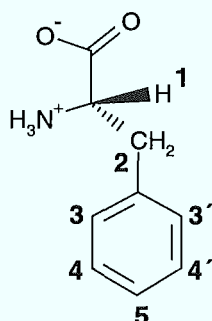


Abbildung 42: Numerierung der Protonen des Phenylalanins zur Zuordnung der gemessenen ^1H -Resonanzen

Tabelle 29: Zuordnung der gemessenen $^1\text{H-NMR}$ -Verschiebungen des Phenylalanins

Nr.	δ	Integral	Protonen	Aufspaltung
1	4,31 ppm	19 mm	1	Triplet
2	3,26 ppm	37 mm	2	Doppelduplett
3, 3', 4, 4', u. 5	7,36 ppm	91 mm	5	Singulett mit Ansatz zur Aufspaltung

Diskussion der $^1\text{H-NMR}$ -Spektren

Das $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum wurde in DCI-saurem D_2O aufgenommen. Das Produktspektrum zeigt ebenso wie das Phenylalaninspektrum ein ausgeprägtes Triplet im Bereich zwischen 4,3 und 4,45 ppm (Tabelle 28 und 29). Diese dem Proton des Aminosäurechiralitätszentrums zuzuordnende Signalgruppe ist ein deutlicher Hinweis darauf, daß die Aminosäurefunktion des Moleküls in gewünschter Weise gebildet wurde.

Die Signale der dem Chiralitätszentrum benachbarten CH_2 -Gruppe sind im Produktspektrum ebenfalls zu finden, jedoch bilden sie zusammen mit drei CH_2 -Gruppen des Tripodandrests eine ausgeprägte Multipletstruktur. Laut N,N-Bis(2-Mercaptoethyl)ethylendiamin-Hydrochloridvergleichsspektrum (s. Kapitel 3.2.8.2, Tabelle 7) ist dieses Verhalten ebenso zu erwarten, wie das Auftreten der CH_2 -S-Signale zwischen 2,7 und

2,9 ppm. Das Produktspektrum zeigt in diesem Bereich eine Multipletstruktur mit passendem Integralverhältnis. Das Auftreten eines Multipletts anstelle eines Triplets läßt auf intra- bzw. intermolekulare Wasserstoffbrückenbindungen schließen, aufgrund derer die freie Drehbarkeit der CH₂-Gruppen eingeschränkt ist.

Tabelle 30: Referenzdaten für die Zuordnung der ¹H-NMR-Verschiebungen der (S)-2-Amino-3-(4-[2-amino-1-bis-(2-mercaptoethyl)-aminoethyl]-phenyl)-propansäure

Nr.	δ - Produkt	δ - Vergleichssubstanz	Vergleichssubstanz
1	4,42 ppm	4,31 ppm	Phenylalanin
5	3,875 ppm	-	-
3	7,55 ppm	7,36 ppm	Phenylalanin
4	7,725 ppm	7,36 ppm	Phenylalanin
2	3,1 - 3,5 ppm	3,26 ppm	Phenylalanin
6		3,22 ppm	N,N-Bis(2-Mercaptoethyl)ethylen-diamin-Hydrochlorid
7		3,15 ppm	N,N-Bis(2-Mercaptoethyl)ethylen-diamin-Hydrochlorid
8	2,85 ppm	2,8 ppm	N,N-Bis(2-Mercaptoethyl)ethylen-diamin-Hydrochlorid

Die Aufspaltung der Aromatensignale in zwei Dupletts mit jeweils 8 Hz Kopplungskonstante ist charakteristisch für einen parasubstituierten Benzenring mit zwei unterschiedlichen Substituenten. Proton Nr. 5 zeigt im Referenzspektrum des N,N-Bis(2-Mercaptoethyl)ethylen-diamin-Hydrochlorid einen Verschiebungswert von 3,33 ppm (s. Kapitel 3.2.8.2, Tabelle 7). Unter Berücksichtigung der stark entschirmenden Wirkung des aromatischen Substituent war der gemessene Wert von 3,875 ppm für (S)-2-Amino-3-(4-[2-amino-1-bis-(2-mercaptoethyl)-aminoethyl]-phenyl)-propansäure zu erwarten.

3.5 Untersuchungen zur Komplexierung des Technetiums mit (S)-2-Amino-3-{4-[2-amino-1-bis-(2-mercaptoethyl)-aminoethyl]-phenyl}-propansäure

3.5.1 Komplexierung analog zur N,N-Bis(2-Mercaptoethyl)ethylen-diamin-oxotechnetium(V)-darstellung

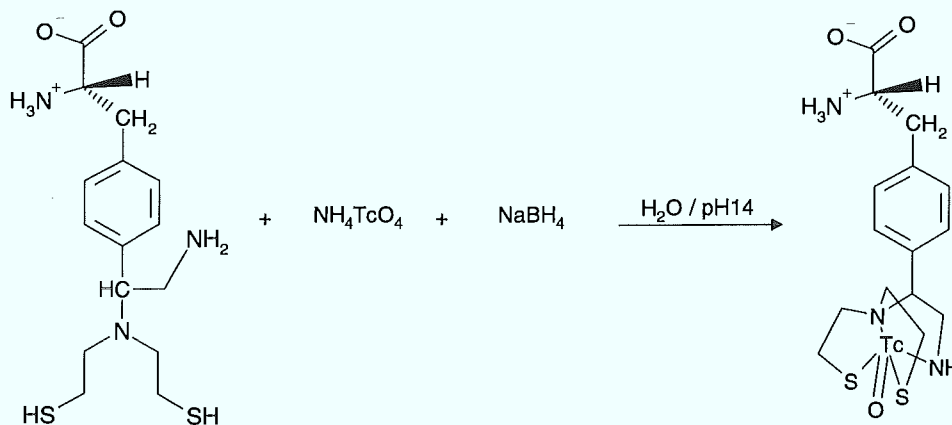


Abbildung 43: Komplexierung der (S)-2-Amino-3-{4-[2-amino-1-bis-(2-mercaptoethyl)-aminoethyl]-phenyl}-propansäure im wässrigen Medium

Ansatz:

(S)-2-Amino-3-{4-[2-amino-1-bis-(2-mercaptoethyl)-aminoethyl]-phenyl}-propansäure:	2,3 mg (6,7 μmol)
Ammoniumpertechnetat (0,905 %ige wäßr. Lsg.):	100 μl (5 μmol)
Natronlauge (4 %ige wäßr. Lsg.):	1 ml
Salzsäure (0,75 %ige Lsg.)	500 μl
Natriumborhydrid (3,78 %ige wäßr. Lsg.):	1 ml (1 mmol)

Durchführung:

2,3 mg (S)-2-Amino-3-{4-[2-amino-1-bis-(2-mercaptoethyl)-aminoethyl]-phenyl}-propansäure wurden in 500 μl 0,75%iger Salzsäure gelöst. Durch Zutropfen von 1 ml 4 %iger Natronlauge wurde ein pH-Wert von 14 eingestellt. Nach Zugabe von 100 μl 0,905 %iger Ammoniumpertechnetatlösung wurde unter kräftigem Rühren 1 ml 3,78 %ige Natriumborhydridlösung zugetropft. Schon nach wenigen Minuten kam es zur deutlichen

Rotgoldfärbung der Reaktionslösung. Nach ca. 10 Minuten fiel zusätzlich Technetiumdioxid-Hydrat aus. Da ein Extrahieren des Komplexes mit Chloroform nicht möglich war, hatte sich der Komplex nach 48 Stunden quantitativ zu Technetiumdioxid-Hydrat zersetzt.

Ein vergleichbares Verhalten war bereits bei N,N-Bis(2-Mercaptoethyl)ethylen-diamin-oxotechnetium(V) zu beobachten gewesen, jedoch konnte die Produktzersetzung durch Extraktion des Komplexes mit Methylenchlorid bzw. Chloroform verhindert werden. Die Reaktion wurde daher mehrfach wiederholt, um Extraktionsversuche mit den folgenden Lösungsmitteln durchzuführen:

- Octanol
- Diethylether
- Dichlormethan
- Chloroform
- Toluylaldehyd
- Benzol
- Nitromethan
- Nitrobenzol
- Hexan
- Benzylalkohol
- Tetrahydrofuran aus gesättigter Salzlösung
- Tetrahydropyran

Das einzige Lösungsmittel, mit dem eine Extraktion möglich schien, war Nitromethan. Anhand von Blindproben konnte jedoch gezeigt werden, daß Nitromethan unter Natriumborhydrideinfluß zu Methylamin reduziert wird. Unter den vorliegenden Reaktionsbedingungen kam es zur Bildung eines Technetium-Methylaminkomplexes (UV/VIS-Maxima bei 547 nm und 393 nm).

Die minimale Affinität des Komplexes zu lipophilen organischen Lösungsmitteln läßt sich aufgrund der hydrophilen Aminosäurekomponente des Komplexes erklären.

Es wurde nun nach Reaktionsbedingungen gesucht, unter denen es nicht zur Zersetzung des Komplexes kommt. Der Versuch einer Komplexbildung im Sauren scheiterte, da unmittelbar nach Reaktionsbeginn Technetiumdioxid-Hydrat ausfiel.

Da es unmöglich war, den Komplex dauerhaft aus wässrigem Reaktionsmedium zu erhalten, wurden nun Untersuchungen zur Komplexierung in organischen Lösungsmitteln durchgeführt. Mit Ethanol konnte schließlich ein geeignetes Reaktionsmedium gefunden werden.

3.5.2 Komplexierung in siedendem Ethanol

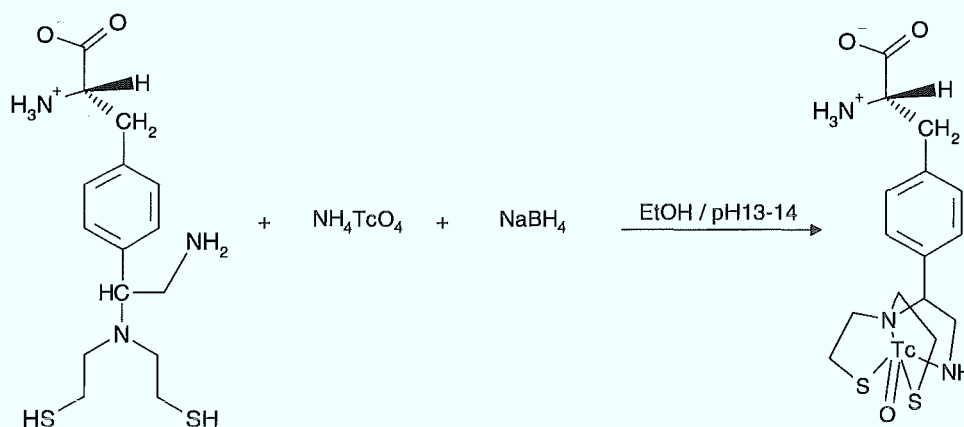


Abbildung 44: Komplexierung der (S)-2-Amino-3-{4-[2-amino-1-bis-(2-mercaptoethyl)-aminoethyl]-phenyl}-propansäure in siedendem Ethanol

Ansatz:

(S)-2-Amino-3-{4-[2-amino-1-bis-(2-mercaptoethyl)-aminoethyl]-phenyl}-propansäure:	2 mg	(5,8 μmol)
Ammoniumpertechnetat (0,905 %ige wäßr. Lsg.):	100 μl	(5 μmol)
Natronlauge (4 %ige wäßr. Lsg.):	90 μl	
Salzsäure (0,75 %ig)	90 μl	
Natriumborhydrid (3,78 %ige ethanolische Lsg.):	2 ml	(2 mmol)

Durchführung:

2,0 mg (S)-2-Amino-3-{4-[2-amino-1-bis-(2-mercaptoethyl)-aminoethyl]-phenyl}-propansäure wurden in 90 μl 0,75%iger Salzsäure gelöst. Durch Zutropfen von 90 μl einer 4 %igen Natronlauge wurde ein pH-Wert von 13-14 eingestellt. Nach Zugabe von 100 μl

einer 0,905 %igen Ammoniumpertechnetatlösung wurden unter kräftigem Rühren 2 ml ethanolische 3,78 %ige Natriumborhydridlösung zugetropft.

Schon nach zweiminütigem Rühren bei Siedetemperatur war es zu einer deutlichen Farbreaktion gekommen. Nach einer weiteren Minute war aus der siedenden bordeauxfarbenen Lösung ein ebenso gefärbter Feststoff ausgefallen.

Zur Abkühlung auf Raumtemperatur wurde die Reaktionssuspension stehengelassen und 48 Stunden unter Argon gelagert. Nach dieser Zeit war weiterer Komplex ausgefallen, der sich problemlos in wäßrigem Medium in Lösung bringen ließ.

3.5.3 UV/VIS-Messung

(S)-2-Amino-3-{4-[2-amino-1-bis-(2-mercaptoethyl)-aminoethyl]-phenyl}-propansäure-oxotechnetium(V) zeigt in einer 1/9 Mischung (v/v) aus Methanol und Wasser ein deutliches Maximum bei 520 nm.

