

Parawasserstoff induzierte Hyperpolarisation der Moleküle Succinat und Fumarat

Masterarbeit

von

Barbara Helena Piechalska

geboren am 2. März 1990 in Warschau/Polen

zur Erlangung des Akademischen Grades

Master of Science (MSc)

Angefertigt in Kooperation der folgenden Institutionen:



Johannes Gutenberg Universität
Mainz
Fachbereich 08 – Physik,
Mathematik, Informatik
Institut für Physik



Max-Planck-Institut für
Polymerforschung in Mainz

Erstgutachter:

Prof. Dr. Werner Heil (JGU)

Zweitgutachter:

Prof. Dr. Hans-Wolfgang Spiess (MPIP)

Betreuerin:

Dr. Kerstin Münnemann (MPIP)

Abgabedatum:

31. Oktober 2014

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung und Motivation	1
1.1	Ziel der Masterarbeit	3
2	Theoretische Grundlagen	5
2.1	Kernspinresonanzspektroskopie	5
2.1.1	Kernspin und Larmorfrequenz	5
2.1.2	Polarisation	6
2.1.3	Kernspinanregung und Relaxation	8
2.1.4	Chemische Verschiebung und J-Kopplung	10
2.1.5	Chemische Äquivalenz, magnetische Äquivalenz	11
2.2	Hyperpolarisation	12
2.2.1	ortho-Wasserstoff, para-Wasserstoff	12
2.2.2	Paarweise Hydrierung mit para-Wasserstoff	15
3	Methoden	18
3.1	Anreicherung von para-Wasserstoff	18
3.2	Polarisationsübertragung auf Moleküle	19
3.3	Klassen der Durchführung	22
3.4	Methoden der Hyperpolarisationsübertragung auf ^{13}C	26
4	Hyperpolarisiertes Succinat	27
4.1	Molekülsteckbriefe	29
4.2	Konzentrationsreihe des wasserlöslichen Katalysators	36
4.3	Nachweis der Hyperpolarisation in 1- ^{13}C -Succinat	50
4.3.1	Hyperpolarisationsnachweis auf Protonen	50
4.3.2	Hyperpolarisationsnachweis auf ^{13}C	55
4.4	Hyperpolarisation in unmarkiertem Succinat	57
4.5	PASADENA Experimente mit 1- ^{13}C -Fumarat	59
5	Hyperpolarisiertes Fumarat	71
5.1	Suche nach geeignetem trans-Katalysator	73

5.2	Hyperpolarisationsnachweis auf $1\text{-}^{13}\text{C}$ -Fumarat	87
6	Fazit	100
A	Hyperpolarisiertes Succinat	103
A.1	Konzentrationsreihe des wasserlöslichen Katalysators	104
A.1.1	Herleitung der Reaktionskinetik	105
A.2	PASADENA-Experimente mit $1\text{-}^{13}\text{C}$ -Fumarat	107
	Abbildungsverzeichnis	110
	Tabellenverzeichnis	118
	Literaturverzeichnis	119

Erklärung

Diese Arbeit entstand im Zeitraum vom 17.10.2013 bis zum 31.10.2014 unter der Leitung von Univ.-Prof. Dr. Werner Heil und Betreuung von Dr. Kerstin Münnemann, Projektleiterin am Max-Planck-Institut für Polymerforschung. Die Arbeit fand im Rahmen des Projekts HYPER-MRI statt, einer Zusammenarbeit zwischen den Arbeitsgruppen von Prof. Dr. Werner Heil und Dr. Peter Blümler am Institut für Physik der Johannes Gutenberg Universität Mainz, sowie von Dr. Kerstin Münnemann am Max-Planck-Institut für Polymerforschung Mainz, gefördert vom Ministerium für Bildung und Forschung.

Ich versichere, dass ich die Arbeit selbständig verfasst und keine anderen als die genannten Quellen und Hilfsmittel benutzt habe.

Barbara Piechalska

Kapitel 1

Einleitung und Motivation

Die Kernspinspektroskopie (NMR = Nuclear Magnetic Resonance) wurde im Jahr 1946 von Felix Bloch und Edward Mills Purcell entwickelt und etabliert sich seitdem als eine sehr wichtige Spektroskopiemethode, vor allem in der analytischen Chemie. 1952 erhielten die Entwickler dafür den Nobelpreis in Physik.

Darauf basierend entwickelten Paul C. Lauterbur und Sir Peter Mansfield im Jahr 1973 die Magnetresonanztomografie (MRT), indem sie durch magnetische Feldgradienten eine räumliche Auflösung der Probe möglich machten. Seitdem hat die MRT in der modernen Medizin eine sehr wichtige Stellung unter den bildgebenden Verfahren zur Diagnose eingenommen. Beide Entdecker erhielten 2003 den Nobelpreis in Medizin.

Beide Methoden werden noch heute stetig weiterentwickelt und gewinnen zunehmend an Bedeutung. Sie leiden jedoch beide unter dem limitierenden Faktor der niedrigen Empfindlichkeit. Wie im Kapitel 2 näher erläutert wird, ist das NMR-Signal proportional zum magnetischen Gesamtmoment der Kerne in der zu untersuchenden Probe, welches die Summe der einzelnen magnetischen Kernmomente eines bestimmten Kernisotops ist. Durch Anlegen eines homogenen äußeren Magnetfeldes lässt sich jedoch nur ein sehr geringer Anteil der magnetischen Momente der Kerne in der Probe entlang des Feldes ausrichten. Dieser liegt für Protonen und für starke Magnetfelder zwischen 4 und 7 T bei Raumtemperatur (23°C) in der Größenordnung $10^{-4} - 10^{-5}$ (thermisches Gleichgewicht). Die große Mehrheit der magnetischen Kernmomente in der Probe ist nicht ausgerichtet, sodass deren magnetisches Gesamtmoment verschwindet. Es sind somit Proben mit einer hohen Kerndichte, d.h. einer hohen Anzahl von Kernen im zu untersuchenden Bereich der Probe, nötig, um ein detektierbares Signal zu erzielen.

Methoden zur Hyperpolarisation, welche das Ziel besitzen den Anteil der am äußeren Magnetfeld ausgerichteten magnetischen Kernmomente inner-

halb der Probe über das thermische Gleichgewicht hinaus zu steigern, greifen somit am entscheidenden Schwachpunkt der Messmethode an und haben theoretisch ein Signalsteigerungspotential von 4-5 Größenordnungen.

Eine Methode hierzu, um die es in dieser Arbeit geht, ist die para-Wasserstoff induzierte Polarisation (PHIP = Para Hydrogen Induced Polarisation). Diese wurde im Jahr 1986 von C. Russell Bowers und Daniel P. Weitekamp theoretisch vorhergesagt und war in der Lage erstaunlich überhöhte und antiphase NMR-Signale zu erklären, welche unter anderem Henry Bryndza im Jahr 1981 und R. Eisenberg im Jahr 1986 bei NMR-Untersuchungen nach Hydrierreaktionen beobachtet haben. PHIP beruht auf dem Prinzip, die Spinordnung von para-Wasserstoff, d.h. Wasserstoff im Kernspin-Singulett-Zustand, in einer Hydrierreaktion auf ein Molekül zu übertragen und wird in Kapitel 2 näher erklärt.

Aktuell wird an vielen Anwendungen von para-Wasserstoff induzierter Polarisation geforscht, unter anderem wird nach Molekülen gesucht, welche auf diese Weise hyperpolarisierbar, für den Menschen jedoch nicht toxisch sind, mit dem Ziel diese als hyperpolarisierte Kontrastmittel in der MRT einzusetzen.

Bisher bekannte hyperpolarisierte MRT-Kontrastmittel sind die hyperpolarisierten Gase ^3He und ^{129}Xe , mithilfe derer es zum ersten Mal in der Geschichte möglich wurde das MRT-Bild des Gasraums einer Lunge aufzunehmen.

Para-Wasserstoff induziert hyperpolarisierte Kontrastmittel sollen das gleiche Prinzip verwirklichen, mithilfe weniger hyperpolarisierter Kerne, ein starkes Signal zu erzeugen. Jedoch sollen sie in gelöster Form in den menschlichen Körper injiziert werden und dort beispielsweise den Blutfluss oder Stoffwechselprozesse sichtbar machen.

Moleküle in flüssiger Phase haben jedoch oft nur eine Spin-Gitter-Relaxationszeit T_1 im Bereich von Sekunden bestenfalls Minuten, im Gegensatz zu ^3He und ^{129}Xe in der Gasphase. Aus diesem Grund kann man nur sehr schnell ablaufende Prozesse *in vivo* abbilden. Ein gutes und etabliertes Beispiel ist hier z.B. Tumorbildgebung mit hyperpolarisiertem ^{13}C -Pyruvat. Dieses hat eine T_1 -Zeit von ca. 45 s, die jedoch bei einer genügend hohen HP ausreicht. Diese generelle Zeitlimitierung der Hyperpolarisation können Singulett-Zustände, welche deutlich langlebiger sein können als T_1 , stark abmildern. Dadurch kann es möglich werden auch länger andauernde Prozesse *in vivo* abzubilden.

Eine besondere Vision sind symmetrische metabolisierbare hyperpolarisierte Kontrastmittel. Die Idee ist hierbei die Spinordnung von para-Wasserstoff auf ein symmetrisches Molekül zu übertragen, sodass die Protonen des H_2 Moleküls auch nach der Hydrierreaktion nicht unterscheidbar sind und

das Molekül somit den Singulett-Zustand (Gesamt-Kernspin = 0) des para-Wasserstoffes übernimmt (vgl. Kapitel 2). Ein solches Molekül im Singulett-Zustand ist sowohl hyperpolarisiert, als auch für die MRT unsichtbar. Da Energieübergänge zwischen Singulett und Triplett-Zuständen physikalisch verboten sind, sind Singulett-Zustände auf Molekülen oftmals langlebig. Ihre Lebensdauer kann die Lebensdauer gewöhnlicher Polarisierungen jenseits des thermischen Gleichgewichts (Spin-Gitter-Relaxationszeit T_1) im Molekül um bis zu zwei Größenordnungen überschreiten. Wird die Symmetrie des Moleküls jedoch gebrochen, beispielsweise durch Verstoffwechslung, werden die aus para-Wasserstoff stammenden Protonen schlagartig unterscheidbar und deren Singulett-Zustand damit gebrochen. In diesem Moment wird auch die im Singulett-Zustand gespeicherte Hyperpolarisation sichtbar. Der Plan ist, solche Moleküle im Singulett-Zustand dem Patienten zu injizieren und mittels MRT zu verfolgen, wo und wie schnell sie verstoffwechselt werden. Auf diese Weise könnte man Tumoren anhand ihres erhöhten Stoffwechsels frühzeitig erkennen und Tumor staging betreiben, d.h. einschätzen wie aggressiv der Tumor ist.

1.1 Ziel der Masterarbeit

Ziel dieser Arbeit ist es zwei Moleküle des Citratzyklus, Succinat und Fumarat, auf ihre Eignung als metabolische Kontrastmittel zu untersuchen. Hierzu muss zunächst untersucht werden, ob es prinzipiell möglich ist, die Moleküle mittels para-Wasserstoff zu hyperpolarisieren. Die Reaktion hierzu sollte in einem biokompatiblen Lösungsmittel stattfinden, im Idealfall Wasser, d.h. gegebenenfalls ist das Lösungsmittel für die Reaktion zu optimieren. Die nächsten Schritte sind zu testen, wie man die Hyperpolarisation am effektivsten erzeugen und wie man sie am effektivsten nutzen kann. Hierbei sind optimale Reaktionsbedingungen zu finden sowie, für die Nutzung, zu testen, ob es effektiver ist die Hyperpolarisation auf Protonen zu messen, oder sie auf eine ^{13}C Markierung zu übertragen, wodurch ihre Lebensdauer erhöht werden kann, da ^{13}C Kerne langsamer relaxieren. Anschließend ist zu testen, ob das Molekül einen hyperpolarisierten Singulett-Zustand bildet, sowie, falls es der Fall ist, dessen Lebensdauer zu bestimmen und auch nach Möglichkeiten zu suchen diesen zu brechen, ohne dass Stoffwechsel beteiligt ist. Auch ein gezieltes Brechen des Singulett-Zustandes kann für eine medizinische Anwendung von großem Nutzen sein. [5] Die letzten Schritte bei einer solchen Eignungsuntersuchung sind Experimente mit Zellen, um zu überprüfen, ob Verstoffwechslung das gewünschte Ergebnis liefert, sowie der Entwurf eines klinischen Aufbaus zur kontinuierlichen, sterilen Herstellung von Kontrast-

mittel und als letztes Tierversuche.

Im Rahmen dieser Arbeit können, aufgrund ihrer Zeitbegrenzung, natürlich nicht alle diese Schritte durchgeführt werden. Die Zielsetzung dieser Arbeit ist es daher, hyperpolarisiertes Succinat und Fumarat herzustellen und zu untersuchen, ob diese beiden Moleküle hyperpolarisierte Singulett-Zustände aufweisen.

Kapitel 2

Theoretische Grundlagen

In diesem Kapitel sollen die nötigen theoretischen Grundlagen zum Verständnis der Arbeit erklärt werden. Da hier viel spezielles Wissen gefragt ist, wird zur Kernspinresonanzspektroskopie allgemein nur ein kurzer Abriss gegeben und für weiterführende Informationen auf Literatur verwiesen. Eine gute Quelle hierzu ist [17]

2.1 Kernspinresonanzspektroskopie

2.1.1 Kernspin und Larmorfrequenz

Für die Kernspinresonanzspektroskopie (NMR-Spektroskopie) sind grundsätzlich nur Nuklide mit nicht verschwindendem Kernspin ($\vec{I} \neq \vec{0}$) im Grundzustand geeignet, da $\vec{I} \neq \vec{0}$ Voraussetzung für ein magnetisches Moment $\vec{\mu}$ des Atomkerns ist. Kernspin \vec{I} und magnetisches Moment $\vec{\mu}$ hängen über folgende Relation zusammen:

$$\vec{\mu} = \gamma \vec{I}$$

wobei γ , das gyromagnetische Verhältnis, eine charakteristische Konstante jedes Isotops ist.

Der Kernspin ist quantisiert in Betrag und Richtung. Der Betrag wird durch die Quantenzahl $I = \frac{|\vec{I}|}{\hbar}$ beschrieben, welche als Wert Vielfache von $1/2$ annehmen kann. Die zur Richtung gehörige Magnetquantenzahl m kann Werte zwischen $-I$ und I , in Schritten von 1 , annehmen. Sie beschreibt die Projektion von \vec{I} auf die z -Achse. Ohne äußeres Magnetfeld sind die Energieniveaus von \vec{I} entartet in m (Richtungsentartung). In einem äußeren Ma-

gnetfeld wird die Richtungsentartung aufgehoben (Zeeman-Effekt).

Protonen und ^{13}C besitzen einen Kernspin von $I = 1/2$. Das gyromagnetische Verhältnis beträgt $\gamma(^1\text{H}) = 267,513 \frac{1}{\text{T}\cdot\text{s}}$ und $\gamma(^{13}\text{C}) = 67,262 \frac{1}{\text{T}\cdot\text{s}}$. Die Zeeman-Eigenzustände $|I, m_I\rangle$ eines Kernspins $I = 1/2$ werden häufig wie folgt bezeichnet:

$$\begin{aligned} |\alpha\rangle &= \left| \frac{1}{2}, +\frac{1}{2} \right\rangle \\ |\beta\rangle &= \left| \frac{1}{2}, -\frac{1}{2} \right\rangle \end{aligned}$$

Die potentielle Energie eines magnetischen Momentes $\vec{\mu}$ im äußeren Magnetfeld \vec{B}_0 beträgt:

$$E = -\vec{\mu} \cdot \vec{B}_0$$

Die z-Achse wird per Konvention immer in Richtung von \vec{B}_0 gewählt, somit ergibt sich für die potentielle Energie eines Zustandes mit Magnetquantenzahl m :

$$E_{pot} = -\gamma |\vec{I}_z| |\vec{B}_0| = -\gamma m \hbar B_0$$

Für die Energiedifferenz zweier benachbarter m -Zustände gilt somit:

$$\Delta E = -\gamma m \hbar B_0 - (-\gamma(m+1) \hbar B_0) = \gamma \hbar B_0 \quad (2.1)$$

Wird bei diesem Übergang ein Photon emittiert, trägt es diese Energiedifferenz:

$$E_{Photon} = \Delta E = \hbar \gamma B_0$$

Außerdem gilt: $E_{Photon} = \hbar \omega$ und somit ergibt sich die **zentrale NMR-Gleichung**:

$$\omega = \gamma B_0$$

ω , häufig auch ω_0 ist die sogenannte Larmor-Frequenz.

2.1.2 Polarisation

Unter Polarisation versteht man die Ungleichverteilung der Besetzungszahlen verschiedener Zeeman-Niveaus, die ungleichmäßige Besetzung verschiedener Spinzustände. Die für die NMR-Spektroskopie interessante Polarisationsart ist die Kernspinpolarisation. Die allgemeine Definition der Polarisation für ein Teilchen mit Spin I lautet:

$$P := \frac{1}{I} \frac{\sum_i m_i \cdot N_i}{\sum_i N_i}$$

Hierbei ist N_i jeweils die Besetzungszahl des Zustandes mit Magnetquantenzahl m_i .

Für einen Kern mit Spin $I = 1/2$ existieren im äußeren Magnetfeld genau zwei Zeeman-Niveaus mit den Magnetquantenzahlen $m_{\uparrow} = +1/2$ ($|\alpha\rangle$) und $m_{\downarrow} = -1/2$ ($|\beta\rangle$). Für dessen Polarisation gilt somit:

$$P(I = \frac{1}{2}) = \frac{1}{1/2} \frac{(+1/2) \cdot N_{+1/2} + (-1/2) \cdot N_{-1/2}}{N_{+1/2} + N_{-1/2}} = \frac{N_{+1/2} - N_{-1/2}}{N_{+1/2} + N_{-1/2}}$$

Im thermischen Gleichgewicht gilt für die Besetzung dieser beiden Zustände die Boltzmann-Statistik:

$$\frac{N_{-1/2}}{N_{+1/2}} = \exp\left(-\frac{|\Delta E|}{k_B T}\right) = \exp\left(-\frac{\hbar\gamma B_0}{k_B T}\right)$$

Hierbei ist k_B die Boltzmann-Konstante und T die absolute Temperatur. $|\Delta E|$ ist die Energiedifferenz der Zustände $|\alpha\rangle$ und $|\beta\rangle$.

Für Protonen bzw. ^{13}C bei einem äußeren Magnetfeld von 7 T und bei Raumtemperatur (ca. 300 K) ergeben sich folgende Werte für die thermische Polarisation:

$$P_{th,^1\text{H}} = 2,4 \cdot 10^{-5}$$

$$P_{th,^{13}\text{C}} = 6,0 \cdot 10^{-6}$$

Die Intensität des NMR-Signals ist unter Anderem proportional zur Polarisation der Probe und zur Anzahl der Kerne.

Eine weitere oft gebrauchte Größe ist die Magnetisierung \vec{M} , definiert als Summe über alle magnetischen Momente $\vec{\mu}$ der Probe.

$$\vec{M} = \sum_{i=1}^{n_{ges}} \vec{\mu}_i = \gamma \cdot \sum_{i=1}^{n_{ges}} \vec{I}_i$$

n_{ges} : Gesamtanzahl der Kerne in der Probe

Die Magnetisierung in z-Richtung M_z ist proportional zur Polarisation:

$$M_z = \sum_{i=1}^{n_{ges}} \mu_{z,i} = \gamma \cdot \sum_{i=1}^{n_{ges}} I_{z,i} = \gamma \hbar \cdot \sum_{i=1}^{n_{ges}} m_i = \gamma \hbar \cdot \sum_{k=1}^{2I+1} N_k \cdot m_k$$

$$= \gamma \hbar \cdot P \cdot I \cdot n_{ges}$$

2.1.3 Kernspinanregung und Relaxation

Um Kernspins im äußeren Magnetfeld anzuregen, d.h. Energieübergänge zu höheren Zeeman-Niveaus zu induzieren, muss die Larmorfrequenz des jeweiligen Kerns ausgestrahlt und vom Kern absorbiert werden. Während der Einstrahlung oszilliert die Besetzung der beiden Zeeman-Niveaus mit der Rabi-Frequenz Ω . Durch Variieren der Dauer t der Einstrahlung kann man somit die Besetzungsverteilung im Ensemble am Ende der Einstrahlung bestimmen. Aus diesem Bild leitet sich der Begriff des Flipwinkels ab, es gilt $\alpha = \Omega \cdot t$. Einstrahlungsdauern, die einen konkreten Flipwinkel zur Folge haben, werden oft nach diesem bezeichnet (z.B. 90°-Puls). Für weitere Informationen s. [19]

Keht ein angeregter Kernspin in seinen Ausgangszustand zurück, nennt man dies Relaxation. Dabei werden elektromagnetische Wellen mit exakt seiner Larmorfrequenz abgestrahlt. Das Prinzip aller NMR-Messungen besteht darin die Kernspins der Probe anzuregen und sie in den Ausgangszustand zurückkehren zu lassen. Die während der Relaxation emittierte Strahlung wird detektiert und aufgezeichnet. Eine solche Aufnahme nennt man FID (Free Induction Decay). Nach Fouriertransformation ergibt sich aus dem FID ein NMR-Spektrum, die Frequenzen der Zeeman-Übergänge, welche in der Probe angeregt wurden, sind als Resonanzlinien sichtbar.

Relaxationsmechanismen

Die Kernspin-Relaxationsprozesse werden mathematisch durch die Bloch-Gleichungen beschrieben. Für eine detaillierte Abhandlung s. [17].

Man unterscheidet zwei grundlegend unterschiedliche Mechanismen, die Spin-Gitter-Relaxation und die Spin-Spin-Relaxation:

Spin-Gitter-Relaxation:

Die Spin-Gitter-Relaxation (T_1 -Relaxation) beschreibt den Energieaustausch zwischen den Kernspins und der Umgebung, dem sogenannten Gitter. Sie ist für die Rückkehr in das thermische Gleichgewicht verantwortlich. Es gilt:

$$M_z(t) = M_{Glw} + (M_{start} - M_{Glw}) \cdot e^{-\frac{t}{T_1}}$$

mit:

- t : Zeitvariable, $t = 0$: Beginn der Relaxation
- M_z : Magnetisierung in z-Richtung
- M_{Glw} : Gleichgewichtsmagnetisierung (in z-Richtung)
- M_{start} : Anfangsmagnetisierung $M_{start} = M_z(t = 0)$
- T_1 : Spin-Gitter Relaxationskonstante, auch Relaxationszeit

Aufgrund der Proportionalität zur Polarisation P gilt auch:

$$P(t) = P_{th} + (P_{start} - P_{th}) \cdot e^{-\frac{t}{T_1}}$$

Somit kann die Zeitkonstante T_1 auch als Lebensdauer von Polarisationen jenseits des thermischen Gleichgewichts betrachtet werden.

Spin-Spin-Relaxation:

Die Spin-Spin-Relaxation beschreibt die Wechselwirkung zwischen in der transversalen Ebene präzedierenden Kernspins. Die T_2 -Zeit ist immer kleiner als die T_1 -Zeit, da nach der Rückkehr ins thermische Gleichgewicht keine Magnetisierung in der transversalen Ebene mehr vorhanden ist. Die Spin-Spin-Relaxation führt zu einem Verlust der Phasenkohärenz, mit dem allerdings kein Energieaustausch verbunden ist. Es gilt:

$$|M_T(t)| = |M_T(0)| \cdot e^{-\frac{t}{T_2}} \quad T_2 < T_1$$

M_T : Magnetisierung in der transversalen Ebene

Neben der Spin-Spin-Wechselwirkung, können auch technische Einflüsse zum Verlust der Phasenkohärenz beitragen und diesen beschleunigen.

Die Relaxationszeit T_2^* setzt sich zusammen aus der Relaxationszeit T_2 , welche eine charakteristische physikalische Eigenschaft der Probe ist, verkürzt durch technische Einflüsse der Messung. Ungenauigkeiten in der Erzeugung des äußeren Magnetfeldes B_0 oder lokale Unstetigkeiten der magnetischen Suszeptibilität im Bereich der Probe, was die Homogenität des B_0 -Feldes stört, führen dazu, dass das tatsächliche Signal (FID) nicht mit T_2 sondern mit der deutlich kürzeren Zeitkonstanten T_2^* abklingt. Es gilt:

$$\frac{1}{T_2^*} = \frac{1}{T_2} + \frac{1}{T_2'} + \gamma \Delta B_0 \quad T_2^* < T_2$$

wobei T_2' den Einfluss von Suszeptibilitätsschwankungen berücksichtigt und $\gamma \Delta B_0$ die Inhomogenitäten des äußeren B-Feldes. Für Flüssigkeiten liegt T_2^* in der Größenordnung von hundert Millisekunden. Für Gase liegt T_2^* in der Größenordnung mehrerer 10 Sekunden.

2.1.4 Chemische Verschiebung und J-Kopplung

Chemische Verschiebung

Innerhalb eines Moleküls schirmt die Elektronenhülle das B_0 -Feld am Ort verschiedener Kerne unterschiedlich stark ab. Hieraus ergibt sich, dass verschiedene Kerne des gleichen Isotops strukturabhängig leicht unterschiedliche Larmorfrequenzen haben. Diese Unterschiede nennt man chemische Verschiebung. Die chemische Verschiebung δ wird relativ zur Betriebsfrequenz des Spektrometers ($f_0 = \gamma \cdot B_0$) in ppm (parts per million = 10^{-6}) angegeben. Als $f_{Standard} = 0$ ppm ist die Frequenz der Protonen von Tetramethylsilan definiert. Es gilt:

$$\delta = \frac{f_{Substanz} - f_{Standard}}{f_0}$$

Eine relative Angabe der chemischen Verschiebung ist sinnvoll, da die Abschirmung durch die Elektronenhülle proportional zu B_0 ist. Somit bleiben bei dieser Konvention die Zahlenwerte für die chemische Verschiebung in ppm gleich, unabhängig von der Magnetfeldstärke B_0 und der Betriebsfrequenz des Spektrometers. [20]

J-Kopplung

Unter J-Kopplung oder Spin-Spin-Kopplung versteht man eine magnetische Wechselwirkung zwischen Kernspins, welche indirekt über die Bindungselektronen übertragen wird. Die J-Kopplung führt dazu, dass antiparallele Einstellungen benachbarter Kernspins energetisch günstiger werden und parallele ungünstiger. Die Energiedifferenz zwischen Zeeman-Niveaus eines Kernspins hängt dadurch davon ab, wie der benachbarte Kernspin im Magnetfeld ausgerichtet ist. Die Spektrallinie dieses Zeeman-Übergangs spaltet somit auf. Die Energiedifferenz dieser Aufspaltung beträgt:

$$E = J_{AX} \cdot \vec{I}(A) \cdot \vec{I}(X)$$

A und X bezeichnen dabei die koppelnden Kerne und \vec{I} deren Kernspinvektoren. J_{AX} bezeichnet die skalare J-Kopplungskonstante. Für eine genauere Erklärung s. [20]

Der Betrag der J-Kopplung hängt nicht vom Magnetfeld B_0 ab, die absolute Aufspaltung der Resonanzlinie ist damit unabhängig von Magnetfeld und Betriebsfrequenz des Spektrometers. Deswegen werden J-Kopplungen absolut in der Einheit Hz angegeben.

Starke Kopplung

Zwei Kernspins innerhalb eines Moleküls heißen stark gekoppelt, wenn deren J-Kopplung deutlich größer ist als die Differenz ihrer Resonanzfrequenzen:

$$J_{AX} \gg |\omega(A) - \omega(X)|$$

In diesem Fall können die Spins als ein 2-Spin-System betrachtet und in einer gekoppelten Basis (Singulett-Triplett-Basis) beschrieben werden. Sie gelten in diesem Fall als ununterscheidbar und können Singulett und Triplett-Zustände bilden.

2.1.5 Chemische Äquivalenz, magnetische Äquivalenz

Chemische Äquivalenz

Kerne eines Moleküls sind chemisch äquivalent, wenn sie

1. demselben Isotop angehören.
2. sich im Molekül in gleicher chemischer Umgebung befinden. Dass zwei Kerne sich in gleicher chemischer Umgebung befinden kann man dadurch erkennen, dass eine Symmetrieeoperation auf dem Molekül existiert (z.B. Achsenspiegelung, Punktspiegelung), welche die beiden Kerne austauscht.

Chemisch Äquivalente Kerne besitzen immer die gleiche chemische Verschiebung und damit die gleiche Resonanzfrequenz. Umgekehrt gilt dies nicht immer.[17]

magnetische Äquivalenz

Kerne eines Moleküls sind magnetisch äquivalent, wenn sie

1. die gleiche chemische Verschiebung besitzen.
2. zu allen *anderen* Kernen im Molekül (nicht untereinander!) gleich stark koppeln (J-Kopplung). (Oder, im trivialen Fall, wenn keine weiteren Kerne im Molekül vorhanden sind.)

Magnetisch Äquivalente Kerne sind automatisch chemisch äquivalent.

Eine Eigenschaft magnetisch äquivalenter Kerne ist es, dass ihre J-Kopplungen untereinander, bei NMR von Lösungen, zu keiner Aufspaltung ihrer Resonanzlinien führen. Für die Herleitung s. [17]

2.2 Hyperpolarisation

Hyperpolarisation bezeichnet Polarisationsraten weit über die thermische Polarisation hinaus. Das bis heute erzielte Maximum liegt bei einer Kernspin-Polarisation nahe 100%. Dies entspricht einer Steigerung um ca. 5 Größenordnungen gegenüber Werten für thermische Polarisation bei Raumtemperatur bei Magnetfeldern B_0 zwischen 4 T und 7 T. Es gibt verschiedene Verfahren Hyperpolarisation zu erzeugen, abhängig vom zu polarisierenden Stoff. Für Edelgase ist z.B. das optische Pumpen ein zentrales Element aller bekannten Verfahren. Im Fall der para-Wasserstoff induzierten Hyperpolarisation wird die Spinordnung von para-Wasserstoff auf die Protonen eines Moleküls übertragen.

2.2.1 ortho-Wasserstoff, para-Wasserstoff

Ortho-Wasserstoff sind H_2 -Moleküle deren Kernspins einen Triplett-Zustand bilden. Der Gesamtkernspin von ortho-Wasserstoff beträgt $I_{ges} = 1$, hierfür gibt es drei mögliche Spinkonfigurationen.

Para-Wasserstoff sind H_2 -Moleküle deren Kernspins einen Singulett-Zustand bilden. Der Gesamtkernspin von ortho-Wasserstoff beträgt $I_{ges} = 0$, hierfür gibt es eine mögliche Spinkonfiguration.

Bei Temperaturen oberhalb 250 K sind alle Spinkonfigurationen mit gleicher Wahrscheinlichkeit anzutreffen, wodurch thermischer Wasserstoff bei diesen Temperaturen zu $\frac{3}{4}$ aus ortho- und zu $\frac{1}{4}$ aus para-Wasserstoff besteht. Der Übergang von para- zu ortho-Wasserstoff ist aus Symmetriegründen verboten. Die folgende Rechnung soll das bisher genannte belegen.

Die Gesamtwellenfunktion Ψ des H_2 -Moleküls lautet

$$\Psi = \Psi_e^{orb} \Psi_e^s \Psi_n^{vib} \Psi_n^{rot} \Psi_n^s$$

- Ψ_e^{orb} : Elektronen-Bahnwellenfunktion
- Ψ_e^s : Elektronen-Spinwellenfunktion
- Ψ_n^{vib} : Kern-Vibrationswellenfunktion
- Ψ_n^{rot} : Kern-Rotationswellenfunktion
- Ψ_n^s : Kern-Spinwellenfunktion

Da die Kerne der Wasserstoffatome Fermionen sind, muss die Gesamtwellenfunktion antisymmetrisch unter deren Vertauschung sein.

Die Elektronenbahnen sind invariant unter Vertauschung der Kerne, somit ist der erste Faktor Ψ_e^{orb} symmetrisch unter dieser Operation. Die Elektronen-Spinwellenfunktion Ψ_e^s hängt von der Position der Kerne nicht ab und ist

somit auch symmetrisch unter Vertauschung dieser. Die Vibrationszustände der Kerne, beschrieben durch Ψ_n^{vib} , sind ebenfalls symmetrisch unter deren Vertauschung.

Somit muss die Antisymmetrie der Gesamtwellenfunktion unter Vertauschung der Kerne an den letzten beiden Faktoren hängen. Für die Rotationswellenfunktion gilt bei Anwendung des Kernvertauschungsoperators P_{12} :

$$P_{12}(\Psi_n^{rot}) = (-1)^J \Psi_n^{rot} = \begin{cases} \Psi_n^{rot}, & \text{sym. für gerade } J, \\ -\Psi_n^{rot}, & \text{antisym. für ungerade } J. \end{cases}$$

P_{12} : Kernvertauschungsoperator

J : Rotationsquantenzahl

Für die Kern-Spinwellenfunktion Ψ_n^s gibt es 4 mögliche Spinkonfigurationen:

$$\left. \begin{aligned} |\Psi_{m_S=+1}^T\rangle &= |\uparrow\uparrow\rangle \\ |\Psi_{m_S=0}^T\rangle &= \frac{1}{\sqrt{2}} (|\uparrow\downarrow\rangle + |\downarrow\uparrow\rangle) \\ |\Psi_{m_S=-1}^T\rangle &= |\downarrow\downarrow\rangle \end{aligned} \right\} S = 1, \text{ Triplett, symmetrisch}$$

$$\left. \begin{aligned} |\Psi_{m_S=0}^S\rangle &= \frac{1}{\sqrt{2}} (|\uparrow\downarrow\rangle - |\downarrow\uparrow\rangle) \end{aligned} \right\} S = 0, \text{ Singulett, antisymmetrisch}$$

Die Wellenfunktionen für Triplettkonfigurationen sind alle symmetrisch unter Vertauschung der Kerne. Die Wellenfunktion für die Singulettkonfiguration ist antisymmetrisch.

Es ergeben sich daraus zwei Kombinationen, die eine Gesamtwellenfunktion liefern, die unter Vertauschung der Kerne antisymmetrisch ist:

Entweder bildet die Kernspinkonfiguration ein Triplett ($\Psi_n^s = \Psi_{m_S}^T$) und die Rotationsquantenzahl J ist ungerade, oder die Kernspinkonfiguration bildet ein Singulett ($\Psi_n^s = \Psi_{m_S}^S$) und J ist gerade.

Wenn die Bedingung der antisymmetrischen Gesamtwellenfunktion für alle Zeiten erhalten bleiben soll, müsste sich für einen Singulett zu Triplett Übergang simultan die Rotationsquantenzahl J um eins ändern.

Dies ist extrem Unwahrscheinlich ohne äußere Einwirkung, daher gilt der Übergang zwischen Singulett und Triplett als verboten.

Abbildung 2.1 zeigt die Besetzungswahrscheinlichkeit der Rotationszustände mit $J = 0-5$ in Abhängigkeit der Temperatur. Für kleine Temperaturen dominiert $J=0$, somit kann bei kleinen Temperaturen nur para-Wasserstoff vorhanden sein, ansonsten wäre die Antisymmetrie der Gesamtwellenfunkti-

on verletzt. Für höhere Temperaturen geht die Summe der Besetzungswahrscheinlichkeiten für Zustände mit geraden J gegen $\frac{1}{4}$, während die Besetzungswahrscheinlichkeit von Zuständen mit ungeraden J gegen $\frac{3}{4}$ geht. Dies bestätigt, dass bei Temperaturen ab 250 K das Verhältnis von para- zu ortho-Wasserstoff gegen 1:3 geht.

