



DEUTSCHES PATENTAMT

Innerhalb von 3 Monaten nach Veröffentlichung der Aufrechterhaltung kann Einspruch eingelegt werden

(21) Aktenzeichen:	(22) Anmeldetag:	(44) Veröff.-tag der DD-Patentschrift:	(45) Veröff.-tag der Aufrechterhaltung:
DD C 07 F / 324 270 0	28. 12. 88	23. 05. 90	19. 10. 95

(30) Unionspriorität:

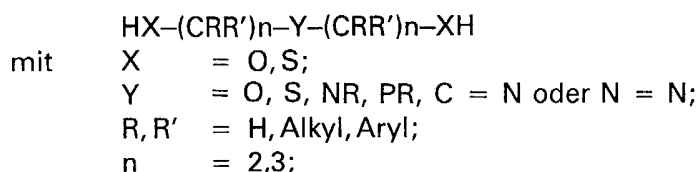
(72) Erfinder: Spies, Hartmut, Dr. sc., 01217 Dresden, DE; Pietzsch, Hans-Jürgen, 01809 Heidenau, DE;
Hoffmann, Steffen, 01277 Dresden, DE; Münze, Rudolf, Prof. Dr., 01324 Dresden, DE
(73) Patentinhaber: Forschungszentrum Rossendorf e. V., PF 51 01 19, 01314 Dresden, DE

(54) Verfahren zur Herstellung neutraler Komplexe des Technetiums

(56) Für die Beurteilung der Patentfähigkeit in Betracht gezogene Druckschriften:
Nowotnik, D. P. et al. Nucl. Med. Commun. 6 (1985) S. 499
Epps, L. A., H. D. Burns, et al. Radiat. Isot. 38 (1987) S. 661

Patentanspruch:

1. Verfahren zur Herstellung kleiner neutraler Technetiumverbindungen mit molaren Massen $< 500 \text{ g/mol}$, **dadurch gekennzeichnet**, daß gleichzeitig ein tridentater zweibasischer komplexbildender Ligand L^1 der allgemeinen Formel



wobei $(\text{CRR}')_n$ auch ein (substituiertes) aromatisches System symbolisieren kann und ein monodentater komplexbildender Co-Ligand L^2 , deren addierte negativen Ladungen gleich der formalen Ladung des Tc-Cores sind, mit einer reaktiven Verbindung des Technetiums in einem Reaktionsschritt bei Normaltemperatur in wäßrig-alkoholischer Lösung zu neutralen Technetiumverbindungen, die L^1 und L^2 enthalten, umgesetzt werden.

2. Verfahren nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet**, daß der Co-Ligand L^2 ein einfaches anorganisches Molekül oder Ion, oder ein monodentater, organischer, durch Substitution an seinem Kohlenwasserstoffgerüst weitgehend variierbarer Komplexbildner ist.
3. Verfahren nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet**, daß die Liganden L^1 und L^2 Thiolgruppen enthalten.
4. Verfahren nach Anspruch 3, **dadurch gekennzeichnet**, daß der Ligand L^1 ein Bis(2-mercaptoethyl)sulfid oder ein Bis(2-mercaptoethyl)-ether und L^2 ein substituiertes aliphatisches oder aromatisches Thiol ist.
5. Verfahren nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet**, daß der Ligand L^1 ein Bis(2-mercaptoethyl)sulfid oder ein Bis(2-mercaptoethyl)-ether und der Ligand L^2 ein substituiertes tertiäres Phosphin oder Isonitril ist.

Anwendungsgebiet der Erfindung

Die Erfindung betrifft die Herstellung kleiner, neutraler Komplexe des Technetiums als radiopharmazeutische Produkte zur Funktions- bzw. Lokalisationsdiagnostik. Die Erfindung betrifft im Speziellen solche Verbindungen des Technetiums, die als Neutralkomplexe mit hoher Lipophilie und kleiner Molekülgröße in der Lage sind, Biomembranen zu durchdringen und für die nuklearmedizinische Diagnostik nichtexkretorischer Organe insbesondere des Gehirns besonders geeignet sind.