3.5.4 Aufarbeitung des (S)-2-Amino-3-{4-[2-amino-1-bis-(2-mercaptoethyl)-aminoethyl]-phenyl}-propansäure-oxotechnetium(V)-Komplexes

Es wurde nun versucht, den Komplex mit chromatographischen Mitteln zu reinigen. Zunächst wurde eine säulenchromatographische Trennung auf Minisäulen der Firma Waters versucht. Diese mit verschiedenen Trägermaterialien erhältlichen Kartuschen sind vor allem zur Aufarbeitung geringer Substanzmengen hervorragend geeignet.

Folgende Systeme wurden untersucht:

Tabelle 31: Säulenchromatographische Trennversuche auf Spezialkartuschen der Firma Waters zur Aufarbeitung des (S)-2-Amino-3-{4-[2-amino-1-bis-(2-mercaptoethyl)-aminoethyl]-phenyl}-propansäure-oxotechnetium(V)-Komplexes

Trägermaterial	Eluens	Anmerkung
RP-18	Methanol/Wasser 1/9 (v/v)	Der Komplex zeigt keine erkennbare Retention.
	Wasser	

Tabelle 31: Säulenchromatographische Trennversuche auf Spezialkartuschen der Firma Waters zur Aufarbeitung des (S)-2-Amino-3-{4-[2-amino-1-bis-(2-mercaptoethyl)-aminoethyl]-phenyl}-propansäure-oxotechnetium(V)-Komplexes (Fortsetzung)

Trägermaterial	Eluens	Anmerkung
SiO ₂	Wasser	Nach Auftragung aus wäßriger Lösung wurde mit Wasser gewaschen und der Komplex anschließend mit 0,75%iger Salzsäure von der Kartusche eluiert. Beim Neutralisieren mit Natronlauge kam es zur Zerstörung des Komplexes. Ein direktes Eluieren des Komplexes mit verdünnter Natronlauge war nicht möglich.

Eine Trennung war somit zwar auf Silikagel möglich, mußte jedoch aufgrund der durch die anschließende Neutralisation verursachten Zerstörung des Komplexes als unbrauchbar angesehen werden.

Es wurden nun HPL-chromatographische Untersuchungen durchgeführt:

Tabelle 32: HPL-chromatographische Untersuchungen zur Aufarbeitung des (S)-2-Amino-3-{4-[2-amino-1-bis-(2-mercaptoethyl)-aminoethyl]-phenyl}-propansäure-oxotechnetium(V)-Komplexes

Trägermaterial	RP-2 (Nucleosil 100-5 NH ₂)
	NH ₂ (Nucleosil 7 OH)
	OH (Multisphere RP-2 5µ)
Eluens	Methanol/Wasser 1/9 (v/v) pH 7,4 Methanol/Wasser-Phosphatpuffergemisch <i>Darstellung: 1,179 g KH₂PO₄ + 4,3 g Na₂HPO₄ + 1 l Methanol/Wasser 1/9 (v/v)</i>
	pH 7,0 Acetonitril/Wasser-Phosphatpuffergemisch <i>Darstellung: 1,179 g KH₂PO₄ + 4,3 g Na₂HPO₄ + 1 l Acetonitril/Wasser 5/95 (v/v)</i>

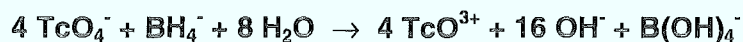
Sämtliche Kombinationen aus angegebenem Säulenmaterial und Eluens wurden bei Wellenlängen von 254 und 520 nm untersucht.

Mit keiner der möglichen Kombinationen war eine befriedigende Abtrennung möglich, wobei die besten Ergebnisse mit der Kombination aus NH_2 -Säule und Methanol/Wasser-Phosphatpuffergemisch erzielt wurden.

Da nicht mehr genügend Komplex bzw. Ligand zur Verfügung stand, mußten die Arbeiten zur Aufarbeitung des Komplexes eingestellt werden. Eine Nachproduktion des Liganden wäre weit über den zeitlichen Rahmen dieser Arbeit hinausgegangen. Mit der restlichen noch zur Verfügung stehenden Substanz sollte einerseits eine ^1H -NMR-spektroskopische Charakterisierung des Komplexes versucht werden, andererseits sollten Bioverteilungsexperimente an Mäusen durchgeführt werden.

3.5.5 ^1H -NMR-Spektroskopie^(81,85-91)

Da das Rohprodukt entsprechend der formalen Redoxgleichung



aufgrund des entstandenen Borats austauschbare Protonen enthielt, wurde eine weitere Komplexierung mit ausschließlich deuterierten Edukten und Lösungsmitteln durchgeführt. Anstelle von Ammoniumpertechnetat wurde Natriumpertechnetat verwendet.

Nach erfolgter Komplexierung wurde das Präzipitat mittels Pipette in ein NMR-Röhrchen überführt. Durch Zugabe von D_2O wurde der Komplex quantitativ in Lösung gebracht und gemessen.

Aufgrund der nur geringen Produktmenge und dem relativ hohen H_2O -Gehalt des D_2O 's bzw. Ethanol- d_6 's waren die für die Interpretation erforderlichen Bereiche des Spektrums durch Lösungsmittelsignale und deren Seitenbanden so stark überlagert, daß eine sinnvolle Interpretation nicht möglich war.

3.5.6 Untersuchungen zur Bioverteilung

Die Darstellung des ^{99m}Tc -Komplexes wurde vollständig bleiabgeschirmt durchgeführt. Für die Reaktion wurde ein 100 mCi-Generator der Firma Mallinckrodt verwendet. Als Versuchstiere wurden 9 weiße Mäuse des NMRI-Stammes eingesetzt.

Die Synthese wurde entsprechend der Arbeitsvorschrift (Kapitel 3.5.2) mit 2 mg Ligand durchgeführt. Anstelle der $^{99g}\text{NH}_4\text{TcO}_4$ -Lösung wurde 0,1 ml ^{99m}Tc -Generatoreluat der Aktivität $A_0=0,3$ GBq eingesetzt und die Reaktionszeit von 3 auf 5 Minuten verlängert. Nach Reaktionsende wurden 100 μl Reaktionslösung abgenommen und mit 0,5 %iger Kochsalzlösung auf 5 ml aufgefüllt. Mit 0,9 %iger Kochsalzlösung wurde auf eine Aktivitätskonzentration von $670 \text{ K bq} \cdot \text{ml}^{-1}$ verdünnt.

Jedem der 9 Versuchstiere wurden 100 μl dieser Lösung über eine der drei Schwanzvenen injiziert. Nach Inkubationszeiten von 1, 10 und 60 Minuten wurden jeweils 3 Versuchstiere getötet und nach Blutentnahme sezirt. Während der Inkubationszeit zeigte keines der Tiere ein auffälliges Verhalten, das auf eine Intoxikation durch das injizierte Präparat hingedeutet hätte. Die Aktivitäten der entnommenen Organe und des Blutes wurden in einem Auto-Gammacounter bestimmt und anschließend auf % Dosis $\cdot \text{g}^{-1}$ Organ bzw. Blut umgerechnet.

Die Ergebnisse der Untersuchungen sind in Tabelle 33 - 37 zusammengestellt. In Tabelle 33 - 35 sind neben den Angaben zu % Dosis $\cdot \text{g}^{-1}$ Organ bzw. Blut die jeweiligen Mittelwerte und die Standardabweichungen aufgeführt.

Tabelle 36 zeigt die Meßwerte der einzelnen Organe in Abhängigkeit von der Inkubationszeit. Zur Abschätzung der Hintergrundaktivität sind in Tabelle 37 die Organ/Blut-Aktivitätsverhältnisse aufgeführt. Eine graphische Darstellung der Ergebnisse liefert Abbildung 45.

Tabelle 33: % Dosis · g⁻¹ Organ bzw. Blut nach 1 Minute

Versuchstier =>	1	2	3	Mittelwert	Standard- abweichung
Hirn	0,60 %	0,54 %	0,56 %	0,57 %	0,03
Knochen	3,29 %	3,04 %	2,51 %	2,95 %	0,40
Gesamtdarm	2,45 %	2,39 %	2,48 %	2,44 %	0,05
Leber	8,07 %	7,41 %	6,72 %	7,40 %	0,68
Blut	14,64 %	14,53 %	13,01 %	14,06 %	0,91
Nieren	8,08 %	5,46 %	8,23 %	7,26 %	1,56
Herz	4,89 %	4,05 %	3,94 %	4,29 %	0,52
Milz	3,20 %	3,10 %	3,78 %	3,36 %	0,37

Tabelle 34: % Dosis · g⁻¹ Organ bzw. Blut 10 Minuten

Versuchstier =>	1	2	3	Mittelwert	Standard- abweichung
Hirn	0,48 %	0,64 %	0,48 %	0,53 %	0,09
Knochen	4,68 %	4,01 %	2,79 %	3,83 %	0,96
Gesamtdarm	2,66 %	2,92 %	3,35 %	2,98 %	0,35
Leber	6,61 %	7,07 %	5,71 %	6,46 %	0,69
Blut	11,65 %	10,97 %	9,03 %	10,55 %	1,36
Nieren	6,52 %	8,22 %	6,15 %	6,96 %	1,10
Herz	3,34 %	3,03 %	2,45 %	2,94 %	0,45
Milz	3,29 %	3,81 %	3,11 %	3,40 %	0,36

Tabelle 35: % Dosis · g⁻¹ Organ bzw. Blut 60 Minuten

Versuchstier =>	1	2	3	Mittelwert	Standard- abweichung
Hirn	0,14 %	0,28 %	0,22 %	0,21 %	0,07
Knochen	1,68 %	2,98 %	2,13 %	2,26 %	0,66
Gesamtdarm	8,31 %	3,57 %	6,54 %	6,14 %	2,40
Leber	2,80 %	5,34 %	3,93 %	4,02 %	1,27
Blut	4,13 %	7,61 %	4,73 %	5,49 %	1,86
Nieren	2,71 %	8,55 %	3,52 %	4,93 %	3,16
Herz	0,87 %	1,84 %	1,40 %	1,37 %	0,49
Milz	1,29 %	3,27 %	1,82 %	2,13 %	1,03

Tabelle 36: Mittelwerte

Organ	1 Minuten	10 Minuten	60 Minuten
Hirn	0,57	0,53	0,21
Knochen	2,95	3,83	2,26
Gesamtdarm	2,44	2,98	6,14
Leber	7,40	6,46	4,02
Blut	14,06	10,55	5,49
Nieren	7,26	6,96	4,93
Herz	4,29	2,94	1,37
Milz	3,36	3,40	2,13

Tabelle 37: Organ/Blut - Aktivitätsverhältnisse
(Berechnungsgrundlage: Mittelwerte aus Tabelle 36)

Organ	1 Minute	10 Minute	60 Minute
Hirn/Blut	0,04	0,05	0,04
Knochen/Blut	0,21	0,36	0,41
Gesamtdarm/Blut	0,17	0,28	1,12
Leber/Blut	0,53	0,61	0,73
Nieren/Blut	0,52	0,66	0,90
Herz/Blut	0,31	0,28	0,25
Milz/Blut	0,24	0,32	0,39

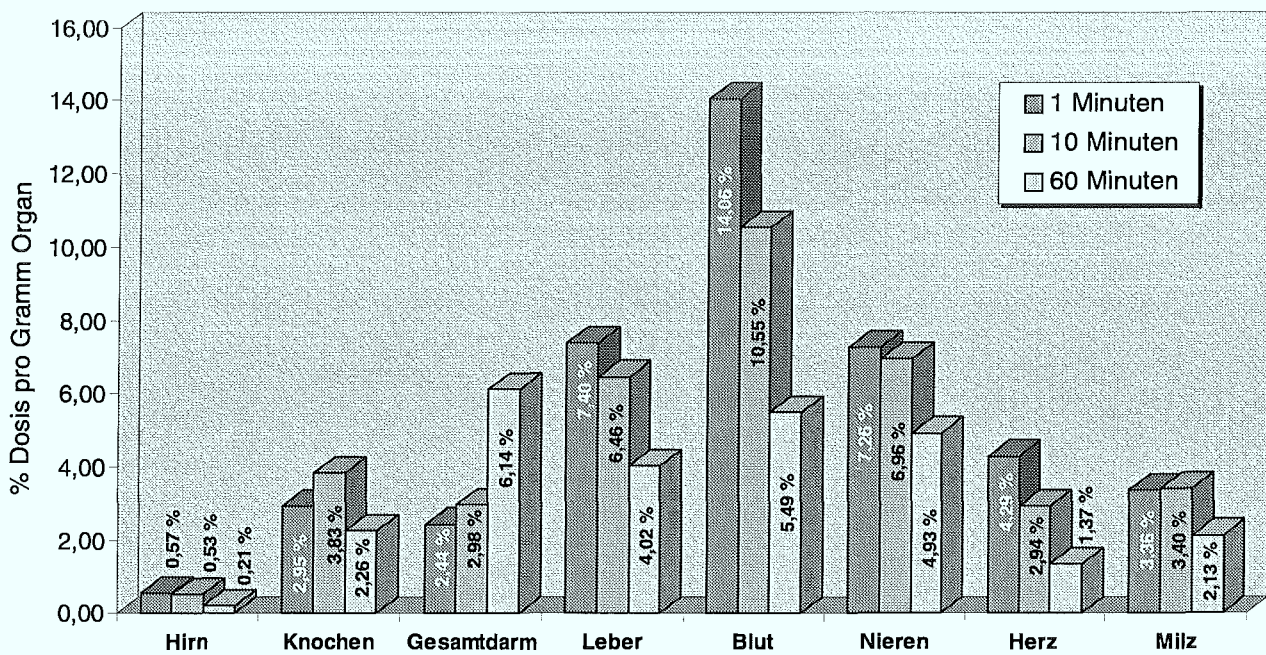


Abbildung 45: Graphische Darstellung der Bioverteilung des (S)-2-Amino-3-{4-[2-amino-1-bis-(2-mercaptoethyl)-aminoethyl]-phenyl}-propansäure-oxo-(^{99m}Tc)technetium(V)-Komplexes in weißen NMRI-Mäusen

3.5.7 Diskussion der Ergebnisse

Unmittelbar nach der Injektion konnten Anreicherungen in allen untersuchten Organen festgestellt werden, wobei das Hirn die geringste Aktivität zeigte. Eine relativ hohe Anreicherung konnte für das Herz ermittelt werden. Bei allen Organen kam es zu einem langsamen Abbau der Aktivität, so daß die Dosis im Blut selbst nach 60 Minuten immer noch höher war als in Nieren und Leber. Die Anreicherung im Darmtrakt war nach 60 Minuten zwar deutlich niedriger als im Blut, jedoch noch höher als in Nieren und Leber. Es ist somit davon auszugehen, daß der Komplex in erster Linie über den Darmtrakt ausgeschieden wird.