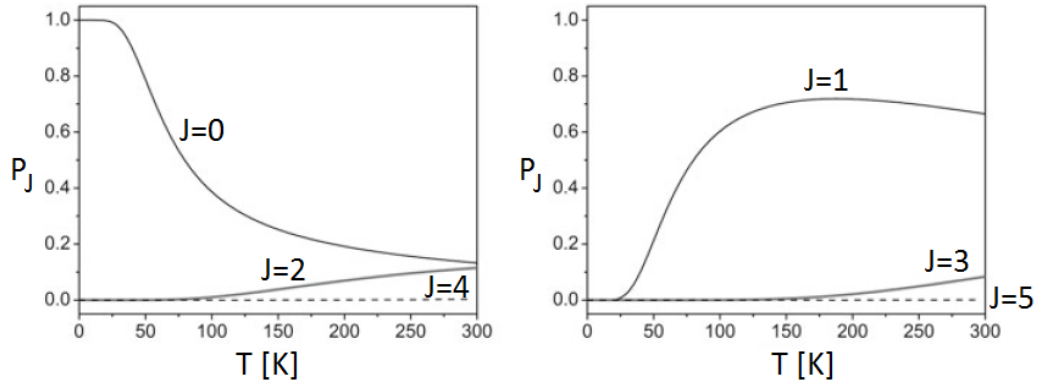


Abbildung 2.1: Besetzungswahrscheinlichkeit der Rotationszustände mit $J = 0-5$ in Abhängigkeit der Temperatur. Es fällt auf, dass bei niedrigen Temperaturen der Rotationsgrundzustand $J = 0$ dominiert und dessen Besetzungswahrscheinlichkeit, in Summe mit den Besetzungswahrscheinlichkeiten anderer gerader J , für Temperaturen höher 250 K gegen $\frac{1}{4}$ geht, während die Besetzungswahrscheinlichkeit der Rotationszustände mit ungeradem J insgesamt gegen $\frac{3}{4}$ geht. Quelle [15]

2.2.2 Paarweise Hydrierung mit para-Wasserstoff

Para-Wasserstoff allein ist für NMR-Messungen unsichtbar, aufgrund des Gesamtkernspins von $I = 0$. Dennoch stellt angereicherter para-Wasserstoff eine Art von Hyperpolarisation dar, da es statt einer Boltzmann-Verteilung eine strenge Antiphasenordnung der Kernspins besitzt. Durch paarweise Hydrierung mit para-Wasserstoff kann diese in einem Molekül als Hyperpolarisation sichtbar gemacht werden. Abbildung 2.2 veranschaulicht dies.

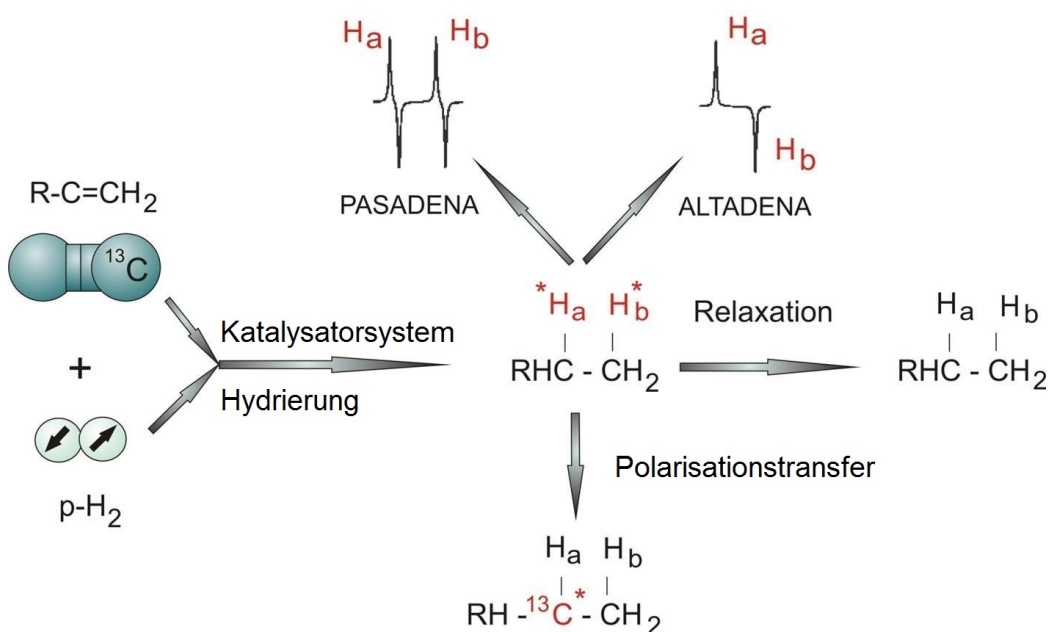


Abbildung 2.2: Veranschaulichung der Hyperpolarisationserzeugung durch paarweise Hydrierung mit para-Wasserstoff

Die Abbildung 2.3 veranschaulicht ein zwei-Spin-System mithilfe eines Levelschemas. Die chemische Verschiebung der Kerne bewirkt, dass die Zustände $|\uparrow\downarrow\rangle$ und $|\downarrow\uparrow\rangle$ nicht bei derselben Energie liegen. Die J-Kopplung ist als gestrichelte Linien bei den Energieniveaus veranschaulicht. Die Konfigurationen mit antiparalleler Kernspineinstellung sind energetisch ein wenig günstiger, die parallelen Kernspinkonfigurationen sind geringfügig ungünstiger. Durch Kombination der beiden Effekte erhält jeder der vier Energieübergänge in diesem System eine andere Energiedifferenz. Die Übergänge sind als vier Separate Resonanzen im Spektrum sichtbar. Die Besetzung der Zustände entspricht der Boltzmann-Verteilung, das Bild veranschaulicht den Fall des thermischen Gleichgewichts.

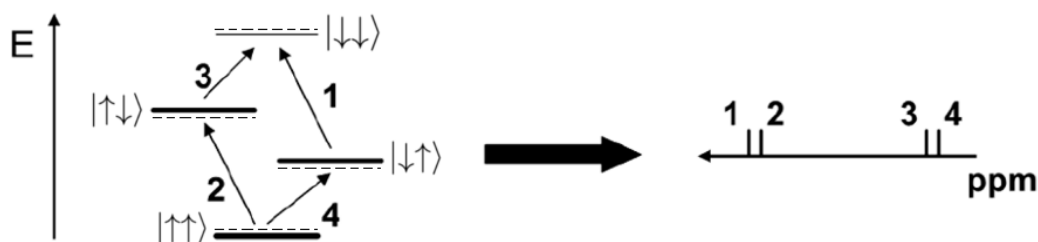


Abbildung 2.3: Levelschema eines zwei-Spin-Systems. Die chemische Verschiebung der Kerne bewirkt, dass die Zustände $|\uparrow\downarrow\rangle$ und $|\downarrow\uparrow\rangle$ nicht bei derselben Energie liegen. Die J-Kopplung ist als gestrichelte Linien bei den Energieniveaus veranschaulicht. Die Konfigurationen mit antiparalleler Kernspineinstellung sind energetisch ein wenig günstiger, die parallelen Kernspinkonfigurationen sind geringfügig ungünstiger. Durch Kombination der beiden Effekte erhält jeder der vier Energieübergänge in diesem System eine andere Energiedifferenz. Die Übergänge sind als vier Separate Resonanzen im Spektrum sichtbar. Die Besetzung der Zustände entspricht der Boltzmann-Verteilung.

Die Abbildung 2.4 zeigt dasselbe nach einer paarweisen Hydrierung mit para-Wasserstoff im PASADENA-Experiment (Definition und Durchführung s. Kapitel 3). Hierbei wurden nur die Zustände $|\uparrow\downarrow\rangle$ und $|\downarrow\uparrow\rangle$ besetzt, da nur diese aus der Kernspinkonfiguration von para-Wasserstoff heraus besetzt werden konnten. Die beiden anderen Zustände sind leer. Das ergibt eine starke Überpopulation der Zustände $|\uparrow\downarrow\rangle$ und $|\downarrow\uparrow\rangle$ und damit Hyperpolarisation. Die vier möglichen Übergänge können zudem nur in eine bestimmte Richtung angeregt werden, was zu antiphasischen Signalen führt, da sich für die Übergänge 2 und 4 Absorptionslinien ergeben.

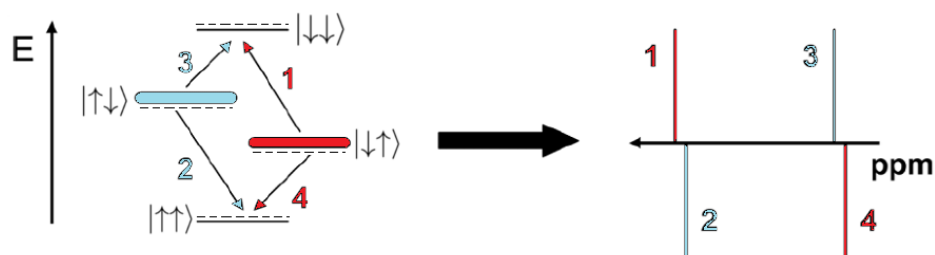


Abbildung 2.4: Levelschema desselben zwei-Spin-Systems nach paarweiser Hydrierung mit para-Wasserstoff im PASADENA-Experiment. Hierbei wurden nur die Zustände $|\uparrow\downarrow\rangle$ und $|\downarrow\uparrow\rangle$ besetzt, die beiden anderen Zustände sind leer, was einer starken Überpopulation und damit Hyperpolarisation entspricht. Die vier möglichen Übergänge können zudem nur in eine Richtung angeregt werden, was zu antiphasischen Signalen führt.

Abbildung 2.5 zeigt dasselbe zwei-Spin-System nach paarweiser Hydrierung mit para-Wasserstoff im ALTADENA-Experiment (Definition und Durchführung s. Kapitel 3). Hierbei wurde nur der Zustand $|\downarrow\uparrow\rangle$ besetzt. Nach dem gleichen Prinzip, wie im PASADENA-Experiment ergibt dies eine Hyperpolarisation, jedoch bleiben nur noch die Übergänge 1 und 4 möglich. Das Ergebnis sind nur zwei antiphasische hyperpolarisierte Peaks im Spektrum. Für die anderen beiden Übergänge, sind die Energieniveaus nicht besetzt.

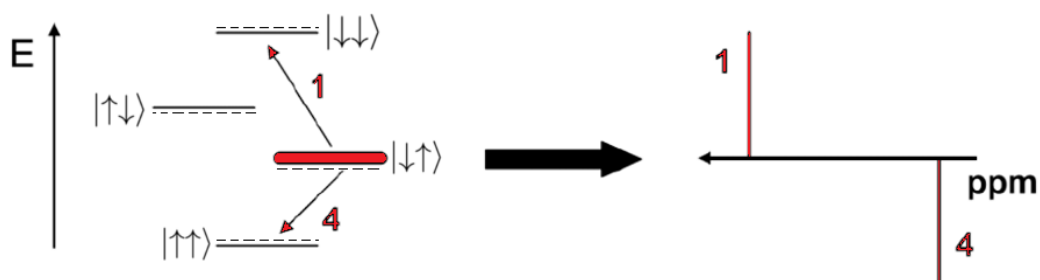


Abbildung 2.5: Levelschema desselben zwei-Spin-Systems nach paarweiser Hydrierung mit para-Wasserstoff im ALTADENA-Experiment. Hierbei wurde nur der Zustand $|\downarrow\uparrow\rangle$ besetzt. Nach dem gleichen Prinzip, wie im PASADENA-Experiment ergibt dies eine Hyperpolarisation, jedoch bleiben nur noch die Übergänge 1 und 4 möglich. Das Ergebnis sind zwei antiphasische hyperpolarisierte Peaks im Spektrum.

Für die Detektion von para-Wasserstoff induzierter Polarisation sind Flipwinkel von 45° am geeignetsten. Für die Herleitung s. [11]

Kapitel 3

Methoden

3.1 Anreicherung von para-Wasserstoff

Eine der grundlegenden Methoden der Arbeit mit para-Wasserstoff induzierter Polarisation ist die Anreicherung von para-Wasserstoff. Abbildung 2.1 in Kapitel 2 zeigt die Besetzungswahrscheinlichkeiten von Rotationszuständen in para-Wasserstoff. Aus diesen lässt sich die Abbildung 3.1 herleiten, welche die Anteile von para- und ortho-Wasserstoff im Gleichgewicht in Abhängigkeit der Temperatur zeigt. Die Pfeile, welche in der Abbildung eingezeichnet sind, deuten die Methode zur Anreicherung von para-Wasserstoff an.

Diese geschieht in zwei Schritten:

1. Im ersten Schritt wird Wasserstoff auf eine niedrige Temperatur heruntergekühlt, für die Anwendung in dieser Arbeit waren dies ca. 32 K. Hierbei ist in der Kühlkammer ein Katalysator anwesend, z.B. Aktivkohle, welcher die Übergänge von ortho- zu para-Wasserstoff ermöglicht. So kann das Gleichgewicht aus ortho- und para-Wasserstoff, welches der Temperatur des heruntergekühlten Wasserstoffes entspricht, schneller erreicht werden.
2. Im zweiten Schritt wird der so angereicherte para-Wasserstoff in Aluminiumflaschen abgefüllt. Da dort kein Katalysator vorhanden ist, sind Übergänge zwischen ortho- und para-Wasserstoff verboten, bzw. treten in der Praxis nur selten auf, sodass der para-Wasserstoff in der Aluminiumflasche für mehrere Tage angereichert bleibt, auch wenn dieser nicht gekühlt wird.

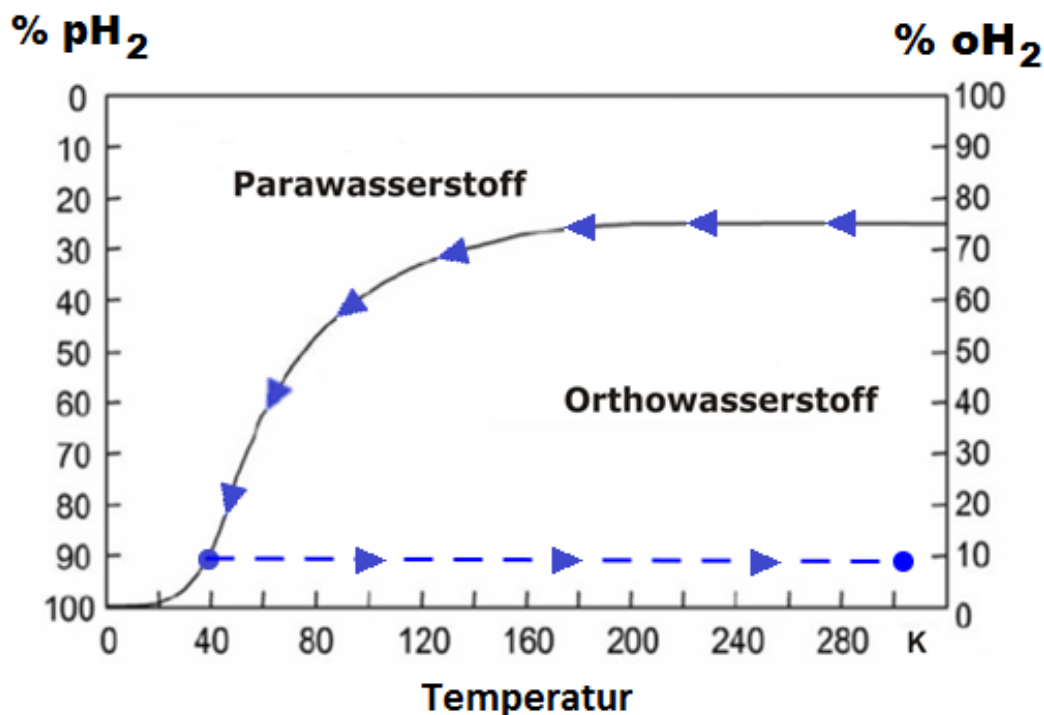


Abbildung 3.1: Anteile von ortho- und para-Wasserstoff im Gleichgewicht in Abhängigkeit der Temperatur. Die eingezeichneten Pfeile deuten die Methode zur Anreicherung von para-Wasserstoff an.

Früher wurde zum Anreichern von para-Wasserstoff ein Aufbau verwendet, welcher aus einem U-Rohr gefüllt mit Aktivkohle bestand, das in ein Bad aus flüssigem Stickstoff getaucht war. Mittlerweile wird hierfür ein kommerzieller para-Wasserstoff Generator der Firma Bruker verwendet. Dieser enthält zum Kühlen einen He-Kryostat und erreicht somit tiefere Temperaturen, als die Siedetemperatur von Stickstoff (77 K) und ermöglicht so Anreicherungsgrade von 93%. Die Funktionsweise ist die selbe wie beschrieben.

3.2 Polarisationsübertragung auf Moleküle

Um die Spinordnung, die para-Wasserstoff in sich trägt, auf Moleküle zu übertragen, ist eine paarweise Hydrierung nötig, welche die Kernspinorientierung der Protonen im H_2 Molekül über die Reaktion hinweg erhält. Diese Reaktion muss die Protonen entweder in cis- oder in trans-Stellung an das Zielmolekül anbringen. (Vgl. Abb. 3.2)

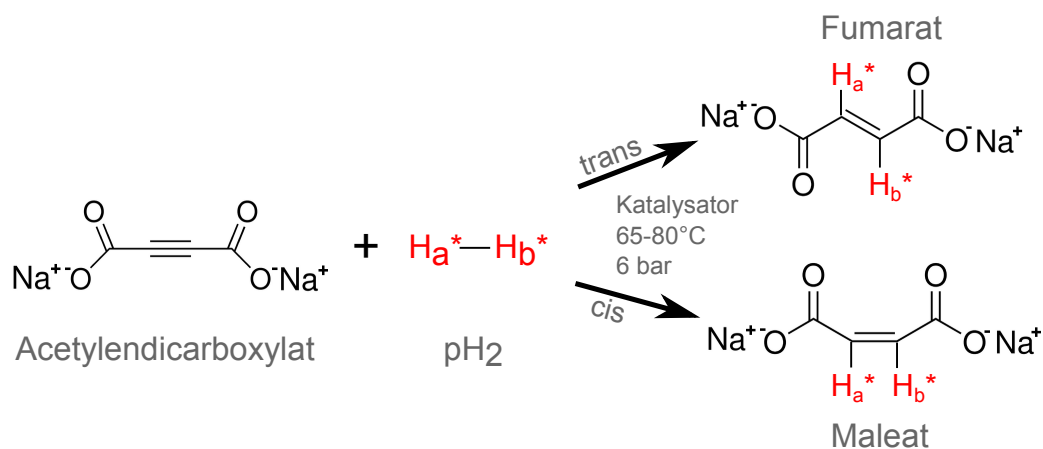


Abbildung 3.2: Veranschaulichung einer paarweisen Hydrierreaktion anhand von Acetylendicarboxylat. Die beiden Wasserstoffatome eines H_2 Moleküls werden an ein Zielmolekül angebracht. Dies kann entweder in cis-Stellung geschehen, mit Maleat als Reaktionsprodukt, oder in trans-Stellung, mit Fumarat als Reaktionsprodukt. Als Reaktionsbedingungen ist ein Bereich angegeben, welcher alle für diese Arbeit typischen Reaktionsbedingungen umfasst.

Für eine solche Reaktion sind prinzipiell zwei Arten der Katalyse denkbar, die homogene, wo Substrat und Katalysator in derselben Phase vorliegen, in dem Fall beide in gelöster Form als Flüssigkeit, sowie die heterogene, wo Katalysator und Substrat in verschiedenen Phasen vorliegen können, meist ist hierbei der Katalysator fest und das Substrat gelöst. Heterogene Katalyse hätte hierbei den Vorteil, dass der, in den meisten Fällen giftige, Katalysator nicht mit in der Lösung ist, die bei einer medizinischen Anwendung dem Patienten injiziert werden soll. Leider scheidet die heterogene Katalyse jedoch aus, da keine Methode der heterogenen Katalyse bekannt ist, welche zu einem ausreichenden Anteil paarweise hydriert.

Die Entscheidung fällt auf die homogene Katalyse. Die Katalysatoren, welche im Rahmen dieser Arbeit verwendet wurden, werden in den jeweiligen Kapiteln (4 und 5) vorgestellt. Ein Katalysator, der dazu eingesetzt werden soll para-Wasserstoff induzierte Hyperpolarisation in homogener Katalyse zu erzeugen, muss folgende Kriterien erfüllen:

1. Die Atome eines para-Wasserstoff-Moleküls sollen paarweise und, je nach Anforderungen, entweder in cis- oder in trans-Stellung an das Zielmolekül angebracht werden.
2. Die Kernspinorientierung der p- H_2 Atome soll über die Reaktion hinweg erhalten bleiben.

3. Der Katalysator muss in ausreichender Menge im selben Lösungsmittel löslich sein, wie das Substrat. Das Lösungsmittel darf die Arbeitsweise des Katalysators nicht behindern. Für eine medizinische Anwendung ist es erstrebenswert, dass dies in einem biokompatiblen Lösungsmittel, im Idealfall Wasser, realisierbar ist.
4. Der Katalysator sollte schnell arbeiten, ein hoher Reaktionsumsatz in kurzer Zeit ist wichtig. Im Optimalfall sollte das Substrat vollständig umgesetzt werden, bevor die Hyperpolarisation der ersten Reaktionsprodukte abgefallen ist.
5. Es sollte möglichst nur eine Hydrierung von Dreifach- zu Doppelbindung stattfinden. Eine Weiterhydrierung zur Einfachbindung sollte möglichst wenig, oder gar nicht stattfinden.

Die Reaktionsgeschwindigkeit, welche im letzten Punkt genannt wird, kann in einem begrenzten Rahmen durch eine Optimierung der Reaktionsbedingungen erhöht werden. In den seltensten Fällen kann man dadurch jedoch das Problem eines zu langsam arbeitenden Katalysators vollständig beheben.

Bei der homogenen Katalyse besteht die Problematik, dass der Katalysator selbst toxisch ist und somit vor einer medizinischen Anwendung aus der Lösung isoliert werden müsste. Dies ist jedoch nicht Thema dieser Arbeit und wird deshalb nicht tiefer thematisiert. Die Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Christian Griesinger am Max-Planck-Institut für biophysikalische Chemie (Karl-Friedrich-Bonhoeffer-Institut) in Göttingen arbeitet zur Zeit an einer Lösung für dieses Problem. Aktueller Lösungsansatz ist hierbei den löslichen Katalysator an einer festen Phase zu immobilisieren, sodass dieser gelöst ist, jedoch nicht weit von dem Feststoff, an dem er gehalten wird, wegdiffundieren oder wegfließen kann, da er wie an einem Faden zurückgehalten wird.

Alle Proben, welche für diese Arbeit benutzt wurden, wurden unter Argon-Schutzatmosphäre im Handschuhkasten abgefüllt. Falls D_2O als Lösungsmittel benutzt wurde, welches nicht in den Handschuhkasten eingeschleust werden darf, wurde die Probe, bis auf D_2O , unter Schutzatmosphäre abgefüllt und D_2O anschließend ins verschlossene Probenröhrchen injiziert.

3.3 Klassen der Durchführung

Zur Erzeugung von para-Wasserstoff induzierter Hyperpolarisation gibt es zwei Klassen von Durchführungen, das ALTADENA- (Adiabatic Longitudinal Transport After Dissociation Engenders Nuclear Alignment) und das PASADENA-Experiment (Parahydrogen And Synthesis Allow Dramatically Enhanced Nuclear Alignment). In Abschnitt 2.2.2 wurden bereits die Levelschemata der Hyperpolarisation gezeigt und erklärt, welche sich aus den beiden Experimenten ergeben.

Der Unterschied zwischen den Experimenten besteht darin, dass beim ALTADENA-Experiment die paarweise Hydrierreaktion zur Hyperpolarisationserzeugung außerhalb des Magnetfeldes B_0 begonnen wird und die Probe, erst während der Reaktion, ins Magnetfeld des Spektrometers gebracht wird. Hierdurch erzielt man, dass nur der energetisch günstigere der Zustände $|\uparrow\downarrow\rangle$ und $|\downarrow\uparrow\rangle$ besetzt wird.

Im Gegensatz hierzu verläuft die paarweise Hydrierreaktion im PASADENA-Experiment vollständig im Magnetfeld B_0 des Spektrometers. Hierbei werden beide Zustände $|\uparrow\downarrow\rangle$ und $|\downarrow\uparrow\rangle$ gleichmäßig besetzt.

Aufbau und Durchführung aller ALTADENA-Experimente, welche im Rahmen dieser Arbeit durchgeführt wurden, erfolgten wie in Abbildung 3.3 gezeigt. Zur Versuchsvorbereitung muss lediglich para-Wasserstoff erzeugt werden, sowie die Probe unter Schutzatmosphäre abgefüllt in ein druckbeständiges NMR-Röhrchen mit Gewindeverschluss und Septum im Deckel (Marke Wilmad).

Vor der Durchführung wurde jedes Röhrchen auf 65°C, 70°C oder 80°C, je nach Siedepunkt des Lösungsmittels, erhitzt. Hierzu kam entweder ein warmes Wasserbad zum Einsatz, oder die Probe wurde über die im Probenkopf eingebaute Heizung erwärmt. Nach Erreichen der gewünschten Temperatur wurde durch das Septum im Deckel des Röhrchens para-Wasserstoff unter einem Druck von 6 bar injiziert und das Röhrchen, je nach Reaktionsgeschwindigkeit des Katalysators, zwischen 10 s und 20 s lang geschüttelt, um die Reaktion zu starten und anzutreiben. Nach dem Schütteln wurde die Probe zügig und in einer möglichst fließenden Bewegung ins Spektrometer eingesetzt. Die fließende Bewegung soll einen adiabatischen Transport durch das Magnetfeld sicher stellen.

Nach Einsetzen der Probe ins Spektrometer wurden in der Regel drei FIDs aufgenommen, einer direkt nach dem Einsetzen, einer nach Abklingen der Hyperpolarisation und einer dazwischen.

Die Reihenfolge aus heizen, p- H_2 injizieren, schütteln, ins Spektrometer ein-

setzen und messen (Durchführungszyklus) wurde mehrfach wiederholt.

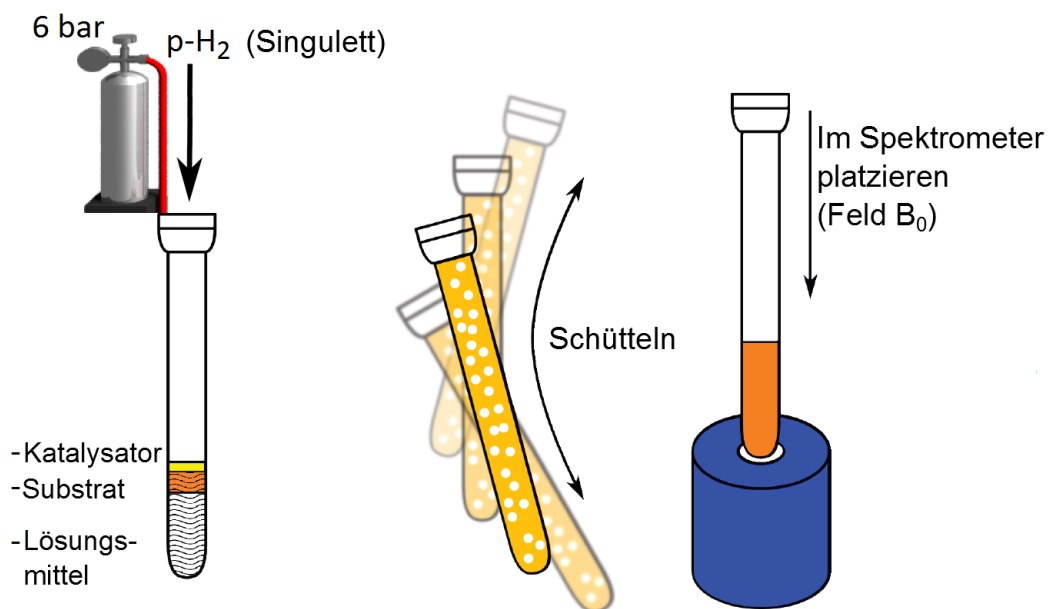


Abbildung 3.3: Aufbau und Durchführung von ALTADENA-Experimenten in dieser Arbeit

Der Aufbau eines PASADENA-Experimentes, wie er in dieser Arbeit immer eingesetzt wurde, ist Abbildung 3.4 zu entnehmen. Der wesentliche Aspekt dieses Aufbaus ist, dass das para-Wasserstoff in Lösung bringen durch Hohlfasermembranen (Celgard X50) hindurch geschieht. Diese Membranen bestehen aus Polypropylen und sind nur für Reaktionen in D_2O geeignet, da sie von aggressiveren Lösungsmitteln angegriffen werden. Für PASADENA-Reaktionen in Lösungsmitteln wie Aceton wird zur Zeit am Einsatz dünner Teflonschläuche als Ersatz für Membranen gearbeitet. [7, 10] Der para-Wasserstoff wird den Membranen, welche sich über die gesamte Durchführung des Experimentes hinweg mit der Probe im Probenkopf befinden, über Schläuche (FESTO) zugeleitet. An diesen hängen am einen Ende zwei para-Wasserstoff-Flaschen und eine Vakuum-Flasche. Dort befindet sich auch der Anschluss an einen Stickstoffhahn. Am anderen Ende des Aufbaus befindet sich ein Manometer, über welches man den Druck im System überwachen kann, sowie ein Ventil.

Die Schritte zur Vorbereitung der Messung sind in Abbildung 3.5 erläutert.

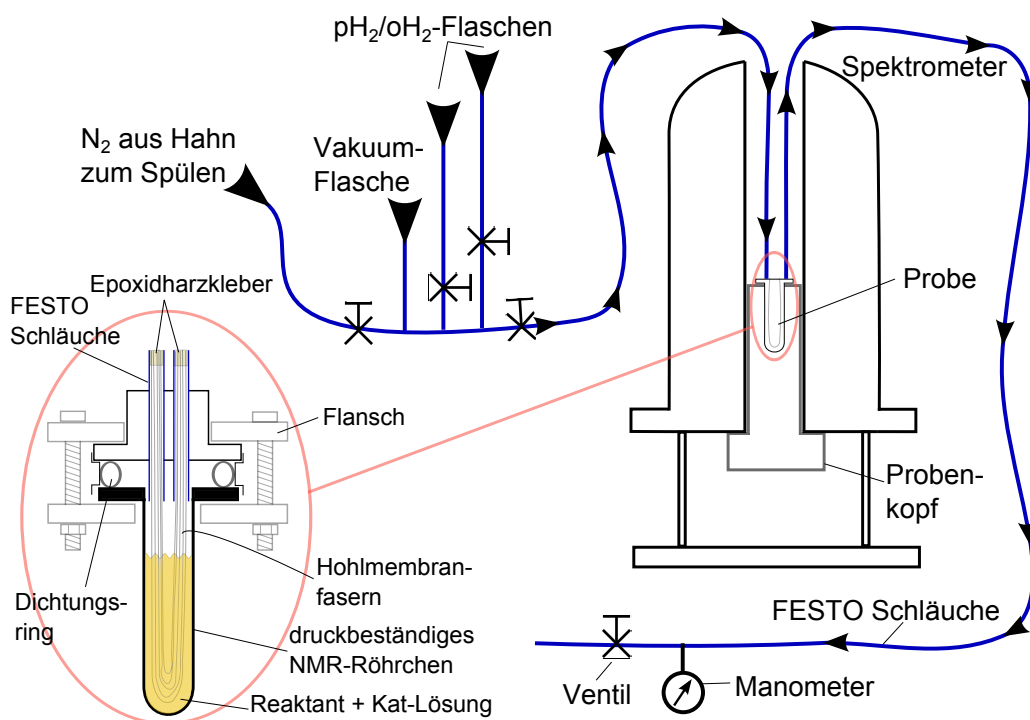


Abbildung 3.4: Aufbau PASADENA Experiment. Alle PASADENA-Experimente dieser Arbeit wurden mit diesem Aufbau durchgeführt.

Nach den Schritten zur Vorbereitung der PASADENA-Messung folgte ein Drucktest. Hierzu wurde das System durch den Stickstoffhahn unter einen N₂-Druck von 6 bar gesetzt, der Stickstoffzulauf zugedreht und anhand des Manometers am Aufbau beobachtet, ob das System druckdicht ist. Falls dies der Fall war, wurde die Heizung im Probenkopf angeschaltet, der N₂-Druck abgelassen und, sobald die Probe die Zieltemperatur erreicht hatte, die Messung gestartet und bald daraufhin das System mithilfe der Vakuumflasche evakuiert und als nächstes die p-H₂-Flaschen aufgedreht. Die meisten Messungen bestanden aus einer großen Anzahl FIDs nach einem Flipwinkel von 45° in gleichen Zeitabständen von einigen Sekunden. Die so aufgenommenen Spektren erlauben eine detaillierte Verfolgung des Reaktionsverlaufes.

Alle Experimente, sowohl ALTADENA als auch PASADENA, wurden in einem Spektrometer mit Betriebsfrequenz von 300 MHz ($B_0 = 7,05 T$) aufgenommen in Probenröhrchen mit 10mm Außendurchmesser. Die Proben wurden nicht rotiert.

Zum Schluss des Abschnittes ist anzumerken, dass ein „Schüttlexperi-

ment“, wie es hier beschrieben wurde nicht zwangsläufig mit einer ALTADENA-Durchführung verbunden ist, ebenso wie ein Membranexperiment nicht zwangsläufig ein PASADENA-Experiment ist. Geschieht das Schütteln der Probe im Magnetfeld B_0 , beispielsweise in der Bohrung eines klinischen Scanners, ist dies ein PASADENA-Experiment. Experimente, bei denen die Reaktion durch Membranen stattfindet können auch ALTADENA Experimente sein, wenn die Reaktion im Membranmodul außerhalb des Magnetfeldes des Spektrometers beginnt und die Lösung anschließend über eine Leitung ins Messfeld geleitet wird.