Charakteristik des bekannten Standes der Technik

Voraussetzung für eine wirtschaftliche Nutzung von Diagnoseverfahren in der medizinischen Praxis ist die Verfügbarkeit von Radiopharmaka, insbesondere solcher basierend auf Technetium-99m, die die für den gewünschten diagnostischen Zweck erforderliche Bioverteilung aufweisen.

Für die Diagnostik nichtexkretorischer Organe, insbesondere des Zentralnervensystems, aber auch beispielsweise für Zellmarkierungen, sind Verbindungen erforderlich, die durch Biomembranen penetrieren können. Diese Substanzen müssen eine Lipophilie entsprechend einem Verteilungskoeffizienten (Octanol/Wasser) größer als 0,5 aufweisen. Die Lipophiliebedingung wird in der Regel nur von Neutralverbindungen erfüllt. Sie dürfen weiter eine maximale molare Masse von etwa 500 g/mol nicht überschreiten. Darüber hinaus ist es im Hinblick auf die Auswahl eines optimalen Vertreters einer Stoffklasse wünschenswert über Verbindungen zu verfügen, die bei einheitlichem Molekülbau systematische Veränderungen ihrer Eigenschaften durch gezielte Substituentenvariation gestatten.

Gegenwärtig besteht ein erheblicher Bedarf an solchen Verbindungen sowohl für die Entwicklung neuer Radiopharmaka als auch für systematische radiopharmakologische Untersuchungen. Die bisher in der praktischen Anwendung bekannten bzw. in der Entwicklung befindlichen lipophilen Technetiumradiopharmaka sind Verbindungen des Technetium(V) mit tetradentaten Diaminodioximliganden (Nowotnik, D. P. et al., Nucl. Med. Commun. 6 [1985] 499; EP-PSA 123504) und Diaminodithioliganden (Epps, L. A., H. D. Burns, et al., Radiat. Isot. 38 [1987] 661; Cheesman, E. H. et al. J. Nucl. Med. 29 [1988] 788 [Abstract]). Diese Verfahren haben den Nachteil, daß sie zu unerwünschter Bildung von Stereoisomeren (bzgl. Substitution in der Seitenkette) mit unterschiedlicher Biokinetik führen. Ein weiterer Nachteil besteht in der aufwendigen Synthese der tetradentaten Liganden.

Andere bekannte Verfahren liefern Neutralverbindungen, die die zulässige obere Grenze von 500 g/mol übersteigen. Technetiumverbindungen, die zwei oder mehrere unterschiedliche Liganden im Molekül enthalten, sind durch gemeinsame Einwirkung dieser Liganden auf Pertechnetat oder durch Ligandaustauschreaktionen am Technetium auf Oxydationsstufen < 7 zugänglich. Dabei entstehen jedoch entweder Neutralkomplexe mit einer molaren Masse $> 500 \text{ g/mol}$ (Mazzi, U. et al. J. chem. Soc., Dalton Trans. 1986, 1623) oder es dominiert die Bildung zu großer geladener Verbindungen (DD-PS 252764). Diese Verbindungen sind damit für den genannten Anwendungszweck als hirngängige Substanzen ungeeignet.

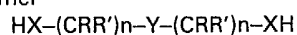
Ziel der Erfindung

Ziel der Erfindung ist die Bereitstellung von einheitlichen Neutralkomplexen des Technetiums mit begrenzter Größe und weitgehender Variierbarkeit der Molekülperipherie, die zur Diffusion durch Biomembranen befähigt sind.

Darlegung des Wesens der Erfindung

Die Aufgabe liegt in der Auswahl geeigneter organischer Liganden bzw. Kombinationen dieser Liganden und der Festlegungen der Reaktionsbedingungen, unter denen diese Liganden mit einer Technetiumverbindung neutrale Komplexe einer molaren Masse $< 500 \text{ g/mol}$ bilden.