Da bezogen auf den zeitlichen Verlauf der Anreicherung eine Korrelation zwischen Organen und Blut zu beobachten war, ist der Komplex den Flowtracern zuzuordnen. Vergleicht man die Anreicherung im Hirngewebe mit der des ^{99m}Tc -HMPAO-Komplexes, so zeigt letzterer einen um das Zehnfache höheren Wert. Bei diesem Vergleich ist jedoch zu berücksichtigen, daß im vorliegenden Fall keine Abtrennung vor der Injektion des Komplexes möglich war, da nicht mehr genügend Ligand für Abtrennungsuntersuchungen zur Verfügung stand.

Die geringe aber dennoch deutliche Hirnanreicherung läßt die folgenden Schlüsse zu:

Da aufgrund der geringen Lipophilie des Komplexes eine Diffusion durch die Blut-Hirn-Schranke nicht zu erwarten ist, kann von einem Carrier-vermittelten Transport ausgegangen werden. Unter Berücksichtigung der Aminosäurekomponente des Komplexes sollte der Carrier für große neutrale Aminosäuren involviert sein. Die Synthese des im Rahmen dieser Arbeit zu synthetisierenden chimären Nährstoffs scheint demnach gelungen zu sein. Eine weitere Bearbeitung der vielversprechenden Thematik wäre wünschenswert.

Da der Komplex eine signifikante Akkumulation im Herzgewebe zeigt, wäre die Eignung als Herztracer zu prüfen.

4 Anhang

4.1 Geräteliste

UV/VIS-Spektroskopie: Shimadzu UV-160A

FT-NMR-Spektroskopie: Bruker WP-80

IR-Spektroskopie: Shimadzu IR-460

(Die Spektren wurden im Wellenlängenbereich von 4000 - 400 cm⁻¹ im Doppelstrahlbetrieb gegen Luft aufgenommen.)

Elektrophorese: Desaga Desaphor-Kammer mit
Desaga Desatronic 2000/300-Netzteil

Schmelzpunktbestimmung: Mettler FP-61
Gallenkamp CAT No. MFB.585.010M

Ölpumpe: Vaccubrand RD 8 (8,3 m³/h)

HPL-Chromatographie:

HPLC-Pumpe: Merck-Hitachi L-6000 Hochdruck-Kolbenpumpe
Probenaufgabeeventile: Typ Rheodyne in Metall/Vespel- oder inerte
Keramik/Tefzel-Ausführung (für alkalische Eluentien)

UV-Detektor: Merck-Hitachi L-4200

RI-Detektor: Knauer Differential Refraktometer

MPL-Chromatographie:

MPLC-Pumpe: Latek-P 402

Probenaufgabeeventil: VICI Valco Instruments Co. Inc., 6 Port External Volume
Sample Injector

UV-Detektor: Knauer Variable Wavelengths Monitor, Typ 87.00

Durchflußzelle: Knauer, max. Durchflußrate 10 l/min, max. Druck: 10 bar

RI-Detektor: Knauer Differential Refraktometer Präparativ, Typ 298.00

Software: Nuclear Interface GmbH Münster

NINA Chromatographic Systems Version 4 β

4.2 Hyperchem-Daten

Tabelle 38: Hyperchem-Berechnung des (S)-2-Amino-3-{4-[2-amino-1-bis-(2-mercaptoethyl)-aminoethyl]-phenyl}-propansäure-oxotechnetium(V)-Komplexes

Geometry optimization, MolecularMechanics, molecule = D:\HYPER\TCPHEPOD.HIN.
 mmplus
 PolakRibiere optimizer

Energy	Gradient	Cycle	Point	Energy	Gradient	Cycle	Point
103.138191	24.346714	1	4	28.199604	0.774118	56	123
81.093399	12.165060	2	6	28.136509	0.966055	57	125
73.873207	10.152820	3	8	28.071449	0.778278	58	127
64.529533	9.274204	4	11	28.033587	0.670587	59	129
58.881031	8.073001	5	13	27.992159	0.834738	60	132
55.111080	6.148280	6	15	27.942413	0.672341	61	134
52.492447	6.059813	7	17	27.910021	0.576371	62	136
49.280380	6.097373	8	20	27.879280	0.697224	63	138
46.448200	6.618161	9	22	27.841160	0.756825	64	140
43.828522	4.476148	10	24	27.792068	0.790248	65	142
42.182552	4.213082	11	26	27.746447	0.716610	66	144
40.814651	4.073646	12	28	27.710701	0.658447	67	146
39.909130	3.154479	13	30	27.658812	0.754278	68	150
39.055729	3.685757	14	33	27.623093	0.701482	69	152
38.004154	3.479578	15	35	27.583420	0.786439	70	154
37.300560	2.927609	16	37	27.527866	0.859899	71	156
36.261372	3.091375	17	40	27.475853	0.676259	72	158
35.637398	3.214225	18	42	27.439133	0.739115	73	160
34.882656	3.084420	19	44	27.392576	0.703306	74	162
34.134499	2.934685	20	46	27.362701	0.613719	75	164
33.534824	2.739115	21	48	27.334684	0.613302	76	166
32.917545	2.663231	22	50	27.298405	0.651996	77	168
32.464886	2.100658	23	52	27.263966	0.631623	78	170
32.179150	2.075032	24	54	27.235741	0.596403	79	172
31.852024	1.984627	25	56	27.210537	0.557557	80	174
31.501816	1.645258	26	58	27.182951	0.666888	81	176
31.319054	1.545099	27	60	27.142836	0.695461	82	178
31.132881	1.641270	28	62	27.104883	0.674709	83	180
30.946095	1.487095	29	64	27.065945	0.738585	84	182
30.766228	1.555735	30	66	27.022842	0.647320	85	184
30.571035	1.582575	31	68	26.991974	0.648306	86	186
30.336634	1.621079	32	71	26.959192	0.615767	87	188
30.098953	1.678322	33	73	26.937002	0.524850	88	190
29.954899	1.327830	34	75	26.908520	0.661285	89	192
29.796221	1.398570	35	79	26.871506	0.606012	90	194
29.627850	1.395825	36	81	26.847784	0.515444	91	196
29.507183	1.166796	37	83	26.822094	0.614792	92	198
29.400778	1.173942	38	85	26.791735	0.621808	93	200
29.307615	1.065751	39	87	26.767912	0.480190	94	202
29.226526	1.007546	40	89	26.747353	0.515690	95	204
29.138657	0.943836	41	91	26.725100	0.500272	96	206
29.070515	0.902187	42	93	26.703770	0.510641	97	208
29.017036	0.943101	43	95	26.680449	0.505869	98	210
28.925148	1.082461	44	98	26.662617	0.486631	99	212
28.840023	0.987301	45	100	26.647846	0.399329	100	214
28.767546	0.948823	46	102	26.634249	0.393097	101	216
28.694384	0.883010	47	104	26.620844	0.437253	102	218
28.636610	0.878373	48	106	26.598618	0.489161	103	221
28.583895	0.856469	49	108	26.584234	0.341618	104	223
28.530186	0.754587	50	110	26.574675	0.388414	105	225
28.477514	0.916923	51	113	26.560736	0.436971	106	227
28.414217	0.782829	52	115	26.548107	0.321186	107	229
28.367064	0.784671	53	117	26.539438	0.342898	108	231
28.308771	0.966359	54	119	26.527922	0.386165	109	233
28.246881	0.826741	55	121	26.514845	0.390243	110	235

Energy	Gradient	Cycle	Point	Energy	Gradient	Cycle	Point
26.500618	0.381630	111	237	25.768208	0.286737	179	390
26.490007	0.377757	112	239	25.759619	0.317166	180	393
26.479546	0.381021	113	241	25.750381	0.309326	181	395
26.466513	0.386049	114	243	25.742393	0.356301	182	397
26.455416	0.378970	115	245	25.732264	0.350894	183	400
26.444118	0.381294	116	247	25.722250	0.314833	184	402
26.428980	0.438769	117	250	25.714104	0.352369	185	404
26.416130	0.383786	118	252	25.705021	0.346075	186	407
26.401838	0.432913	119	255	25.694843	0.334850	187	410
26.388351	0.388636	120	257	25.681759	0.373396	188	412
26.376984	0.378017	121	259	25.668900	0.435660	189	414
26.366503	0.336699	122	261	25.655598	0.396930	190	416
26.356749	0.385412	123	263	25.639891	0.402085	191	418
26.347178	0.346623	124	265	25.625914	0.451188	192	420
26.336945	0.341617	125	267	25.606638	0.591045	193	422
26.328014	0.389767	126	269	25.574965	0.555772	194	425
26.315546	0.380592	127	271	25.550299	0.559194	195	427
26.303541	0.326274	128	273	25.529472	0.524672	196	429
26.294739	0.354387	129	275	25.505295	0.519375	197	431
26.282555	0.438716	130	277	25.471891	0.653878	198	434
26.269533	0.345645	131	279	25.446430	0.555168	199	436
26.258526	0.341226	132	281	25.420052	0.604135	200	438
26.249540	0.366731	133	283	25.381111	0.554312	201	441
26.240749	0.331862	134	285	25.352118	0.549380	202	443
26.230322	0.281051	135	287	25.322369	0.719050	203	445
26.224340	0.302126	136	289	25.286243	0.669675	204	447
26.216993	0.307510	137	291	25.245556	0.763814	205	450
26.207272	0.310450	138	293	25.200638	0.826226	206	452
26.199724	0.304770	139	295	25.146143	0.737563	207	454
26.191992	0.350316	140	297	25.099520	0.631922	208	456
26.182871	0.310159	141	299	25.060999	0.706984	209	458
26.173315	0.331302	142	302	25.016838	0.890625	210	461
26.163761	0.365194	143	305	24.965261	0.710187	211	463
26.155977	0.302959	144	307	24.916569	0.680570	212	465
26.146164	0.360758	145	310	24.876606	0.818321	213	467
26.133354	0.337486	146	312	24.824177	0.845554	214	469
26.123848	0.336430	147	314	24.773804	0.674759	215	471
26.114820	0.362224	148	316	24.730946	0.820837	216	473
26.103632	0.354119	149	321	24.696346	0.578582	217	475
26.095770	0.300646	150	323	24.667671	0.483465	218	477
26.088444	0.331132	151	325	24.640722	0.587910	219	479
26.079920	0.290617	152	327	24.617472	0.535438	220	481
26.072498	0.282935	153	329	24.585712	0.592552	221	484
26.064657	0.381082	154	331	24.551018	0.560866	222	486
26.053337	0.390359	155	334	24.521875	0.533681	223	488
26.042707	0.341897	156	336	24.502287	0.577298	224	490
26.029219	0.402638	157	339	24.474594	0.525740	225	493
26.018574	0.382154	158	341	24.450621	0.533242	226	495
26.006016	0.381050	159	344	24.420938	0.668076	227	497
25.991705	0.375819	160	346	24.388617	0.635489	228	499
25.979008	0.414020	161	348	24.351564	0.612210	229	501
25.962858	0.442514	162	351	24.317890	0.650178	230	503
25.951519	0.367480	163	353	24.290392	0.625664	231	505
25.936012	0.460476	164	356	24.252478	0.571809	232	507
25.920357	0.427496	165	358	24.221783	0.642294	233	509
25.908857	0.334343	166	360	24.186983	0.646264	234	511
25.894905	0.357685	167	363	24.158243	0.566776	235	513
25.883558	0.405015	168	365	24.126852	0.534528	236	515
25.871731	0.369554	169	367	24.106438	0.588720	237	517
25.858149	0.355080	170	370	24.077414	0.571584	238	519
25.846083	0.403045	171	372	24.051916	0.454596	239	521
25.834583	0.411291	172	374	24.028355	0.514469	240	523
25.821772	0.340804	173	377	24.002363	0.635892	241	525
25.811563	0.326192	174	379	23.974951	0.570833	242	527
25.802231	0.355339	175	381	23.949009	0.513155	243	529
25.793535	0.337556	176	383	23.925680	0.650971	244	531
25.784376	0.322156	177	386	23.888250	0.613456	245	533
25.775726	0.338628	178	388	23.851326	0.583935	246	535