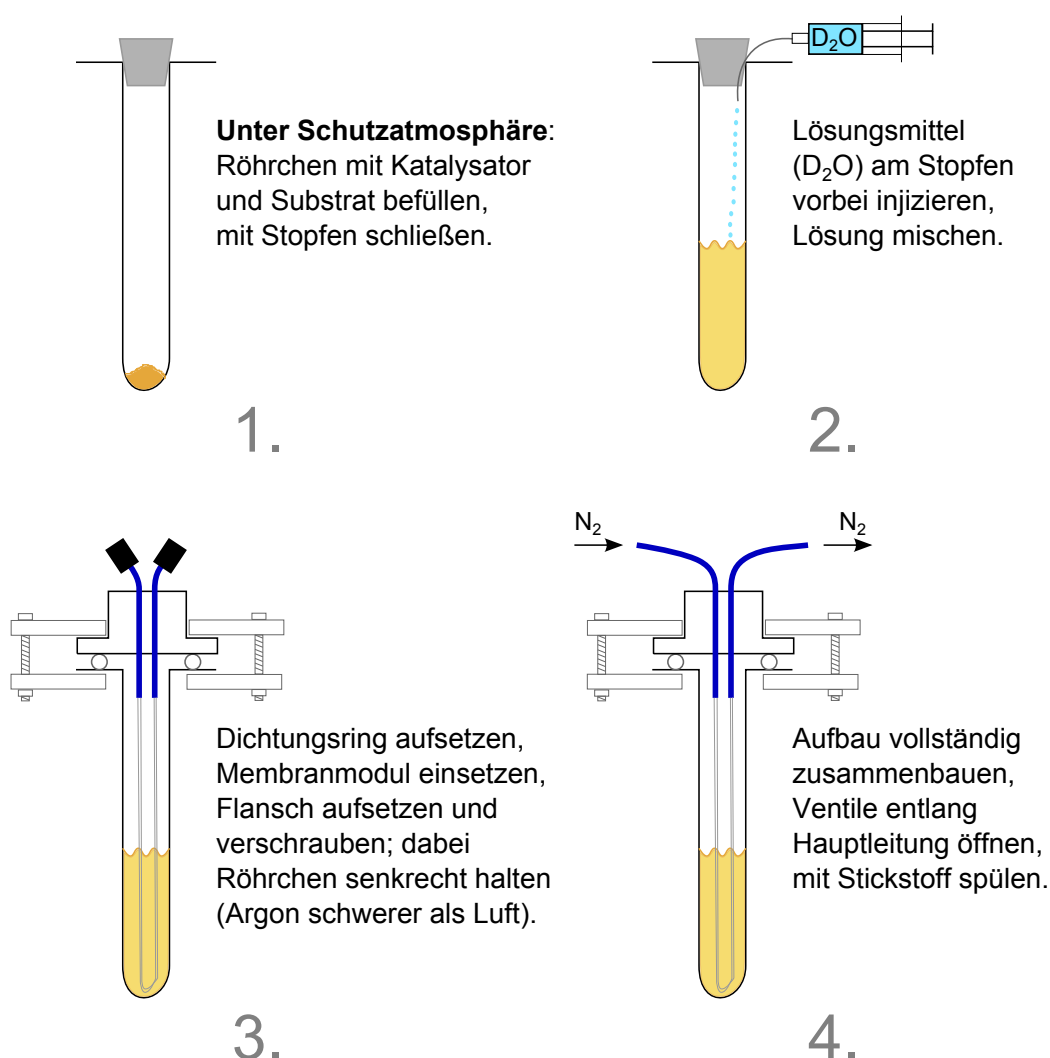


Abbildung 3.5: Schritte zur Vorbereitung eines PASADENA-Experimentes.

3.4 Methoden der Hyperpolarisationsübertragung auf ^{13}C

Im Rahmen dieser Arbeit wurden zwei Methoden der Hyperpolarisationsübertragung auf ^{13}C -Kerne angewendet. Die erste von beiden ist die einfachste mögliche Methode, indem ein ALTADENA-Experiment durchgeführt wurde. Beim Einsetzen ins Spektrometer werden alle Magnetfeldstärken zwischen dem Erdmagnetfeld und dem Magnetfeld B_0 durchlaufen. In sehr kleinen Magnetfeldern nahe des Erdmagnetfeldes sind die Larmorfrequenzen von ^{13}C und ^1H praktisch gleich und alle Kerne im Molekül sind stark gekoppelt miteinander. Dies erlaubt es der Polarisation der beiden ursprünglichen para-Wasserstoff Protonen sich über das ganze Molekül zu verteilen. Diese Methode der Hyperpolarisationsübertragung wird auch „Field Cycling“ genannt.

Die zweite Methode, welche hier zum Einsatz kam, heißt „PH-INEPT+“ und ist eine Pulssequenz, entwickelt von Mathias Haake und Johannes Natterer [16], welche speziell dazu konzipiert wurde, Polarisation von para-Wasserstoff induziert hyperpolarisierten Protonen selektiv auf ^{13}C -Kerne zu übertragen. Dies bedeutet, dass die Sequenz keine andere Art der Polarisation, insbesondere keine thermische Polarisation auf ^{13}C übertragen kann. Wird nichts übertragen, bedeutet dies, dass keine para-Wasserstoff induzierte Hyperpolarisation vorlag, oder dass sich die Polarisation im Singulett Zustand befindet. In Abbildung 3.6 ist die Pulssequenz PH-INEPT+ schematisch dargestellt.

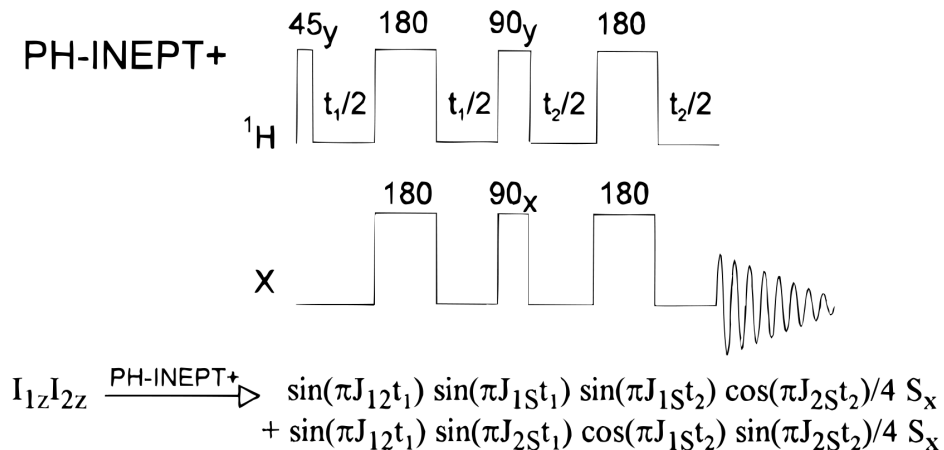


Abbildung 3.6: Schematische Darstellung der Pulssequenz PH-INEPT+ zur Übertragung von para-Wasserstoff induzierter Polarisation von Protonen auf ^{13}C . Quelle [16]

Kapitel 4

Hyperpolarisiertes Succinat

Wie bereits in der Einleitung erläutert ist es Ziel dieser Arbeit zwei Moleküle des Citratzyklus, Fumarat und Succinat, auf ihre Eignung als metabolische Kontrastmittel zu untersuchen. (Vgl. dazu Kapitel 1)

In diesem Kapitel soll zunächst das Molekül Succinat (Bernsteinsäure Dinatriumsalz) behandelt werden. Als Herstellungsmethode für hyperpolarisiertes Succinat dient hier die paarweise Hydrierung mit para-Wasserstoff, welche bereits im Abschnitt 3.2 behandelt wurde. Das Ausgangsmolekül, welches hydriert wird, ist hierbei Fumarat. Die dazugehörige Reaktionsgleichung ist in Abb. 4.1 dargestellt.

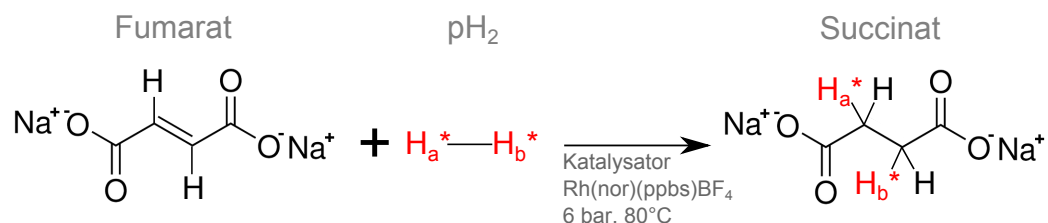


Abbildung 4.1: Reaktionsgleichung: paarweise Hydrierung von Fumarat mit para-Wasserstoff, Herstellung von hyperpolarisiertem Succinat

Ein großer Vorteil dieser Reaktion im Hinblick auf die spätere Anwendung als medizinisches Kontrastmittel ist, dass sowohl Edukt als auch Produkt nicht toxisch sind. Der Fall, dass die Probe nicht vollständig durchreagiert, stellt somit kein Risiko für den Patienten dar.

Ein weiterer Vorteil im Hinblick auf die Anwendung ist, dass ein geeigneter wasserlöslicher Katalysator zur Durchführung dieser Reaktion bekannt ist, s. Abb. 4.2, und man somit das Edukt in Wasser, einem vollständig biokompatiblen Lösungsmittel, erhält.

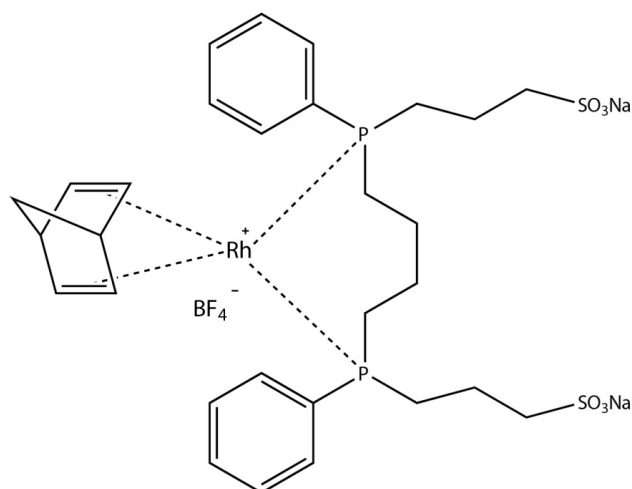


Abbildung 4.2: Strukturformel des wasserlöslichen PHIP-Katalysators (1,4-bis-[(phenyl-3-propane sulfonate)phosphine]butane)(2,5-norbornadiene) rhodium(I)tetrafluoroborate ($Rh(nor)(ppbs)BF_4$); der Katalysator führt eine paarweise Hydrierung aus, die Hydrierungsatome im Produkt stehen in cis-Stellung zueinander.

Der Nachweis von para-Wasserstoff induzierter Hyperpolarisation in Succinat wird durch dessen NMR-Eigenschaften erschwert. Alle Protonen in Succinat sind chemisch und magnetisch äquivalent, was zur Folge hat, dass deren Resonanzpeaks bei der selben Frequenz liegen und man die einzelnen Protonenresonanzen im NMR-Spektrum nicht auflösen kann. Für die para-Wasserstoff induzierte Hyperpolarisation bedeutet dies, dass sich die hyperpolarisierten antiphasischen Signale im Idealfall zu Null aufheben. Ein direkter Hyperpolarisationsnachweis wird dadurch unmöglich.

Um die Hyperpolarisation in Succinat direkt nachweisen zu können, muss das Molekül insoweit verändert werden, dass mindestens die Resonanzen der CH_2 -Gruppen an den Positionen 2 und 3 im Molekül unterschieden werden können (in Abb. 4.5 gekennzeichnet als Gruppen A und B). Eine Möglichkeit hierzu, ist die Symmetrie der Wechselwirkungen im Molekül durch einen weiteren Spin zu brechen. In diesem Fall wurde der zusätzliche Spin in Form einer ^{13}C -Markierung an der Position 1 im Molekül ins System gebracht. Als Ausgangsmolekül für die paarweise Hydrierung mit para-Wasserstoff wurde nun 1- ^{13}C -Fumarat verwendet. Die Reaktionsgleichung hierzu ist in Abb. 4.3 zu sehen.

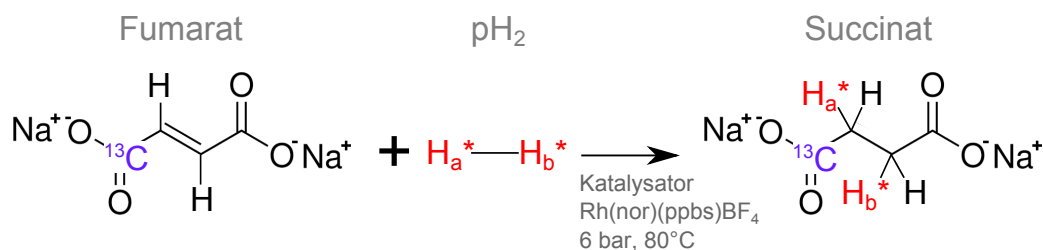


Abbildung 4.3: Reaktionsgleichung: paarweise Hydrierung von $1-^{13}C$ -Fumarat mit para-Wasserstoff, Herstellung von hyperpolarisiertem $1-^{13}C$ -Succinat. Die ^{13}C -Markierung dient der Symmetriebrechung, welche die Hydrierungsprotonen im NMR-Spektrum voneinander unterscheidbar machen soll. Auf diese Weise soll der direkte Nachweis von para-Wasserstoff induzierter Hyperpolarisation ermöglicht werden.

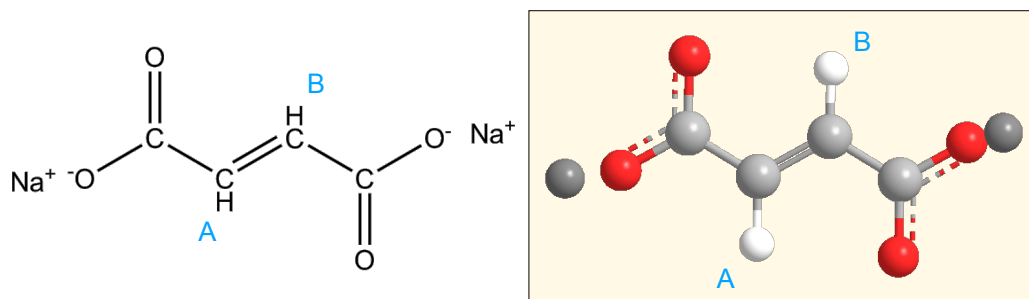
Bevor das Experiment im Detail diskutiert wird, sollen zunächst alle beteiligten Moleküle mit ihren NMR-Eigenschaften steckbriefartig vorgestellt werden. Ebenfalls wird das Experiment einer Katalysator-Konzentrationsreihe zum Herausfinden der optimalen Konzentration des wasserlöslichen Katalysators $Rh(nor)(ppbs)BF_4$ präsentiert.

4.1 Molekülsteckbriefe

Abbildungen 4.4, 4.5, 4.6, 4.7, 4.8 und 4.9 zeigen die am Experiment zur Herstellung von hyperpolarisiertem Succinat bzw. $1-^{13}C$ -Succinat beteiligten Moleküle mit ihren wichtigsten NMR-Eigenschaften und Spektren im Überblick.

Fumarat (Fumarsäure Dinatriumsalz)

Lösungsmittel: D_2O



Chemische Verschiebungen:

Kern	$^1H / ^{13}C$	Chemische Verschiebung	T1
A, B	1H	$(6,4163 \pm 0,0002)$ ppm	$(11,8 \pm 0,1)$ s

J-Kopplungen: Keine

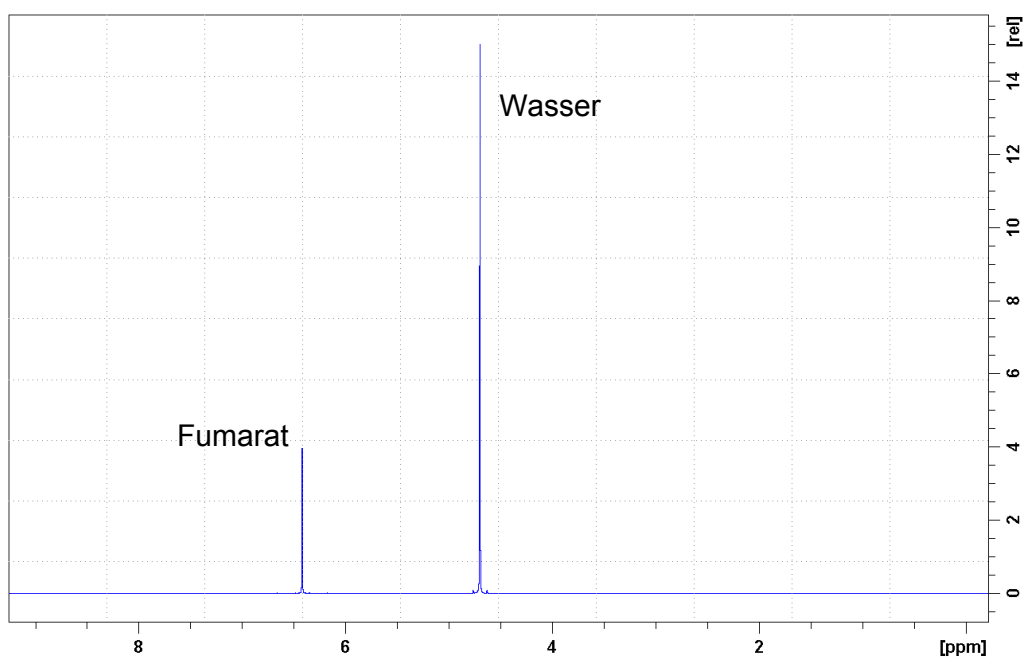
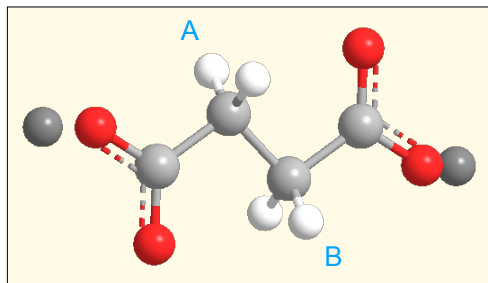
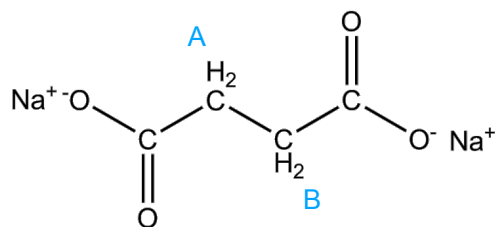


Abbildung 4.4: Fumarat (Fumarsäure Dinatriumsalz): Oben: Strukturformel und räumliches Modell des Moleküls; Mitte: wichtige NMR-Eigenschaften tabellarisch; Unten: hochaufgelöstes 1H NMR Spektrum von Fumarat gelöst in D_2O .

Succinat (Bernsteinsäure Dinatriumsalz)Lösungsmittel: D₂O**Chemische Verschiebungen:**

Kern	¹ H / ¹³ C	Chemische Verschiebung	T1
A, B	¹ H	(2,2886 ± 0,0002) ppm	(2,39 ± 0,01) s

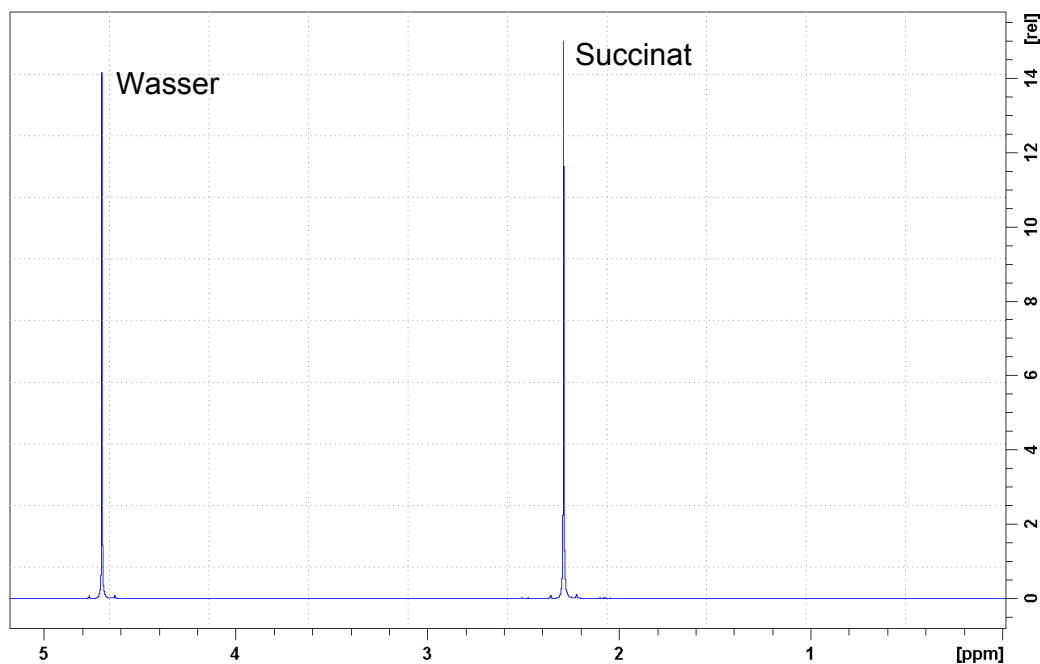
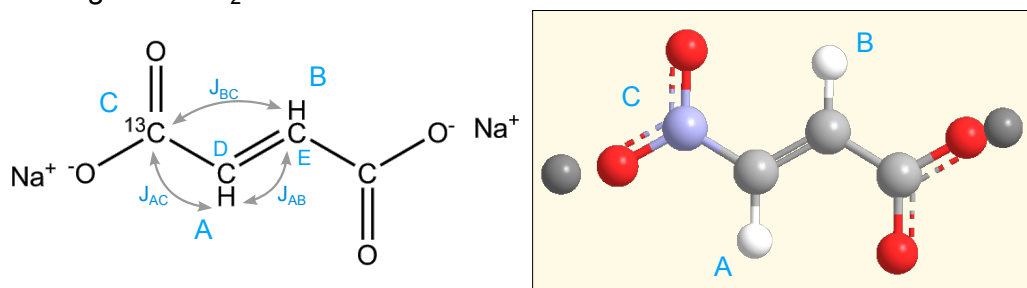
J-Kopplungen: Keine

Abbildung 4.5: Succinat (Bernsteinsäure Dinatriumsalz): Oben: Strukturformel und räumliches Modell des Moleküls; Mitte: wichtige NMR-Eigenschaften tabellarisch; Unten: hochaufgelöstes ¹H NMR Spektrum von Succinat gelöst in D₂O.

1-¹³C-Fumarat (Fumarsäure Dinatriumsalz, ¹³C markiert an Pos. 1)
Lösungsmittel: D₂O



Chemische Verschiebungen:

Kern	¹ H / ¹³ C	Chemische Verschiebung	T1
A, B	¹ H	(6,4428 ± 0,0001) ppm (s700) (6,4154 ± 0,0001) ppm (av300)	(13,30 ± 0,05) s
C	¹³ C	(174,6868 ± 0,0003) ppm (s700) (174,6649 ± 0,0003) ppm (av300)	(58 ± 1) s

J-Kopplungen:

	A	B	C
A	-	(1,3 ± 0,1) Hz ^(*)	(4,7 ± 0,1) Hz
B		-	(4,7 ± 0,1) Hz
C			-

^(*) J_{AB} äußert sich nur in den Seitenbändern aus der natürlichen Isotopenhäufigkeit von ¹³C in den Kernen D und E.

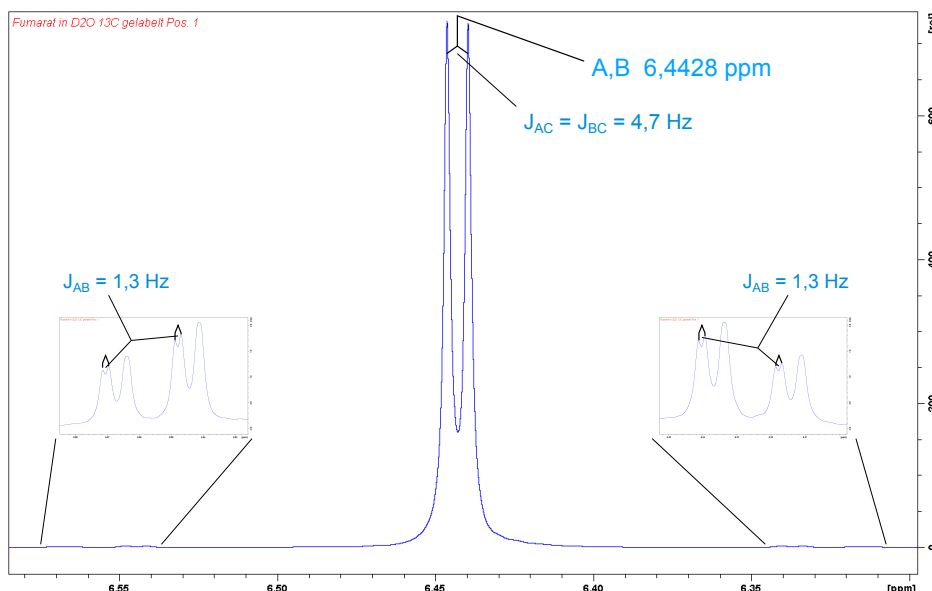


Abbildung 4.6: 1-¹³C-Fumarat (Fumarsäure Dinatriumsalz, ¹³C markiert an Position 1): Oben: Strukturformel und räumliches Modell des Moleküls; Mitte: wichtige NMR-Eigenschaften tabellarisch, av300 (Betriebsfrequenz 300 MHz, 7 T) und s700 (Betriebsfrequenz 700 MHz, 16,4 T) bezeichnen verschiedene Spektrometer, an denen ein hochauflösendes thermisches Spektrum aufgenommen wurde; Unten: hochaufgelöstes ¹H NMR Spektrum von 1-¹³C-Fumarat gelöst in D₂O, chemische Verschiebungen und J-Kopplungen eingezeichnet.

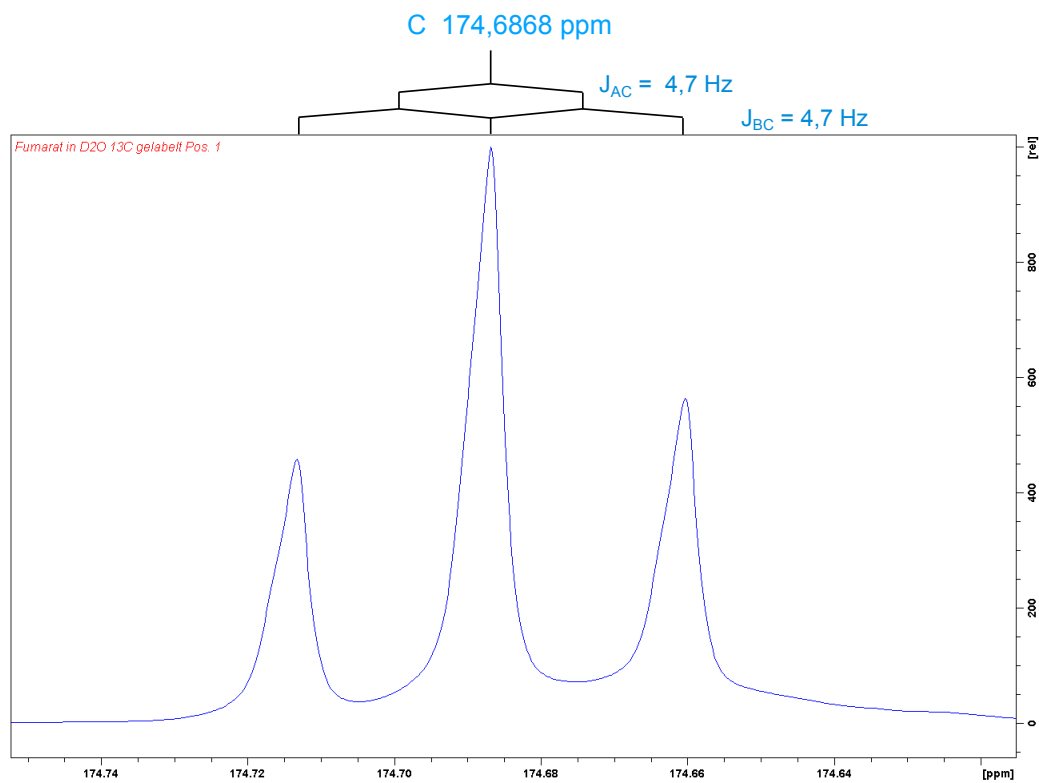
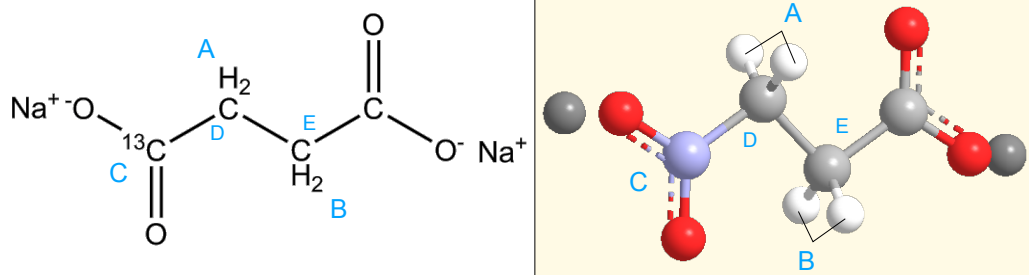


Abbildung 4.7: 1- ^{13}C -Fumarat (Fumarsäure Dinatriumsalz, ^{13}C markiert an Position 1): hochaufgelöstes ^{13}C NMR Spektrum von 1- ^{13}C -Fumarat gelöst in D_2O , chemische Verschiebungen und J-Kopplungen eingezeichnet.

1-¹³C-Succinat (Bernsteinsäure Dinatriumsalz, ¹³C markiert an Pos. 1)
Lösungsmittel: D₂O



Chemische Verschiebungen:

Kern	¹ H / ¹³ C	Chemische Verschiebung	T1
A, B	¹ H	(2,322 ± 0,005) ppm (s700) (2,304 ± 0,003) ppm (av300)	(2,9 ± 0,2) s
C	¹³ C	(182,345 ± 0,002) ppm ⁽¹⁾ (s700) (182,354 ± 0,002) ppm ⁽²⁾ (av300)	(50 ± 1) s

⁽¹⁾ falls der ¹³C-Peak von 1-¹³C Succinat ein ungerades Multipllett bildet

⁽²⁾ falls der ¹³C-Peak von 1-¹³C Succinat ein gerades Multipllett bildet

J-Kopplungen: nicht ermittelbar

Die Multipllettstruktur aller Peaks von 1-¹³C Succinat widerspricht den Erwartungen, die J-Kopplungen konnten daher nicht ermittelt werden, Simulationen sind nötig.

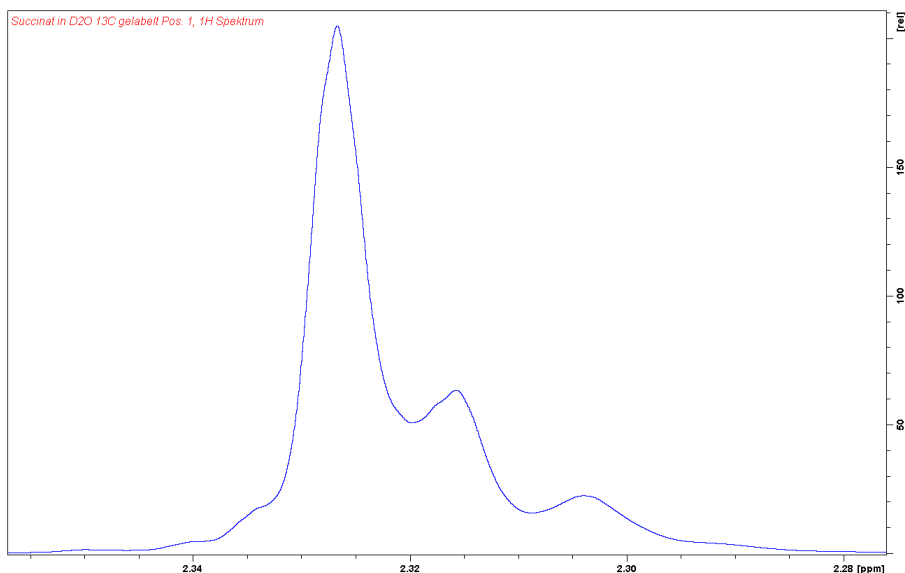


Abbildung 4.8: 1-¹³C-Succinat (Bernsteinsäure Dinatriumsalz, ¹³C markiert an Position 1): Oben: Strukturformel und räumliches Modell des Moleküls; Mitte: wichtige NMR-Eigenschaften tabellarisch; av300 (Betriebsfrequenz 300 MHz, 7 T) und s700 (Betriebsfrequenz 700 MHz, 16,4 T) bezeichnen verschiedene Spektrometer, an denen ein hochauflösendes thermisches Spektrum aufgenommen wurde Unten: hochaufgelöstes ¹H NMR Spektrum von 1-¹³C-Succinat gelöst in D₂O.

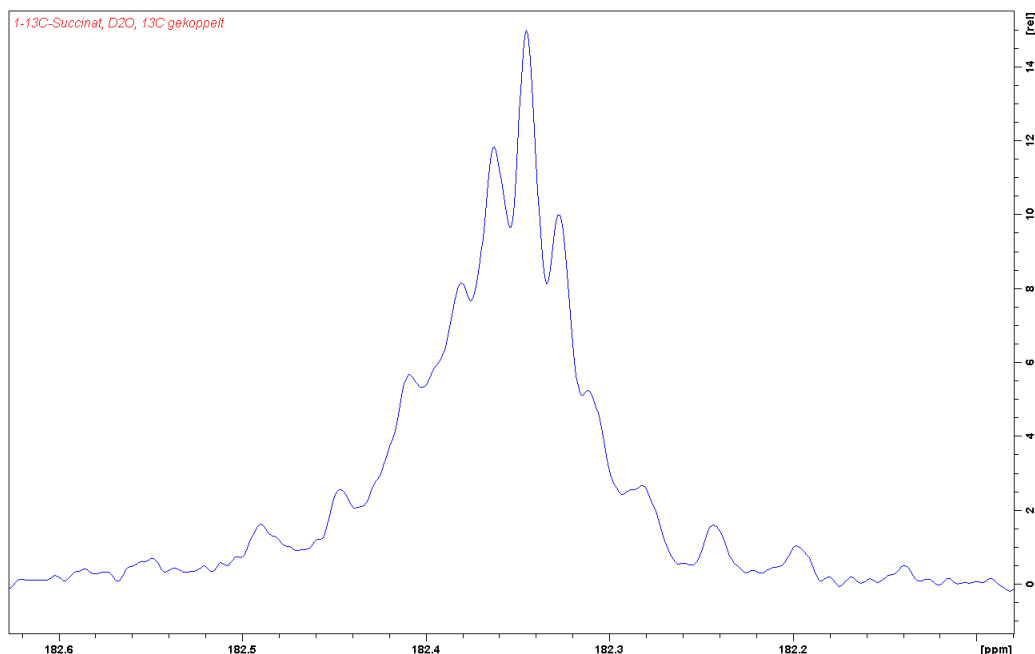


Abbildung 4.9: 1- ^{13}C -Succinat (Bernsteinsäure Dinatriumsalz, ^{13}C markiert an Position 1): hochaufgelöstes ^{13}C NMR Spektrum von 1- ^{13}C -Succinat gelöst in D_2O .

In Abbildungen 4.6 und 4.7 fällt auf, dass die J-Kopplungen J_{AC} und J_{BC} im Rahmen der Messgenauigkeit gleich sind ($J_{AC} = J_{BC} = 4,7 \text{ Hz} \pm 0,1 \text{ Hz}$). Selbst bei einem Magnetfeld von 16,4 T (700 MHz Spektrometer) konnten keine Anzeichen auf eine Differenz der Kopplungsstärken aufgelöst werden. Das bedeutet, dass jedes der beiden Protonen in 1- ^{13}C -Fumarat die gleiche chemische Verschiebung von 6,4 ppm besitzt und mit der gleichen Kopplung von 4,7 Hz zum angereicherten ^{13}C aufspaltet. Jedes Proton liefert somit das gleiche NMR-Signal von zwei Peaks (Dublett), zentriert um 6,4 ppm und im gegenseitigen Abstand von 4,7 Hz. In Abb.4.6 ist dieses Dublett zu sehen. Dies ist die Summe zweier identischer Signale der beiden Protonen. Die Signale der einzelnen Protonen können somit im Spektrum nicht unterschieden werden, was jedoch Voraussetzung ist um para-Wasserstoff induzierte Hyperpolarisation, mit antiphasischen hyperpolarisierten Signalen zu beobachten, ohne dass diese sich gegenseitig aufheben. Wie in Kapitel 5 behandelt wird, konnte 1- ^{13}C -Fumarat trotzdem para-Wasserstoff induziert hyperpolarisiert werden, mit sichtbarem antiphasischen Signal. Unklar ist hierbei, wie die Sichtbarkeit dieser Hyperpolarisation mit den in Abb. 4.6 präsentierten Ergebnissen für die J-Kopplungen vereinbar ist.