Erfindungsgemäß wird die Aufgabe dadurch gelöst, daß gleichzeitig ein tridentater zweibasischer komplexbildender Ligand L^1 der allgemeinen Formel



mit

X	= O, S;
Y	= O, S, Se, NR, PR, C = N oder N = N;
R, R'	= H, Alkyl, Aryl;
n	= 2,3;

wobei $(\text{CRR}')_n$ auch ein (substituiertes) aromatisches System symbolisieren kann

und ein monodentater komplexbildender Co-Ligand L^2 , deren addierte negative Ladungen gleich der formalen Ladung des Tc-Cores sind, mit einer reaktiven Verbindung des Technetiums in einem Reaktionsschritt bei Normaltemperatur in wäßrig-alkoholischer Lösung zu neutralen Technetiumverbindungen, die L^1 und L^2 enthalten, umgesetzt werden.

Das Wesentliche der Erfindung besteht darin, daß der Ligand L^1 mit seiner neutralen Donorgruppe, wie z. B. eine Ether- oder Thioether- oder eine C = N-Gruppe des Metallzentrums nur partiell absättigt, so daß der zweite, monodentate, neutrale oder geladene Co-Ligand L^2 die verbleibende freie Koordinationsstelle besetzen kann. Die Liganden L^1 und L^2 werden dabei so gewählt, daß die Summe ihrer negativen Ladung gleich der formalen Ladung des Technetiumcores ist und damit neutrale Verbindungen resultieren. Die resultierenden Verbindungen enthalten beide Liganden L^1 und L^2 und Technetium in einer Oxydationsstufe < 5 . Die reaktive Technetiumverbindung kann neben Pertechnetat eine zum Ligandenaustausch befähigte Komplexverbindung der Oxydationsstufen von +VI bis +I mit Halogenid, O- oder N-Verbindungen, Carbonyl, Thioharnstoff oder sonstigen als Abgangsverbindungen geeigneten Liganden sein, vorzugsweise aber Tc(V)-gluconat.

Für die Herstellung von trägerfreien Tc-99m-Komplexverbindungen wird vorteilhaft Tc-99m-Generatoreluat im Gemisch mit Ethanol als Lösungsmittel verwendet.

Als ein Vorzug des Verfahrens erweist sich die Variationsbreite des monodentaten Liganden L^2 . Im Prinzip kann L^2 bereits ein einfaches anorganisches Molekül oder Ion, wie Halogenid, Cyanid oder Rhodanid, sein. Günstiger bezüglich Variabilität des resultierenden Komplexes ist jedoch die Möglichkeit, unterschiedlich substituierte organische Komplexbildner, wie beispielsweise substituierte Thiophenole, Amine, Phosphine oder organische Isonitrile mit dem tridentaten Liganden L^1 zu kombinieren.

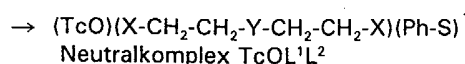
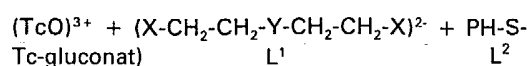
Wegen der hohen Affinität des Schwefels zu Technetium stellt die Verwendung von Ligandgemischen, in denen beide Liganden L^1 und L^2 Thiolgruppen enthalten, eine besonders günstige Variante bezüglich der Stabilität der resultierenden Verbindungen dar. Ausgewählte Vertreter hierzu sind für den Liganden L^1 bis(2-mercaptoethyl)sulfid oder Bis(2-mercaptoethyl)-ether und für den Liganden L^2 substituierte aliphatische oder aromatische Thiole.