Energy	Gradient	Cycle	Point	Energy	Gradient	Cycle	Point
23.813131	0.701291	247	541	21.171753	0.482241	315	684
23.783575	0.688140	248	543	21.153034	0.461545	316	687
23.748325	0.681425	249	545	21.137991	0.424257	317	689
23.711145	0.615650	250	547	21.118996	0.536096	318	692
23.681805	0.643982	251	549	21.098341	0.447125	319	694
23.641376	0.735944	252	551	21.077652	0.543250	320	696
23.592678	0.754482	253	553	21.051643	0.512670	321	698
23.554504	0.705199	254	555	21.033106	0.472869	322	700
23.511248	0.784752	255	557	21.013630	0.534480	323	703
23.461653	0.735287	256	559	20.991713	0.472252	324	705
23.419863	0.659718	257	561	20.972790	0.519073	325	707
23.378559	0.769116	258	563	20.943539	0.662982	326	709
23.332638	0.712198	259	565	20.913433	0.563563	327	711
23.293007	0.773992	260	567	20.889074	0.495073	328	713
23.234406	0.838646	261	570	20.867647	0.516227	329	715
23.184132	0.770923	262	572	20.847948	0.476784	330	717
23.141338	0.735934	263	574	20.826056	0.525420	331	719
23.094139	0.779018	264	576	20.798666	0.517373	332	721
23.038702	0.830224	265	578	20.779295	0.440921	333	723
22.979555	0.916221	266	580	20.765772	0.426027	334	725
22.920595	0.829042	267	582	20.750069	0.437607	335	728
22.868128	0.777570	268	584	20.733006	0.490416	336	730
22.814295	0.842132	269	586	20.714155	0.446070	337	732
22.750166	0.939103	270	588	20.700632	0.391169	338	734
22.680817	0.932666	271	590	20.687460	0.410290	339	737
22.613092	0.917440	272	592	20.675486	0.383085	340	739
22.548225	0.943366	273	594	20.662004	0.434630	341	741
22.472128	0.978987	274	596	20.646605	0.457831	342	744
22.393894	0.773734	275	598	20.629602	0.405073	343	746
22.342802	0.904973	276	600	20.614256	0.380637	344	748
22.277466	0.875135	277	602	20.600876	0.488834	345	751
22.227182	0.761480	278	604	20.583778	0.468031	346	753
22.174749	0.858694	279	606	20.559835	0.524905	347	755
22.102831	0.979799	280	608	20.535889	0.520544	348	757
22.032278	0.971005	281	610	20.516956	0.505232	349	759
21.956301	0.824881	282	612	20.493166	0.566262	350	762
21.914904	0.712733	283	614	20.465809	0.549604	351	764
21.872461	0.762691	284	616	20.437654	0.653536	352	766
21.831041	0.648125	285	618	20.405388	0.589781	353	768
21.784222	0.745365	286	620	20.370090	0.576755	354	770
21.734735	0.728964	287	622	20.330778	0.670330	355	773
21.704479	0.583644	288	624	20.299393	0.596007	356	775
21.675352	0.621545	289	627	20.268892	0.634336	357	777
21.643356	0.599105	290	629	20.237219	0.585279	358	779
21.609962	0.668885	291	631	20.209896	0.624176	359	781
21.579542	0.607498	292	633	20.173162	0.734621	360	783
21.550547	0.555546	293	636	20.140301	0.566354	361	785
21.526739	0.508475	294	638	20.105850	0.626744	362	787
21.503618	0.518652	295	640	20.062319	0.716527	363	789
21.486250	0.480298	296	642	20.027687	0.750057	364	791
21.463434	0.530006	297	645	19.984673	0.691236	365	793
21.437994	0.482948	298	647	19.942848	0.579160	366	795
21.418722	0.470903	299	649	19.915977	0.600800	367	797
21.403265	0.435025	300	651	19.882969	0.668262	368	799
21.390697	0.387961	301	653	19.854992	0.556380	369	801
21.372416	0.466553	302	656	19.821602	0.731936	370	803
21.354668	0.503389	303	658	19.781584	0.703581	371	805
21.338396	0.422695	304	660	19.747276	0.616514	372	807
21.322582	0.432341	305	662	19.709270	0.587448	373	809
21.306787	0.418332	306	665	19.682228	0.590610	374	811
21.294098	0.414805	307	667	19.652338	0.734620	375	813
21.280682	0.417020	308	669	19.604982	0.691953	376	815
21.265362	0.395822	309	671	19.567459	0.741679	377	817
21.252308	0.429645	310	673	19.529196	0.693080	378	819
21.238220	0.431465	311	675	19.494221	0.534684	379	821
21.226997	0.370617	312	677	19.465223	0.615713	380	823
21.210001	0.491242	313	680	19.431698	0.709808	381	825
21.190836	0.501507	314	682	19.393749	0.642030	382	827

Energy	Gradient	Cycle	Point	Energy	Gradient	Cycle	Point
19.365604	0.547334	383	829	18.703571	0.215565	451	1004
19.341059	0.558486	384	831	18.701277	0.196690	452	1008
19.321350	0.456466	385	833	18.699131	0.163436	453	1012
19.303484	0.473859	386	836	18.697260	0.178003	454	1015
19.281469	0.568507	387	838	18.695505	0.157772	455	1018
19.262096	0.501421	388	840	18.694069	0.139226	456	1022
19.239311	0.456017	389	843	18.693027	0.162715	457	1026
19.220289	0.430731	390	845	18.691502	0.161003	458	1031
19.202885	0.461648	391	847	18.689766	0.153173	459	1036
19.188328	0.399279	392	849	18.688551	0.180438	460	1041
19.173964	0.463197	393	852	18.687304	0.154905	461	1047
19.154547	0.484518	394	854	18.686060	0.155215	462	1055
19.140543	0.424800	395	856	18.684702	0.186021	463	1063
19.125275	0.428198	396	859	18.683508	0.145760	464	1069
19.108341	0.385737	397	861	18.682652	0.175351	465	1079
19.096884	0.398788	398	863	18.681602	0.176847	466	1088
19.083855	0.436998	399	866	18.680271	0.151442	467	1097
19.068125	0.367290	400	868	18.679064	0.196112	468	1100
19.058012	0.365314	401	870	18.678259	0.181122	469	1105
19.047815	0.388996	402	872	18.677437	0.149972	470	1114
19.036516	0.368567	403	874	18.676390	0.162888	471	1117
19.021997	0.427668	404	877	18.675709	0.159355	472	1121
19.005671	0.445107	405	879	18.674881	0.152435	473	1128
18.994232	0.386580	406	881	18.673807	0.166460	474	1132
18.982044	0.358416	407	884	18.673193	0.171083	475	1137
18.972397	0.311176	408	886	18.672371	0.148251	476	1148
18.964769	0.344876	409	888	18.671219	0.149221	477	1159
18.953543	0.336617	410	891	18.670591	0.133132	478	1165
18.943163	0.335094	411	893	18.670036	0.135552	479	1173
18.932735	0.385356	412	895	18.668846	0.172232	480	1178
18.924730	0.309114	413	897	18.668100	0.155016	481	1182
18.914625	0.340584	414	900	18.667370	0.153563	482	1185
18.903139	0.366336	415	902	18.666876	0.165629	483	1191
18.894373	0.357179	416	904	18.666298	0.151027	484	1201
18.883934	0.366813	417	907	18.665649	0.161084	485	1204
18.870960	0.362141	418	909	18.665226	0.155314	486	1209
18.861774	0.297104	419	911	18.664722	0.185249	487	1212
18.855890	0.326311	420	914	18.664139	0.169470	488	1220
18.847200	0.315324	421	917	18.663567	0.182548	489	1225
18.839987	0.329669	422	919	18.662851	0.173416	490	1228
18.831985	0.319569	423	921	18.662153	0.179968	491	1239
18.824009	0.274065	424	923	18.661364	0.205030	492	1244
18.817295	0.340566	425	925	18.660378	0.190170	493	1248
18.810101	0.335538	426	927	18.659277	0.182417	494	1256
18.800907	0.262288	427	929	18.658436	0.221215	495	1263
18.793745	0.301947	428	932	18.657610	0.206149	496	1270
18.787645	0.335393	429	935	18.656630	0.193066	497	1278
18.781479	0.259133	430	937	18.655722	0.211870	498	1284
18.776449	0.237164	431	940	18.654701	0.176878	499	1287
18.773495	0.211917	432	943	18.653893	0.189633	500	1293
18.769485	0.224931	433	947	18.653360	0.207544	501	1297
18.765486	0.256595	434	950	18.653179	0.197458	502	1308
18.761999	0.226542	435	953	18.652308	0.215104	503	1316
18.757336	0.256365	436	955	18.651566	0.175325	504	1321
18.752338	0.222179	437	957	18.650963	0.144911	505	1332
18.749434	0.251871	438	960	18.650257	0.154833	506	1343
18.743906	0.283837	439	963	18.649677	0.129342	507	1349
18.738478	0.288427	440	966	18.649342	0.130924	508	1358
18.734266	0.256675	441	969	18.648975	0.186420	509	1361
18.729334	0.234719	442	972	18.648695	0.151425	510	1367
18.726521	0.220476	443	975	18.648272	0.189926	511	1371
18.723574	0.212269	444	979	18.647804	0.186533	512	1377
18.720169	0.202137	445	983	18.647362	0.177857	513	1380
18.718006	0.222159	446	986	18.647146	0.222042	514	1391
18.714685	0.181375	447	990	18.646807	0.194360	515	1398
18.712231	0.201559	448	994	18.646450	0.150385	516	1401
18.709812	0.225317	449	998	18.646168	0.170788	517	1407
18.706240	0.205438	450	1000	18.645931	0.142144	518	1418