Eine weitere Frage, die sich stellt, ist die Gestalt der hochaufgelösten Spektren von $1\text{-}^{13}\text{C}$ -Succinat und wird in Abb. 4.8 bereits angemerkt. Die gemessene Multiplettstruktur widerspricht den Erwartungen, wie sich ein einzelner zusätzlicher Spin im System auswirken sollte. Auch dies konnte im Rahmen der Masterarbeit nicht final geklärt werden.

Um beiden noch offenen Fragestellungen auf den Grund zu gehen, sind weitere Messungen und Simulationen nötig, welche folgen sollen.

4.2 Konzentrationsreihe des wasserlöslichen Katalysators

Um die Katalysatorkonzentration bei der Reaktion zur Herstellung von hyperpolarisiertem Succinat (Reaktionsgleichung s. Abb. 4.1) zu optimieren, wurde diese unter gleichen Bedingungen für verschiedene Verhältnisse von Katalysator ($\text{Rh}(\text{nor})(\text{ppbs})\text{BF}_4$) zu Substrat durchgeführt. Neben Fumarat als Substrat wurde die Messreihe für Zwecke der Universitätsklinik Mainz, Arbeitsgruppe für medizinische Physik von Prof. Dr. Laura Schreiber auch mit dem bekannten wasserlöslichen PHIP-Modellmolekül 2-Hydroxyethylacrylat (HEA) durchgeführt, Reaktionsgleichung s. Abbildung 4.10.

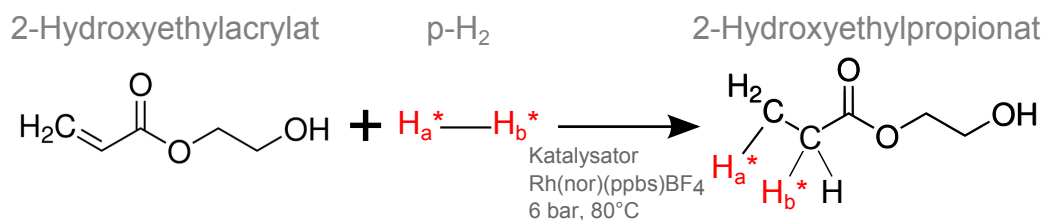


Abbildung 4.10: Reaktionsgleichung: paarweise Hydrierung von 2-Hydroxyethylacrylat mit para-Wasserstoff, Herstellung von hyperpolarisiertem 2-Hydroxyethylpropionat

Aufbau

Der Versuchsaufbau für die Optimierung der Katalysatorkonzentration ist in Abbildung 4.11 zu sehen. Der Versuch wurde unter einem Abzug durchgeführt. Das benötigte Material setzt sich zusammen aus:

- einer Gasflasche gefüllt mit 6 bar Wasserstoff; der Schlauch, der als Gasleitung an der Flasche befestigt ist, endet mit einer Kanüle

4.2. KONZENTRATIONSREIHE DES WASSERLÖSLICHEN KATALYSATORS37

- einer Heizplatte und einem darauf stehenden Gefäß mit Wasser, zusammen ein Wasserbad bildend; die Temperatur des Wasserbads soll konstant auf 80 °C gehalten werden
- einem Vortexmischer (Vortexer) eingestellt auf 2500 $\frac{\text{Umdrehungen}}{\text{Minute}}$
- einer Stoppuhr
- druckbeständigen Gefäßen mit Septum im Deckel und den Chemikalien für die Reaktion.

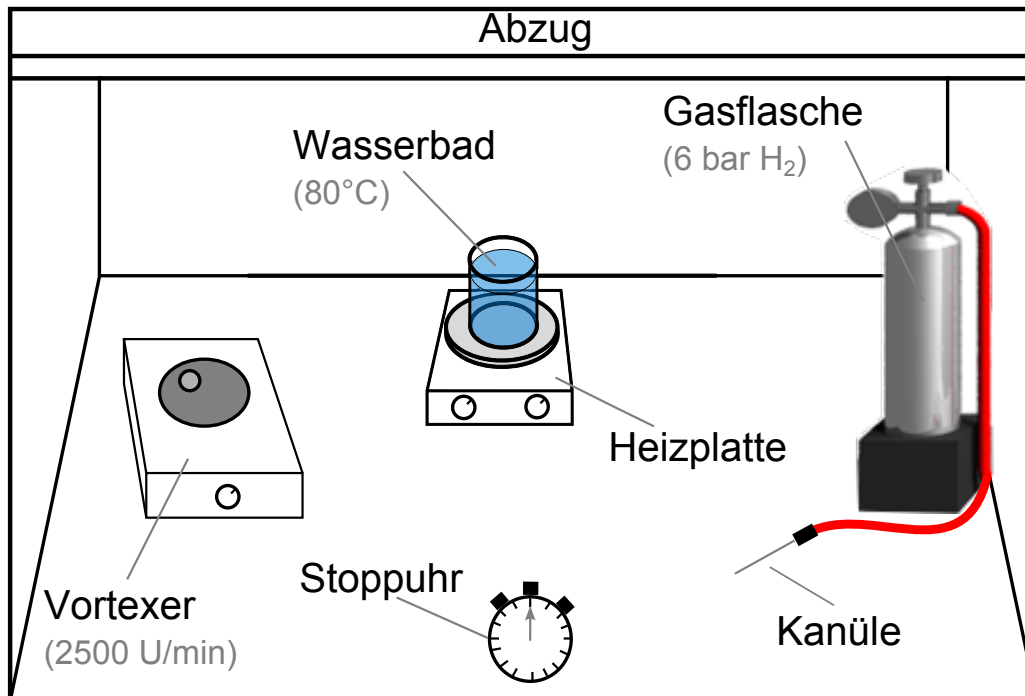


Abbildung 4.11: Aufbau des Experiments für die Optimierung der Katalysatorkonzentration des wasserlöslichen Katalysators (Rh(nor)(ppbs)BF₄) für die Reaktionen Fumarat + p-H₂ → Succinat, sowie 2-Hydroxyethylacrylat + p-H₂ → 2-Hydroxyethylpropionat

Durchführung

Die Durchführung des Experiments besteht aus 6 Schritten pro Messpunkt (Katalysatorkonzentration und Substrat), welche in Abb. 4.12 schematisch dargestellt sind.

1. Abfüllen der Substrat-Katalysator-Lösung unter Argon-Schutzatmosphäre in ein druckbeständiges NMR-Röhrchen mit 10 mm Durchmesser, verschlossen durch eine Kappe mit Septum
2. Heizen der Lösung im Röhrchen auf 80 °C im Wasserbad
3. Injektion von 6 bar Wasserstoff zu der Katalysator-Substrat-Lösung in das Röhrchen durch das Septum im Deckel
4. kräftiges Mischen der Lösung für 30 s (Stoppuhr) mithilfe des Vortexers¹
5. Abbruch der Reaktion direkt im Anschluss an das Schütteln durch Öffnen der Kappe des Röhrchens. Der restliche Wasserstoff entweicht nach oben.
6. Aufnahme eines hochaufgelösten NMR-Spektrums der Lösung nach der Reaktion, aus welchem sich der Reaktionsumsatz bestimmen lässt.

¹Mischen durch manuelles Schütteln wäre auch möglich und bringt erfahrungsgemäß größere Umsatzraten, die manuelle Schüttelbewegung ist jedoch schlechter reproduzierbar als die Bewegung des Vortexers, worauf es hier stark ankommt.

4.2. KONZENTRATIONSREIHE DES WASSERLÖSLICHEN KATALYSATORS39

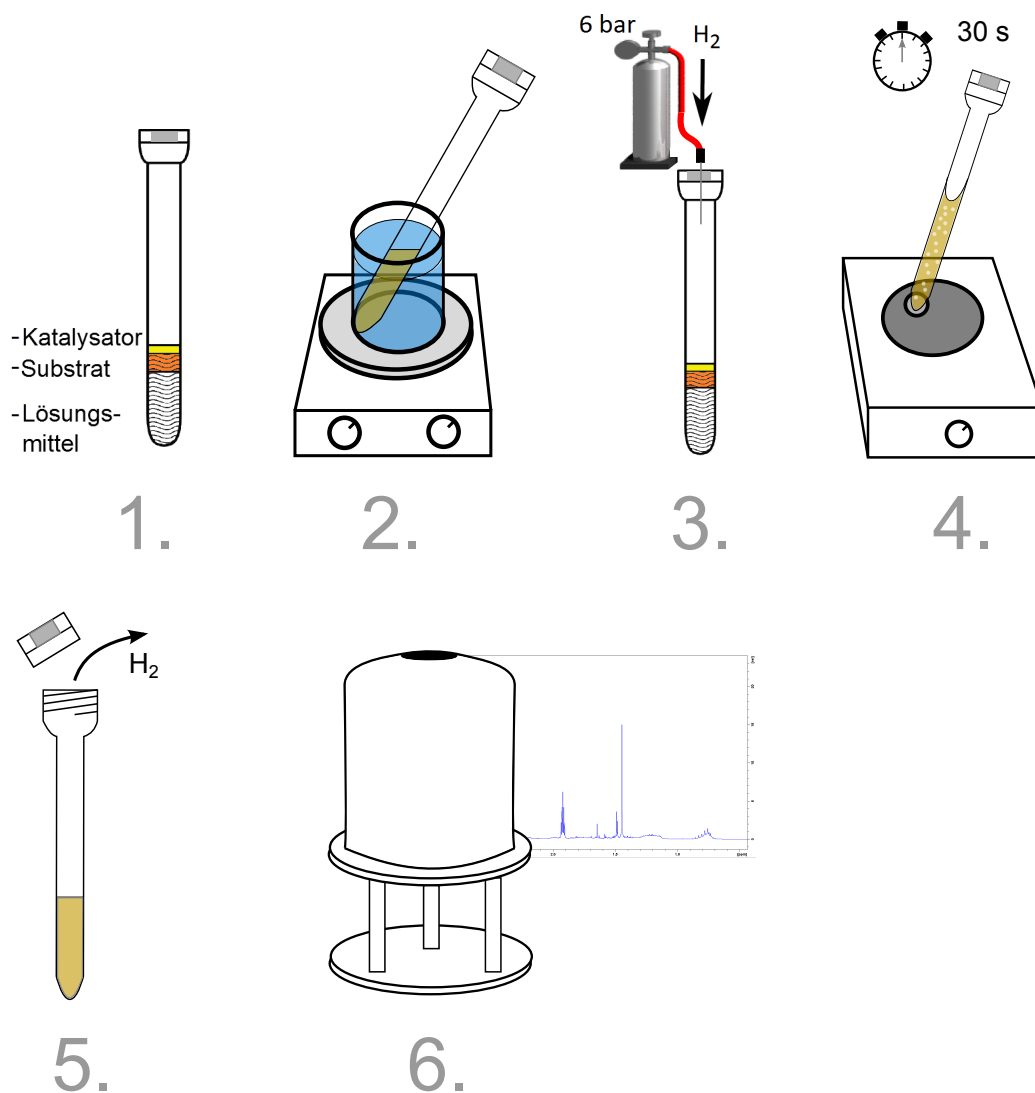


Abbildung 4.12: Schematische Darstellung der sechs Schritte der Versuchsdurchführung

Für die Durchführung dieses Experiments wurde kein para-Wasserstoff verwendet, da nur der Reaktionsumsatz in Abhängigkeit der Katalysatorkonzentration optimiert werden sollte. Dass der Katalysator $Rh(nor)(ppbs)BF_4$ paarweise hydriert, wurde in der Vergangenheit mehrfach durch den Nachweis von para-Wasserstoff induzierter Hyperpolarisation bei dessen Anwendung nachgewiesen [4, 10, 9, 6], s. hierzu auch Abschnitt 4.3 für Succinat und Anhang A.1 Abb. A.1 für 2-Hydroxyethylacrylat.

Messpunkte und -Ergebnisse

Die Zusammensetzung der Proben vor der Durchführung des Versuchs und die sich daraus ergebenden Katalysatorkonzentrationen, sowie der am Ende der Versuchsdurchführung für jede Probe bestimmte Reaktionsumsatz sind für die Messreihe mit Fumarat als Substrat in Tabelle 4.1 und für 2-Hydroxyethylacrylat (HEA) in Tabelle 4.2 aufgeführt. Alle Proben waren verdünnt mit 1 ml D_2O pro 40 mg Substrat.

$m_{Katalysator}$ [mg]	$m_{Fumarat}$ [mg]	K [mol%]	U [%]
$3,02 \pm 0,61$	$100,49 \pm 1,42$	$0,57 \pm 0,12$	$11,7726 \pm 0,0079$
$6,03 \pm 0,62$	$100,49 \pm 1,42$	$1,12 \pm 0,12$	$12,9095 \pm 0,0080$
$9,95 \pm 0,64$	$100,49 \pm 1,42$	$1,84 \pm 0,12$	$17,9155 \pm 0,0079$
$6,03 \pm 0,62$	$40,19 \pm 1,08$	$2,77 \pm 0,14$	$18,3697 \pm 0,0076$
$8,14 \pm 0,63$	$40,19 \pm 1,08$	$3,70 \pm 0,15$	$36,9224 \pm 0,0078$
$9,05 \pm 1,52$	$40,19 \pm 1,08$	$4,09 \pm 0,16$	$21,6244 \pm 0,0077$
$9,95 \pm 0,64$	$40,19 \pm 1,08$	$4,48 \pm 0,16$	$37,0016 \pm 0,0082$

Tabelle 4.1: Messpunkte und -Ergebnisse für die Katalysatorkonzentrationsreihe mit Fumarat als Substrat. $m_{Katalysator}$: Masse des wasserlöslichen Katalysators Rh(nor)(ppbs)BF₄ in der Probe, $m_{Fumarat}$: Masse des Fumarats in der Probe vor Versuchsdurchführung, K: Katalysatorkonzentration, U: Reaktionsumsatz

4.2. KONZENTRATIONSREIHE DES WASSERLÖSLICHEN KATALYSATORS41

$m_{Katalysator}$ [mg]	m_{HEA} [mg]	K [mol%]	U [%]
3 ± 2	$99,70 \pm 2,14$	$0,41 \pm 0,27$	$9,4436 \pm 0,0043$
6 ± 2	$99,70 \pm 2,14$	$0,82 \pm 0,27$	$30,5041 \pm 0,0044$
10 ± 2	$99,70 \pm 2,14$	$1,36 \pm 0,27$	$26,3697 \pm 0,0043$
6 ± 2	$39,90 \pm 2,02$	$2,02 \pm 0,67$	$40,8100 \pm 0,0043$
8 ± 2	$39,90 \pm 2,02$	$2,68 \pm 0,67$	$39,4593 \pm 0,0047$
10 ± 2	$39,90 \pm 2,02$	$3,33 \pm 0,66$	$38,7178 \pm 0,0045$
12 ± 2	$39,90 \pm 2,02$	$3,97 \pm 0,66$	$48,2653 \pm 0,0046$

Tabelle 4.2: Messpunkte und -Ergebnisse für die Katalysatorkonzentrationsreihe mit HEA als Substrat. $m_{Katalysator}$: Masse des wasserlöslichen Katalysators Rh(nor)(ppbs)BF₄ in der Probe, m_{HEA} : Masse von 2-Hydroxyethylacrylat in der Probe vor Versuchsdurchführung, K: Katalysatorkonzentration, U: Reaktionsumsatz

Die Katalysatorkonzentration K mit Gleichung (4.1) definiert.

$$K = \frac{n_{Kat}}{n_{Sub} + n_{Kat}} = \left(\frac{m_{Sub}}{m_{Kat}} \cdot \frac{M_{Kat}}{M_{Sub}} + 1 \right)^{-1} \quad (4.1)$$

n_{Kat} : Stoffmenge des Katalysators

n_{Sub} : Stoffmenge des Substrats (vor der Reaktion)

m_{Kat} : Masse des Katalysators

m_{Sub} : Masse des Substrats (vor der Reaktion)

M_{Kat} : Molmasse des Katalysators, $M_{Rh(nor)(ppbs)BF_4} = 844,384 \frac{g}{mol}$

M_{Sub} : Molmasse des Substrats, $M_{Fumarat} = 160,04 \frac{g}{mol}$, $M_{HEA} = 116,12 \frac{g}{mol}$

Alle angegebenen Fehler sind direkte Messfehler, oder ergeben sich aus diesen mittels Gaußscher Fehlerfortpflanzung. Die Fehler der Katalysatormasse und damit der Katalysatorkonzentration sind auffallend groß. Das ist auf Druckschwankungen im Handschuhkasten zurückzuführen, wo der Katalysator unter Argon-Schutzatmosphäre abgefüllt wurde. Diese wirken sich auf die Waage aus, und senken deren Genauigkeit auf 2 mg. Um den Einfluss dieses Fehlers zu senken, wurde bei Fumarat als Substrat zum Abfüllen des Katalysators eine Stammlösung benutzt.

Bestimmung des Reaktionsumsatzes aus NMR-Spektren

An dieser Stelle soll am Beispiel der Fumarat zu Succinat Hydrierung erklärt werden, wie aus einem thermischen NMR-Spektrum, aufgenommen nach der Reaktion, der Reaktionsumsatz U bestimmt wurde. Die Definition von U ist in Gleichung (4.2) angegeben.

$$U \equiv \frac{N_{Produkt}}{N_{Edukt,vorher}} = \frac{N_{Produkt}}{N_{Edukt} + N_{Produkt}} \quad (4.2)$$

- $N_{Produkt}$: Anzahl Moleküle Reaktionsprodukt (nach Reaktion)
 $N_{Edukt,vorher}$: Anzahl Moleküle Reaktionsedukt vor der Reaktion
 N_{Edukt} : Anzahl Moleküle Reaktionsedukt (nach Reaktion)

In Abbildung 4.13 ist das Spektrum der Probe mit ursprünglich 10 mg (9,95 mg) Katalysator auf 40 mg (40,19 mg) Fumarat zu sehen, aufgenommen am Ende der Versuchsdurchführung, nach der Reaktion. Vor der Durchführung befand sich kein Succinat in der Probe, rechts im Spektrum ist deutlich ein Succinat-Peak zu erkennen, welcher vom Reaktionsprodukt stammt.

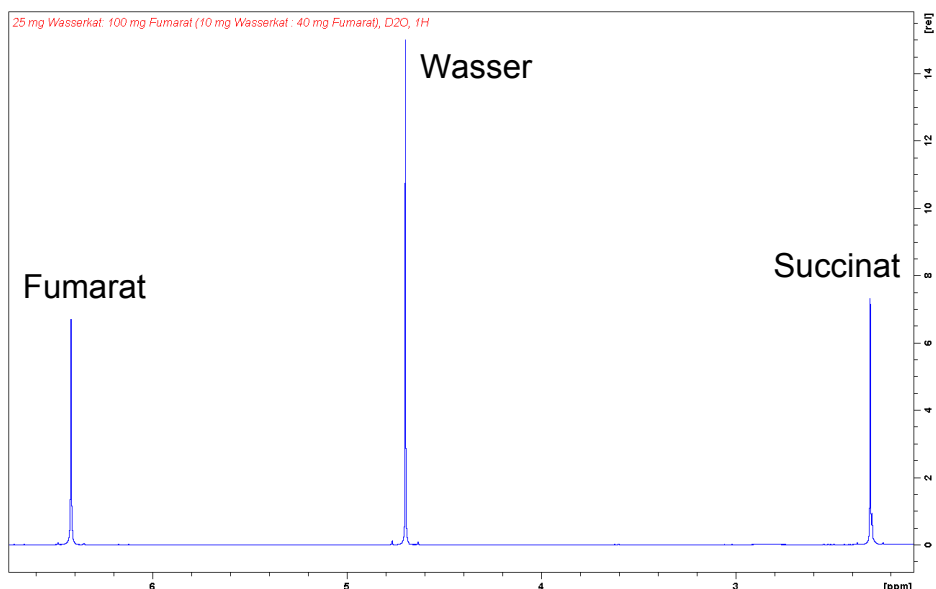


Abbildung 4.13: Spektrum der Probe mit ursprünglich 10 mg (9,95 mg) Katalysator auf 40 mg (40,19 mg) Fumarat, aufgenommen nach Hydrierreaktion. Links, bei 6,419 ppm ist der Fumarat-Peak, rechts, bei 2,305 ppm der Succinat-Peak zu sehen.

4.2. KONZENTRATIONSREIHE DES WASSERLÖSLICHEN KATALYSATORS43

Als $I_{Fumarat}$ sei das Integral über alle von Fumarat stammenden Peaks bezeichnet, also die absolute Intensität des Fumarat-Signals, $I_{Succinat}$ analog. Zum Zeitpunkt der Messung geht man davon aus, dass alle Protonen in der Probe gleich polarisiert sind mit der thermischen Polarisation P_{th} . $N_{Fumarat}$ sei die Anzahl der Fumaratmoleküle in der Probe und $n_{1H,Fum}$ die Anzahl der Protonen pro Fumaratmolekül, analog $N_{Succinat}$ und $n_{1H,Succ}$.

Allgemein kann man $n_{1H,Molekül}$ definieren als die Anzahl der Protonen pro Molekül, die die Peaks verursachen, deren Integral als $I_{Molekül}$ definiert wird, denn nicht immer lassen sich alle Resonanzen des Reaktionseduktes klar von allen Resonanzen des Reaktionsproduktes trennen. In diesen Fällen muss man die Rechnung auf Signale von Teilen von Molekülen stützen.

Es gilt:

$$n_{1H,Fum} = 2 \quad \text{vgl. Abb. 4.4}$$

$$n_{1H,Succ} = 4 \quad \text{vgl. Abb. 4.5}$$

$$\begin{aligned} I_{Fumarat} &\propto P_{th} \cdot N_{Fumarat} \cdot n_{1H,Fum} \\ &= P_{th} \cdot N_{Fumarat} \cdot 2 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} I_{Succinat} &\propto P_{th} \cdot N_{Succinat} \cdot n_{1H,Succ} \\ &= P_{th} \cdot N_{Succinat} \cdot 4 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \Rightarrow U &= \frac{N_{Succinat}}{N_{Fumarat} + N_{Succinat}} && \text{s. Gl. (4.2)} \\ &= \frac{I_{Succinat}/2}{I_{Fumarat} + I_{Succinat}/2} \end{aligned}$$

Als Fehler jedes Punktes im Spektrum wurde die Standardabweichung von 7000 Punkten, aus einem Teil des Spektrums, in dem nur Rauschen aufgezeichnet wurde, definiert und alle weiteren Fehler daraus mithilfe der Gaußschen Fehlerfortpflanzung berechnet.

Herleitung der Reaktionskinetik

Für die Herleitung der Reaktionskinetik muss das Reaktionsverhalten mathematisch modelliert werden. Hierzu muss zunächst bestimmt werden, wie viele Ausgangsstoffe es bei der Reaktion gibt und in welcher Konzentration sie relativ zueinander vorhanden sind. Liegen Edukte in vergleichbarer Konzentration vor, bzw. etwa in dem Verhältnis, in dem sie bei der Reaktion verbraucht werden, muss deren Abnahme während der Reaktion in der Differentialgleichung berücksichtigt werden. Liegt ein Edukt in hohem Überschuss vor, kann dessen Abnahme während der Reaktion vernachlässigt werden.

Im Fall der paarweisen Hydrierreaktion gibt es zwei Edukte, das gelöste Substrat und Wasserstoff, welche im Stoffmengenverhältnis 1:1 verbraucht werden. Folgende Rechnung soll abschätzen, in welchem Verhältnis sie vor der Reaktion vorliegen. Berechnet wird der „worst case“, die untere Schranke des Stoffmengenverhältnisses $\frac{n_{H_2}}{n_{Substrat}}$, für die Probe mit dem kleinsten Wasserstoffvolumen (=größtes Lösungsvolumen) und größter Substratstoffmenge (= größte Substratmasse, kleinste molare Masse). Hierbei wird davon ausgegangen, dass verbrauchter, gelöster Wasserstoff, durch ständiges Mischen, sofort durch neuen ersetzt wird, sodass der gesamte Wasserstoff im Röhrchen behandelt werden kann als sei er gelöst.

4.2. KONZENTRATIONSREIHE DES WASSERLÖSLICHEN KATALYSATORS45

$$\begin{aligned}
 V_{ges} &= 16,4 \text{ ml} && \text{Innenvolumen druckbest. Röhrchen} \\
 V_{Lösung} &= 2,7 \text{ ml} \\
 V_{Gas} &= V_{ges} - V_{Lösung} \\
 &= 13,7 \text{ ml} = 13,7 \cdot 10^{-6} \text{ m}^3 \\
 p_{ges} &= 6 \text{ bar} && \text{gesamt-Gasdruck nach } H_2\text{-Injektion} \\
 p_{Ar} &= 1 \text{ bar} && \text{Argondruck im Röhrchen} \\
 p_{H_2} &= p_{ges} - p_{Ar} \\
 &= 5 \text{ bar} = 5 \cdot 10^5 \frac{\text{kg}}{\text{m s}^2} \\
 T_{Gas} &= 295 \text{ K} \approx 22 \text{ }^\circ\text{C} \\
 p V &= n R T && \text{allgemeine Gasgleichung} \\
 R &= 8,314 \frac{\text{J}}{\text{mol K}} \\
 n_{H_2} &= \frac{p_{H_2} V_{Gas}}{R T_{Gas}} = 3 \cdot 10^{-3} \text{ mol} && \text{Stoffmenge } H_2 \\
 m_{Sub} &= 100 \text{ mg} = 0,1 \text{ g} \\
 M_{Sub} &= M_{HEA} = 116,12 \frac{\text{g}}{\text{mol}} && \text{molare Masse } (M_{HEA} < M_{Fumarat}) \\
 n_{Sub} &= \frac{m_{Sub}}{M_{Sub}} = 0,8 \cdot 10^{-3} \text{ mol} && \text{Stoffmenge Substrat} \\
 \\
 \frac{n_{H_2}}{n_{Sub}} &= 3,75
 \end{aligned}$$

Der Überschuss von Wasserstoff gegenüber gelöstem Substrat ist mit $\frac{n_{H_2}}{n_{Substrat}} \geq 3,75$ deutlich, jedoch nicht hoch genug, um den Wasserstoffverbrauch während der Hydrierreaktion unter allen Umständen vernachlässigen zu können.

Im Fall dieses Experimentes, lag der höchste erreichte Reaktionsumsatz bei ca. 48% des Substrats (vgl. Tabelle 4.2), wofür höchstens knapp 13% des vorhandenen Wasserstoffes verbraucht wurden. Somit lag der Wasserstoffverbrauch für alle Proben bei unter 13%. In Relation zu den großen Fehlern der Katalysatorkonzentration ist eine Vernachlässigung des Wasserstoffverbrauches zum Vereinfachen der Differentialgleichung im Fall dieses Experimentes dennoch vertretbar.

Die Beobachtungen bestätigen, dass nur ein Teil des vorhandenen Wasserstoffes verbraucht wurde. In Schritt 5 der Durchführung (vgl. Abb. 4.12), beim Abbruch der Reaktion, war für jede Probe ein deutliches Zischen zu hören, was bestätigt, dass zu diesem Zeitpunkt im Probenröhrchen Überdruck herrschte.

Annahmen/Idealisierungen zur mathematischen Modellierung der Reaktionskinetik

Annahme 1:

Es ist unendlich viel Wasserstoff vorhanden, der Verbrauch während der Reaktion wird vernachlässigt. Die Wahrscheinlichkeit, dass ein Komplex aus Katalysator- und Substratmolekül auf ein H_2 -Molekül trifft sei als $P_{H_2} < 1$ definiert und bleibt während der gesamten Reaktion konstant.

Da der Verbrauch eines von zwei Edukten vernachlässigt wird, wird die Reaktion als *Reaktion pseudoerster Ordnung* modelliert. [19]

Annahme 2:

Das Lösungsmittel ist am Reaktionsprozess nicht beteiligt. Es erhöht lediglich die Abstände zwischen den an der Reaktion beteiligten Molekülen und eventuell deren Mobilität. Die Wahrscheinlichkeit, dass ein Katalysatormolekül im Laufe der Reaktion, trotz der erhöhten Abstände, auf ein Substratmolekül trifft sei als $P_L < 1$ und konstant definiert.

Annahme 3:

Katalysatormoleküle gehen im Laufe der Reaktion nicht kaputt. Ihre Anzahl und Aktivität sind für immer konstant.

Annahme 4:

Immer wenn ein Katalysator- ein Substrat- und ein Wasserstoffmolekül aufeinander treffen, kommt es zur gewünschten paarweisen Hydrierreaktion. Ein anderer Reaktionsausgang ist ausgeschlossen.

Annahme 5:

Alle Molekülzahlen sind sehr groß. Wahrscheinlichkeiten können mit relativen Häufigkeiten gleichgesetzt werden. (Gesetz der großen Zahlen)

Mit diesen Annahmen ergibt sich Gleichung (4.3). Die Detaillierte Herleitung ist in Anhang A.1.1 zu finden.

$$U(t, K) = 1 - e^{-K \cdot P_{umg} \cdot t} \quad (4.3)$$

Gleichung (4.3) beschreibt die Kurve, die durch die Datenpunkte in Tabellen 4.1 und 4.2 gefittet werden muss. Im Experiment wurde $t = 30 \text{ s}$ gesetzt und K variiert.

Fit der Theoriekurve und Diskussion

Abbildung 4.14 zeigt den Fit der Sättigungskurve aus Gleichung (A.3) durch die Messpunkte der Katalysatorkonzentrationsreihe mit Fumarat als Substrat. Die Messpunkte für $K = 2,77 \text{ mol\%}$ und $K = 4,09 \text{ mol\%}$ wurden ausgeklammert, da das Probenröhrchen während der Reaktion nicht gasdicht blieb. Es folgt eine Auflistung der Ergebnisse für den Fitparameter sowie die Anpassungsgüte.

$U(K) = 1 - e^{-A \cdot K}$	Fitfunktion, A: Fitparameter
$A = 0,1142$	Ergebnis für A
$A_{min} = 0,0906; A_{max} = 0,1378$	Grenzen 95% Konfidenzintervall
$\chi_{red}^2 = 8,76$	reduziertes Chi-Quadrat
$R^2 = 0,9256$	Determinationskoeffizient

Das reduzierte Chi-Quadrat ist auf die Fehler der Katalysatorkonzentration K bezogen, da diese die Fehler des Reaktionsumsatzes U um drei Größenordnungen übersteigen und damit eindeutig dominieren. Ein Wert von 8,76 zeigt hier jedoch, dass entweder die Fehler trotzdem zu klein gewählt wurden, oder die Fitkurve die Datenpunkte nicht gut beschreibt. Der Determinationskoeffizient von 0,9256 sagt aus, dass die gewählte Fitfunktion die Datenpunkte gut beschreibt.

Als Fazit für diese Messreihe kann man daher festhalten, dass am wahrscheinlichsten die Fehler zu klein gewählt sind. Dies könnte daran liegen, dass Fehlerquellen, die bei der gewählten Durchführung quantitativ nicht erfasst werden konnten, wie beispielsweise unterschiedliche Gasdichtigkeit der Probenröhrchen, sich stärker auswirken als erwartet. Die Qualität des Fits reicht nicht aus, um entscheiden zu können, in welchem Ausmaß die idealisierte mathematische Beschreibung der Reaktionskinetik zutrifft, mit $R^2 = 0,9256$ ist die Übereinstimmung jedoch zu groß um das mathematische Modell vollständig zu verwerfen.

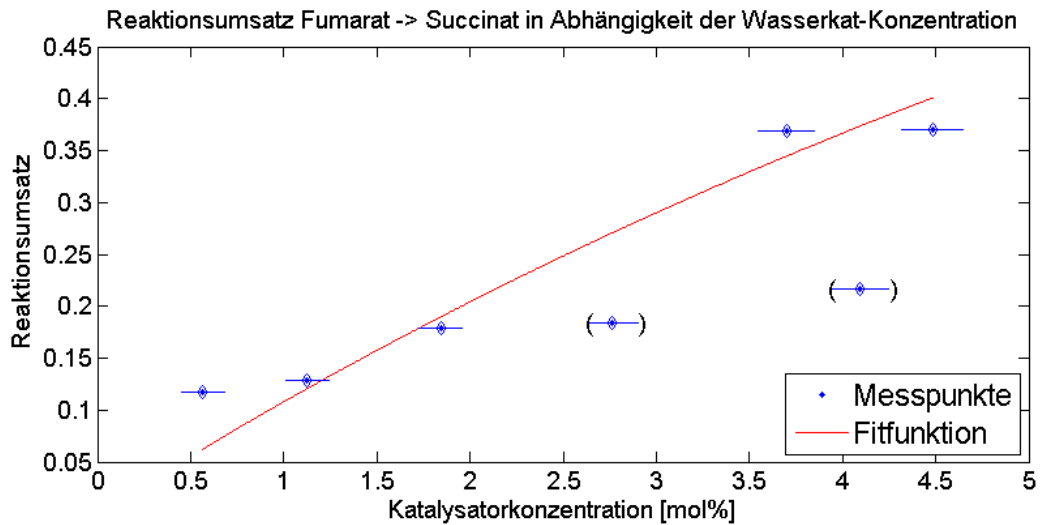


Abbildung 4.14: Fit der theoretisch erwarteten Abhängigkeit $U(K)$ (Gl. (A.3)) durch die Messpunkte für Fumarat als Substrat (Tab. 4.1)

Analog zeigt Abbildung 4.15 den Fit der Sättigungskurve aus Gleichung (A.3) durch die Messpunkte der Katalysatorkonzentrationsreihe mit 2-Hydroxyethylacrylat als Substrat. Die Ergebnisse für den Fitparameter sowie die Anpassungsgüte sind im folgenden aufgeführt.

$U(K) = 1 - e^{-A \cdot K}$	Fitfunktion, A: Fitparameter
$A = 0,1934$	Ergebnis für A
$A_{min} = 0,1342; A_{max} = 0,2526$	Grenzen 95% Konfidenzintervall
$\chi_{red}^2 = 3,22$	reduziertes Chi-Quadrat
$R^2 = 0,5449$	Determinationskoeffizient

Das reduzierte Chi-Quadrat ist auch hier auf die Fehler der Katalysatorkonzentration K bezogen. Ein Wert von 3,22 hat die gleiche Aussagekraft wie im Fall von Fumarat als Substrat, jedoch in geringerem Ausmaß, was daher stammen könnte, dass nicht erfasste Fehlerquellen in Relation zu den auffallend großen Fehlern von K kleiner sind. Der Determinationskoeffizient von 0,5449 sagt aus, dass die gewählte Fitfunktion die Datenpunkte nur mäßig gut beschreibt, aber dennoch deutlich besser als ihr arithmetischer Mittelwert.

Die Qualität des Fits ist für 2-Hydroxyethylacrylat insgesamt eher schlecht. Dennoch ist die Tendenz erkennbar, dass höhere Katalysatorkonzentrationen zu höheren Reaktionsumsätzen führen. Ein Optimum der Katalysatorkonzentration zeichnet sich auch hier nicht ab.