Eine weitere günstige Variante ist dann gegeben, wenn der tridentate Thiolgruppen enthaltende Ligand L^1 mit organischen Phosphinen oder Isonitrilen kombiniert wird, da diese Liganden mit dem Technetium, bevorzugt auf niedrigen Oxydationsstufen des Metalls, ebenfalls sehr stabile Bindungen eingehen, wobei als Ligand L^1 ein Bis(2-mercaptoethyl)sulfid oder ein Bis(2-mercaptoethyl)ether und als Ligand L^2 ein substituiertes tertiäres Phosphin, oder Isonitril bevorzugt werden.

Ausführungsbeispiele

Nachfolgend soll die Erfindung anhand von Ausführungsbeispielen näher erläutert werden.

1. Das Prinzip wird zuerst anhand der Bildung von neutralen Verbindungen auf der Oxydationsstufe +V verdeutlicht: Die Umsetzung eines tridentaten zweibasischen Liganden, z. B. Bio(mercaptoethyl)sulfid mit dem monodentaten Liganden Thiophenol gewährleistet die Absättigung der vier freien Koordinationsstellen des Zentralatoms. Da das Donoratom Y keine Ladung überträgt, resultiert eine Neutralverbindung:



Die molaren Massen der Verbindungen liegen zwischen 328 g/mol ($\text{X} = \text{Y} = \text{O}$) und 376 g/mol ($\text{X} = \text{Y} = \text{S}$).

2. Herstellung und Charakterisierung von TcOL^1L^2 in geträgerter Lösung:

Zu $0,64 \mu\text{mol}$ Tc(V)-gluconat in 3 ml Ethanol/Wasser wird eine Lösung von $0,64 \mu\text{mol}$ Bis(mercaptoethyl)sulfid (L^1) und $0,64 \mu\text{mol}$ Thiophenol (L^2) in $100 \mu\text{l}$ Ethanol gegeben. Die Reaktionsmischung färbt sich orange. Die Bildung des Produktes (a) wird UV-spektroskopisch und dünnschichtchromatographisch beobachtet. (Im Vergleich dazu die Reaktionsprodukte von Tc[V]-gluconat nur mit L^1 [b] und mit L^2 [c].)

	Produkt		
	a	b	c
UV-Absorption [nm] (in CHCl_3)	471	463	—
Rf (Silufol, Aceton/Meth. [1:4])	0,6	0,35	0,9

Aus der Reaktionsmischung werden 95% der Aktivität extrahiert. Der Octanol/Wasser-Verteilungskoeffizient beträgt 14. Die molare Masse der Verbindung liegt mit 376 g/mol deutlich unterhalb der für diffusible Verbindungen maximal zulässigen molaren Größe von 500 g/mol.

3. Herstellung und Charakterisierung des isolierten Komplexes:

Wie oben, jedoch 50 μmol eines jeden Reaktionspartners. Es fällt ein rotbrauner Niederschlag, der nach kurzem Stehen der Mischung abgesaugt und mit Wasser gewaschen wird. Nach Aufnehmen in Chloroform und Abtrennung von Ungelöstem kristallisiert die Substanz nach Zugabe des gleichen Volumens Methanol und Einengen auf etwa 0,5 ml im Kühlschrank aus. Dunkelbraune Kristalle, 10,1 mg (28 μmol) = 55% d. Th.

Elementaranalyse: (ber. für $\text{C}_{10}\text{H}_{13}\text{OS}_4\text{Tc}$)

Ber.: C 31,9%, H 3,5%, S 34,0%, Tc 26,3% molare Masse 376 g/mol

Gef.: D 30,8%, H 3,1%, S 32,9%, Tc 23,1% molare Masse 374 g/mol

IR-Spektrum (KBr): 935 cm^{-1} Tc = 0

$^1\text{H-NMR}$ -Spektrum (Aceton- d_6) (ppm):

2,11 1H, 3,23 1H, 4,02 2H, 7,5 5H

Die Verbindungen erfüllen damit die notwendigen Bedingungen der hohen Lipophilie und maximalen molaren Masse von 500 g/mol. Die Substanzen zeigen in Bioverteilungsuntersuchungen eine hohe Aktivität im Blut, die für lipophile Verbindungen typisch ist.