Energy	Gradient	Cycle	Point	Energy	Gradient	Cycle	Point
18.645580	0.135900	519	1429	18.608646	0.111065	587	1941
18.645372	0.145085	520	1439	18.608498	0.095274	588	1948
18.645184	0.133496	521	1450	18.608528	0.097396	589	1960
18.644888	0.132186	522	1460	18.608082	0.059646	590	1962
18.644716	0.135635	523	1470	18.607901	0.056207	591	1964
18.644623	0.115181	524	1481	18.607737	0.048522	592	1971
18.644548	0.143681	525	1492	18.607677	0.050870	593	1975
18.644316	0.126676	526	1503	18.607685	0.044021	594	1986
18.644014	0.131286	527	1514	18.607590	0.037080	595	1988
18.643814	0.148222	528	1525	18.607502	0.034753	596	1992
18.643650	0.130394	529	1536	18.607468	0.041444	597	1995
18.643858	0.168868	530	1548	18.607479	0.043952	598	2006
18.642912	0.088996	531	1550	18.607412	0.028660	599	2008
18.642490	0.064378	532	1553	18.607386	0.030993	600	2015
18.642187	0.073808	533	1561	18.607380	0.026091	601	2026
18.641964	0.069852	534	1568	18.607395	0.029814	602	2037
18.641708	0.072770	535	1572	18.607378	0.020206	603	2040
18.641367	0.075375	536	1579	18.607378	0.033679	604	2054
18.640921	0.093172	537	1583	18.607393	0.050554	605	2065
18.640589	0.094040	538	1587	18.607334	0.021549	606	2067
18.640230	0.111157	539	1593	18.607288	0.036128	607	2076
18.639833	0.113928	540	1604	18.607265	0.037450	608	2083
18.639122	0.099699	541	1607	18.607273	0.041743	609	2095
18.638546	0.115468	542	1616	18.607212	0.032007	610	2098
18.637930	0.109299	543	1626	18.607193	0.034298	611	2110
18.636946	0.144375	544	1631	18.607206	0.027941	612	2121
18.635633	0.163027	545	1637	18.607197	0.024484	613	2125
18.634253	0.175293	546	1643	18.607206	0.024306	614	2137
18.633066	0.127688	547	1648	18.607203	0.020969	615	2142
18.632019	0.124029	548	1658	18.607208	0.019338	616	2153
18.631393	0.127913	549	1666	18.607208	0.019535	617	2164
18.630791	0.170979	550	1676	18.607172	0.057562	618	2178
18.630047	0.163948	551	1682	18.607222	0.084473	619	2189
18.629822	0.156672	552	1688	18.607075	0.028081	620	2191
18.628756	0.175774	553	1698	18.607058	0.030238	621	2204
18.627638	0.160316	554	1706	18.607056	0.023826	622	2215
18.626463	0.168467	555	1717	18.607079	0.020155	623	2226
18.624840	0.171001	556	1720	18.607063	0.024012	624	2232
18.623980	0.172232	557	1725	18.607071	0.040706	625	2244
18.623182	0.167336	558	1735	18.607035	0.021520	626	2246
18.622128	0.154560	559	1738	18.607031	0.017738	627	2258
18.621450	0.160952	560	1743	18.607040	0.016265	628	2269
18.620684	0.146761	561	1752	18.607046	0.016352	629	2280
18.619783	0.137908	562	1763	18.607054	0.018008	630	2291
18.618885	0.164525	563	1766	18.607038	0.027505	631	2296
18.618277	0.188896	564	1772	18.607004	0.053662	632	2309
18.617138	0.149765	565	1783	18.607063	0.074997	633	2320
18.616236	0.180573	566	1789	18.606937	0.024944	634	2322
18.616058	0.168544	567	1796	18.606920	0.043935	635	2336
18.614836	0.131828	568	1803	18.606989	0.035952	636	2347
18.613972	0.115139	569	1808	18.606943	0.024187	637	2350
18.613338	0.124031	570	1812	18.606899	0.023150	638	2354
18.612568	0.137305	571	1816	18.606899	0.041885	639	2366
18.611639	0.119655	572	1823	18.606867	0.022144	640	2368
18.611156	0.080025	573	1827	18.606865	0.016587	641	2380
18.611042	0.092431	574	1837	18.606873	0.016320	642	2391
18.610933	0.095644	575	1841	18.606878	0.016500	643	2402
18.610668	0.095803	576	1850	18.606886	0.017211	644	2413
18.610519	0.103924	577	1856	18.606894	0.018536	645	2424
18.610401	0.086575	578	1859	18.606899	0.019738	646	2435
18.610329	0.084162	579	1869	18.606905	0.020265	647	2446
18.610113	0.082541	580	1876	18.606894	0.020697	648	2451
18.609957	0.092446	581	1882	18.606901	0.068709	649	2466
18.609806	0.105828	582	1893	18.606812	0.017903	650	2468
18.609600	0.095788	583	1904	18.606815	0.016806	651	2479
18.609367	0.109678	584	1911	18.606819	0.016209	652	2490
18.609209	0.106106	585	1920	18.606823	0.015978	653	2501
18.608950	0.107736	586	1930	18.606827	0.015834	654	2512

Energy	Gradient	Cycle	Point	Energy	Gradient	Cycle	Point
18.606831	0.015723	655	2523	18.606476	0.047997	723	3205
18.606834	0.015630	656	2534	18.606398	0.020302	724	3207
18.606838	0.015550	657	2545	18.606394	0.019639	725	3219
18.606842	0.015480	658	2556	18.606415	0.024883	726	3230
18.606844	0.015942	659	2567	18.606411	0.019739	727	3234
18.606838	0.048557	660	2583	18.606415	0.018259	728	3245
18.607363	0.103850	661	2594	18.606417	0.016078	729	3256
18.606956	0.032274	662	2596	18.606419	0.015582	730	3267
18.606764	0.053997	663	2607	18.606422	0.015426	731	3278
18.606941	0.072921	664	2618	18.606426	0.015346	732	3289
18.606812	0.031649	665	2620	18.606428	0.015287	733	3300
18.606699	0.027697	666	2625	18.606432	0.015237	734	3311
18.606672	0.025347	667	2636	18.606436	0.015193	735	3322
18.606691	0.041728	668	2648	18.606438	0.015154	736	3333
18.606657	0.023367	669	2651	18.606441	0.015120	737	3344
18.606655	0.019214	670	2663	18.606443	0.016102	738	3355
18.606657	0.019273	671	2674	18.606390	0.031839	739	3370
18.606663	0.020377	672	2685	18.606432	0.048262	740	3381
18.606667	0.020625	673	2696	18.606354	0.020169	741	3383
18.606672	0.020396	674	2707	18.606352	0.019460	742	3395
18.606676	0.020298	675	2718	18.606371	0.023981	743	3406
18.606680	0.020171	676	2729	18.606375	0.025123	744	3417
18.606684	0.020171	677	2740	18.606373	0.018319	745	3423
18.606688	0.020127	678	2751	18.606377	0.017609	746	3434
18.606691	0.020188	679	2762	18.606379	0.015858	747	3445
18.606695	0.020192	680	2773	18.606380	0.015450	748	3456
18.606697	0.020275	681	2784	18.606384	0.015322	749	3467
18.606701	0.020288	682	2795	18.606388	0.015255	750	3478
18.606703	0.021134	683	2806	18.606390	0.015205	751	3489
18.606689	0.019278	684	2809	18.606394	0.015164	752	3500
18.606668	0.039372	685	2823	18.606396	0.015127	753	3511
18.606710	0.071762	686	2834	18.606400	0.015095	754	3522
18.606615	0.016357	687	2836	18.606401	0.016140	755	3533
18.606619	0.016073	688	2847	18.606348	0.031929	756	3548
18.606623	0.015834	689	2858	18.606390	0.047972	757	3559
18.606627	0.015697	690	2869	18.606312	0.020350	758	3561
18.606628	0.015592	691	2880	18.606310	0.021279	759	3573
18.606632	0.015503	692	2891	18.606333	0.028916	760	3584
18.606636	0.015428	693	2902	18.606325	0.017515	761	3587
18.606640	0.015363	694	2913	18.606327	0.016858	762	3598
18.606644	0.015306	695	2924	18.606331	0.015814	763	3609
18.606646	0.015926	696	2935	18.606333	0.015532	764	3620
18.606644	0.047472	697	2951	18.606337	0.015417	765	3631
18.607174	0.102756	698	2962	18.606340	0.015342	766	3642
18.606775	0.031923	699	2964	18.606342	0.015283	767	3653
18.606571	0.048837	700	2977	18.606346	0.015231	768	3664
18.606606	0.042746	701	2988	18.606350	0.015185	769	3675
18.606571	0.020214	702	2991	18.606352	0.015145	770	3686
18.606567	0.021617	703	3004	18.606356	0.015109	771	3697
18.606590	0.036796	704	3016	18.606358	0.015077	772	3708
18.606550	0.019822	705	3018	18.606361	0.016151	773	3719
18.606550	0.019617	706	3030	18.606306	0.031954	774	3734
18.606535	0.038811	707	3043	18.606350	0.047788	775	3745
18.606600	0.068724	708	3055	18.606272	0.020337	776	3747
18.606478	0.028431	709	3057	18.606268	0.019760	777	3759
18.606462	0.030532	710	3066	18.606289	0.025563	778	3770
18.606468	0.023063	711	3077	18.606285	0.019494	779	3774
18.606483	0.035616	712	3088	18.606289	0.018229	780	3785
18.606466	0.017575	713	3091	18.606291	0.016064	781	3796
18.606468	0.016438	714	3102	18.606293	0.015566	782	3807
18.606472	0.015583	715	3113	18.606297	0.015409	783	3818
18.606474	0.015359	716	3124	18.606300	0.015328	784	3829
18.606478	0.015270	717	3135	18.606302	0.015267	785	3840
18.606482	0.015215	718	3146	18.606306	0.015215	786	3851
18.606483	0.015172	719	3157	18.606310	0.015170	787	3862
18.606487	0.015135	720	3168	18.606312	0.015130	788	3873
18.606489	0.016164	721	3179	18.606316	0.015094	789	3884
18.606434	0.031964	722	3194	18.606318	0.016041	790	3895

Energy	Gradient	Cycle	Point	Energy	Gradient	Cycle	Point
18.606266	0.031735	791	3910	18.606251	0.018033	797	3961
18.606310	0.048274	792	3921	18.606253	0.016005	798	3972
18.606232	0.020135	793	3923	18.606255	0.015529	799	3983
18.606230	0.020506	794	3935	18.606258	0.015377	800	3994
18.606253	0.027591	795	3946	18.606258	0.015377	800	3994
18.606247	0.018736	796	3950				

Bond=1.8598 Angle=8.80917 Dihedral=-3.22298 Vdw=12.7341
Stretch-bend=0.570335 Electrostatic=-2.14419.

4.3 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1:	Zerfallsschema von ^{99}Mo	3
Abbildung 2:	Schematische Darstellung der BHS	6
Abbildung 3:	Beispiele für lipophile Hirnradiopharmaka	8
Abbildung 4:	Gegenüberstellung Melphalan « Technetiumkomplex- Phenylalaninkonjugat	10
Abbildung 5:	Beispiele für Tripodandkomplexe mit Übergangsmetallen.....	11
Abbildung 6:	Mögliche Technetiumpodandkomplexe der Struktur $\text{N}((\text{CH}_2)_n\text{S})_2(\text{CH}_2)_n\text{NHTcO}$ mit unterschiedlicher Alkylkettenlänge und der kleinste Tc-DADT-Komplex (Hyperchemberechnung).....	15
Abbildung 7:	Maximale Ausdehnung der Phenylalaninsubstituenten (Hyperchemberechnung).....	17
Abbildung 8:	Favorisierter Tripodandkomplex.....	18
Abbildung 9:	Darstellung eines Tris(2-hydroxyethyl)amin-Technetiumkomplexes	20
Abbildung 10:	Darstellung eines Tris(2-aminoethyl)amin-Technetiumkomplexes.....	22
Abbildung 11:	Darstellung des Bis(2-Benzylthioethyl)amins.....	26
Abbildung 12:	Darstellung des N,N-Bis(2-Benzylthioethyl)-2-aminoacetonitrils	27
Abbildung 13:	Adduktbildung zur Aktivierung des Aldehyds.....	28
Abbildung 14:	Darstellung des N,N-Bis(2-Benzylthioethyl)ethylendiamins	29
Abbildung 15:	Darstellung des N,N-Bis(2-Mercaptoethyl)ethylendiamins.....	31
Abbildung 16:	Numerierung der Atome des N,N-Bis(2-Mercaptoethyl)- ethylendiamin-Hydrochlorids zur Zuordnung der gemessenen ^1H -und ^{13}C -Resonanzen.....	35
Abbildung 17:	Komplexierung des N,N-Bis(2-Mercaptoethyl)ethylendiamins mit NaBH_4 als Reduktionsmittel.....	39
Abbildung 18:	Komplexierung des N,N-Bis(2-Mercaptoethyl)ethylendiamins mit NaBH_4 als Reduktionsmittel bei pH 12.....	40
Abbildung 19:	Komplexierung des N,N-Bis(2-Mercaptoethyl)ethylendiamins mit $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ als Reduktionsmittel	41
Abbildung 20:	Komplexierung des N,N-Bis(2-Mercaptoethyl)ethylendiamins mit NaBH_4 als Reduktionsmittel und kontinuierlicher Extraktion mit Methylenechlorid	42
Abbildung 21:	Darstellung des N,N-Bis(2-Mercaptoethyl)ethylendiamin- oxotechnetium(V)-Komplexes	47
Abbildung 22:	Numerierung der Protonen des N,N-Bis(2-Mercaptoethyl)- ethylendiamin-oxotechnetium(V)-Komplexes zur Zuordnung der gemessenen ^1H -Resonanzen.....	49