4.2. KONZENTRATIONSREIHE DES WASSERLÖSLICHEN KATALYSATORS49

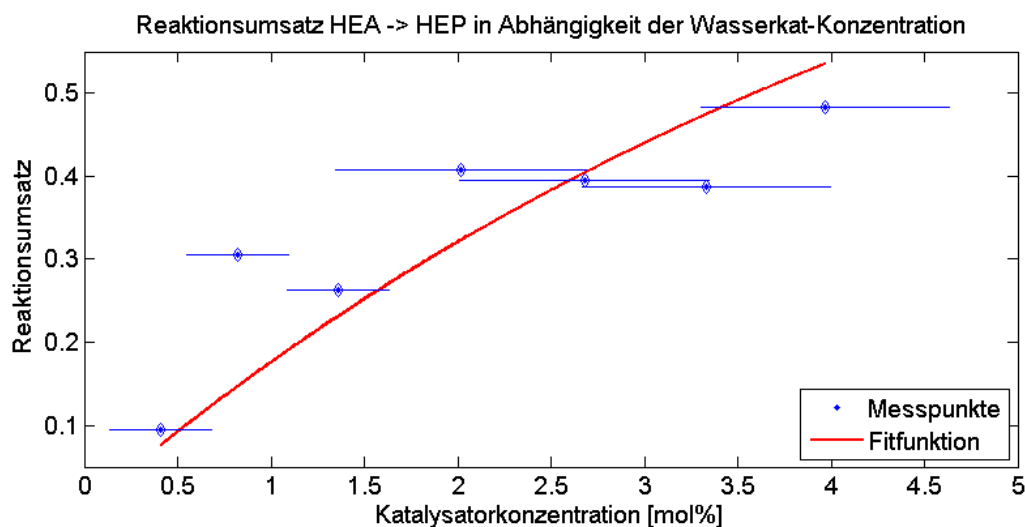


Abbildung 4.15: Fit der theoretisch erwarteten Abhängigkeit $U(K)$ (Gl. (A.3)) durch die Messpunkte für 2-Hydroxyethylacrylat als Substrat (Tab. 4.2)

Das Ziel der Untersuchung war die Optimierung der paarweisen Hydrierreaktion mit dem Katalysator $\text{Rh}(\text{nor})(\text{ppbs})\text{BF}_4$. Für beide Substrate konnte im Bereich der getesteten Katalysatorkonzentrationen kein Optimum festgestellt werden. Stattdessen ist in beiden Fällen ein Zusammenhang der Art „je höher die Katalysatorkonzentration, desto höher der Reaktionsumsatz“ erkennbar. Für zukünftige Experimente gibt es also keine optimale Zusammensetzung der Katalysator-Substrat-Lösung, stattdessen kann die Reaktionsrate mit der Katalysatormenge dem Bedarf angepasst werden. Da dieses Fazit für die Zwecke der Arbeit ausreicht, wurde auf weitere Wiederholungen der Messung zur genauen Bestimmung der Übereinstimmung mit dem mathematischen Modell verzichtet.

4.3 Nachweis der Hyperpolarisation in 1-¹³C-Succinat

4.3.1 Hyperpolarisationsnachweis auf Protonen

Para-Wasserstoff induzierte Hyperpolarisation wurde in 1-¹³C-Succinat im ALTADENA Experiment nachgewiesen. Zum Durchführen der Reaktion wurde para-Wasserstoff in das druckbeständige NMR-Röhrchen mit Katalysator-Substrat-Lösung injiziert und die Probe zum Starten der Reaktion geschüttelt. Die Temperatur der Probe wurde durch die im Probenkopf eingebaute Heizelektronik konstant auf 80°C gehalten. Versuchsaufbau und -Durchführung hierzu sind in Abschnitt 3.3 detailliert beschrieben und waren für alle ALTADENA-Experimente der Arbeit gleich.

Die Lösung im NMR-Röhrchen vor der Reaktion setzte sich in diesem Experiment zusammen aus 8 mg wasserlöslichem Katalysator (Rh(nor)(ppbs)BF₄), 50 mg 1-¹³C-Fumarat und 2,5 ml D₂O, was etwa einer Katalysatorkonzentration von 3 mol% entspricht.

Die Reaktionsgleichung ist in Abbildung 4.3 abgebildet.

Die Durchführungsschritte p-H₂ Injektion, Schütteln und Einsetzen ins Spektrometer (vgl. Abb. 3.3) wurden 5 mal wiederholt (5 Durchführungszyklen). Jedes Mal wurden nach dem einsetzen ins Spektrometer 3 FIDs nach jeweils einem 45°-Puls mit einem Scan aufgenommen: direkt nach dem einsetzen, nach 30s und nach 90s. Im ersten FID ist jeweils die höchste Hyperpolarisation zu sehen, im zweiten sind in manchen Fällen Reste der Hyperpolarisation erkennbar und das dritte FID ergibt nach Fourier-Transformation ein vollständig thermisches Spektrum (vgl. T₁-Zeiten in Abschnitt 4.1, nach der 5-fachen T₁-Zeit im B₀-Feld ist die Differenz zwischen beliebiger Ausgangsmagnetisierung und thermischer Polarisation zu über 99% abgebaut). Zusätzlich wurden ganz am Anfang und ganz am Ende des Experimentes thermische Referenzspektren aufgenommen, sodass insgesamt für jeden Durchführungszyklus ein thermisches Referenzspektrum vorher und eines nachher vorhanden ist. Aus diesen lässt sich jeweils der Reaktionsumsatz vor (U_{vorher,n}) und nach (U_{nachher,n}) jedem Durchführungszyklus (n) bestimmen, mit der gleichen Methode wie in Abschnitt 4.2 beschrieben. Abbildung 4.16 zeigt das Protonenspektrum mit hyperpolarisiertem 1-¹³C-Succinat, aufgenommen nach Durchführungszyklus 2, und die dazugehörigen thermischen Referenzspektren vorher und nachher. Im Folgenden soll gezeigt werden, wie aus einem solchen Satz von Spektren das Verhältnis aus Hyperpolarisation

4.3. NACHWEIS DER HYPERPOLARISATION IN 1-¹³C-SUCCINAT 51

zu thermischer Polarisation ($\frac{P_{HP}}{P_{th}}$) berechnet werden kann. Dass die Probe im Spektrometer geringfügig weiterreagieren kann, wird bei der Rechnung vernachlässigt. Es wird davon ausgegangen, dass die Probe nur während des Schüttelns reagiert.

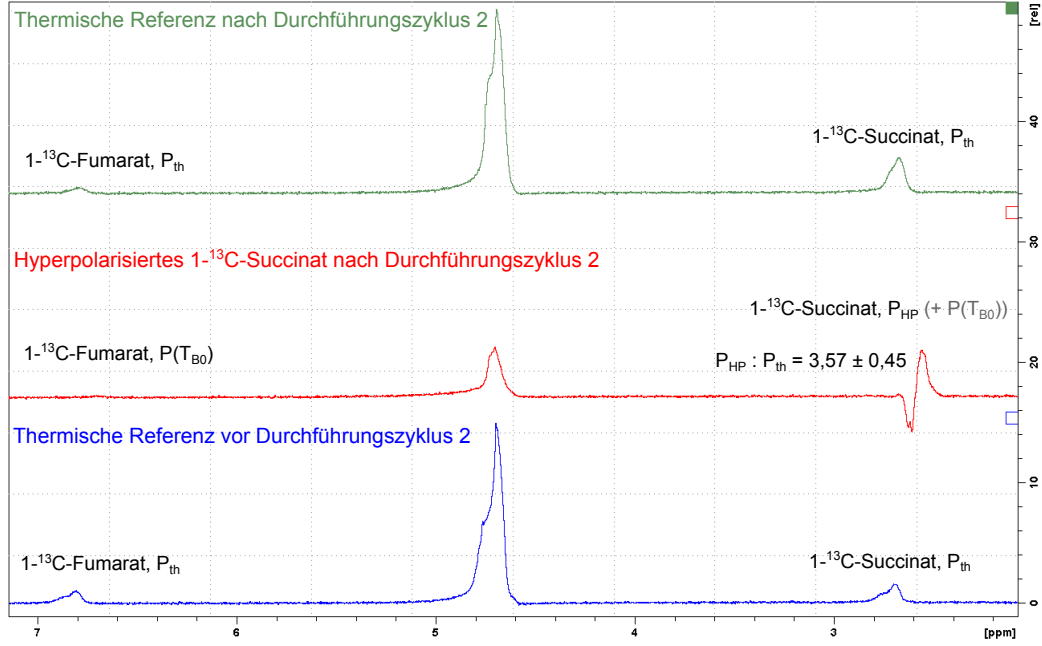


Abbildung 4.16: Spektrum mit hyperpolarisiertem 1-¹³C-Succinat nach Durchführungszyklus 2 (mitte), mit thermischen Referenzen vorher (unten) und nachher (oben). Charakteristisches Antiphasensignal für p- H_2 induzierte HP erkennbar. Alle Spekten aufgenommen nach einem Flipwinkel $\alpha = 45^\circ$.

Sei $I_{Fum,th}$ das Integral über alle von Fumarat stammenden Peaks im Spektrum einer thermisch polarisierten Probe, N_{Fum} die Anzahl der Fumaratmoleküle in der Probe und $n_{1H,Fum}$ die Anzahl der Protonen pro Fumaratmolekül. Analog seien $I_{Succ,th}$, N_{Succ} und $n_{1H,Succ}$ definiert.

Es gilt:

$$\begin{aligned} I_{Fum,th} &= P_{th} \cdot N_{Fum} \cdot n_{1H,Fum} \cdot \gamma \cdot I \cdot H \cdot \sin(\alpha) \cdot N_S \cdot c \\ &= P_{th} \cdot N_{Fum} \cdot n_{1H,Fum} \cdot d \cdot c \end{aligned}$$

$$\text{mit: } d = \gamma \cdot I \cdot H \cdot \sin(\alpha) \cdot N_S$$

$$I_{Succ,th} = P_{th} \cdot N_{Succ} \cdot n_{1H,Succ} \cdot d \cdot c$$

- γ : gyromagnetisches Verhältnis
- I : Kernspin
- H : natürliche Isotopenhäufigkeit
- α : Flipwinkel, $\alpha = 45^\circ$ für alle zur Auswertung benutzten Spektren
- N_S : Anzahl der Scans $N_S = 1$ für alle zur Auswertung benutzten Spektren
- c : technisch bedingter Proportionalitätsfaktor

d fasst alle physikalischen Konstanten zusammen und alle Parameter der Messung, welche für die zur Auswertung benutzten Spektren immer gleich gewählt waren und deren Schwankung man vernachlässigen kann. Somit ist d ein fehlerloser Proportionalitätsfaktor, den man in den Berechnungen ohne Verlust von Genauigkeit und zusätzliche Fehlerbetrachtung kürzen kann.

Im Gegensatz dazu fasst c die technischen Faktoren zusammen, welche von Spektrum zu Spektrum im Rahmen von 4% schwanken können. Die Schwankung wurde bestimmt, indem von der gleichen Probe, unter gleichen Einstellungen und äußeren Bedingungen, mehrere Spektren aufgenommen und die Standardabweichung der absoluten Signalintensitäten bestimmt wurde. Somit ist c im Gegensatz zu d für jedes Spektrum trotz gleicher Einstellungen und Bedingungen leicht unterschiedlich. Werden Daten aus verschiedenen Spektren ins Verhältnis gesetzt und c gekürzt, so muss dies in der Fehlerbetrachtung berücksichtigt werden. Der Faktor c ist der Grund, wieso man nach Möglichkeit immer nur Daten aus einem Spektrum in Relation zueinander setzen sollte. Ist ein Vergleich absoluter Rohdaten aus verschiedenen Spektren unumgänglich, sollte man die Anzahl der Spektren, aus denen die Rohdaten stammen so niedrig wie möglich halten.

Vor dem Einsetzen der Probe ins Spektrometer gilt für die Polarisation P der Probe: $P = 0$. Nach Einsetzen ins Spektrometer und damit in das Magnetfeld B_0 baut sich die thermische Polarisation P_{th} mit der Zeitkonstanten T_1 auf. Es gilt:

$$P(t_{B_0}) = P_{th} \cdot (1 - e^{-t_{B_0}/T_1})$$

t_{B_0} : Zeit, die die Probe im Magnetfeld B_0 verbracht hat. In diesem Fall ist die Zeit T_{B_0} zwischen einsetzen der Probe ins Spektrometer und Aufnahme des ersten FID interessant. Für die ALTADENA-Experimente in dieser Arbeit gilt $T_{B_0} \approx 1,5$ s

Für die absolute Intensität des hyperpolarisierten Succinatsignals nach Durchführungszyklus n ($I_{Succ,HP,n}$ Integral über Betrag des hyperpolarisierten Succinatpeaks) gilt damit:

4.3. NACHWEIS DER HYPERPOLARISATION IN $1\text{-}^{13}\text{C}$ -SUCCINAT 53

$$\begin{aligned}
I_{Succ,HP,n} &= N_{Succ,vorher,n} \cdot P(T_{B_0}) \cdot n_{1H,Succ} \cdot d \cdot c \\
&\quad + (N_{Succ,nachher,n} - N_{Succ,vorher,n}) \cdot P_{HP,n} \cdot n_{1H,Succ} \cdot d \cdot c \\
&= U_{vorher,n} \cdot (N_{Succ} + N_{Fum}) \cdot P(T_{B_0}) \cdot n_{1H,Succ} \cdot d \cdot c \\
&\quad + (U_{nachher,n} - U_{vorher,n}) (N_{Succ} + N_{Fum}) \cdot P_{HP,n} \cdot n_{1H,Succ} \cdot d \cdot c \\
&= U_{vorher,n} \cdot \left(\frac{I_{Succ,th}}{P_{th} n_{1H,Succ} d c'} + \frac{I_{Fum,th}}{P_{th} n_{1H,Fum} d c'} \right) \\
&\quad \cdot P_{th} \cdot (1 - e^{(-T_{B_0}/T_{1,Succ})}) \cdot n_{1H,Succ} \cdot d \cdot c \\
&\quad + (U_{nachher,n} - U_{vorher,n}) \left(\frac{I_{Succ,th}}{P_{th} n_{1H,Succ} d c'} + \frac{I_{Fum,th}}{P_{th} n_{1H,Fum} d c'} \right) \\
&\quad \cdot P_{HP,n} \cdot n_{1H,Succ} \cdot d \cdot c \\
&= U_{vorher,n} \cdot \left(I_{Succ,th} + I_{Fum,th} \frac{n_{1H,Succ}}{n_{1H,Fum}} \right) \cdot (1 - e^{(-T_{B_0}/T_{1,Succ})}) \cdot \frac{c}{c'} \\
&\quad + (U_{nachher,n} - U_{vorher,n}) \left(I_{Succ,th} + I_{Fum,th} \frac{n_{1H,Succ}}{n_{1H,Fum}} \right) \cdot \frac{P_{HP,n}}{P_{th}} \cdot \frac{c}{c'} \\
\Rightarrow \frac{P_{HP,n}}{P_{th}} &= \frac{I_{Succ,HP,n} \cdot \frac{c'}{c} - U_{vorher,n} \cdot \left(I_{Succ,th} + I_{Fum,th} \frac{n_{1H,Succ}}{n_{1H,Fum}} \right) \cdot (1 - e^{(-T_{B_0}/T_{1,Succ})})}{(U_{nachher,n} - U_{vorher,n}) \left(I_{Succ,th} + I_{Fum,th} \frac{n_{1H,Succ}}{n_{1H,Fum}} \right)}
\end{aligned}$$

Für die Zahlenwerte, die nicht aus den Spektren ermittelt werden, gilt:

$$\begin{aligned}
c &= c' \\
\frac{\Delta c}{c} &= \frac{\Delta c'}{c'} = 4\% \\
\Rightarrow \frac{c'}{c} &= 1 \pm (\sqrt{2} \cdot 4\%) \quad \text{Gaußsche Fehlerfortpflanzung} \\
T_{B_0} &= (1,5 \pm 0,5) \text{ s} \\
n_{1H,Fum} &= 2 \\
n_{1H,Succ} &= 4 \\
T_1(1 - ^{13}\text{C} - \text{Succinat}) &= (2,9 \pm 0,2) \text{ s}
\end{aligned}$$

Die Werte für die Signalintensitäten und deren Fehler werden aus den jeweiligen Spektren genauso ermittelt, wie schon in Abschnitt 4.2 beschrieben. Alle Fehler, die nicht Messfehler sind, werden mittels Gaußscher Fehlerfortpflanzung berechnet.

Die Berechnung von $\frac{P_{HP,n}}{P_{th}}$ wäre einfacher, wenn man $N_{Succ,vorher,n}$ und $N_{Succ,nachher,n}$ direkt über die Signalintensitäten $I_{Succ,th}$ in den thermischen Referenzspektren vor und nach dem Durchführungszyklus bestimmt. In diesem Fall hätte man allerdings absolute Rohdaten aus allen drei Spektren in Relation zueinander gesetzt und hätte drei Werte für den Faktor c , was einen größeren Fehler zur Folge hätte. Nutzt man aus dass $N_{ges} = N_{Succ} + N_{Fum}$ eine Erhaltungsgröße ist (solange man eine Probe benutzt) und geht den Umweg erst aus den thermischen Referenzspektren vorher und nachher die Reaktionsumsätze $U_{vorher,n}$ und $U_{nachher,n}$ zu berechnen, kann man die Anzahl der Spektren, aus denen absolute Rohdaten ins Verhältnis gesetzt werden auf zwei reduzieren.

Für Durchführungszyklus 2, welcher die stärkste Überhöhung des Succinatsignals aufwies (Abb. 4.16), ergibt sich:

$$\frac{P_{HP,2}}{P_{th}} = 3,57 \pm 0,45$$

Die Bedingungen im Spektrometer zum Zeitpunkt der Versuchsdurchführung waren folgende:

$$\begin{aligned} B_0 &= (7,05 \pm 0,01)T \\ T &= (353 \pm 1)K (\approx 80^\circ C) \end{aligned}$$

Aus der Boltzmann-Verteilung $\frac{N_{\downarrow}}{N_{\uparrow}} = e^{-\frac{h\gamma B_0}{k_B T}}$, welche im thermischen Gleichgewicht vorliegt (vgl. Kapitel 2) lässt sich damit die thermische Polarisation P_{th} berechnen zu:

$$P_{th} = (2,044 \pm 0,0065) \cdot 10^{-5}$$

Damit ergibt sich für den absoluten Wert der Hyperpolarisation $P_{HP,2}$:

$$P_{HP,2} = (7,29 \pm 0,91) \cdot 10^{-5}$$

Ein Verstärkungsfaktor $\frac{P_{HP,2}}{P_{th}}$ von $3,57 \pm 0,45$ als bestes Ergebnis ist im Vergleich zu einer theoretisch erreichbaren Verstärkung um 4-5 Größenordnungen sehr gering. Ein Grund hierfür ist die kurze T_1 -Zeit von $1\text{-}^{13}\text{C}$ -Succinat von $(2,9 \pm 0,2)s$. Bei einer Verzögerung $T_{B_0} = (1,5 \pm 0,5)s$ zwischen Einsetzen der Probe ins Spektrometer und Aufnahme des hyperpolarisierten Spektrums fällt die zunächst vorhandene Hyperpolarisation bis zur Aufnahme um ca 40% ab, was die fehlenden Größenordnungen allein nicht erklären

kann. Ein weiterer Grund ist, dass sich die hyperpolarisierten antiphasischen Peaks von 1-¹³C-Succinat mit hoher Wahrscheinlichkeit zu einem großen Teil aufheben. Wie in Abbildung 4.8 zu sehen ist, lässt sich die Differenz zwischen den Resonanzen der hyperpolarisierten Protonen selbst im hochauflösenden thermischen Spektrum bei 16,4 T nicht auflösen, was aber eine notwendige Bedingung ist, um das volle Ausmaß an Hyperpolarisation detektieren zu können. Ein dritter Grund, welcher erst in späteren Experimenten zum Vorschein kam und in den Abschnitten 4.4 und 4.5 detaillierter behandelt wird, ist dass die hyperpolarisierten Protonen in 1-¹³C-Succinat höchstwahrscheinlich einen für NMR unsichtbaren Singulettzustand bilden und nur ein Teil der Moleküle während des Einsetzens ins Spektrometer in einen sichtbaren hyperpolarisierten Zustand transferiert wird (Polarisationstransfer durch „Anticrossing“ [1, 13]. Abschließend bewiesen werden konnte dieses Verhalten jedoch im Rahmen der Arbeit nicht.

Das Hauptziel des Experimentes, eine Hyperpolarisation auf Protonen in 1-¹³C-Succinat nachzuweisen, wurde dennoch erreicht.

4.3.2 Hyperpolarisationsnachweis auf ¹³C

Um die Hyperpolarisation auf ¹³C in 1-¹³C-Succinat im ALTADENA Experiment nachzuweisen, wurde der Aufnahmemodus des Spektrometers auf ¹³C umgestellt. Aufbau und Durchführung des Experiments blieben gleich. Abbildung 4.17 zeigt das hyperpolarisierte ¹³C-Signal von Succinat nach Durchführungszyklus 1 mit Referenzspektren im thermischen Gleichgewicht vorher (unten) und nachher (oben). Aus diesen Spektren wird das Verhältnis aus Hyperpolarisation zu thermischer Polarisation $\frac{P_{HP}}{P_{th}}$ berechnet, komplett analog wie dies im Abschnitt 4.3.1 für Protonen getan wurde.

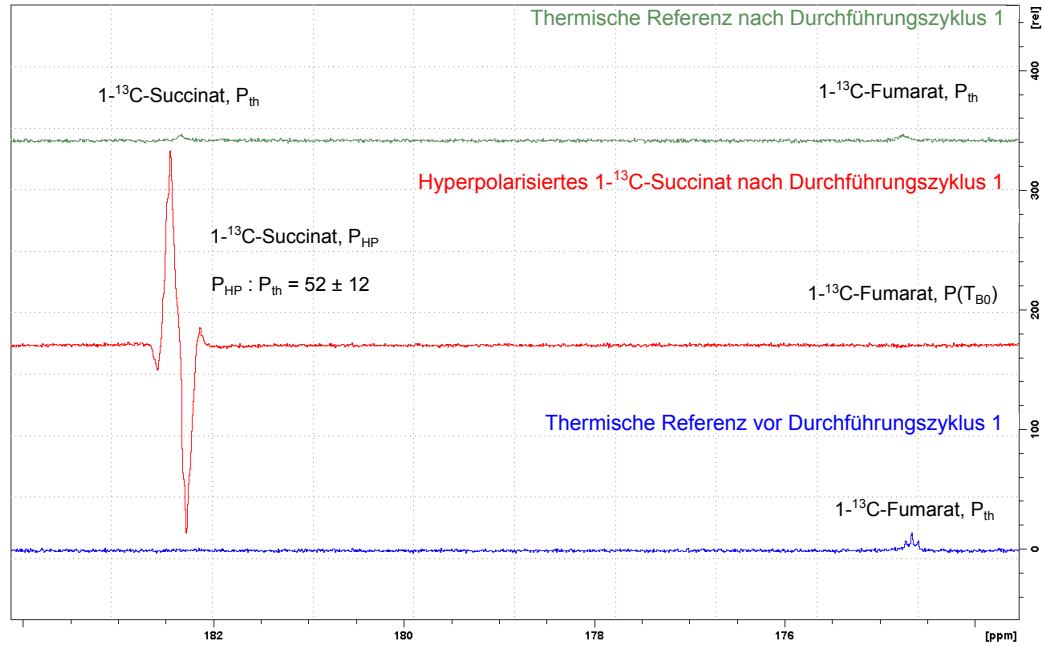


Abbildung 4.17: ^{13}C -Spektrum mit hyperpolarisiertem $1\text{-}^{13}\text{C}$ -Succinat nach Durchführungszyklus 1 (mitte), mit thermischen Referenzen vorher (unten) und nachher (oben). Charakteristisches Antiphasensignal für $p\text{-H}_2$ induzierte HP erkennbar. Alle Spekten aufgenommen nach einem Flipwinkel $\alpha = 45^\circ$.

Im Fall der Versuchsreihe für ^{13}C ergab Durchführungszyklus 1 die höchste Verstärkung des Succinatsignals. Für das Verhältnis $\frac{P_{HP,1}}{P_{th}}$ ergibt sich hier:

$$\frac{P_{HP,1}}{P_{th}} = 52 \pm 12$$

Die thermische Polarisation für ^{13}C , berechnet aus der Boltzmann-Verteilung $\frac{N_{\downarrow}}{N_{\uparrow}} = e^{-\frac{\hbar\gamma B_0}{k_B T}}$ unter unveränderten Bedingungen im Spektrometer ($B_0 = (7,05 \pm 0,01) \text{ T}$; $T = (353 \pm 1) \text{ K} (\approx 80^\circ\text{C})$) beträgt:

$$P_{th} = (5,130 \pm 0,016) \cdot 10^{-6}$$

Damit lässt sich der absolute Wert der para-Wasserstoff induzierten Hyperpolarisation auf ^{13}C berechnen zu:

$$P_{HP,1} = (269 \pm 12) \cdot 10^{-6}$$

Es fällt auf, dass die Polarisationsverstärkung für ^{13}C mit $\frac{P_{HP,1}}{P_{th}} = 52 \pm 12$ um mehr als eine Größenordnung die Polarisationsverstärkung übersteigt, welche für Protonen gemessen werden konnte ($\frac{P_{HP,2}}{P_{th}} = 3,57 \pm 0,45$). Ein

Grund hierfür sind deutlich längere T_1 -Zeiten auf ^{13}C als auf Protonen. Zum Vergleich (s. auch Abb. 4.8):

$$T_{1, 1-^{13}\text{C-Succinat}, ^1\text{H}} = (2,9 \pm 0,2) \text{ s} \quad T_{1, 1-^{13}\text{C-Succinat}, ^{13}\text{C}} = (50 \pm 1) \text{ s}$$

Aus den Zeiten lässt sich berechnen, dass innerhalb der Zeit $T_{B_0} \approx 1,5 \text{ s}$ zwischen einsetzen der Probe ins Spektrometer und Aufnahme des hyperpolarisierten Spektrums die Hyperpolarisation auf ^{13}C um ca. 3% abfällt, während es auf Protonen unter gleichen Bedingungen ca. 40% sind. Dies trägt zum Unterschied bei, reicht jedoch allein nicht aus, um den großen Unterschied zu erklären.

Von den theoretisch erreichbaren 4-5 Größenordnungen Verstärkung sind beide Ergebnisse sehr weit entfernt. Wie jedoch in Abbildung 4.9 sichtbar wird, konnte die Aufspaltung des ^{13}C -Peaks durch J-Kopplung zu den Protonen von 1- ^{13}C -Succinat selbst bei $B_0 = 16,4 \text{ T}$ nicht eindeutig aufgelöst werden, sodass davon auszugehen ist, dass sich die antiphasischen hyperpolarisierten Peaks zum Teil aufheben. Dies kann für Protonen und ^{13}C in unterschiedlichem Ausmaß geschehen und den Unterschied in der Polarisationsverstärkung erklären. Die Möglichkeit, dass die Protonen aus der Hydrierreaktion in 1- ^{13}C -Succinat einen Singulett-Zustand bilden könnten (vgl. Diskussion Abschnitt 4.3.1), kann auch die gemessene Hyperpolarisation auf ^{13}C senken, da nur von Protonen, deren Singulett-Zustand gebrochen wurde, Hyperpolarisation auf andere Kerne übertragen werden kann. Ein möglicher Singulett-Zustand auf Protonen, könnte daher eine weitere Erklärung der Diskrepanz zwischen gemessener und theoretisch möglicher Polarisationsverstärkung sein.

Das primäre Ziel des Experimentes, para-Wasserstoff induzierte Hyperpolarisation auf ^{13}C in 1- ^{13}C -Succinat nachzuweisen, wurde allerdings auch hier erreicht.

4.4 Versuche Hyperpolarisation in unmarkiertem Succinat nachzuweisen

Den in Abschnitt 4.3 beschriebenen Experimenten, welche einen erfolgreichen Nachweis von para-Wasserstoff induzierter Hyperpolarisation auf Succinat, mithilfe einer ^{13}C Markierung an Position 1 beschreiben, gingen zahlreiche Versuche voraus, dasselbe mit gewöhnlichem Succinat, ohne Markierung, zu

erreichen. (Reaktionsgleichung vgl. Abb. 4.1) Der Ansatz hierzu, welcher im Rahmen dieser Arbeit verfolgt wurde, soll in diesem Abschnitt kurz beleuchtet werden.

Wie bereits am Anfang dieses Kapitels erwähnt, ist ein direkter Nachweis von para-Wasserstoff induzierter Hyperpolarisation in Succinat unmöglich, da die vier Protonen in Succinat chemisch und magnetisch äquivalent sind, wodurch ihre Kernspin-Energieübergänge bei derselben Frequenz liegen, was im Idealfall zur vollständigen Auslöschung der antiphasischen verstärkten Signale führt.

Dies bedeutet, dass man vor dem Zerfall der Hyperpolarisation gar kein detektierbares Signal erwartet. Der Ansatz zum indirekten Hyperpolarisationsnachweis beruht darauf, dass der Zerfall der Hyperpolarisation nicht instantan geschieht. Führt man die Hydrierreaktion von Fumarat zu Succinat unter gleichen Bedingungen einmal mit para-Wasserstoff, einmal mit thermischem Wasserstoff durch, sollte beim Vergleich des Reaktionsumsatzes, aufgetragen gegen die Zeit seit Beginn der Reaktion eine zeitliche Verschiebung der Kurven erkennbar sein. Man erwartet, dass mit thermischem Wasserstoff umgesetztes Fumarat sofort als Succinat sichtbar wird, während mit para-Wasserstoff umgesetztes Fumarat mit einer zeitlichen Verzögerung im Spektrum erscheint, welche mit der Zerfallskonstanten der Hyperpolarisation zusammenhängt.

Succinat ist ein symmetrisches Molekül, wodurch dessen Protonen chemisch und magnetisch äquivalent und damit stark gekoppelt sind. Demnach können die Protonen aus der Hydrierreaktion einen Singulett-Zustand bilden. Die Lebensdauer T_S eines solchen Singulett-Zustandes ist in der Regel höher, als die Lebensdauer T_1 einer Polarisation jenseits des thermischen Gleichgewichts. (vgl. Kapitel 2) Dies erhöht die Erwartung, dass Succinat aus einer Hydrierung mit para-Wasserstoff mit einer detektierbaren zeitlichen Verzögerung im NMR-Spektrum erscheint.

Abbildung 4.18 zeigt das Ergebnis des PASADENA-Experimentes, welches Hyperpolarisation in Succinat auf beschriebenen Wege indirekt nachweisen sollte. Die Reaktion erfolgte durch Hohlfasermembranen, der Aufbau ist in Kapitel 3 beschrieben.

Es konnte in keinem Experiment dieser Art eine deutliche zeitli-

che Verzögerung im Aufbau des Succinatsignals bei einer Reaktion mit para-Wasserstoff, im Vergleich zu einer Reaktion mit thermischem Wasserstoff, nachgewiesen werden. Bei Reaktionszeiten zwischen 0 s und 100 s ist jedoch in Abbildung 4.18 beim Aufbau des Succinatpeaks eine leichte Verzögerung zu erkennen. Diese liegt im Rahmen der Fehler, daher kann man daraus keine Schlüsse über das Reaktionsverhalten ziehen. Dennoch sollte man dies als Hinweis werten und das Experiment wiederholen, wobei man sich stärker auf den Beginn der Reaktion konzentriert. Weiterhin könnte es hilfreich sein, das Experiment mit einem Molekül durchzuführen, das einen bekannten, möglichst langen Singulett-Zustand bildet, um die Messmethode zu optimieren.

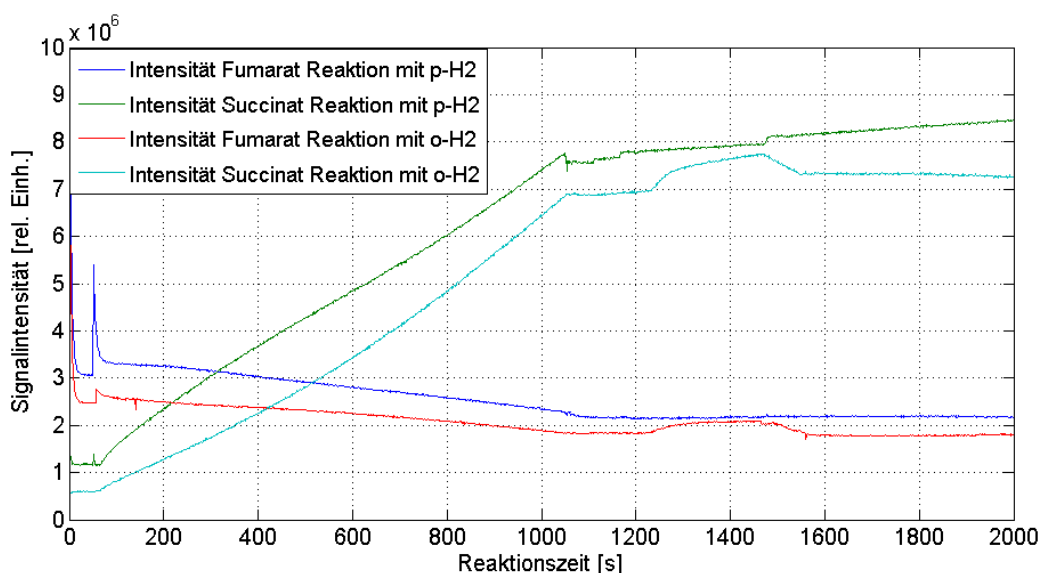


Abbildung 4.18: Intensität der NMR-Signale von Fumarat und Succinat, aufgetragen gegen die Zeit der Messung. Unter gleichen Bedingungen wurde Fumarat im PASADENA-Experiment einmal mit thermischem Wasserstoff und einmal mit para-Wasserstoff zu Succinat hydriert. Jede Sekunde wurde ein Spektrum zur zeitlichen Verfolgung der Reaktion aufgenommen.

4.5 PASADENA Experimente mit $1\text{-}^{13}\text{C}$ -Fumarat

Nachdem der direkte Nachweis para-Wasserstoff induzierter Hyperpolarisation im ALTADENA-Experiment erfolgreich war, wurde die Reaktion $1\text{-}^{13}\text{C}$ -Fumarat zu $1\text{-}^{13}\text{C}$ -Succinat (vgl. Abb. 4.3) im PASADENA-Experiment durchgeführt. (Aufbau und Durchführung für alle PASADENA-Experimente dieser Arbeit s. Abschnitt 3.3. Ziel dieses Experimentes war es hyperpolarisiertes $1\text{-}^{13}\text{C}$ -Succinat kontinuierlich herzustellen und die Dauer der kontinu-

ierlichen Herstellung, sowie den Signal-Verstärkungsfaktor für kontinuierliche Herstellung zu bestimmen.

Leider blieben alle Experimente dieser Art erfolglos. Eine Hyperpolarisation im PASADENA-Experiment konnte nicht nachgewiesen werden. Dieses Kapitel ist deshalb der Eliminierung von Fehlerquellen und der Eingrenzung der physikalischen Ursachen für das Scheitern der Experimente gewidmet.

Fehlerquelle: Breite Spektrallinien

Das PASADENA-Experiment, in dem Aufbau, wie er in Kapitel 3 beschrieben ist, wird mit einem Membranmodul durchgeführt, in dem 20-25 Hohlfasermembranen aus Polypropylen verklebt sind, welche eine Schlaufe bilden, die bis an den Boden des Probenröhrchens reicht. Damit befinden sich Hohlfasermembranen auch in dem Bereich der Probe, wo das NMR-Signal aufgenommen wird, und verursachen dort lokale Unstetigkeiten der magnetischen Suszeptibilität, was die Homogenität des äußeren Magnetfeldes B_0 stört und letztendlich zu einer Linienverbreiterung der Resonanzen im Spektrum führt. Hinzu kommt, dass der Feststoff Polypropylen Protonen enthält, deren Kernspinübergänge während der Spektroskopie mit angeregt werden und im Anschluss unerwünschte Signale aussenden. Das NMR-Signal der Protonen in den Membranen ist hierbei ein sehr flacher und sehr breiter Peak, wie dies für Festkörpersignale typisch ist, aufgrund deutlich kürzerer T_2 Relaxationszeiten als bei Flüssigkeiten. Dieser überlagert sich mit allen anderen aus der Lösung kommenden NMR-Signalen. Der Gesamteffekt ist eine gekrümmte und stark verrauschte Basislinie im Spektrum, sowie stark verbreiterte Spektrallinien. Desweiteren verdrängen die Hohlfasermembranen Flüssigkeit, sodass effektiv im Bereich der NMR-Spule weniger Lösung vorhanden ist, die ein Signal aussenden kann. Das verschlechtert das Signal-Rausch-Verhältnis zusätzlich. Abbildung 4.19 zeigt ein solches Spektrum, welches während der Reaktion von $1\text{-}^{13}\text{C}$ -Fumarat zu $1\text{-}^{13}\text{C}$ -Succinat aufgenommen wurde. Eine Hyperpolarisation ist im Spektrum nicht erkennbar.

Da die Signale der hyperpolarisierten Protonen in $1\text{-}^{13}\text{C}$ -Succinat, aus der Hydrierung mit para-Wasserstoff, dicht beieinander liegen, wie aus dem AL-TADENA-Experiment (Abschnitt 4.3.1) und aus den thermischen hochaufgelösten Spektren (Abb. 4.8 und 4.9) bekannt ist (so dicht, dass sie im thermischen Spektrum nicht unterschieden werden konnten), kam zunächst der Verdacht auf, dass eine Hyperpolarisation vorhanden sein könnte, die hohe Linienbreite aber zu einer vollständigen Auslöschung der antiphasischen hyperpolarisierten Peaks führt.

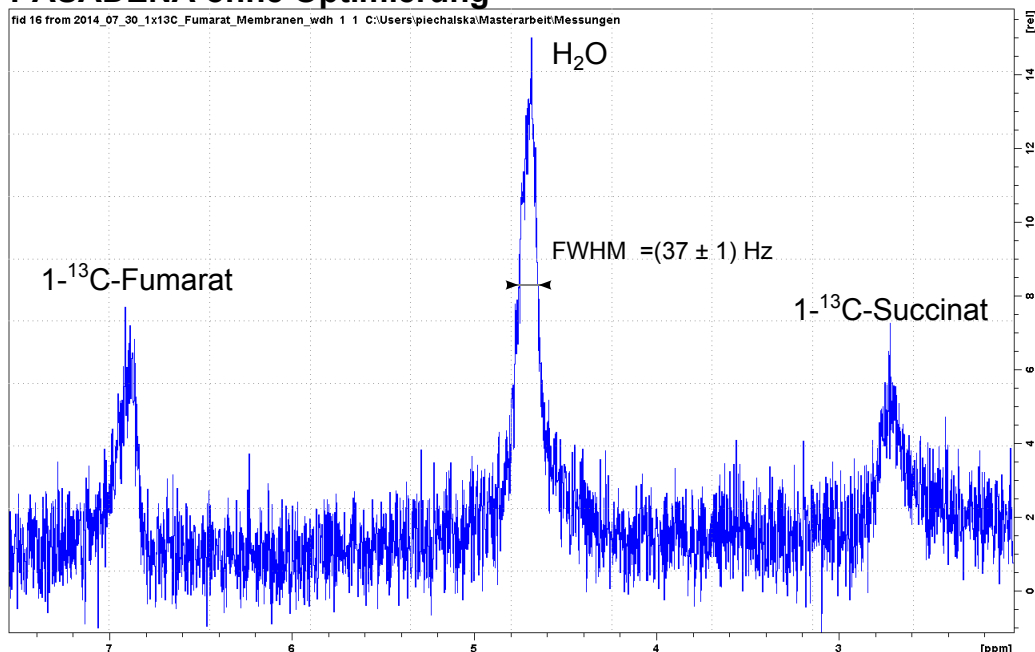
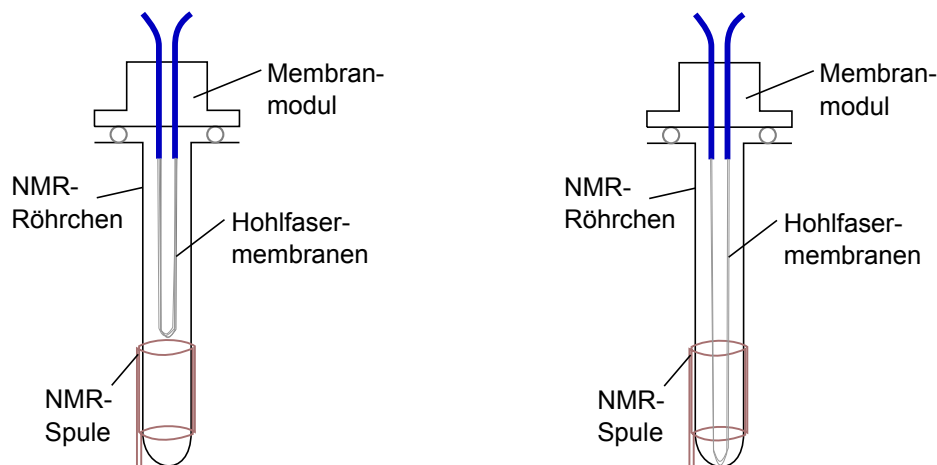
PASADENA ohne Optimierung

Abbildung 4.19: NMR-Spektrum, aufgenommen während der Reaktion $1\text{-}^{13}\text{C}$ -Fumarat zu $1\text{-}^{13}\text{C}$ -Succinat im PASADENA-Experiment mit Standard-Aufbau. Während des Experiments wurde die Probe im Probenkopf auf 80°C geheizt, der $p\text{-H}_2$ -Druck im System betrug 5,2 bar. Auffällig ist die hohe Linienbreite der Spektrallinien von $(37 \pm 1) \text{ Hz}$ und das schlechte Signal-Rausch-Verhältnis. Es ist keine Hyperpolarisation erkennbar.

Um der stark erhöhten Linienbreite entgegenzuwirken, wurden zwei Modelle für ein optimiertes Membranmodul entworfen und gebaut, welche die Störungen, die von den Membranfasern ausgehen, so gering wie möglich halten sollen. Abbildung 4.20 zeigt die zwei Ansätze hierzu. Der Ansatz im linken Bild beruht darauf, dass die Membranfasern verkürzt sind, und damit nicht mehr bis in den unteren Bereich der Probe reichen, der von der NMR-Spule umschlossen wird, wo das Signal aufgenommen wird. Im zweiten Ansatz, im rechten Teil von Abbildung 4.20, ist die Anzahl der im Modul verwendeten Membranfasern von ursprünglich 20-25 auf 8-10 Stück reduziert. Beide Ansätze gehen mit einer Reduzierung der Membranfläche in der Katalysator-Substrat-Lösung, und damit mit einer Verkleinerung der Kontaktfläche zwischen Lösung und para-Wasserstoff einher. Als Folge erwartet man eine Verlangsamung der Reaktion.

Im PASADENA-Experiment mit herkömmlichem Membranmodul (20-25 lange Membranfasern) wurde eine Lösung aus ca. 10 mg wasserlöslichem Kata-

lysator $\text{Rh}(\text{nor})(\text{ppbs})\text{BF}_4$, ca. 70 mg $1\text{-}^{13}\text{C}$ -Fumarat und 2,5 ml D_2O (entspricht einer Katalysatorkonzentration von ca. 2,6 mol%) bei einer Temperatur von konstant 80°C und einem p- H_2 -Druck von 5,2 bar, innerhalb von ca. 7 min vollständig umgesetzt. Eine Reduktion der Reaktionsgeschwindigkeit auf bis zu $\frac{1}{3}$ des ursprünglichen Wertes ist daher nicht hinderlich.



Optimierung: Membranfasern enden oberhalb der NMR-Spule

Optimierung: weniger Membranfasern

Abbildung 4.20: Optimierte Membranmodule zum Minimieren der Störungen, verursacht durch Polypropylen-Membranfasern in der Probe. Links: Ansatz mit verkürzten Membranfasern, welche nicht bis zum Bereich der Probe reichen, wo das Signal aufgenommen wird. Rechts: Ansatz mit nur 8-10 Membranfasern pro Modul (anstatt 20-25).

Abbildung 4.21 zeigt ein NMR-Spektrum, das während der Reaktion $1\text{-}^{13}\text{C}$ -Fumarat zu $1\text{-}^{13}\text{C}$ -Succinat im PASADENA-Experiment mit einem optimiertem Membranmodul mit verkürzten Membranfasern aufgenommen wurde. Auffällig ist die Linienbreite von $(3,5 \pm 0,5) \text{ Hz}$, welche gegenüber dem Standardaufbau $((37 \pm 1) \text{ Hz})$ um eine Größenordnung reduziert ist. Weiterhin ist das Signal-Rausch-Verhältnis deutlich besser als beim Standardaufbau, was unter Anderem daran liegen könnte, dass keine Flüssigkeit im Bereich der NMR-Spule verdrängt wird. Die Basislinie des Spektrums ist gerader. Das Ziel, durch die Optimierung des Membranmoduls eine Verbesserung der Qualität der Spektren zu erreichen, wurde erreicht. Die Zeit bis zum vollständigen Umsatz der Probe ist dafür von ca. 7 min auf ca. 20 min gestiegen, was hinnehmbar ist.

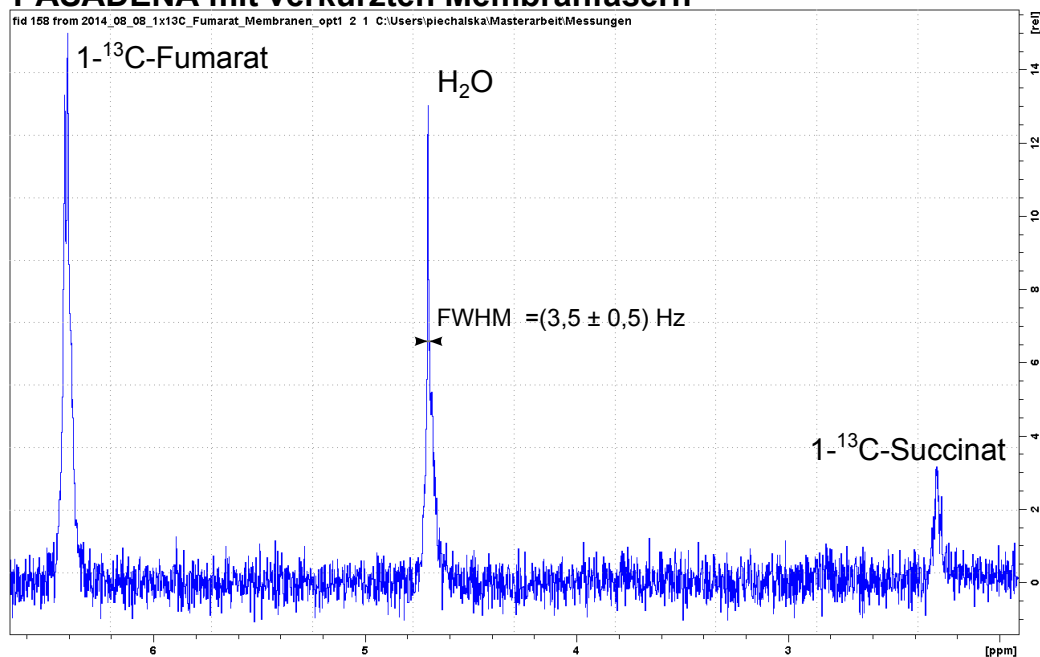
PASADENA mit verkürzten Membranfasern

Abbildung 4.21: NMR-Spektrum, aufgenommen während der Reaktion $1\text{-}^{13}\text{C}$ -Fumarat zu $1\text{-}^{13}\text{C}$ -Succinat im PASADENA-Experiment mit optimiertem Membranmodul mit verkürzten Membranfasern. Während des Experiments wurde die Probe im Probenkopf auf 80°C geheizt, der $p\text{-H}_2$ -Druck im System betrug 5,2 bar. Die Linienbreite der Spektrallinien ist mit $(3,5 \pm 0,5) \text{ Hz}$ deutlich schmäler als beim Standard-Membranmodul, auch das Signal-Rausch-Verhältnis ist stark verbessert. Es ist keine Hyperpolarisation erkennbar.

Ein Nachteil dieses Optimierungsansatzes ist jedoch, dass die bei der Reaktion entstandenen $1\text{-}^{13}\text{C}$ -Succinat Moleküle erst vom Entstehungsort an der Grenzfläche zu einer Membranfaser in den von der NMR-Spule umschlossenen Bereich der Probe diffundieren müssen, um detektiert werden zu können. Das Signal von $1\text{-}^{13}\text{C}$ -Succinat wird dadurch mit einer zeitlichen Verzögerung detektiert. Ist die Lebensdauer der Hyperpolarisation kürzer als die Diffusionszeit in den Bereich der NMR-Spule, zerfällt die Hyperpolarisation bei diesem Aufbau bevor sie detektiert werden kann. Im Experiment lag die Verzögerung, bis das $1\text{-}^{13}\text{C}$ -Succinat nach Beginn der Reaktion im Spektrum sichtbar wurde in der Größenordnung von Sekunden. Eine genaue Bestimmung der Diffusionszeit wurde nicht durchgeführt. Für $1\text{-}^{13}\text{C}$ -Succinat mit $T_1 = (2,9 \pm 0,2) \text{ s}$ ist das optimierte Membranmodul mit verkürzten Membranfasern daher nur bedingt geeignet. Eine Hyperpolarisation konnte in dem

Experiment nicht nachgewiesen werden.

PASADENA mit weniger Membranfasern

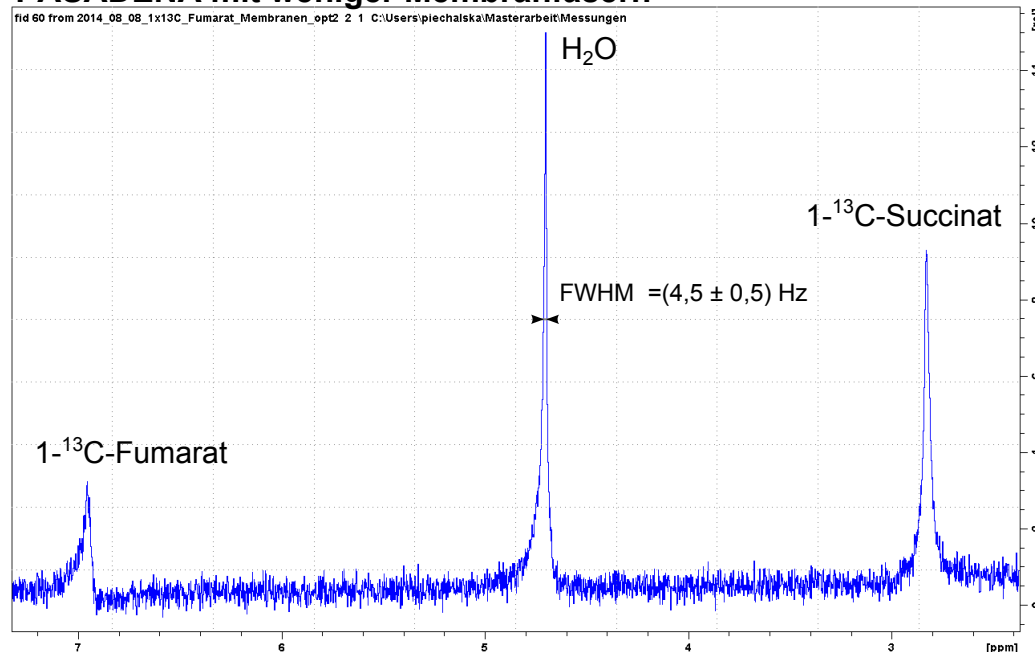


Abbildung 4.22: NMR-Spektrum, aufgenommen während der Reaktion $1\text{-}^{13}\text{C}$ -Fumarat zu $1\text{-}^{13}\text{C}$ -Succinat im PASADENA-Experiment mit optimiertem Membranmodul mit kleinerer Anzahl an Membranfasern (8-10 statt 20-25 Stück). Während des Experiments wurde die Probe im Probenkopf auf 80°C geheizt, der $p\text{-H}_2$ -Druck im System betrug 5,2 bar. Die Linienbreite der Spektrallinien ist mit $(4,5 \pm 0,5) \text{ Hz}$ deutlich schmaler als beim Standard-Membranmodul, auch das Signal-Rausch-Verhältnis ist stark verbessert. Es ist keine Hyperpolarisation erkennbar.

In Abbildung 4.22 ist ein NMR-Spektrum zu sehen, das während der Reaktion $1\text{-}^{13}\text{C}$ -Fumarat zu $1\text{-}^{13}\text{C}$ -Succinat im PASADENA-Experiment mit einem optimiertem Membranmodul mit einer kleineren Anzahl Membranfasern aufgenommen wurde. Die Spektrallinienbreite ist hier mit $(4,5 \pm 0,5) \text{ Hz}$ geringfügig höher als beim Optimierungsansatz mit verkürzten Membranfasern, liegt aber trotzdem eine Größenordnung unter der Linienbreite beim Experiment mit herkömmlichem Membranmodul. Die Basislinie ist geringfügig stärker gekrümmt, als beim Optimierungsansatz mit gekürzten Membranfasern, was daran liegt, dass das Festkörpersignal der Membranfasern hier im Bereich der Spule liegt. Das Signal-Rausch-Verhältnis ist bei beiden Optimierungsansätzen vergleichbar. Insgesamt kann man auch für den Optimierungsansatz der Reduzierung der Anzahl an Membranfasern feststellen,

dass das Ziel, die Qualität der Spektren zu verbessern, erreicht wurde. Da die Membranfasern bis ans Ende des NMR-Röhrchens reichen, entfällt hier der Nachteil, dass frisch entstandene $1\text{-}^{13}\text{C}$ -Succinat Moleküle an einen anderen Ort diffundieren müssen um detektiert zu werden. Bei diesem Optimierungsansatz kann die Detektion des Reaktionsumsatzes ohne Verzögerung erfolgen, was ihn für einen Hyperpolarisationsnachweis in $1\text{-}^{13}\text{C}$ -Succinat geeigneter macht, als den Ansatz der verkürzten Membranfasern. Eine Hyperpolarisation konnte in dem Experiment dennoch nicht nachgewiesen werden.

Mit keinem der zwei Membranmodul-Optimierungsansätze konnte eine Hyperpolarisation auf $1\text{-}^{13}\text{C}$ -Succinat direkt detektiert werden. Bei der ersten Entdeckung von para-Wasserstoff induzierter Hyperpolarisation auf $1\text{-}^{13}\text{C}$ -Succinat im ALTADENA-Experiment betrug die Linienbreite $(7,4 \pm 0,5) \text{ Hz}$. Im PASADENA-Experiment erwartet man im Gegensatz zum ALTADENA-Experiment vier antiphasische hyperpolarisierte Peaks anstatt zweier. Als grobe Abschätzung kann man annehmen, dass die maximale Spektrallinienbreite, die einen direkten Hyperpolarisationsnachweis im PASADENA-Experiment ermöglicht, halb so groß ist, wie die maximale Linienbreite für einen direkten Hyperpolarisationsnachweis im ALTADENA-Experiment. Nach Optimierung der Membranmodule betragen die Linienbreiten in den PASADENA-Experimenten $(3,5 \pm 0,5) \text{ Hz}$ und $(4,5 \pm 0,5) \text{ Hz}$. Zu hohe Spektrallinienbreite als Ursache für sich auslöschende hyperpolarisierte antiphasische Signale und eine dadurch nicht messbare Hyperpolarisation kann damit zwar nicht vollständig, aber weitgehend ausgeschlossen werden.

Fehlerquelle: Luft / Sauerstoff im Aufbau

Die Versuchsvorbereitung und -durchführung, wie sie in Kapitel 3 beschrieben ist, sieht nicht vor, dass die Membranmodule im Handschuhkasten, unter Schutzatmosphäre in das Probenröhrchen eingesetzt werden. (vgl. Abb. 3.5). Beim Einsetzen der Membranmodule kann somit Luft und damit Sauerstoff in das Probenröhrchen gelangen. Aus anderen Experimenten auf dem Gebiet [3] ist bekannt, dass Sauerstoffmoleküle als paramagnetische Zentren die Spinordnung von para-Wasserstoff oder auch von intramolekularen Singulett-Zuständen beeinflussen können. Die Wirkungsweise ist dieselbe, wie die von Aktivkohle bei der Herstellung von para-Wasserstoff. Zusätzlich kann Sauerstoff die Funktionsweise von Rhodium-basierten Katalysatoren stören. Um diese Fehlerquellen auszuschließen wurde die Versuchsvorbereitung um das Einsetzen der Membranmodule unter Schutzatmosphäre modifiziert, und die Prozedur zum Spülen aller Schläuche des Aufbaus mit Stickstoff optimiert, siehe Abbildung 4.23.

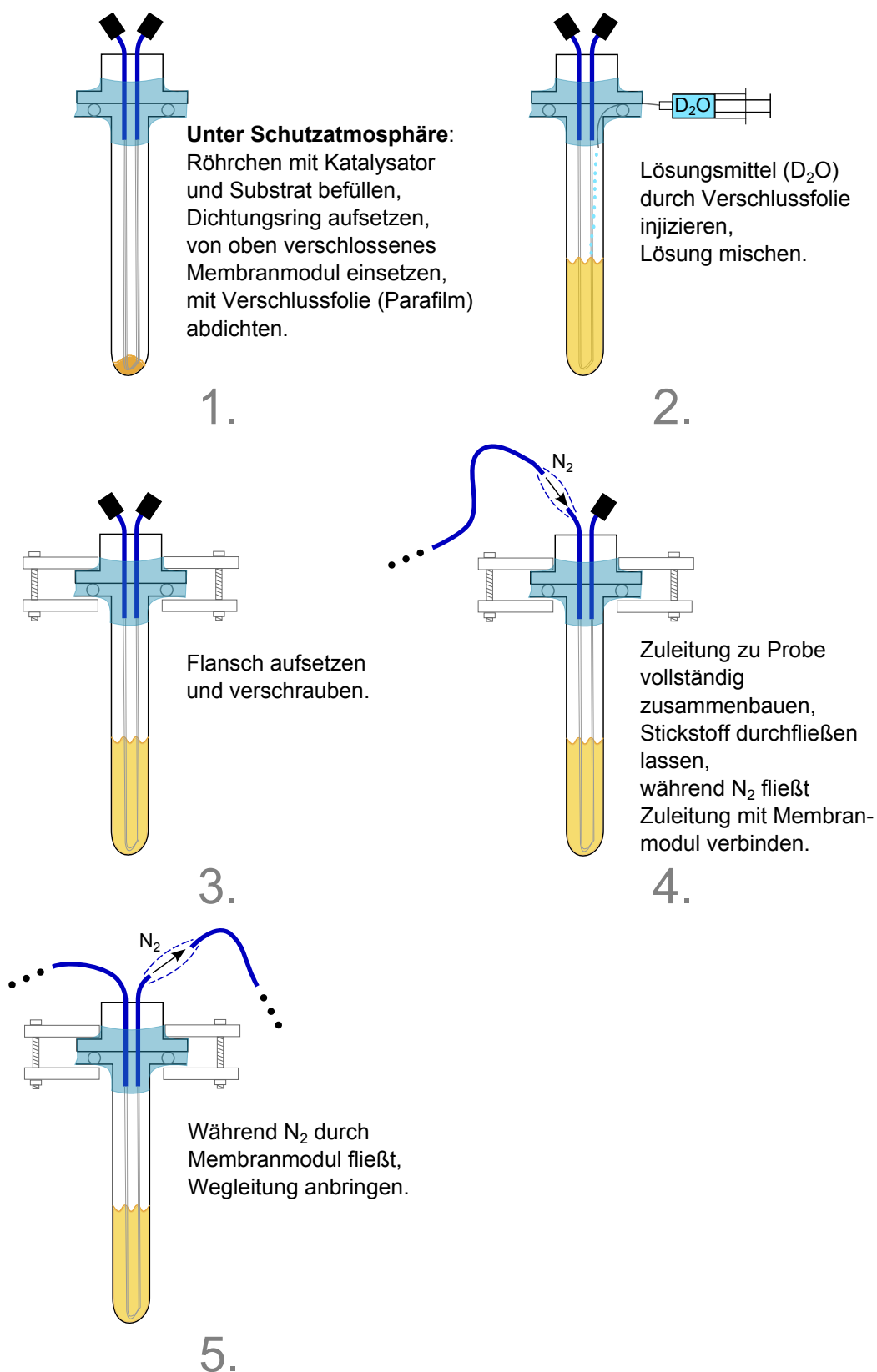


Abbildung 4.23: Optimierte Versuchsvorbereitung eines PASADENA-Experimentes, zum Ausschluss von Luft/Sauerstoff aus dem Versuchsaufbau.

Auch bei Hinzunahme der optimierten Versuchsvorbereitung konnte keine para-Wasserstoff induzierte Hyperpolarisation auf $1\text{-}^{13}\text{C}$ -Succinat nachgewiesen werden. NMR-Spektren, die dies belegen befinden sich in Anhang A.2, Abb. A.2 und A.3.

Fehlerquelle: Material der Membranen

Um auszuschließen, dass Polypropylen, das Material der Membran-Hohlfasern, einen Einfluss auf die Hyperpolarisation von $1\text{-}^{13}\text{C}$ -Succinat hat, wurde ein ALTADENA-Schüttelexperiment, wie in Abschnitt 4.3.1, durchgeführt, bei dem lose Membranfasern in die Lösung aus $1\text{-}^{13}\text{C}$ -Fumarat (Substrat), Katalysator $Rh(nor)(ppbs)BF_4$ und D_2O gelegt wurden. Es konnte ein hyperpolarisiertes ALTADENA-Signal beobachtet werden (s. Anhang A.2, Abb. A.4), wodurch ausgeschlossen werden kann, dass Polypropylen einen Einfluss auf die Hyperpolarisation in $1\text{-}^{13}\text{C}$ -Succinat hat.

In früheren Experimenten mit 2-Hydroxyethylacrylat als Substrat wurde bereits ein hyperpolarisiertes PASADENA-Signal bei Anwendung der gleichen Membranfasern (Celgard X50) beobachtet. [10, 4] Damit ist ausgeschlossen, dass Polypropylen einen Einfluss auf die Spinordnung von para-Wasserstoff hat.

Polypropylen, das Material der Hohlfasermembranen Celgard X50 stellt keine Fehlerquelle dar.

Zwischenfazit: Eingrenzung der Ursachen

Für einen konsequent negativen Ausgang (kein Hyperpolarisationsnachweis) der PASADENA-Experimente mit $1\text{-}^{13}\text{C}$ -Fumarat als Substrat kann es drei Klassen von Ursachen geben:

1. *Es ist keine Hyperpolarisation auf $1\text{-}^{13}\text{C}$ -Succinat vorhanden.*
Das wäre möglich, falls entweder die paarweise Hydrierreaktion nicht funktioniert, was mit einem Hyperpolarisationsnachweis in den ALTADENA-Experimenten in Abschnitt 4.3 ausgeschlossen wurde, oder, falls eine Fehlerquelle im PASADENA-Aufbau die Spinordnung von $p\text{-H}_2$ oder von hyperpolarisiertem $1\text{-}^{13}\text{C}$ -Succinat stört, was in diesem Abschnitt ausgeschlossen wurde. Damit ist diese Ursachenklasse vollständig ausgeschlossen.
2. *Antiphasische hyperpolarisierte PASADENA-Signale heben sich auf.*
Diese Ursache konnte mit einer Schmälerung der Spektrallinienbreite durch Aufbauoptimierung, beschrieben in diesem Abschnitt, weitgehend ausgeschlossen werden, bleibt also möglich aber sehr unwahrscheinlich.

3. *Hyperpolarisiertes 1-¹³C-Succinat bildet einen Singulett-Zustand.*

Diese Ursache ist am wahrscheinlichsten, da die hyperpolarisierten Protonen in 1-¹³C-Succinat stark gekoppelt sind. Dies stünde nicht im Widerspruch zum Hyperpolarisationsnachweis in ALTADENA-Experimenten (Abschnitt 4.3), da im ALTADENA-Experiment eine Polarisationsübertragung auf einen sichtbaren Triplett-Zustand mittels sog. „Level-Anticrossing“ stattgefunden haben kann. [1, 13]

Weitere Ursacheneingrenzung mithilfe PH-INEPT+ Sequenz

PH-INEPT+ ist eine NMR-Pulssequenz, welche dazu dient para-Wasserstoff induzierte Hyperpolarisation von Protonen auf ¹³C zu übertragen. [16, 5, 4](vgl. Kapitel 3) Eine Eigenschaft der PH-INEPT+ Sequenz ist es, dass die antiphase Natur von para-Wasserstoff induzierter Hyperpolarisation bei der Übertragung auf ¹³C verloren geht. Dies bedeutet, dass falls in 1-¹³C-Succinat die Problematik sich aufhebender antiphase hyperpolarisierter Peaks vorliegt, diese nach der Übertragung auf ¹³C mittels PH-INEPT+ verschwindet. Nach der Polarisationsübertragung wäre in dem Fall ein einzelner signalverstärkter Peak sichtbar. Weiterhin kann die PH-INEPT+ Sequenz keine Singulett-Zustände brechen und auch keine Hyperpolarisation übertragen, welche in einem Singulett-Zustand gespeichert ist. Liegt in 1-¹³C-Succinat ein für NMR unsichtbarer hyperpolarisierter Singulett-Zustand vor, so wird nach der Polarisationsübertragung mittels PH-INEPT+ ebenfalls keine Hyperpolarisation auf ¹³C sichtbar sein.

Abbildung 4.24 zeigt ein ¹³C-NMR-Spektrum, aufgenommen nach einer PH-INEPT+ Sequenz während der Reaktion 1-¹³C-Fumarat zu 1-¹³C-Succinat im PASADENA-Experiment (oben). Außerdem ist ein Spektrum nach einer PH-INEPT+ Sequenz auf 1-¹³C-Fumarat abgebildet, aufgenommen vor Beginn der Reaktion (mitte) und ein thermisches Referenzspektrum von 1-¹³C-Fumarat, welches vor allen anderen aufgenommen wurde (unten). Im PH-INEPT+ Spektrum, welches während der Reaktion aufgenommen wurde ist der Peak von 1-¹³C-Succinat kaum vom Rauschen unterscheidbar. Damit ist keine Hyperpolarisation erkennbar und die Ursache sich aufhebender hyperpolarisierter Peaks im Protonenspektrum kann ausgeschlossen werden.

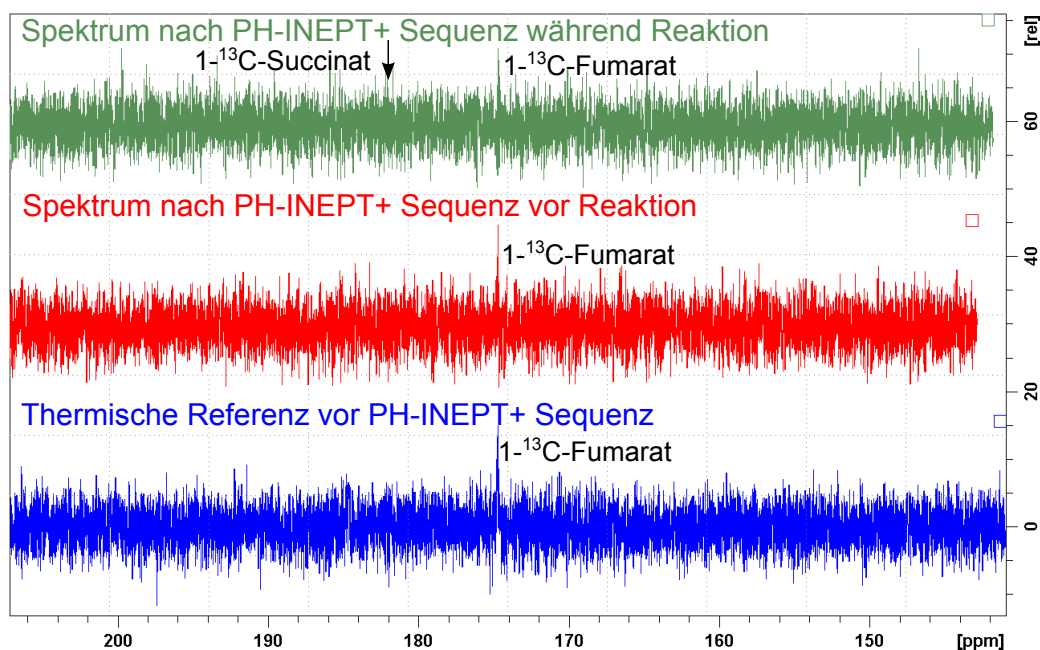


Abbildung 4.24: Unten: Thermisches Referenzspektrum, von $1\text{-}^{13}\text{C}$ -Fumarat vor Beginn der $1\text{-}^{13}\text{C}$ -Fumarat zu $1\text{-}^{13}\text{C}$ -Succinat Reaktion. Mitte: Spektrum von $1\text{-}^{13}\text{C}$ -Fumarat, aufgenommen nach PH-INEPT+ Sequenz vor Beginn der Reaktion. Oben: Spektrum von $1\text{-}^{13}\text{C}$ -Fumarat und $1\text{-}^{13}\text{C}$ -Succinat, aufgenommen nach PH-INEPT+ Sequenz während der Reaktion im PASADENA-Experiment, Peak von $1\text{-}^{13}\text{C}$ -Succinat nicht erkennbar, keine Hyperpolarisation nachweisbar. Während des Experiments wurde die Probe im Probenkopf auf 80°C geheizt, der $p\text{-H}_2$ -Druck im System betrug 4,85 bar.

Fazit

Alles in allem bleibt die Option, dass $1\text{-}^{13}\text{C}$ -Succinat einen nicht mittels NMR detekierbaren Singulett-Zustand bildet, als wahrscheinlichste Erklärung für die Beobachtungen dieses Abschnitts übrig. Falls ein Singulett-Zustand der Protonen in $1\text{-}^{13}\text{C}$ -Succinat existiert, deuten die Beobachtungen darauf hin, dass dieser sehr kurzlebig sein muss und nicht wesentlich länger, als das native T_1 der Protonen sein kann. So ließe sich die Abwesenheit von sichtbarer Hyperpolarisation im PASADENA-Experiment erklären, bei gleichzeitig nur unwesentlicher zeitlicher Verzögerung im Auftauchen des $1\text{-}^{13}\text{C}$ -Succinat Peaks, gegenüber dem Abbau des $1\text{-}^{13}\text{C}$ -Fumarat Peaks im Spektrum. Final bewiesen konnte ein Singulett-Zustand auf $1\text{-}^{13}\text{C}$ -Succinat im Rahmen dieser Arbeit jedoch nicht. Um dies zu erreichen ist eine Wiederholung des PASADENA-Experimentes mit para-Wasserstoff und ortho-Wasserstoff mit

besserer Zeitauflösung nötig, sowie Simulationen des Spinsystems zum genaueren Verständnis der Vorgänge, die an den durchgeführten Experimenten beteiligt sind. Sollte dies erreicht werden, muss anschließend nach einer geeigneten Methode gesucht werden, den Singulett-Zustand auf $1\text{-}^{13}\text{C}$ -Succinat direkt nachzuweisen. Weiterhin bleibt die Frage interessant, wodurch genau der Arbeitsgruppe von Prof. Daniel P. Weitekamp ein Nachweis von Hyperpolarisation auf deuterierter $1\text{-}^{13}\text{C}$ -Bernsteinsäure im PASADENA-Experiment gelungen ist. [2]

Kapitel 5

Hyperpolarisiertes Fumarat

In diesem Kapitel soll untersucht werden, ob eine para-Wasserstoff induzierte Hyperpolarisation des Moleküls Fumarat (Fumarsäure Dinatriumsalz) möglich ist. Damit soll getestet werden, ob Fumarat prinzipiell geeignet ist, als hyperpolarisiertes metabolisches Kontrastmittel eingesetzt zu werden.