Abbildung 23: Numerierung der Protonen des N,N-Bis(2-Mercaptoethyl)-ethylendiamins zur Zuordnung der gemessenen ^1H -Resonanzen.....	53
Abbildung 24: Elektrophorese des N,N-Bis(2-Mercaptoethyl)ethylendiaminoxotechnetium(V)-Komplexes bei pH 7.....	61
Abbildung 25: Elektrophorese des $[\text{}^{99}\text{Tc}(\text{DIARS})_2\text{Cl}_2]^+$ -Komplexes als Referenzsubstanz bei pH 7.....	61
Abbildung 26: Elektrophorese des N,N-Bis(2-Mercaptoethyl)ethylendiaminoxotechnetium(V)-Komplexes bei pH 8.....	62
Abbildung 27: Elektrophorese des $[\text{}^{99}\text{Tc}(\text{DIARS})_2\text{Cl}_2]^+$ -Komplexes als Referenzsubstanz bei pH 8.....	62
Abbildung 28: Synthesepfad der (S)-2-Amino-3-{4-[2-amino-1-bis-(2-mercaptoethyl)-aminoethyl]-phenyl}-propansäure.....	65
Abbildung 29: Darstellung des Bis(2-Tritylthioethyl)amins.....	66
Abbildung 30: Darstellung des 4-Brommethylbenzaldehyds.....	69
Abbildung 31: Numerierung der Protonen des 4-Brommethylbenzaldehyds zur Zuordnung der gemessenen ^1H -Resonanzen.....	70
Abbildung 32: Darstellung des N,N-Bis(2-Tritylthioethyl)-2-amino-2-(4-brommethylphenyl)acetonitrils.....	71
Abbildung 33: Darstellung des (S,S)-2-t-Butyl-1-t-butyloxycarbonyl-3-methyl-5-{4-[cyano-bis-(2-tritylthioethyl)-aminomethyl]-benzyl}-4-imidazolidinons.....	73
Abbildung 34: MPL-Chromatogramm der (S,S)-2-t-Butyl-1-t-butyloxycarbonyl-3-methyl-5-{4-[cyano-bis-(2-tritylthioethyl)-aminomethyl]-benzyl}-4-imidazolidinon-Abtrennung Aufgabemenge: 1 ml.....	75
Abbildung 35: MPL-Chromatogramm der (S,S)-2-t-Butyl-1-t-butyloxycarbonyl-3-methyl-5-{4-[cyano-bis-(2-tritylthioethyl)-aminomethyl]-benzyl}-4-imidazolidinon-Abtrennung Aufgabemenge: 5 ml.....	75
Abbildung 36: Numerierung der Protonen des (S,S)-2-t-Butyl-1-t-butyloxycarbonyl-3-methyl-5-{4-[cyano-bis-(2-tritylthioethyl)-aminomethyl]-benzyl}-4-imidazolidinons zur Zuordnung der gemessenen ^1H -Resonanzen.....	76
Abbildung 37: Darstellung des (S,S)-2-t-Butyl-1-t-butyloxycarbonyl-3-methyl-5-{4-[2-amino-1-bis(2-tritylthioethyl)-aminoethyl]-benzyl}-4-imidazolidinons.....	78
Abbildung 38: Numerierung der Protonen des (S,S)-2-t-Butyl-1-t-butyloxycarbonyl-3-methyl-5-{4-[2-amino-1-bis(2-tritylthioethyl)-aminoethyl]-benzyl}-4-imidazolidinons zur Zuordnung der gemessenen ^1H -Resonanzen.....	79
Abbildung 39: Darstellung des (S,S)-2-t-Butyl-3-methyl-5-{4-[2-amino-1-bis(2-mercaptoethyl)amino-ethyl]-benzyl}-4-imidazolidinons.....	81

Abbildung 40: Darstellung der (S)-2-Amino-3-{4-[2-amino-1-bis-(2-mercaptoethyl)-aminoethyl]-phenyl}-propansäure	82
Abbildung 41: Numerierung der Protonen der (S)-2-Amino-3-{4-[2-amino-1-bis-(2-mercaptoethyl)-aminoethyl]-phenyl}-propansäure zur Zuordnung der gemessenen ^1H -Resonanzen in DCl-saurem D_2O	84
Abbildung 42: Numerierung der Protonen des Phenylalanins zur Zuordnung der gemessenen ^1H -Resonanzen.....	85
Abbildung 43: Komplexierung der (S)-2-Amino-3-{4-[2-amino-1-bis-(2-mercaptoethyl)-aminoethyl]-phenyl}-propansäure im wässrigen Medium	87
Abbildung 44: Komplexierung der (S)-2-Amino-3-{4-[2-amino-1-bis-(2-mercaptoethyl)-aminoethyl]-phenyl}-propansäure in siedendem Ethanol	89
Abbildung 45: Graphische Darstellung der Bioverteilung des (S)-2-Amino-3-{4-[2-amino-1-bis-(2-mercaptoethyl)-aminoethyl]-phenyl}-propansäure-oxo-($^{99\text{m}}\text{Tc}$)technetium(V)-Komplexes in weißen NMRI-Mäusen.....	96

4.4 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Geeignete Nuklide für die Radiodiagnostik.....	4
Tabelle 2: Beispiele für ^{99m} Tc-Radiodiagnostika.....	5
Tabelle 3: Zuordnung der gemessenen Infrarotbanden des N,N-Bis(2-Mercaptoethyl)ethylendiamin-Hydrochlorids	33
Tabelle 4: Angabe der sterischen Korrekturwerte S _{iα}	36
Tabelle 5: Verwendetes Inkrementsystem zur Abschätzung der ¹³ C-Verschiebungen	36
Tabelle 6: Zuordnung der gemessenen und berechneten ¹³ C-NMR-Verschiebungen des N,N-Bis(2-Mercaptoethyl)ethylendiamin-Hydrochlorids.....	37
Tabelle 7: Zuordnung der gemessenen ¹ H-NMR-Verschiebungen des N,N-Bis(2-Mercaptoethyl)ethylendiamin-Hydrochlorids	37
Tabelle 8: Lösungsmittelgemische für Kieselgel als stationäre Phase	44
Tabelle 9: Lösungsmittelgemische für RP-8 als stationäre Phase	45
Tabelle 10: Lösungsmittelgemische für RP-18 als stationäre Phase.....	45
Tabelle 11: Lösungsmittelgemische für RP-18 (endcapped) als stationäre Phase.....	45
Tabelle 12: Lösungsmittelgemische für Zellulose als stationäre Phase	45
Tabelle 13: Lösungsmittelgemische für Aluminiumoxid als stationäre Phase.....	46
Tabelle 14: Zuordnung der gemessenen ¹ H-NMR-Verschiebungen des N,N-Bis(2-Mercaptoethyl)ethylendiamin-oxotechnetium(V)-Komplexes.....	49
Tabelle 15: Verwendetes Inkrementsystem zur Abschätzung der ¹ H-Verschiebungen	50
Tabelle 16: Verwendete Referenzsubstanzen für Korrekturfaktoren.....	50
Tabelle 17: Gemessene und berechnete ¹ H-NMR-Verschiebungswerte des N,N-Bis(2-Mercaptoethyl)ethylendiamin-oxotechnetium(V)-Komplexes.....	52
Tabelle 18: Gemessene ¹ H-NMR-Verschiebungen des freien Liganden N,N-Bis(2-Mercaptoethyl)ethylendiamin	53
Tabelle 19: Gemessene und berechnete ¹ H-NMR-Verschiebungswerte des N,N-Bis(2-Mercaptoethyl)ethylendiamins	54
Tabelle 20: Zuordnung der gemessenen Infrarotbanden des N,N-Bis(2- Mercaptoethyl)ethylendiamin-oxotechnetium(V)-Komplexes	55
Tabelle 21: Struktur der Referenzsubstanzen für die Elektrophorese	58
Tabelle 22: Zuordnung der gemessenen ¹ H-NMR-Verschiebungswerte des Bis(2-Tritylthioethyl)amins	68
Tabelle 23: Zuordnung der gemessenen Infrarotbanden des Bis(2-Tritylthioethyl)amins	68
Tabelle 24: Zuordnung der gemessenen ¹ H-NMR-Verschiebungen des 4-Brommethylbenzaldehyds	70

Tabelle 25: Zuordnung der gemessenen $^1\text{H-NMR}$ -Verschiebungen des N,N-Bis(2-Tritylthioethyl)-2-amino-2-(4-brommethylphenyl)acetonitrils.....	72
Tabelle 26: Zuordnung der gemessenen $^1\text{H-NMR}$ -Verschiebungen des (S,S)-2-t-Butyl-1-t-butyloxycarbonyl-3-methyl-5-{4-[cyano-bis-(2-tritylthioethyl)-aminomethyl]-benzyl}-4-imidazolidinons	77
Tabelle 27: Zuordnung der gemessenen $^1\text{H-NMR}$ -Verschiebungen des (S,S)-2-t-Butyl-1-t-butyloxycarbonyl-3-methyl-5-{4-[2-amino-1-bis(2-tritylthioethyl)-aminoethyl]-benzyl}-4-imidazolidinons.....	80
Tabelle 28: Zuordnung der gemessenen $^1\text{H-NMR}$ -Verschiebungen der (S)-2-Amino-3-{4-[2-amino-1-bis-(2-mercaptoethyl)-aminoethyl]-phenyl}-propansäure.....	84
Tabelle 29: Zuordnung der gemessenen $^1\text{H-NMR}$ -Verschiebungen des Phenylalanins.....	85
Tabelle 30: Referenzdaten für die Zuordnung der $^1\text{H-NMR}$ -Verschiebungen der (S)-2-Amino-3-{4-[2-amino-1-bis-(2-mercaptoethyl)-aminoethyl]-phenyl}-propansäure.....	86
Tabelle 31: Säulenchromatographische Trennversuche auf Spezialkartuschen der Firma Waters zur Aufarbeitung des (S)-2-Amino-3-{4-[2-amino-1-bis-(2-mercaptoethyl)-aminoethyl]-phenyl}-propansäure-oxotechnetium(V)-Komplexes	90
Tabelle 32: HPL-chromatographische Untersuchungen zur Aufarbeitung des (S)-2-Amino-3-{4-[2-amino-1-bis-(2-mercaptoethyl)-aminoethyl]-phenyl}-propansäure-oxotechnetium(V)-Komplexes	91
Tabelle 33: % Dosis $\cdot \text{g}^{-1}$ Organ bzw. Blut nach 1 Minute.....	94
Tabelle 34: % Dosis $\cdot \text{g}^{-1}$ Organ bzw. Blut 10 Minuten.....	94
Tabelle 35: % Dosis $\cdot \text{g}^{-1}$ Organ bzw. Blut 60 Minuten.....	95
Tabelle 36: Mittelwerte	95
Tabelle 37: Organ/Blut - Aktivitätsverhältnisse (Berechnungsgrundlage: Mittelwerte aus Tabelle 36).....	96
Tabelle 38: Hyperchem-Berechnung des (S)-2-Amino-3-{4-[2-amino-1-bis-(2-mercaptoethyl)-aminoethyl]-phenyl}-propansäure-oxotechnetium(V)-Komplexes	99

5 Literaturverzeichnis

1. K. Schwochau: Technetium
Chemiker-Zeitung **102** (10), 329-337 (1978)
2. C. Keller: *Radiochemie*
2. Aufl., Diesterweg-Salle-Sauerländer,
Frankfurt/Main-Berlin-München-Aarau-Salzburg (1981)
3. K. H. Lieser: *Einführung in die Kernchemie*
2. Aufl., Verlag Chemie, Weinheim (1980)
4. B. Voland: Zur Geschichte der Entdeckung des Elementes Technetium
Isotopenpraxis **24**, 11-12 (1988)
5. K. Schwochau: "Some Fundamental Aspects of Technetium Chemistry"
In: M. Nicolini, G. Bandoli, U. Mazzi (HSG.): *Technetium in Chemistry and Nuclear Medicine* Vol. **2**, 13-23, Raven Press, New York (1985)
6. K. Schwochau: "The Analytical Chemistry of Technetium"
In: *Topics in Current Chemistry (Inorganic Chemistry)* **96**
Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York (1981)
7. K. Schwochau: "Handling of Technetium"
In: *Gmelin 8th Edition, Chemistry Technetium Tc*, Supplement Vol. **1**, 210f (1983)
8. K. Schwochau, U. Pleger: Basic Coordination Chemistry of Technetium
Radiochimica Acta **63**, 103-110 (1993)
9. R. Colton: *The Chemistry of Rhenium and Technetium*
Interscience Publishers (Wiley & Sons), London-New York-Sydney (1965)
10. M. J. Clarke, P. H. Fackler: "The Chemistry of Technetium Toward Improved Diagnostic Agents"
In: *Structure and Bonding* **50**, Topics in Inorganic and Physical Chemistry, 59ff
Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York (1980)
11. A. Davison: "The Coordination Chemistry of Technetium"
In: E. Deutsch, N. Nicolini, H. N. Wagner jr. (Hsg): *Technetium in Chemistry and Nuclear Medicine* Vol. **2**, 3-13, Raven Press, New York (1982)
12. N. N. Greenwood, A. Earnshaw: *Chemie der Elemente*
1. Aufl., Verlag Chemie, Weinheim-Basel-Cambridge-New York (1988)

13. A. F. Holleman, E. Wiberg: *Lehrbuch der anorganischen Chemie*
91.-100. Aufl., de Gruyter, Berlin-New York (1985)
14. K. Schwochau: Zur Chemie des Technetiums
Angew. Chem. **76** (1), 9-19 (1964)
15. K. Schwochau: The Present Status of Technetium Chemistry
Radiochimica Acta **32**, 139-152 (1983)
16. E. Brown, R. B. Firestone: *Table of Radioactive Isotopes* (Hrsg.: V. S. Shirley)
Wiley, New York (1986)
17. H. J. Hermann: *Nuklearmedizin*
Urban & Schwarzenberg, München-Wien-Baltimore (1982)
18. G. Saha: *Fundamentals of Nuclear Pharmacy*
2. Aufl., Springer Verlag, New York-Heidelberg-Berlin (1984)
19. W. D. Tucker, M. W. Greene, A. J. Weiss, A. P. Murrenhoff
Trans. Am. Nucl. Soc. **1**, 160 (1958)
20. P. Richards, W. D. Tucker, S. C. Srivastava
Int. J. Radiat. Appl. Isot. **33**, 793-799 (1982)
21. C. Keller, G. Stöcklin, H. Glanz, H. Vogg, A. Gervè, K.H.Bremer, H. Strecker, G.
Schulze-Pillot, A. Seidel: "Radionuklide"
In: *Ullmanns Enzyklopädie der technischen Chemie*
Band **20**, Verlag Chemie GmbH, Weinheim (1981)
22. B. Johannsen, G. Wagner: *99m-Technetium Generator Radiopharmaka*
Rotop, Isocomerz, Zentralinstitut für Kernforschung,
Hauptabteilung Radioaktive Präparate
23. E. Browne, R. B. Firestone, V. S. Shirley: *Table of Radioactive Isotopes*
J. Wiley & Sons, New York (1986)
24. G. Stöcklin: Chemie von Herz und Hirn von außen betrachtet
Nachr. Chem. Tech. Lab. **34** (11), 1057-1064 (1986)
25. H. H. Coenen, P. Kling, G. Stöcklin: Cerebral metabolism of L-[2-¹⁸F]fluorotyrosine,
a new PET tracer of proteinsynthesis
J. Nucl. Med. **30**, 1367-1372 (1989)
26. U. Büll: Messung der regionalen Hirndurchblutung (rCBF), regionaler cerebraler
Blutvolumina (rCBV) und regionaler Umsatzraten (rCMR): SPECT statt PET?
Der Nuklearmediziner **8** (1), 1-9 (1985)