Analog zu Succinat soll hyperpolarisiertes Fumarat durch eine paarweise Hydrierung von Acetylendicarboxylat (Acetylendicarbonsäure Dinatriumsalz) mit para-Wasserstoff hergestellt werden. Abbildung 5.1 zeigt die dazugehörige Reaktionsgleichung.

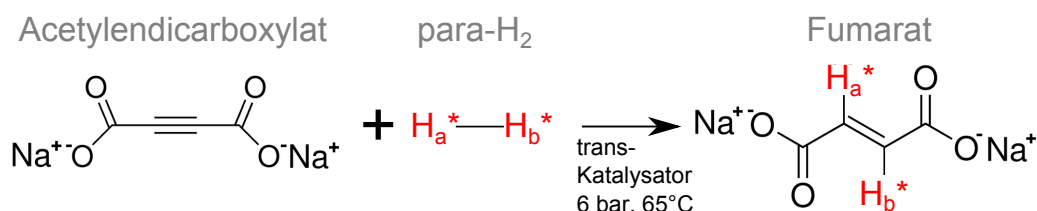


Abbildung 5.1: Reaktionsgleichung: paarweise trans-Hydrierung von Acetylendicarboxylat mit para-Wasserstoff, Herstellung von hyperpolarisiertem Fumarat

Im Gegensatz zur Reaktion Fumarat zu Succinat, gibt es bei dieser Reaktion mehrere Hindernisse im Hinblick auf eine medizinische Anwendung. Der erste Nachteil ist, dass Acetylendicarboxylat toxisch ist. Für eine spätere medizinische Anwendung ist es daher sehr wichtig, dass die gesamte Probe zu Fumarat durchreagiert, bevor man sie dem Patienten injiziert. Eine weitere potentielle Gefahr für den Patienten besteht, wenn der Katalysator nicht vollständig in trans-Stellung hydriert. Geht bei der Katalyse etwas schief, besteht die Gefahr, dass die Protonen in cis-Stellung angebracht werden, was chemisch gesehen ein einfacherer Prozess ist als die trans-Katalyse. In diesem

Fall würde als Reaktionsprodukt toxisches Maleat (Maleinsäure Dinatriumsalz) entstehen. (vgl. Abbildung 3.2) Für eine medizinische Anwendung wäre für die Reaktion Acetylendicarboxylat zu Fumarat daher ein sehr zuverlässiger Katalysator nötig, oder eine ähnlich zuverlässige Methode Acetylendicarboxylat und Maleat vor der Injektion aus der Lösung zu entfernen, ohne die Hyperpolarisation von Fumarat zu zerstören.

Ein weiterer Nachteil ist, dass kein wasserlöslicher trans-Katalysator bekannt ist. Die aus der Literatur bekannten trans-Katalysatoren sind löslich in Methanol, Dichlormethan oder Aceton, Lösungsmittel, welche für den menschlichen Körper toxisch sind. [18] Aus diesem Grund, sowie aus dem Grund, dass Acetylendicarboxylat sich nur in Wasser in signifikanten Mengen lösen lässt, was Voraussetzung für Experimente mit der Hydrierreaktion aus Abb. 5.1 ist, bilden Tests zweier aus der Literatur bekannter trans-Katalysatoren auf Löslichkeit und Funktionalität in verschiedenen Lösungsmitteln und Lösungsmittelgemischen einen essenziellen Teil dieses Kapitels (Abschnitt 5.1).

Der große Vorteil, für den es sich lohnt nach Lösungen für die genannten Hindernisse zu suchen, ist die deutlich höhere T_1 -Zeit von Fumarat von ca. 12 s für Protonen (vgl. Abb. 4.4 und 4.6), sowie die Struktur mit Doppelbindung, welche, zusammen mit der langen T_1 -Zeit, deutlich höhere Chancen auf die Existenz eines langlebigen hyperpolarisierten Singulett-Zustandes liefert, als die Struktur von Succinat. [21] Die große Nützlichkeit von langlebigen hyperpolarisierten Singulett-Zuständen für die medizinische Anwendung wurde in Kapitel 1 erläutert. [5]

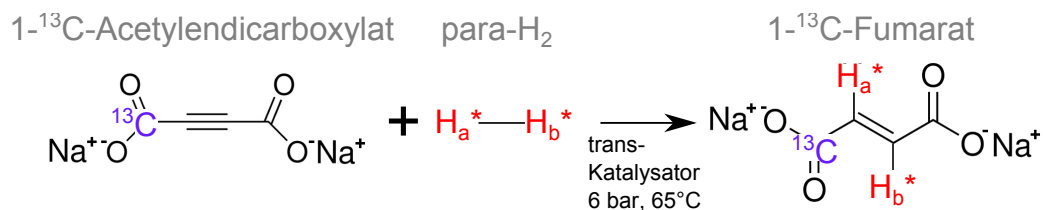


Abbildung 5.2: Reaktionsgleichung: paarweise trans-Hydrierung von 1- ^{13}C -Acetylendicarboxylat mit para-Wasserstoff, Herstellung von hyperpolarisiertem 1- ^{13}C -Fumarat

Beim direkten Nachweis von para-Wasserstoff induzierter Hyperpolarisation in Fumarat, stößt man auf das Problem, dass alle Protonen von Fumarat chemisch und magnetisch äquivalent sind, und die antiphasischen Signale der hyperpolarisierten Protonen sich gegenseitig aufheben, das gleiche Problem wie im Fall von Succinat. Für den direkten Nachweis von para-Wasserstoff induzierter Hyperpolarisation auf Fumarat wurde die gleiche Methode ge-

wählt wie im Fall von Succinat, eine ^{13}C Markierung auf Position 1. Die Reaktionsgleichung hierzu ist in Abbildung 5.2 zu sehen.

5.1 Suche nach geeignetem trans-Katalysator

Auf dem Forschungsfeld der para-Wasserstoff induzierten Polarisation (PHIP) gibt es noch keinen gut etablierten Katalysator für eine paarweise Hydrierung in trans-Stellung. Aus diesem Grund konnte die Herstellung von hyperpolarisiertem Fumarat nicht auf Erfahrungen anderer Forschungsgruppen gestützt werden, sondern es waren eigene Untersuchungen nötig, um einen geeigneten Katalysator und geeignete Reaktionsbedingungen für diese spezielle Reaktion zu finden. Die Arbeitsgruppe von Prof. Alois Fürstner am Max-Planck-Institut für Kohlenforschung in Mühlheim publizierte 2013 die Entdeckung von vier Ruthenium-basierten Katalysatoren für eine trans-Hydrierung von Alkinen und bestätigte mittels para-Wasserstoff induzierter Hyperpolarisation, dass diese paarweise arbeiten. [18] Zwei der vier publizierten Katalysatoren, $\text{Cp}^*\text{Ru}(\text{cod})\text{Cl}$ und $[\text{Cp}^*\text{Ru}(\text{MeCN})_3]\text{PF}_6$, s. Abbildungen 5.3 und 5.4, wurden im Rahmen der Arbeit detaillierter auf ihre Eignung als PHIP-Katalysator für die Hydrierung von Acetylendicarboxylat untersucht.

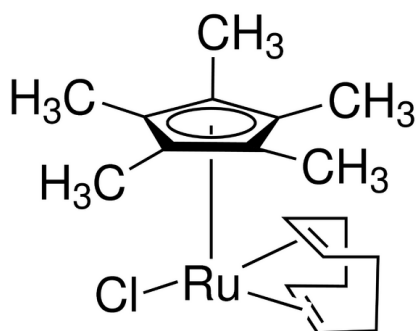


Abbildung 5.3: Katalysator *Chloro(pentamethylcyclopentadienyl)(cyclooctadiene)ruthenium(II)* ($\text{Cp}^*\text{Ru}(\text{cod})\text{Cl}$) für paarweise trans-Hydrierung von Alkinen.

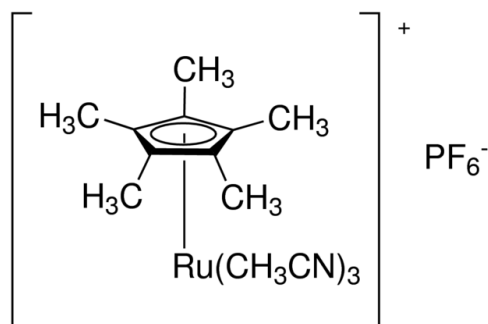


Abbildung 5.4: Katalysator *Pentamethylcyclopentadienyltris(acetonitrile)ruthenium(II) hexafluorophosphate* ($[\text{Cp}^*\text{Ru}(\text{MeCN})_3]\text{PF}_6$) für paarweise trans-Hydrierung von Alkinen.

Die wichtigsten Anforderungen für einen PHIP-Katalysator sind in Abschnitt 3.2 genannt.

Dass die Punkte 1. und 2. erfüllt sind, haben die Entdecker bereits nachgewiesen. [18] Unbekannt war das Verhalten der Katalysatoren die Punkte 3. und 4. betreffend. Es war unbekannt in welchen Lösungsmitteln, außer der im Paper genannten, die Katalysatoren noch funktionieren können, sowie wie schnell das für diese Katalysatoren noch nicht getestete Substrat Acetylendicarboxylat umgesetzt wird.

Um dies zu erfahren und um zu überprüfen, zu welchem Anteil die Katalysatoren Acetylendicarboxylat in trans-Stellung hydrieren, wurde ein Experiment durchgeführt, das in Aufbau und Durchführung dem Experiment der Konzentrationsreihe des wasserlöslichen Katalysators in Abschnitt 4.2 fast gleicht. Statt jedoch die Katalysatorkonzentration zu variieren, wurde für jeden der Katalysatoren das Mittel der Konzentrationen verwendet, welche die Entdecker für diesen benutzt haben. Für $Cp^*Ru(cod)Cl$ beträgt diese Konzentration 4,2 mol% und für $[Cp^*Ru(MeCN)_3]PF_6$ 13,4 mol%. Variiert wurde das Lösungsmittel. Verwendet wurden hierbei Aceton und Methanol, welche laut Publikation [18] geeignet sind, sowie, aus Neugier, Ethanol, ein für den Menschen deutlich weniger toxisches Lösungsmittel. Alle Lösungsmittel wurden in deuterierter Form verwendet, um später die Ergebnisse mittels NMR-Spektroskopie analysieren zu können. Da man das Ziel hatte, die Katalysatoren im Erfolgsfall auf 1- ^{13}C -Acetylendicarboxylat als Substrat anzuwenden, wurden auch 1:1-Gemische der genannten Lösungsmittel mit D_2O getestet. Aus im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Löslichkeitstests war bekannt, dass man alle drei Lösungsmittel mindestens im Verhältnis 1:1 mit Wasser mischen muss um Acetylendicarboxylat, sowie die möglichen Reaktionsprodukte Fumarat und Maleat, in einer Konzentration darin lösen zu können, die unter NMR-Spektroskopie gut sichtbar ist.

Ein weiterer Unterschied zu Abschnitt 4.2 war, dass die Proben für 90 s, anstatt für 30 s, in den Vortexmischer gehalten wurden, da bereits beobachtet wurde, dass die Katalysatoren langsamer arbeiten als der wasserlösliche Katalysator $Rh(nor)(ppbs)BF_4$. Ebenfalls betrug die Temperatur des Wasserbades $65^\circ C$ statt $80^\circ C$, aufgrund der niedrigeren Siedetemperatur der Lösungsmittel.

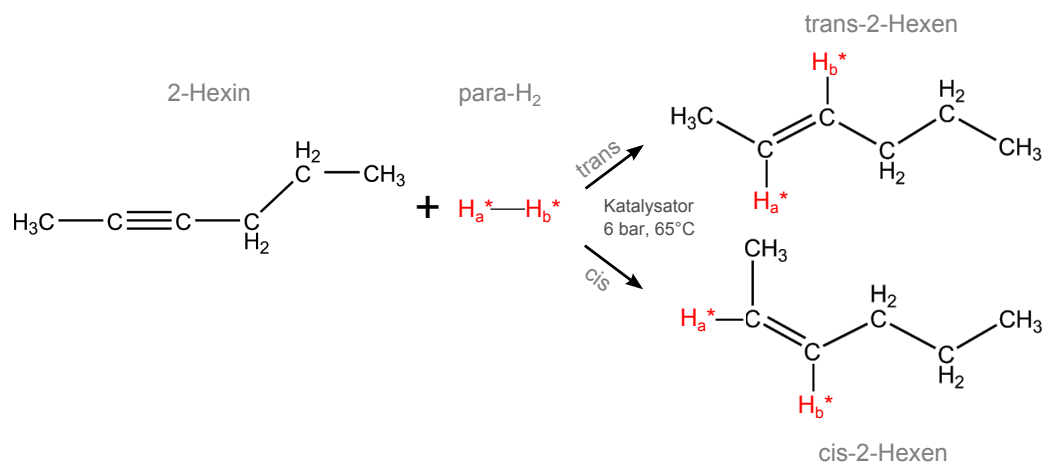


Abbildung 5.5: Reaktionsgleichung: paarweise cis- und trans-Hydrierung von 2-Hexin mit para-Wasserstoff, Herstellung von hyperpolarisiertem cis- bzw. trans-2-Hexen.

Als Substrat für die Tests wurde das Molekül 2-Hexin verwendet. Aus früheren Experimenten ist bekannt, dass Hexin (insbesondere 1-Hexin) ein geeignetes Testmolekül für para-Wasserstoff induzierte Hyperpolarisation ist, da es schnell paarweise umgesetzt wird, gut sichtbare hyperpolarisierte Signale liefert und relativ robust ist gegen suboptimale Reaktionsbedingungen. [9, 8, 4] 1-Hexin zu benutzen, wäre für dieses Experiment nicht sinnvoll, da es für das Reaktionsprodukt 1-Hexen keinen Unterschied zwischen cis- und trans-Stellung der Protonen aus der Hydrierung gibt. Für 2-Hexin hingegen sind die möglichen Reaktionsprodukte cis-2-Hexen und trans-2-Hexen unterschiedlich. Die Reaktionsgleichungen hierzu sind in Abbildung 5.5 gezeigt.

Um die beteiligten Testmoleküle 2-Hexin, cis-2-Hexen und trans-2-Hexen im Ergebnis des Experimentes unterscheiden zu können, mussten zunächst deren thermische NMR-Spektren verstanden werden. Für das Lösungsmittel Aceton folgt nun eine steckbriefartige Auflösung der thermischen NMR-Spektren (Abb. 5.6 bis 5.11).

2-Hexin

Lösungsmittel: Aceton d6

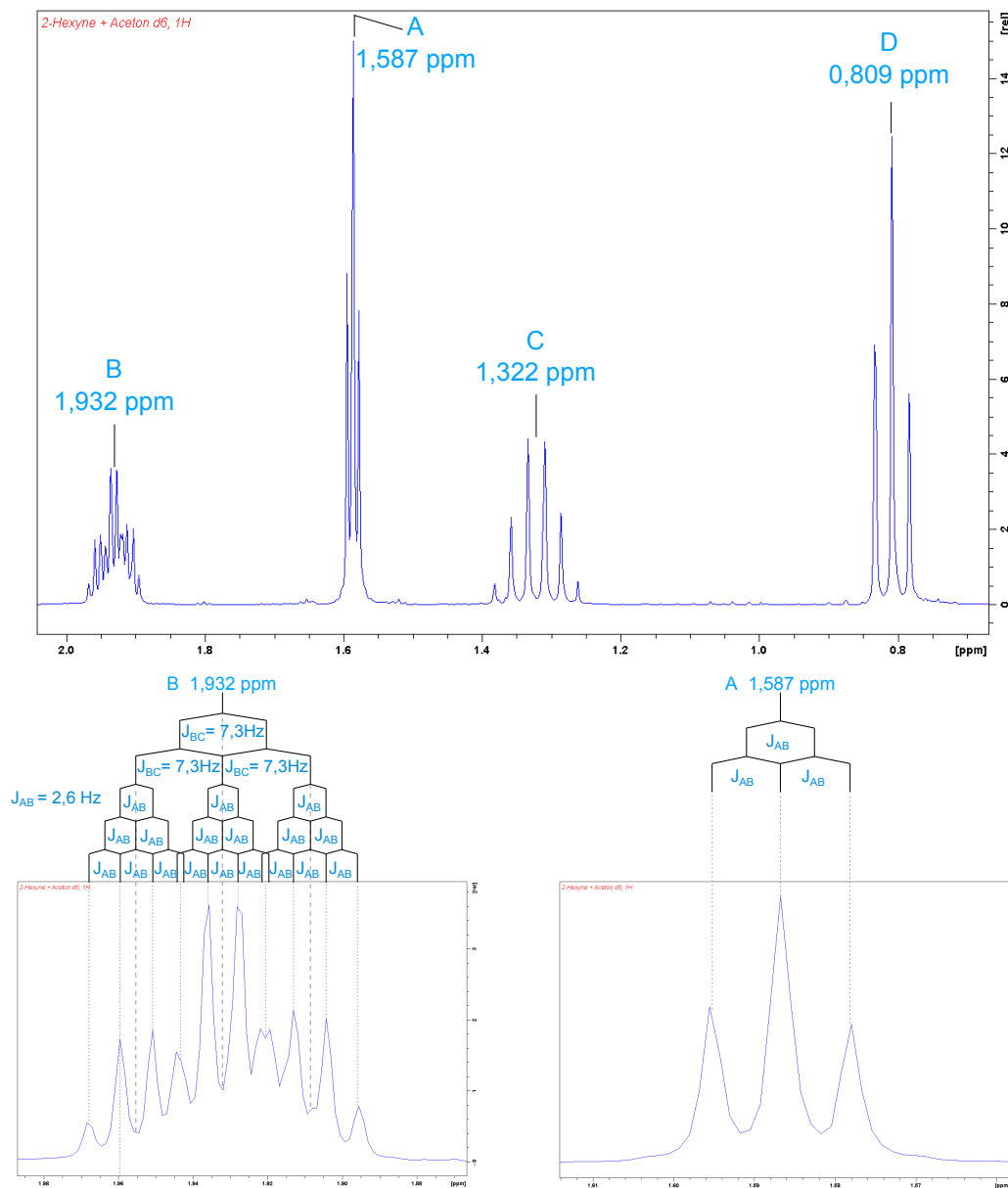
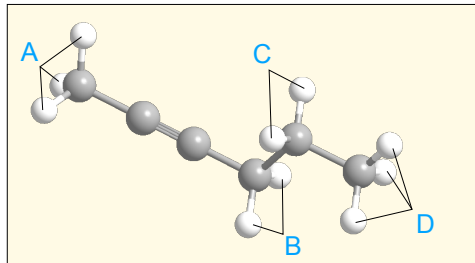
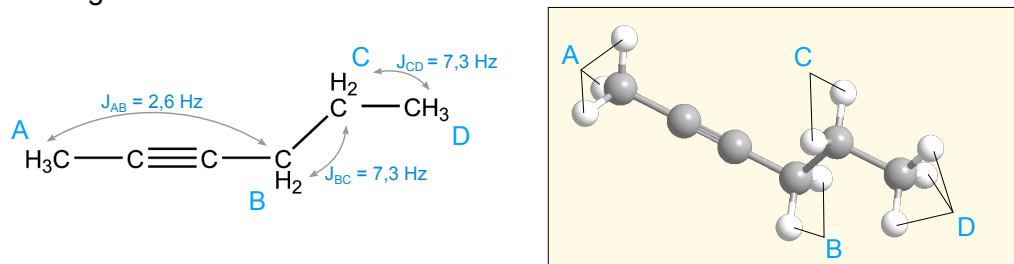


Abbildung 5.6: Auflösung des thermischen NMR-Spektrums von 2-Hexin gelöst in Aceton, aufgenommen bei 7 T (Betriebsfrequenz: 300 MHz). Mit einem Buchstaben gekennzeichnete Protonen sind chemisch und magnetisch äquivalent. (Teil 1)

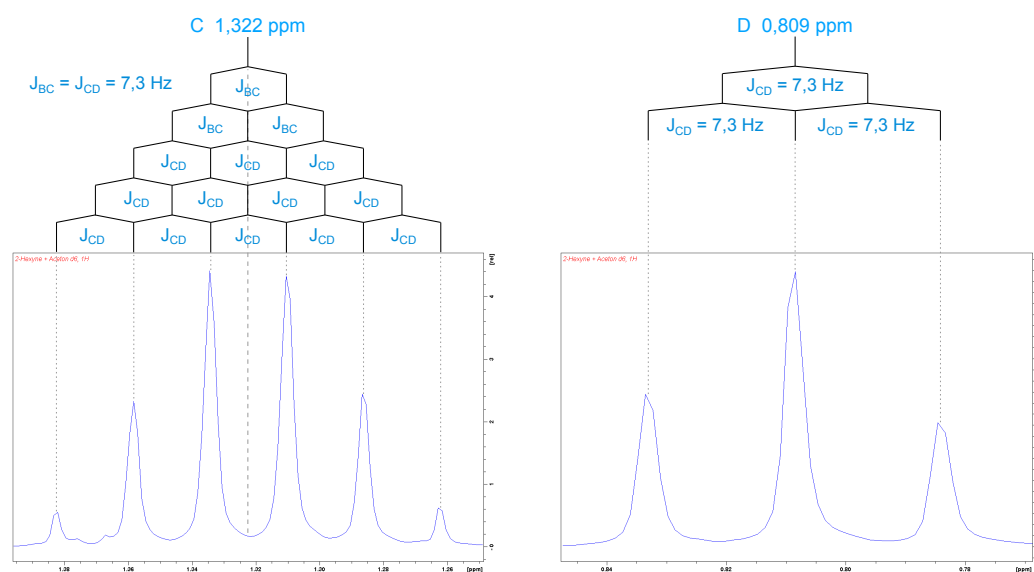


Abbildung 5.7: Auflösung des thermischen NMR-Spektrums von 2-Hexin gelöst in Aceton, aufgenommen bei 7 T (Betriebsfrequenz: 300 MHz). Mit einem Buchstaben gekennzeichnete Protonen sind chemisch und magnetisch äquivalent. (Teil 2)

Protonen	chemische Verschiebung
A	$(1,587 \pm 0,001)$ ppm
B	$(1,932 \pm 0,001)$ ppm
C	$(1,322 \pm 0,001)$ ppm
D	$(0,809 \pm 0,001)$ ppm

Tabelle 5.1: Chemische Verschiebungen der Protonen in 2-Hexin tabellarisch mit Fehlern.

	A	B	C	D
A	–	$(2,6 \pm 0,1)$ Hz		
B		–	$(7,3 \pm 0,1)$ Hz	
C			–	$(7,3 \pm 0,1)$ Hz
D				–

Tabelle 5.2: J-Kopplungen der Protonen in 2-Hexin tabellarisch mit Fehlern.

trans-2-Hexen

Lösungsmittel: Aceton d6

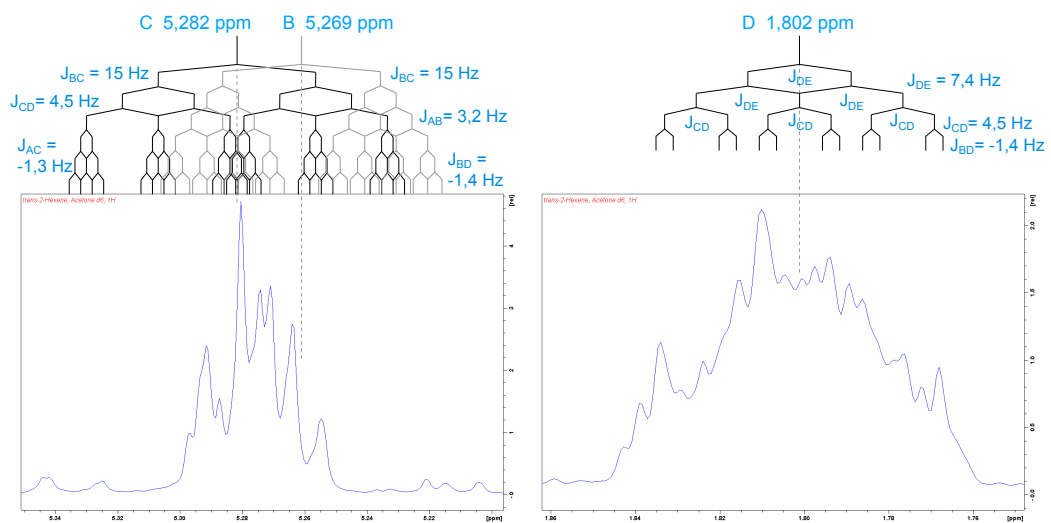
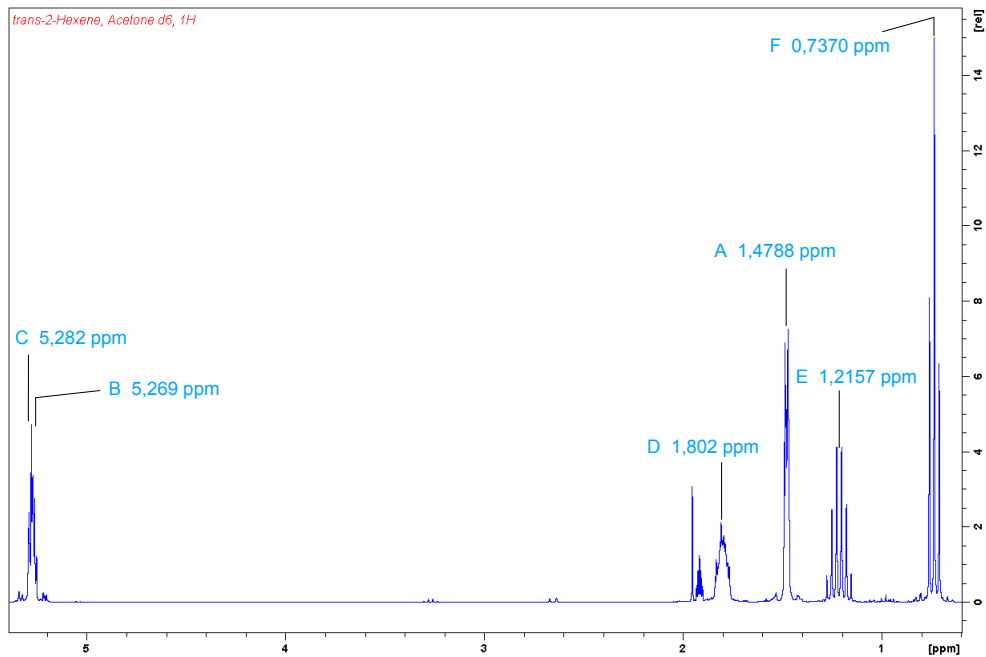
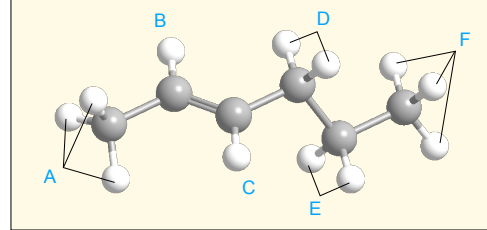
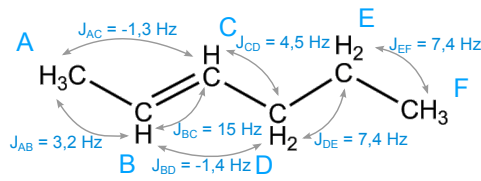


Abbildung 5.8: Auflösung des thermischen NMR-Spektrums von trans-2-Hexen gelöst in Aceton, aufgenommen bei 7 T (Betriebsfrequenz: 300 MHz). Mit einem Buchstaben gekennzeichnete Protonen sind chemisch und magnetisch äquivalent. (Teil 1)

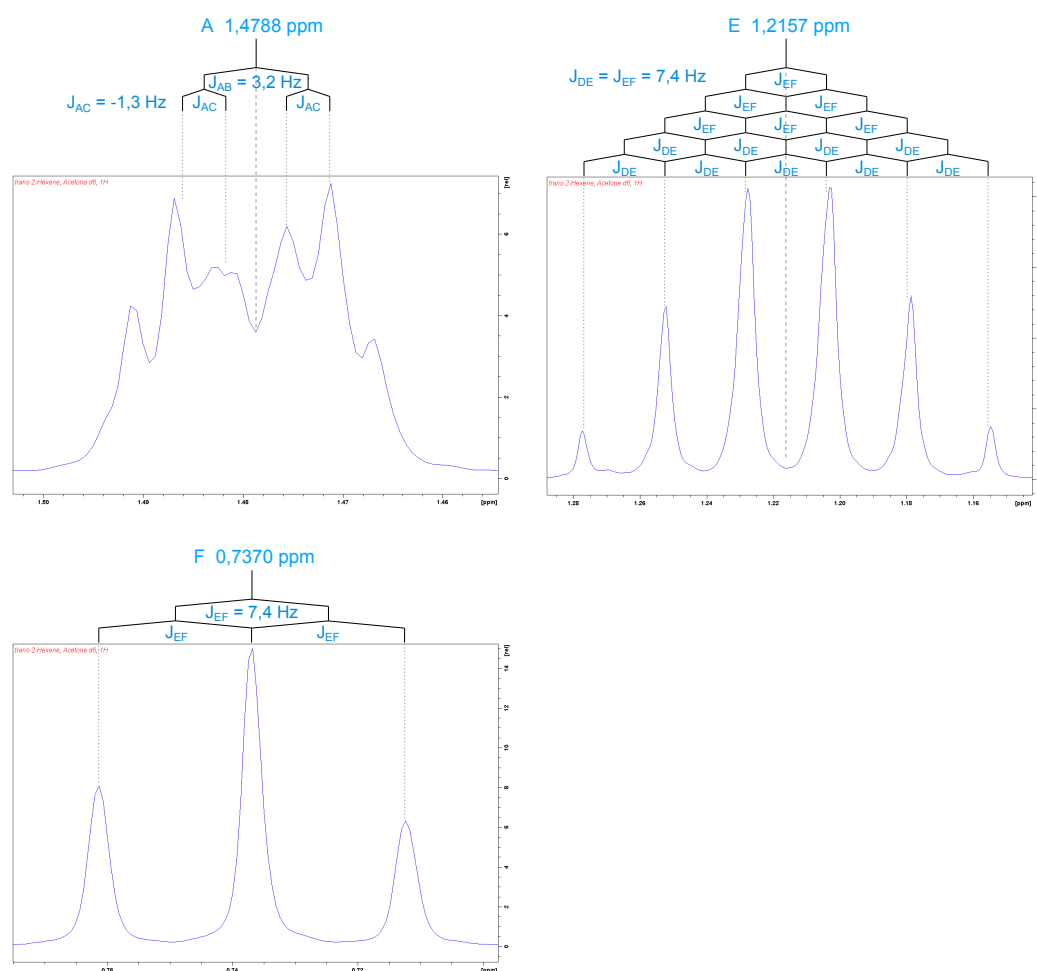


Abbildung 5.9: Auflösung des thermischen NMR-Spektrums von trans-2-Hexen gelöst in Aceton, aufgenommen bei 7 T (Betriebsfrequenz: 300 MHz). Mit einem Buchstaben gekennzeichnete Protonen sind chemisch und magnetisch äquivalent. (Teil 2)

Protonen	chemische Verschiebung
A	$(1,4788 \pm 0,0001)$ ppm
B	$(5,269 \pm 0,002)$ ppm
C	$(5,282 \pm 0,002)$ ppm
D	$(1,802 \pm 0,001)$ ppm
E	$(1,2157 \pm 0,0001)$ ppm
F	$(0,7370 \pm 0,0001)$ ppm

Tabelle 5.3: Chemische Verschiebungen der Protonen in trans-2-Hexen tabellarisch mit Fehlern.