27. R. C. Walovitch, S. J. Williams, N. D. Lafrance: Radiolabeled agents for SPECT imaging of brain perfusion
Nucl. Med. Biol. **17** (1), 77-83 (1990)
28. E. K. J. Pauwels, S. Askienazy, M.J.P.G. van Kroonenburgh, R. Bok:
Radiopharmaceuticals for brain perfusion imaging
In: M. Nicolini, G. Bandoli, U. Mazzi (HSG.): *Technetium in Chemistry and Nuclear Medicine* Vol. **3**, 687-698, Raven Press, New York (1989)
29. Jungermann Möhler: *Biochemie*
Springer-Verlag (1980)
30. A. Maelicke: Wie isoliert ist unser Hirn
Nachr. Chem. Tech. Lab. **37** (1), 32-34 (1989)
31. G. W. Goldstein, A. L. Betz: Die Blut-Hirn-Schranke
Spektrum der Wissenschaft, November (1986)
32. M. W. B. Bradbury: The Blood-Brain Barrier. Transport across the Cerebral Endothelium
Circul. Res. **57** (2), 213-222 (1985)
33. A. L. Betz, G. W. Goldstein: Specialized Properties and Solute Transport in Brain Capillaries
Ann. Rev. Physiol. **48**, 241-250 (1986)
34. A. Gjedde: The Selective Barrier between Blood and Brain
TIBS December (1986)
35. H. F. Kung: Brain Radiopharmaceuticals
In: *Radiopharmaceuticals: Progress and clinical Perspectives*, Vol. I (Hrsg.: A. R. Fritzberg), CRC, Boca Raton, FL, (1986)
36. K. Hayashida, T. Nishimura, S. Imakita, T. Uehara: Filling Out Phenomenon with Technetium-99m HM-PAO Brain SPECT at the Site of Mild Cerebral Ischemia
J. Nucl. Med. **30**, 591-598 (1989)
37. R. C. Walovitch, S. J. Williams, N. D. Lafrance: Radiolabeled Agents for SPECT Imaging of Brain Perfusion
Nucl. Med. Biol. Vol. **17** (1), 77-83 (1990)
38. 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 Characterisation of

- Technetium Rhenium Complexes of N,N'-1,2-ethylendiylbis-L-cysteine. Neurolite® and its Metabolites
In: M. Nicolini, G. Bandoli, U. Mazzi (HSG.): *Technetium in Chemistry and Nuclear Medicine* Vol. **3**, 433-444, Raven Press, New York (1990)
- 39.** Y. Sawada, C. S. Patlak, R. G. Blasberg: Kinetic Analysis of Cerebrovascular Transport based on Indicator Diffusion Technique
Am. J. Physiol. **256**, H794-H812 (1989)
- 40.** R. Spector: Drug Transport in the Central Nervous System: Role of Carriers
Pharmacol. **40**, 1-7 (1990)
- 41.** W. M. Pardridge: Blood-Brain Transport of Nutrients
Federation Proceedings Vol. **45** (7), 2047-2049 (1986)
- 42.** R. A. Hawkins: Transport of Essential Nutrients across the Blood-Brain Barrier of Individual Structures
Federation Proceedings Vol. **45** (7), 2055-2059 (1986)
- 43.** W. M. Pardridge: Recent Advances in Blood-Brain Barrier Transport
Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol. **28**, 25-39 (1988)
- 44.** R. D. Steele: Blood-brain Barrier Transport of the α -Keto Acid Analogs of Amino Acids
Federation Proceedings Vol. **45** (7), 2060-2064 (1986)
- 45.** W. M. Pardridge, T. B. Choi: Neutral Amino Acid Transport at the human Blood-Brain Barrier
Federation Proceedings Vol. **45** (7), 2073-2078 (1986)
- 46.** K. M. Hargreaves, W. M. Pardridge: Neutral Amino Acid Transport at the Human Blood-Brain Barrier
J. Biol. Chem. Vol. **263** (36), 19392-19397 (1988)
- 47.** G. M. Knudsen, K. D. Pettigrew, C. S. Patlak, M. M. Hertz, O. B. Paulson: Asymmetrical Transport of Amino Acids across the Blood-Brain Barrier in Humans
J. Cereb. Blood Flow Metab. **10** (5), 698-706 (1990)
- 48.** N H. Greig, D. J. Sweeney, S. I. Rapoport: Comparative Brain and Plasma Pharmacokinetics and Anticancer Activities of Chlorambucil and Melphalan in the Rat
Canc. Chemother. Pharmacol. **21**, 1-8 (1988)

49. N. H. Greig, S. Momma, D. J. Sweeney, Q. R. Smith, S. I. Rapoport: Facilitated Transport of Melphalan at the Rat Blood-Brain Barrier by the Large Neutral Amino Acid Carrier System
Canc. Res. **47**, 1571-1576 (1987)
50. J. L. Corbin, K. F. Miller, N. Pariyadath, S. Wherland, A. E. Bruce, E. I. Stiefel: Preparation and Properties of Tripodal and Linear Tetradentate Nitrogen, Sulfur-Donor Ligands and their Complexes containing the Dioxomolybdenum(2+) Core
Inorg. Chim. Acta **90** (1), 41-51 (1984)
51. G. J. Colpas, M. Kumar, R. O. Day, M. Maroney: Structural Investigations of Nickel Complexes with Nitrogen and Sulfur Donor Ligands
Inorg. Chem. **29** (23), 4779-4788 (1990)
52. L. Sacconi, R. Morassi: Four, Five, and Six Coordinate Cobalt(II) and Nickel(II) Complexes with Tetradentate 'Tripod like' Nitrogen-Oxygen and Nitrogen-Sulfur
J. Chem. Soc. A (4), 575-583 (1970)
53. Y. Ihara, M. Sakura: Thermal Syntheses and the Electronic Spectra of cis-Dihalogeno-(2,2',2''-triaminotriethylamine)Nickel(II) Complexes
Thermochim. Act. **136**, 279-286 (1988)
54. M. Brezeanu, I. Allincai: Coordination Compounds of 3d Transition Metals with Alcoholamines.
An. Univ. Bucuresti, Ser. Stiint. Natur. Chim. **18** (1), 65-70 (1969)
55. J. Glerup, J. Josephsen, K. Michelsen, E. Pedersen, C. E. Schaeffer: Preparation of Chromium(III) Complexes with two Fluorine Atoms and four Nitrogen Atoms as Ligands. trans-Difluorotetrakis(pyridine)chromium(III) salts as Starting Materials
Act. Chem. Scand. **24** (1), 247-254 (1970)
56. J. Hughes, G. R. Willey: Tris(2-aminoethyl)amine complexes of Tervalent Titanium and Chromium
J. Coord. Chem. **4** (1), 33-39 (1974)
57. E. Jozefowicz, M. Kunaszewska, C. Wyganowski: Complexes of Manganese(II) and Iron(III) with Ethanolamines
Rocz. Chem. **46** (4), 731-735 (1972)
58. M. Ciampolini, J. Gelsomini, N. Nardi: Complexes of Cobalt(II), Nickel(II), Copper(II), and Zinc(II) with the Tripod-like Ligand Tris(2-methylthioethyl)amine
Inorg. Chim. Acta. **2** (3), 343-346 (1968)

59. M. G. Voronkov, A. Lapsina: Atranese. XXX. Ferratrane, Cobatrane, and their C-Methyl derivatives
Khim. Geterotsikl. Soedin. **9**, 1172-1173 (1972)
60. M. G. Voronkov, I. S. Emel'yanov, V. Y. Vitkovskii, A. Lapsina:
Atranese. Mass-Spectrometric Study of 1-Oxovanadatrane
Zh. Obshch. Khim. **48** (11), 2490-2494 (1978)
61. M. J. Saliby, D. West, S. K. Madan: Substitution Reactions of Metallic Complexes of .beta.,.beta.',.beta."-Triaminotriethylamine. 13. Kinetics of Solvolysis of the Dichloro(.beta.,.beta.',.beta."-triaminotriethylamine)cobalt(III) and -chromium(III) Cations in Nonaqueous Media and Synthesis and Characterisation of some Cobalt(III) and Chromium(III) Halo-Tren Complexes containing Coordinated Neutral Nonaqueous Ligands
Inorg. Chem. **20** (3), 723-727 (1981)
62. E. J. Laskowski, D. N. Hendrickson: Magnetic Exchange Interactions in Transition-Metal Dimers. 13. Structural Characterization of the two Hydrogen Bonded Manganese(II) dimers $[Mn_2(tren)_2(NCS)_2](BPh_4)_2$ and $[Mn_2(tren)_2(NCO)_2](BPh_4)_2$. A Series of Outer-Sphere Manganese Dimers formed from Trigonal-Bipyramidal Manganese(II) Complexes
Inorg. Chem. **17** (2), 457-470 (1978)
63. J. Harley-Mason: Some Aliphatic Thiols and their Derivatives. Part I. Aliphatic Mercaptoamines
J. Chem. Soc., p. 320 (1947)
64. G. R. Marshall, C. D. Barry, H. E. Bosshard, R. A. Dammkoehler, D. A. Dunn: Computer-assisted Drug Design; E. C. Olsen, R. E. Christoffersen (eds)
Am. Chem. Soc. Symposium **112**, 205-226 (1979)
65. A. S. V. Burgen, G. C. K. Roberts, M. S. Tute (eds.):
Molecular Graphics and Drug Design 1986
Elsevier Publishers, Biomedical Division, Amsterdam (1986)
66. J. A. McCammon, S. C. Harvey: *Dynamics of Proteins and Nucleic Acids*
Cambridge University Press, Cambridge (1987)
67. N. L. Allinger
Adv. Phys. Org. Chem. **13**, 1-82 (1976)

68. D. B. Boyd, K. B. Lipkowitz
J. Chem. Ed. **59**, 269-274 (1982)
69. J. G. Vinter, A. Davis, M. R. Saunders: Strategic Approaches to Drug Design. 1. An Integrated Software Framework for Molecular Modelling
J. Comput-Aided Mol. Des. **1**, 31-51 (1987)
70. J. E. Dennis, R. B. Schnabel: *Numerical Methods for Unconstrained Optimization and nonlinear Equations*
Prentice-Hall
71. D. N. J. White, M. J. Bovill:
J. Chem. Soc. Perkin II, 1610-1623 (1977)
72. C. L. Brooks III, M. Karplus, B. M. Pettitt: A Theoretical Perspective of Dynamics, Structure and Thermodynamics
Adv. Chem. Phys. Vol. **71**, J. Wiley & Sons, New York (1988)
73. K. B. Lipkowitz, D. B. Boyd (eds.): *Reviews in Computational Chemistry*
VCH Publishers, New York (1990)
74. T. A. Clark: *Handbook of Computational Chemistry*
J. Wiley & Sons, New York (1985)
75. M. J. S. Dewar: *The Molecular Orbital Theory of Organic Chemistry*
McGraw-Hill; New York (1969)
76. A. Szabo, N. S. Ostlund: *Modern Quantum Chemistry*
McGraw-Hill; New York (1989)
77. J. A. Pople, D. L. Beveridge: *Approximate Molecular Orbital Theory*
McGraw-Hill; New York (1970)
78. J. March: *Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanism and Structure*
4. Aufl., J. Wiley & Sons (1992)
79. J. E. T. Corrie, J. R. Hlubucek G. Lowe: Synthesis of a Cephalosporin Analogue
J. Chem. Soc. Perkin Trans. I., p. 1421 (1977)
80. C. J. Pouchert: *The Aldrich Library of Infrared Spectra*
Second Edition, Aldrich Chemical Company (1975)
81. M. Hesse, H. Meier, B. Zeeh : *Spektroskopische Methoden in der organischen Chemie*
2. erw. u. verb. Aufl., Georg Thieme Verlag
Stuttgard-New York (1984)

82. W. Foerst: *Ullmanns Enzyklopädie der technischen Chemie*
3. Aufl., Urban & Schwarzenberg, München Berlin (1961)
83. H. G. O. Becker, W. Berger, G. Domschke, E. Fanghänel, J. Faust, M. Fischer,
F. Gentz, K. Gewalt, R. Gluch, R. Mayer, K. Müller, D. Pavel, H. Schmidt,
K. Schollberg, K. Schwetlick, E. Seiler, G. Zeppenfeld: *Organikum*
pp. 543 u. 641, 3. Nachdruck d. 15., überarb. Aufl., Deutscher Verlag der
Wissenschaften, Berlin (1984),
84. R. C. Weast: *CRC Handbook of Chemistry and Physics*
66th Edition, CRC Press, Inc. Boca Raton Florida (1985-1986)
85. C. Pretsch, S. Seibel: *Tabellen zur Strukturaufklärung organischer Verbindungen*
2. überarb. u. ergänzt. Aufl.,
Springer Verlag Berlin, Heidelberg, New York (1981)
86. H. Günther: *NMR-Spektroskopie - eine Einführung in die Protonenresonanz-
Spektroskopie und ihre Anwendung in der Chemie*
2. verbesserte Aufl., Thieme, Stuttgart-New York (1983)
87. H. Friebolin: *Ein- und zweidimensionale NMR-Spektroskopie*
Verlag Chemie, Weinheim, Basel, Cambridge, New York (1988)
88. C. J. Pouchert, J. R. Campbell: *The Aldrich Library of NMR-Spectra*
Aldrich Chemical Corporation (1974)
89. H. A. Szymanski, R. E. Yelin: *NMR Band Handbook*
IFI/Plenum New York-Washington (1968)
90. Edited by Asahi Research Center Co., Ltd. Tokyo Japan
Supervised by Shin-ichi Sasaki (Toyohashi University of Technology Arch, Japan)
Handbook of Proton-NMR Spectra and Data
Academic Press, Inc. (Harcourt Brace Jovanovich, Publishers) Tokyo Orlando San
Diego New York London Toronto Montreal Sydney (1985)
91. F. A. Bovey (Bell Telephone Laboratories): *NMR Data Tables for Organic
Compounds*
Interscience Publishers a division of John Wiley & Sons
New York London Sydney (1967)
92. F. Tisato, F. Refosco, A. Moresco, G. Bandoli, U. Mazzi, M. Nicolini, 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 (HSG.): *Technetium in Chemistry and Nuclear Medicine* Vol. **3**, 133-146, Raven Press, New York (1989)
- 93.** A. Mahmood, K. E. Baidoo, S. Z. Lever: Stereoisomers of neutral oxotechnetium(V) and oxorhenium(V) complexes
In: M. Nicolini, G. Bandoli, U. Mazzi (HSG.): *Technetium in Chemistry and Nuclear Medicine* Vol. **3**, 119-124, Raven Press, New York (1989)
- 94.** A. Mahmood, W. A. Halpin, K. E. Baidoo, D. A. Sweigart, S. Z. Lever: Syntheses and Characterization of N-ethyl-diaminedithiol oxotechnetate(V): A Potential lung imaging agent
In: M. Nicolini, G. Bandoli, U. Mazzi (HSG.): *Technetium in Chemistry and Nuclear Medicine*, Vol. **3**, 114-118, Raven Press, New York (1989)
- 95.** S. Mastrostamatis, M. Papadopoulos, M. Psilla, C. Stassinopoulou, A. Varvarigou, E. Chiotellis: *Syntheses and Characterization of oxotechnetium complexes with tripodal ligands*
Symposium Abstract, 9. Intern. Symp. on Radiopharmaceutical Chem. Paris (1992)
- 96.** H. O. House: *Modern Synthetic Reactions*
Benjamin, New York (1965)
- 97.** B. P. Mundy: *Concepts of Organic Synthesis-Carbocyclic Chemistry*
Marcel Dekker Inc., Basel New York (1980)
- 98.** S. Warren: *Designing Organic Syntheses - A Programmed Introduction to the Synthron Approach*
J. Wiley & Sons, New York, Chichester (1978)
- 99.** L. F. Fieser, M. Fieser: *Reagents for Organic Syntheses*
Bd. **I - VI**, John Wiley & Sons, New York (1967)
- 100.** J. Mathieu, J. Weill-Raynal: *Formation of C-C-Bonds*
Bd. **I - III**, Georg Thieme Verlag, Stuttgart (1975 - 1979)
- 101.** E. Müller, O. Bayer: *Houben-Weyl, Methoden der Organischen Chemie*
Bd. **V - XII**, Georg Thieme Verlag, Stuttgart (1958 - 1977)
- 102.** Organic Syntheses Editorial Board (Herausg.): *Organic Syntheses*
Coll. Vols. **I - V**, John Wiley & Sons, New York (1930 - 1970)
- 103.** H. R. Christen: *Grundlagen der organischen Chemie*
6. Aufl., Salle-Sauerländer, Frankfurt/Main (1985)

104. E. Breitmaier, G. Jung: *Organische Chemie I
Grundlagen, Stoffklassen, Reaktionstypen*
2. überarb. Aufl., Georg Thieme-Verlag, Stuttgart-New York (1986)
105. E. Breitmaier, G. Jung: *Organische Chemie II
Spezielle Verbindungsklassen, Naturstoffe, Synthesen, Strukturaufklärung*
Georg Thieme-Verlag, Stuttgart-New York (1983)
106. V. Meyer: *Praxis der Hochleistungs-Flüssigchromatographie*
7. Aufl., Salle-Sauerländer (1992)
107. T. W. Greene: *Protective Groups in Organic Synthesis*
2. Aufl., Wiley-Interscience Publication (1991)
108. B. C. Bookser, C. Bruice: Syntheses of Quadruply Two and Three-Atom, Aza-Bridged, Cofacial Bis(5,10,20-tetraphenylporphyrins)
J. Am. Chem. Soc. **113**, 4208-4218 (1991)
109. Y. Sun, A. E. Martell, D. Chen, D. Macfarlane, C. J. Mc Neal
J. Heterocycl. Chem. **23**, 1565 (1986)
110. P. Kurtz: *Nitrile und Isonitrile*
In: Houben-Weyl Bd. **VIII**, Sauerstoffverbindungen III, 279-284
111. R. Fitzl, D. Seebach: Resolution and Use in α -Amino Acid Synthesis of Imidazolidinone Glycine Derivatives
Tetrahedron **44** (17), 5277-5292 (1988)
112. D. Pearson, M. Blanchette, M. L. Baker, C. A. Guindon: Trialkylsilanes as Scavengers for the Trifluoroacetic Acid Deblocking of Protecting Groups in Peptide Synthesis
Tetrahedron Letters **30** (21), 2739-2742 (1989)
113. D. Seebach, T. Weber: Hydroxyalkylierungen von Cystein über das Enolat von (2R,5R)-2(tert-Butyl)-1-aza-3-oxa-7-thiabicyclo[3.3.0]octan-4-on und unter Selbstreproduktion des Chiralitätszentrums
Helv. Chim. Act. **67** (1984)
114. M. Gander-Coquoz, D. Seebach: Herstellung enantiomerenreiner, α -alkylierter Lysin-, Ornithin- und Tryptophan-Derivate
Helv. Chim. Act. **71**, 224-236 (1988)

Danksagung

Herrn Professor Dr. K. Schwochau möchte ich an dieser Stelle für seine unermüdliche Diskussionsbereitschaft, seine wertvollen Ratschläge und vor allem für die Chance zur freien wissenschaftlichen Arbeit danken.

Mein ganz besonderer Dank gebührt meiner lieben Ehefrau und Kollegin Petra, die mir stets in wissenschaftlicher und privater Hinsicht, hilfsbereit, verständnisvoll und kreativ zur Seite stand.

Herrn Professor Dr. G. Stöcklin möchte ich für sein freundliches Entgegenkommen, die Bereitstellung eines Arbeitsplatzes und für die großzügige Unterstützung meiner Arbeit danken.

Herrn Professor Dr. H. H. Coenen danke ich für die Möglichkeit meine Arbeit zu beenden.

Herrn Professor Dr. W. Bronger, Institut für Anorganische Chemie der RWTH Aachen, danke ich für die Übernahme des Korreferats.

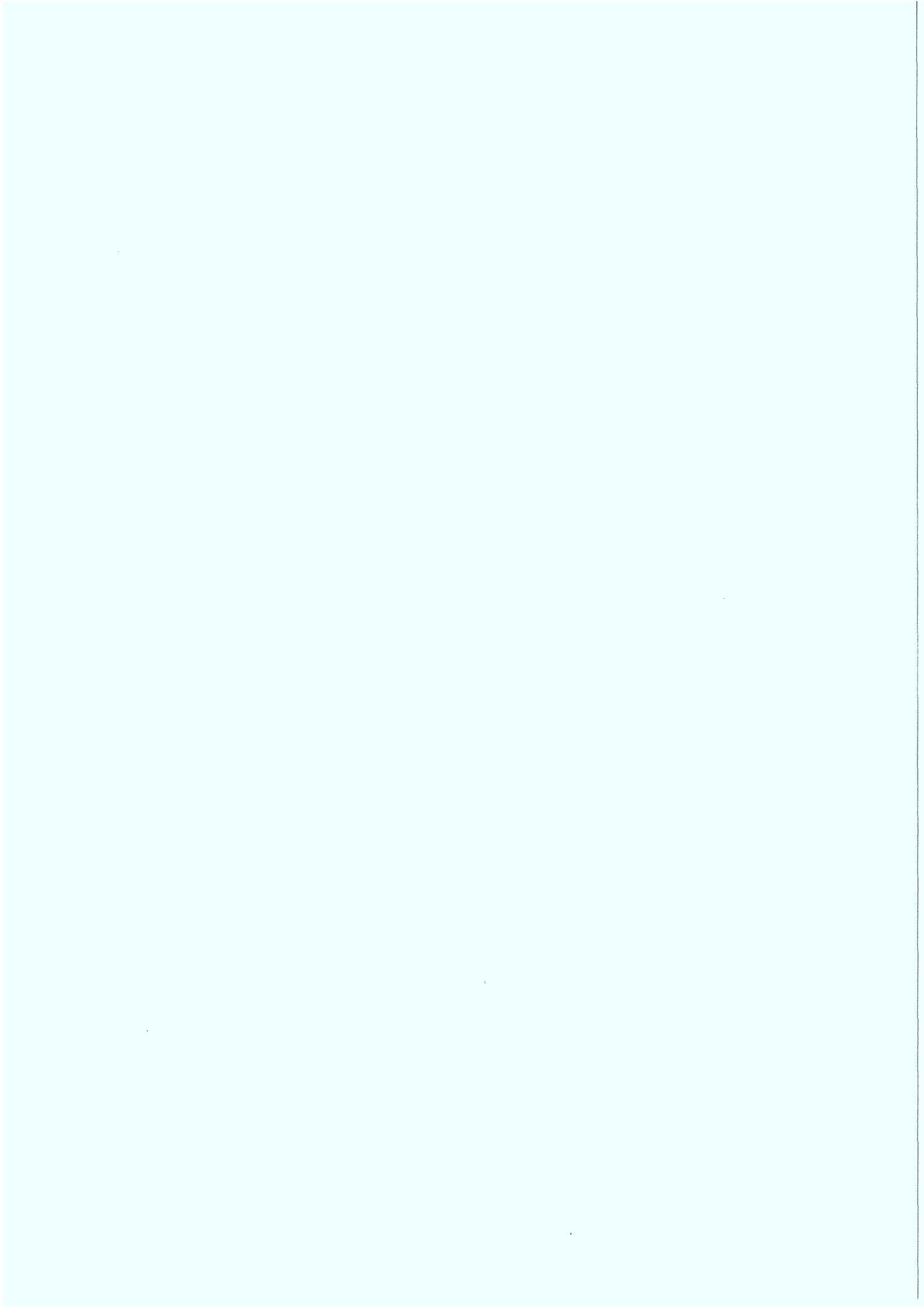
Herrn Dr. M. Holschbach und Herrn Dr. K. Hamacher möchte ich für ihre wertvollen Ratschläge und ihre Diskussionsbereitschaft danken.

Bei Herrn D. Unterlugauer möchte ich mich für die geduldige Hilfe bei NMR-spektroskopischen Problemen und bei Herrn W. Wutz für wertvolle Ratschläge und die Durchführung der Tierexperimente bedanken.

Den Mitgliedern unserer Arbeitsgruppe Frau Dipl.-Chem. P. Pleger, Frau Dipl.-Chem. J. Flechtner und Herrn K.-H. Linse möchte ich für die freundliche Arbeitsatmosphäre und die Hilfsbereitschaft bei theoretischen und experimentellen Problemen danken.

Bei den Strahlenschutzbeauftragten Herrn H. Printz und Herrn J. Knieper möchte ich mich sehr für ihre Mühe und ihr stets hilfreiches Interesse am Fortgang meiner Arbeit bedanken.

Allen Mitarbeitern und Mitarbeiterinnen des Instituts für Nuklearchemie danke ich für die freundliche Aufnahme und die angenehme Arbeitsatmosphäre.



Forschungszentrum Jülich



Jül-3405
Juli 1997
ISSN 0944-2952