	A	B	C	D	E	F
A	–	$(3,2 \pm 0,1)$ Hz	$(-1,3 \pm 0,1)$ Hz			
B		–	(15 ± 4) Hz	$(-1,4 \pm 0,2)$ Hz		
C			–	$(4,5 \pm 0,1)$ Hz		
D				–	$(7,4 \pm 0,1)$ Hz	
E					–	$(7,4 \pm 0,1)$ Hz
F						–

Tabelle 5.4: J-Kopplungen der Protonen in trans-2-Hexen tabellarisch mit Fehlern.

cis-2-Hexen

Lösungsmittel: Aceton d6

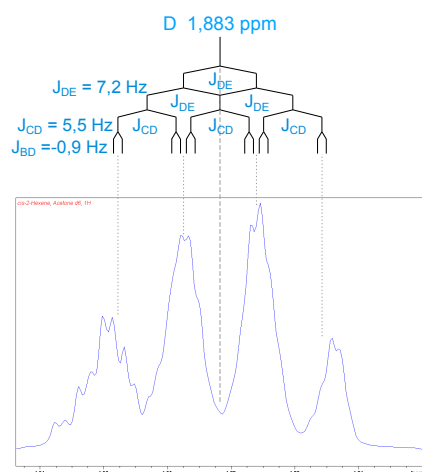
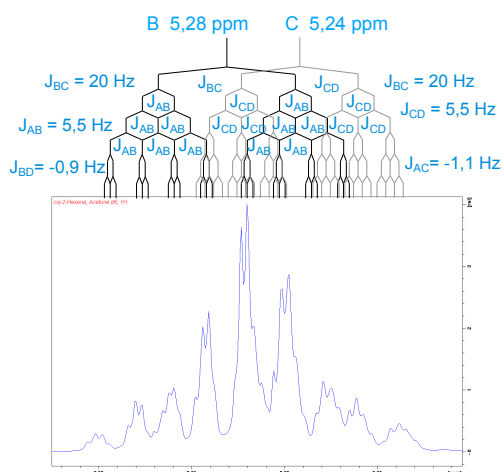
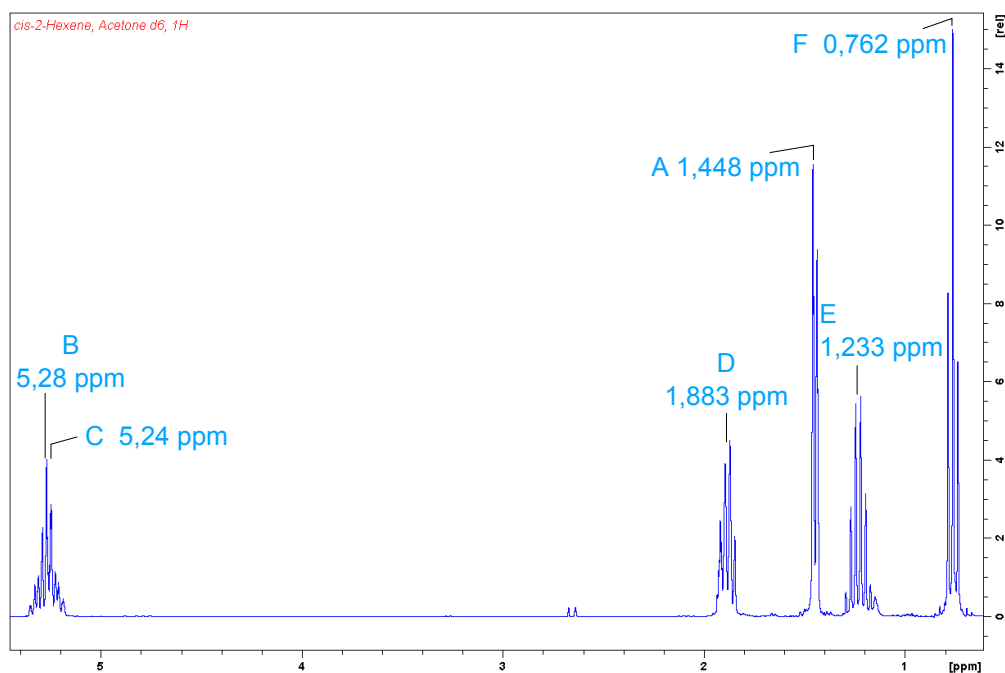
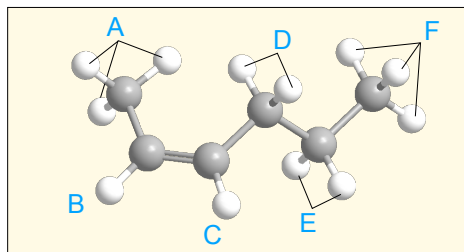
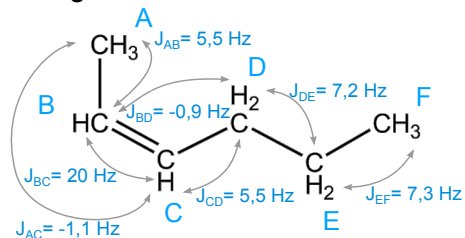


Abbildung 5.10: Auflösung des thermischen NMR-Spektrums von cis-2-Hexen gelöst in Aceton, aufgenommen bei 7 T (Betriebsfrequenz: 300 MHz). Mit einem Buchstaben gekennzeichnete Protonen sind chemisch und magnetisch äquivalent. (Teil 1)

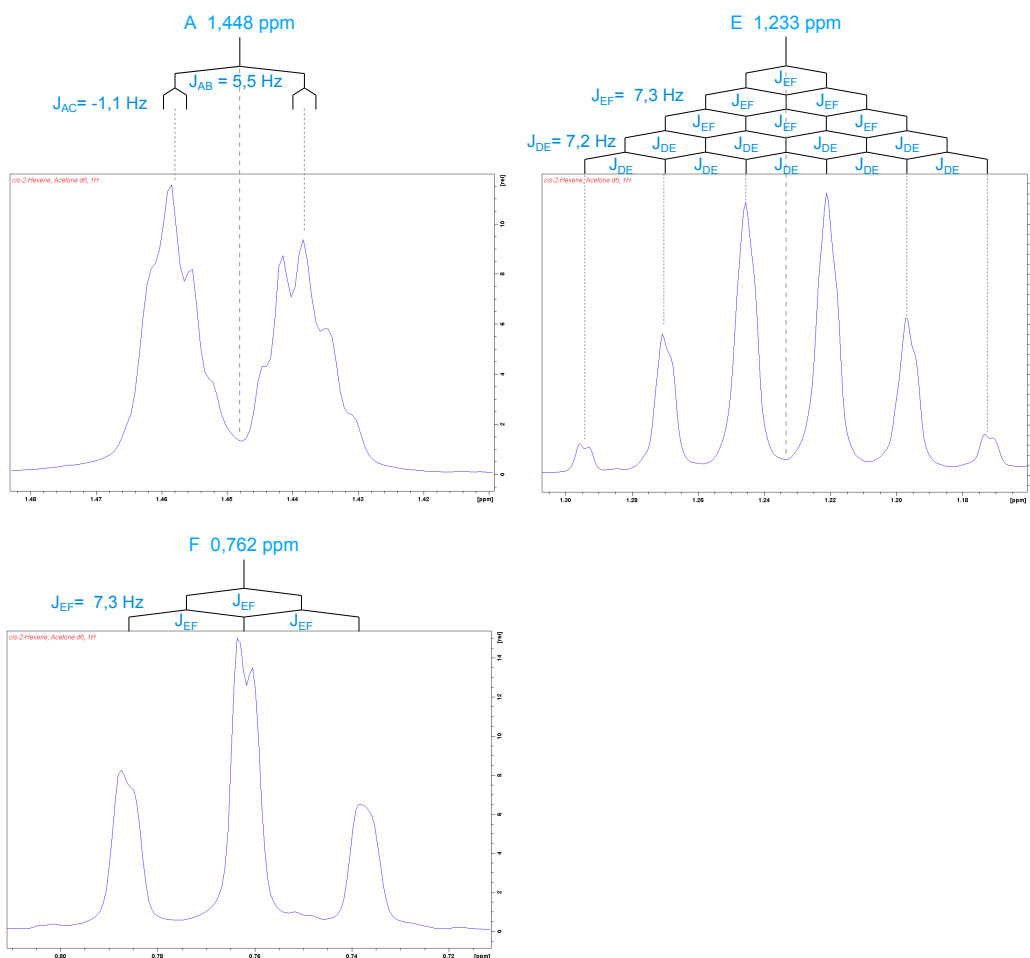


Abbildung 5.11: Auflösung des thermischen NMR-Spektrums von *cis*-2-Hexen gelöst in Aceton, aufgenommen bei 7 T (Betriebsfrequenz: 300 MHz). Mit einem Buchstaben gekennzeichnete Protonen sind chemisch und magnetisch äquivalent. (Teil 2)

Protonen	chemische Verschiebung
A	$(1,448 \pm 0,001)$ ppm
B	$(5,28 \pm 0,01)$ ppm
C	$(5,24 \pm 0,01)$ ppm
D	$(1,883 \pm 0,001)$ ppm
E	$(1,233 \pm 0,001)$ ppm
F	$(0,762 \pm 0,001)$ ppm

Tabelle 5.5: Chemische Verschiebungen der Protonen in *cis*-2-Hexen tabellarisch mit Fehlern.

	A	B	C	D	E	F
A	–	$(5,5 \pm 0,5)\text{Hz}$	$(-1,1 \pm 0,1)\text{Hz}$			
B		–	$(21 \pm 2)\text{Hz}$	$(-0,9 \pm 0,1)\text{Hz}$		
C			–	$(5,5 \pm 0,5)\text{Hz}$		
D				–	$(7,2 \pm 0,1)\text{Hz}$	
E					–	$(7,3 \pm 0,1)\text{Hz}$
F						–

Tabelle 5.6: J-Kopplungen der Protonen in cis-2-Hexen tabellarisch mit Fehlern.

Es fällt auf, dass für trans- und cis-2-Hexen die Fehler aller Größen, an denen die Kerne B und C beteiligt sind deutlich höher sind, als für andere Größen der gleichen Art in dem Molekül. Dies liegt daran, dass die Multipllettstruktur der Signale, welche von den Protonen B und C stammen, zu komplex ist und zu viele Überlagerungen enthält, um alle chemischen Verschiebungen und J-Kopplungen mit hoher Sicherheit daraus ablesen zu können. Um die Fehler zu reduzieren, wäre entweder eine Messung bei höherem B_0 -Feld sinnvoll, oder eine simulationsgestützte Analyse der Spektren. Für die Zwecke dieses Experimentes, wo es nur darum geht cis-2-Hexen von trans-2-Hexen in einem NMR-Spektrum unterscheiden zu können reicht die Genauigkeit der genannten Größen jedoch aus.

Nach 90 s Reaktionszeit im Vortexmischer wurde die Reaktion unterbrochen und hochaufgelöste thermische NMR-Spektren bei einem B_0 -Feld von 7 T (Betriebsfrequenz: 300 MHz) aufgenommen. Aus diesen wurde der Reaktionsumsatz zu trans-2-Hexen, sowie der zu cis-2-Hexen bestimmt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 5.7 aufgeführt. Die Umsatzbestimmung geschah analog wie in Abschnitt 4.2 beschrieben.

Zusätzlich zum Vortexmischer-Experiment in verschiedenen Lösungsmitteln wurden für die, mit einer Ausnahme, gleichen Lösungsmittel ALTADENA-Experimente durchgeführt (Aufbau und Durchführung s. Abschnitt 3.3). Die Ausnahme bildete das deuterierte Ethanol- D_2O -Gemisch. Da sich 2-Hexin in einem 1:1-Gemisch von deuteriertem Ethanol zu D_2O schlecht löst, was zu hohen Fehlern führt (vgl. Ergebnisse des Vortexmischer-Experimentes für Ethanol+ D_2O in Tabelle 5.7), wurde für die Hyperpolarisationsbestimmung stattdessen ein 8:2-Gemisch verwendet.

Ziel der ALTADENA-Experimente war es zu überprüfen, ob die zu untersuchenden trans-Katalysatoren $Cp^*Ru(cod)Cl$ und $[Cp^*Ru(MeCN)_3]PF_6$ in den gewählten Lösungsmitteln paarweise hydrieren, und ob sie dabei die Kernspinorientierung des para-Wasserstoffes erhalten. Je höher der statisti-

sche Anteil der Reaktionen ist, die diese Kriterien erfüllen, desto höher die insgesamt in der Probe entstehende Hyperpolarisation.

LöMi	trans-Umsatz [%]		cis-Umsatz [%]		$P_{HP} : P_{th}$	
	1	2	1	2	1	2
Aceton	6,0 ± 6,6	25,3 ± 1,1	0	0	482 ± 293	4456 ± 513
Methanol	1,2 ± 6,2	18,2 ± 1,5	0	0	196 ± 23	1631 ± 382
Ethanol	4,0 ± 18,5	22,4 ± 4,2	0	0	71 ± 27	168 ± 37
Aceton +D ₂ O(1:1)	1,2 ± 400	0,8 ± 1225	0	0	69 ± 20	4444 ± 513
Methanol +D ₂ O(1:1)	0	0	0	0	0	2269 ± 265
Ethanol +D ₂ O(1:1)	0,5 ± 2179	1,1 ± 457	0	0	231 ± 28 *	1008 ± 117 *

Tabelle 5.7: Ergebnisse der Untersuchungen von $Cp^*Ru(cod)Cl$ (**1**) und $[Cp^*Ru(MeCN)_3]PF_6$ (**2**) auf Funktionalität in verschiedenen deuterierten Lösungsmitteln und Lösungsmittelgemischen (**LöMi**). Untersucht wurden die Hydrierungsumsätze in trans- und cis-Stellung nach 90 s Reaktionszeit im Vortexmischer, sowie die Hyperpolarisation des Reaktionsproduktes im Mittel über alle Protonen ($P_{HP} : P_{th}$) in einem ALTADENA-Experiment nach ca. 20 s Schütteln der Probe (in beiden Fällen: H_2 -Druck: 6 bar, Erhitzen der Probe vor Reaktion auf 65°C). „0“ als Eintrag bedeutet, dass die Größe nicht nachgewiesen werden konnte. * Die Hyperpolarisationsmessungen im Ethanol- D_2O -Gemisch wurden in einem 8:2-Gemisch durchgeführt, da sich 2-Hexin in einem 1:1-Gemisch schlecht löst, was zu großen Messfehlern führt.

Bei der Durchführung der ALTADENA-Experimente wurde die Probe vor der Reaktion ebenfalls auf 65°C erhitzt und nach einer Injektion von para-Wasserstoff ins Probenröhrchen mit einem Druck von 6 bar für ca. 20 s geschüttelt, um die Reaktion anzuregen. Anschließend wurde die hyperpolarisierte Probe ins Spektrometer eingesetzt ($B_0 = 7 T$, Betriebsfrequenz: 300 MHz) und zwei FIDs aufgenommen, eines direkt nach dem Einsetzen und ein weiteres wenige Minuten später, nach Abklingen der Hyperpolarisation. Die Durchführungsschritte wurden für jede Probe 4-8 Mal wiederholt (Durchführungszyklen). Vor Beginn des Experimentes und ganz am Ende wurden zusätzliche thermisch polarisierte Spektren der Probe aufgenommen, so dass für jeden Durchführungszyklus ein thermisches Referenzspektrum vorher und eines nachher vorliegt. Aus diesen Spektren lassen sich, analog wie dies in Abschnitt 4.3 für die Hydrierreaktion Fumarat zu Succinat genau beschrieben ist, für jeden Durchführungszyklus der Reaktionsumsatz vorher

und nachher, sowie im zweiten Schritt das Verhältnis von Hyperpolarisation zu thermischer Polarisation ($\frac{P_{HP}}{P_{th}}$) bestimmen. Da im hyperpolarisierten Reaktionsprodukt trans-2-Hexen die Hyperpolarisation sich beim Einsetzen ins Spektrometer auf alle Protonen im Molekül verteilt, wurde hier als Wert der Hyperpolarisation, die Polarisation im Mittel über die 12 Protonen des Moleküls berechnet. Die Ergebnisse für $\frac{P_{HP}}{P_{th}}$ aus den ALTADENA-Experimenten sind in den letzten zwei Spalten von Tabelle 5.7 zu finden. Aufgeführt ist für jedes Lösungsmittel der höchste erreichte Hyperpolarisationswert.

Neben den Spektren zur Bestimmung von $\frac{P_{HP}}{P_{th}}$, wurde für jede Probe, nach Durchführung des ALTADENA-Experimentes, zusätzlich ein hochaufgelöstes thermisches NMR-Spektrum (7 T), zur Kontrolle der Reaktionsprodukte aufgenommen.

Auffällig ist in Tabelle 5.7, dass in keinem Fall ein Reaktionsumsatz zu cis-2-Hexen beobachtet werden konnte. Dies bestätigen auch die hochaufgelösten NMR-Spektren, aufgenommen nach den ALTADENA-Experimenten. Für die untersuchten Katalysatoren bedeutet dies, dass sie bei 2-Hexin als Substrat zu 100% in trans-Stellung hydrieren, unabhängig vom Lösungsmittel, was für dieses Untersuchungskriterium das beste erreichbare Ergebnis ist.

Die Reaktionsgeschwindigkeit betreffend ist klar erkennbar, dass die beiden Katalysatoren $Cp^*Ru(cod)Cl$ und $[Cp^*Ru(MeCN)_3]PF_6$ deutlich langsamer arbeiten, als der wasserlösliche Katalysator $Rh(nor)(ppbs)BF_4$. $Rh(nor)(ppbs)BF_4$ hat unter gleichen Bedingungen nach einer Reaktionszeit von 30 s bis zu 48% des Substrates umgesetzt. In diesem Experiment liegt das höchste Ergebnis für $Cp^*Ru(cod)Cl$ bei ca. 6% und für $[Cp^*Ru(MeCN)_3]PF_6$ bei ca. 25%, nach 90 s. Dies entspricht für $Cp^*Ru(cod)Cl$ ca. $\frac{1}{8}$, und für $[Cp^*Ru(MeCN)_3]PF_6$ ca. $\frac{1}{2}$ des Umsatzes von $Rh(nor)(ppbs)BF_4$ in dreifacher Zeit. Dies ist kein gutes Ergebnis für einen PHIP-Katalysator, insbesondere im Hinblick auf eine medizinische Anwendung, wenn man in Betracht zieht, dass im Idealfall das Substrat vollständig umgesetzt sein sollte, bevor die Hyperpolarisation der ersten Reaktionsprodukte abgefallen ist.

Hierzu muss jedoch auch gesagt werden, dass dies die erste katalytische trans-Hydrierreaktion zum gezielten Erzeugen von para-Wasserstoff induzierter Hyperpolarisation ist und die Katalysatoren ursprünglich nicht hierfür entwickelt wurden. Somit besteht für die Katalysatoren möglicherweise noch Optimierungsspielraum. Außerdem könnte die Reaktionsgeschwindigkeit möglicherweise in einem begrenzten Rahmen durch andere Reaktionsbedingungen verbessert werden. Die hier gewählten Bedingungen sind die gleichen, wie sie sich für die anderen bekannten PHIP-Katalysatoren bewährt haben und wurden nicht speziell für $Cp^*Ru(cod)Cl$ und $[Cp^*Ru(MeCN)_3]PF_6$

optimiert. Positiv ist für eine potentielle medizinische Anwendung auch, dass beide Katalysatoren in Ethanol höhere Reaktionsgeschwindigkeiten aufweisen, als in Methanol, obwohl Methanol von den Entdeckern als geeignet genannt wurde. Das selbe gilt für die Gemische mit D_2O , auch hier ist die Reaktionsgeschwindigkeit für das Ethanol- D_2O -Gemisch höher als für das Methanol- D_2O -Gemisch, welche nicht nachgewiesen werden konnte. Die Reaktionsgeschwindigkeiten für Ethanol und Ethanol- D_2O -Gemisch sind für $Cp^*Ru(cod)Cl$ um $\frac{1}{3}$ - $\frac{2}{3}$ tiefer, und für $[Cp^*Ru(MeCN)_3]PF_6$ um ca. 12% tiefer bzw. sogar um ca. 38% höher als für Aceton und Aceton- D_2O -Gemisch. Dafür, dass Ethanol als Lösungsmittel nur aus Neugier, ohne begründete Erfolgchancen, ausprobiert wurde, ist das ein sehr positives Ergebnis.

Das gleiche gilt für die Verdünnung mit D_2O . Die Reaktionsgeschwindigkeit in Lösungsmittelgemischen mit D_2O -Anteil liegt etwa eine Größenordnung unterhalb der Reaktionsgeschwindigkeit in den ausprobierten reinen Lösungsmitteln, was eine beträchtliche Verschlechterung ist. Auch dies wurde jedoch ausprobiert, ohne dass es Hinweise auf Erfolg gab. Allein, dass die Reaktion mit D_2O -Verdünnung funktioniert hat, ist daher schon als ein sehr positives Ergebnis zu verzeichnen. Hätte das nicht funktioniert, wäre ein Versuch Fumarat mithilfe der untersuchten Katalysatoren zu hyperpolarisieren nicht sinnvoll gewesen. Es ist außerdem nicht auszuschließen, dass man durch eine chemische Modifizierung der Katalysatoren die Verringerung der Reaktionsgeschwindigkeit in wässriger Verdünnung reduzieren kann.

Die großen Fehler der Umsatzwerte für Lösungsmittelgemische mit D_2O -Anteil sind auf die schlechte Löslichkeit von 2-Hexin und trans-2-Hexen in diesen zurückzuführen. Die Fehler der Reaktionsumsätze wurden aus dem Rauschen bestimmt. Bei schlechter Löslichkeit liegen die Substanzen im Lösungsmittel in einer geringen Konzentration vor, was sich negativ auf das Signal-Rausch-Verhältnis auswirkt. Zusätzlich steigt der Fehler eines Umsatzes, aus dem gleichen Grund, wenn dieser klein war und ohnehin nur wenig Reaktionsprodukt in der Probe vorhanden ist.

Die Löslichkeit von $Cp^*Ru(cod)Cl$ in den getesteten Lösungsmitteln war hoch genug, um in Aceton, Methanol und Ethanol die gewünschte Katalysator-Substrat-Konzentration von 4,2 mol% zu erreichen. In den wässrigen Gemischen dieser Lösungsmittel hat die sich die für eine Konzentration 4,2 mol% nötige Menge jedoch nicht mehr vollständig gelöst. Die Katalysator-Substrat-Konzentration von $[Cp^*Ru(MeCN)_3]PF_6$ wurde wegen schlechter Löslichkeit von vornherein von gewünschten 13,4 mol% auf ca. 7,5 mol% reduziert, die Katalysatormenge in etwa halbiert. Auch die reduzierte Menge ließ sich nicht vollständig lösen. Die tatsächlich arbeitende Katalysatorkonzentration von $[Cp^*Ru(MeCN)_3]PF_6$ war damit noch geringer und nicht genau

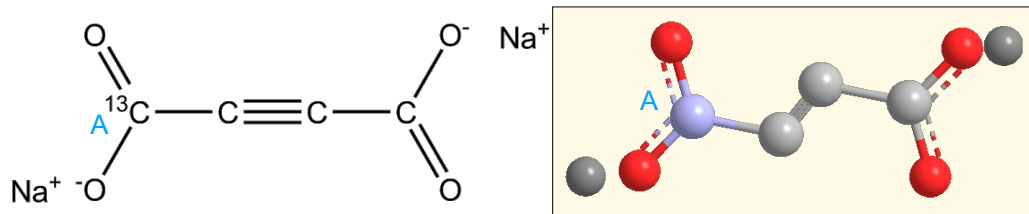
bekannt. Mehr Lösungsmittel zu verwenden war keine Option, da für die Aufnahme von zuverlässigen NMR-Spektren eine Mindestkonzentration der zu untersuchenden Substanz vorliegen muss. Auch hier konnte man eine gesenkte Löslichkeit in Lösungsmittelgemischen mit D_2O -Anteil beobachten. Insgesamt kann man festhalten, dass die Löslichkeit der untersuchten Katalysatoren in den gewählten Lösungsmitteln zu schlecht war. Sollte man eine chemische Optimierung der Katalysatoren in Kooperation mit einer synthetisch arbeitenden Gruppe vornehmen, ist die Steigerung der Löslichkeit ein Aspekt, an dem es sich zu arbeiten lohnt, da man mit höheren Katalysatorkonzentrationen mit hoher Wahrscheinlichkeit auch die Reaktionsgeschwindigkeit steigern kann. Optimal für eine medizinische Anwendung wäre es hierbei eine Löslichkeit in reinem D_2O zu erzielen.

Unter den Aspekten der paarweisen Hydrierung und der Erhaltung der Kernspinorientierung von para-Wasserstoff über die Reaktion hinweg, liefern beide Katalysatoren gute Ergebnisse. Die Ergebnisse für $\frac{P_{HP}}{P_{th}}$ liegen über zwei Größenordnungen gestreut zwischen 69 und 4456. Dennoch sind die Werte alle höher, als sie mit $Rh(nor)(ppbs)BF_4$ in Succinat gemessen werden konnten. Besonders $[Cp^*Ru(MeCN)_3]PF_6$ zeigt hier mit Werten in der Größenordnung von 10^3 , mit einer Ausnahme, gute Eigenschaften.

Zusammenfassend kann man feststellen, dass $[Cp^*Ru(MeCN)_3]PF_6$ in allen Kriterien, bis auf die Löslichkeit, bessere Ergebnisse liefert, als $Cp^*Ru(cod)Cl$. Beide Katalysatoren liefern jedoch Ergebnisse, die einen Einsatz beim Versuch Fumarat zu hyperpolarisieren begründen können.

5.2 Hyperpolarisationsnachweis auf 1-¹³C-Fumarat

Bevor die Ergebnisse des Experiments zur Herstellung von hyperpolarisiertem 1-¹³C-Fumarat vorgestellt werden, soll mit Abbildung 5.12 die noch fehlende steckbriefartige Zusammenfassung der NMR-Eigenschaften von 1-¹³C-Acetylendicarboxylat nachgeholt werden. Die NMR-Eigenschaften von 1-¹³C-Fumarat sind in Abbildungen 4.6 (S.32) und 4.7 (S.33) zu finden.

1-¹³C-Acetylendicarboxylat(Acetylendicarbonsäure Dinatriumsalz, ¹³C markiert an Pos. 1)Lösungsmittel: D₂O**Chemische Verschiebungen:**

Kern	¹ H / ¹³ C	Chemische Verschiebung
A	¹³ C	(159,862 ± 0,001) ppm

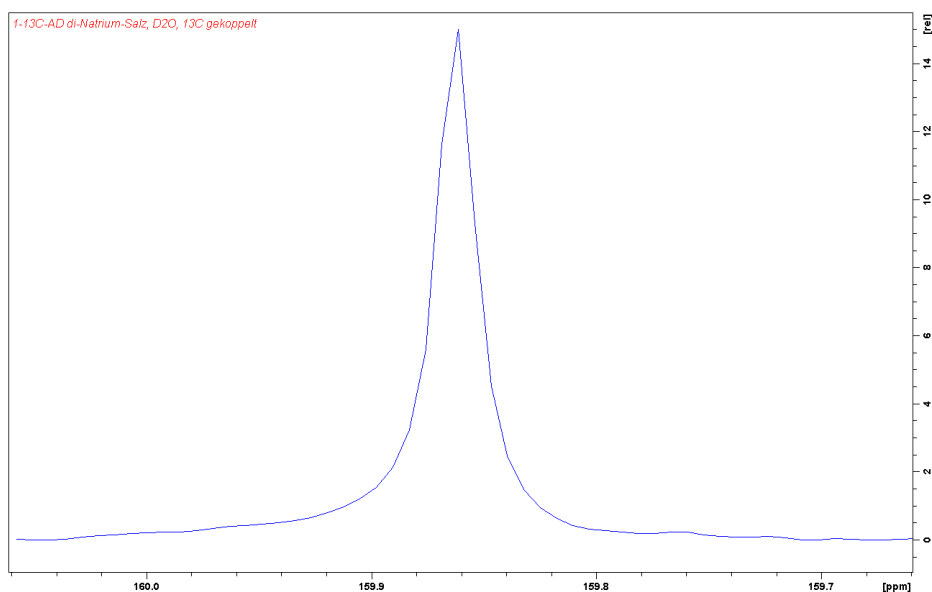
J-Kopplungen: Keine

Abbildung 5.12: Acetylendicarboxylat (Acetylendicarbonsäure Dinatriumsalz): Oben: Strukturformel und räumliches Modell des Moleküls; Mitte: wichtige NMR-Eigenschaften tabellarisch; Unten: hochaufgelöstes ¹³C NMR Spektrum von Acetylendicarboxylat gelöst in D₂O.

Der Nachweis der Hyperpolarisation auf 1-¹³C-Fumarat geschah ebenfalls im ALTADENA-Experiment mit gleichem Aufbau, wie alle ALTADENA Experimente dieser Arbeit. (Aufbau s. Kapitel 3) Das Experiment verlief vollständig analog zum Nachweis von para-Wasserstoff induzierter Hyperpolarisation auf 1-¹³C-Succinat, was in Abschnitt 4.3 beschrieben ist. Die verwendeten Proben setzten sich zusammen aus ca. 60 mg 1-¹³C-Acetylendicarboxylat und ca. 10 mg Katalysator $Cp^*Ru(cod)Cl$ (entspricht ca. 6,5 mol%, die ursprüngliche Konzentration von 4,2 mol% wurde gesteigert, da der Reaktionsumsatz sehr gering blieb.) bzw. ca. 20 mg Katalysator $[Cp^*Ru(MeCN)_3]PF_6$ (entspricht ca. 9,5 mol%, die ursprüngliche Konzentration von 13,4 mol% konnte wegen geringer Löslichkeit nicht erreicht werden.) und 2,5 ml Lösungsmittel. Es wurden für jeden Katalysator alle drei möglichen, in Abschnitt 5.1 getesteten, Lösungsmittel verwendet. Dies sind Gemische im Verhältnis 1:1 zwischen D_2O und jeweils Aceton, Methanol oder Ethanol in deuterierter Form. Die Durchführung geschah ebenfalls analog zu den bisher beschriebenen Experimenten. Die Probe wurde auf 65°C erhitzt, p- H_2 mit einem Druck von ca. 6 bar in das Probenröhrchen injiziert, dieses für ca. 20 s geschüttelt und anschließend ins Spektrometer eingesetzt, wo drei FIDs aufgenommen wurden, einer direkt nach dem Einsetzen, einer nach 30 s, sowie einer nach 90 s. Für jede Probe wurden acht dieser Durchführungszyklen ausgeführt. Zusätzlich wurden thermisch polarisierte Referenzspektren vor und nach allen Durchführungszyklen aufgenommen. Nach den Experimenten wurden für jede verwendete Probe zusätzlich hochaufgelöste NMR-Spektren auf ¹H und ¹³C bei $B_0 = 7 T$ aufgenommen, um untersuchen zu können, ob das Reaktionsprodukt mit Sicherheit 1-¹³C-Fumarat ist.

Zunächst wurde das Experiment mit ¹H-FIDs für alle Kombinationen aus Katalysator und Lösungsmittel durchgeführt, mit dem Ziel die Hyperpolarisation auf Protonen zu bestimmen. Hierbei fiel sofort auf, dass der Katalysator $Cp^*Ru(cod)Cl$ deutlich niedrigere Hyperpolarisationswerte herstellt als $[Cp^*Ru(MeCN)_3]PF_6$. Für $Cp^*Ru(cod)Cl$ lagen die Werte für $\frac{P_{HP}}{P_{th}}$ zwischen 1 und 10, was im Vergleich zu den Ergebnissen einer Reaktion mit $[Cp^*Ru(MeCN)_3]PF_6$ deutlich niedriger ist. (Ergebnisse vgl. Tabelle 5.8) Aus diesem Grund, wurde der Katalysator $Cp^*Ru(cod)Cl$ für weitere Experimente verworfen. Versuche zur Bestimmung der Hyperpolarisation auf ¹³C wurden anschließend nur noch mit $[Cp^*Ru(MeCN)_3]PF_6$ als Katalysator durchgeführt.

Im Unterschied zum analogen Experiment zur Herstellung von hyperpolarisiertem Succinat, sind die Referenzspektren nach 90 s in diesem Experiment nicht rein thermisch polarisiert. Es liegt an der längeren T_1 -Zeit von 1-¹³C-

Fumarat auf Protonen ($(13, 30 \pm 0, 05) s$), dass Reste der Hyperpolarisation nach 90 s noch sichtbar sind. Für ^{13}C auf $1\text{-}^{13}C$ -Fumarat ist 90 s deutlich kleiner als die fünffache T_1 -Zeit, welche $(58 \pm 1) s$ beträgt, sodass die Hyperpolarisation zum Zeitpunkt der Aufnahme noch gar nicht zerfallen sein konnte. (Vgl. Abbildungen 5.13 bis 5.18)

Deswegen wurden die zur Bestimmung der Hyperpolarisation auf ^{13}C notwendigen Reaktionsumsätze vor und nach dem betrachteten Durchführungszyklus (Rechenweg vgl. Abschnitt 4.3) indirekt berechnet, aus dem Gesamtumsatz am Ende des Experimentes. Hierbei wurde näherungsweise angenommen, dass pro Durchführungszyklus gleich viel umgesetzt wurde. Um die Ungenauigkeit dieser Methode im Fehler zu berücksichtigen, wurde den Ergebnissen für die Reaktionsumsätze, zusätzlich zum Fehler, welcher sich aus dem Rauschen ergibt, ein relativer Fehler von 10% zugeordnet. Alle weiteren Schritte der Berechnung von $\frac{P_{HP}}{P_{th}}$ wurden durchgeführt wie in Abschnitt 4.3 beschrieben.

Im Fall der Hyperpolarisationsmessungen auf Protonen ist es sehr umständlich das Verhältnis $\frac{P_{HP}}{P_{th}}$ über die Reaktionsumsätze vor und nach dem betrachteten Durchführungszyklus zu bestimmen, da $1\text{-}^{13}C$ -Acetylendicarboxylat keine Protonen enthält und somit kein Referenzsignal im Protonenspektrum vorhanden ist, welches zur Anzahl der $1\text{-}^{13}C$ -Acetylendicarboxylat-Moleküle proportional wäre. Deswegen wurde die Hyperpolarisation auf Protonen in $1\text{-}^{13}C$ -Fumarat, direkt über die Signalintensitäten von Fumarat vor und nach dem betrachteten Durchführungszyklus berechnet. Dieser Lösungsweg beruht auf dem gleichen Ansatz, wie die Hyperpolarisationsberechnung über Reaktionsumsätze. In Abschnitt 4.3 wurde diskutiert, dass dieser Weg geringfügig ungenauer ist, als der „Umweg“ über Reaktionsumsätze, da man hierbei Signalintensitäten aus einer größeren Anzahl Spektren absolut miteinander vergleicht. Da auch auf Protonen in $1\text{-}^{13}C$ -Fumarat häufig die Hyperpolarisation nach 90 s noch nicht abgeklungen war, wurden auch hier die Signalintensitäten vor und nach dem betrachteten Durchführungszyklus aus dem thermisch polarisierten Spektrum bestimmt, welches am Ende des Experimentes aufgenommen wurde. Hier wurde ebenfalls mit der linearen Näherung gearbeitet, dass bei jedem Durchführungszyklus gleich viele neue Fumaratmoleküle entstanden sind. Die so ermittelten Intensitäten wurden ebenfalls mit einem zusätzlichen relativen Fehler von 10% versehen. Im Vergleich dazu ist der Präzisionsverlust durch den Rechenweg über absolute Signalintensitäten vernachlässigbar.

Aus dem gleichen Grund, dass Acetylendicarboxylat kein Protonensignal liefert, sind alle angegebenen Gesamt-Reaktionsumsätze aus hochauflösenden thermisch polarisierten ^{13}C -Referenzspektren berechnet, welche nach den

ALTADENA-Experimenten aufgenommen wurden. Dank der ¹³C-Markierung liefern 1-¹³C-Acetylendicarboxylat und alle Moleküle, die durch Reaktion daraus hervorgehen ein deutliches ¹³C-Signal, so dass sich aus den ¹³C-Referenzspektren alle Reaktionsumsätze bestimmen lassen.

Die so ermittelten Ergebnisse sind in Tabelle 5.8 zusammengefasst.

LöMi	Kern	Umsatz, Fum.	Umsatz, Succ.	$P_{HP} : P_{th}$
Aceton +D ₂ O(1:1)	¹ H	(60,3 ± 1,3) %	(15,9 ± 0,7) %	44,4 ± 5,1
Methanol +D ₂ O(1:1)	¹ H	(70,0 ± 1,2) %	(15,3 ± 0,8) %	18,7 ± 2,1
Ethanol +D ₂ O(1:1)	¹ H	(56,3 ± 1,0) %	(15,5 ± 0,8) %	21,9 ± 2,5
Aceton +D ₂ O(1:1)	¹³ C	(34,1 ± 0,9) %	(12,1 ± 0,9) %	1003 ± 146
Methanol +D ₂ O(1:1)	¹³ C	(69,9 ± 1,1) %	(13,0 ± 1,1) %	502 ± 135
Ethanol +D ₂ O(1:1)	¹³ C	(66,5 ± 1,0) %	(16,0 ± 1,0) %	212 ± 28

Tabelle 5.8: Ergebnisse der Herstellung von hyperpolarisiertem 1-¹³C-Fumarat aus 1-¹³C-Acetylendicarboxylat mit $[Cp^*Ru(MeCN)_3]PF_6$ als trans-Katalysator, mit Fehlern. Das Experiment wurde in verschiedenen Lösungsmitteln (**LöMi**) jeweils zwei Mal durchgeführt. Dabei wurde einmal die Hyperpolarisation auf ¹H und einmal auf ¹³C gemessen (**Kern**). Die Spalte „**Umsatz, Fum.**“ zeigt den Reaktionsumsatz zu 1-¹³C-Fumarat, welcher nach allen acht ALTADENA-Durchführungszyklen erreicht wurde. Analog ist in der Spalte „**Umsatz, Succ.**“ der Reaktionsumsatz zu 1-¹³C-Succinat nach allen Durchführungszyklen aufgelistet. Die Spalte „ $P_{HP} : P_{th}$ “ zeigt schließlich das höchste gemessene Verhältnis aus Hyperpolarisation zu thermischer Polarisation von Fumarat für jedes Experiment. Vor der Reaktion wurde die Probe auf 65°C erhitzt und p-H₂ mit einem Druck von 6 bar ins Probenröhrchen injiziert.

Zur Veranschaulichung zeigen Abbildungen 5.13 bis 5.18 die Spektren, aus denen sich die Daten für $\frac{P_{HP}}{P_{th}}$ in Tabelle 5.8 ergeben.

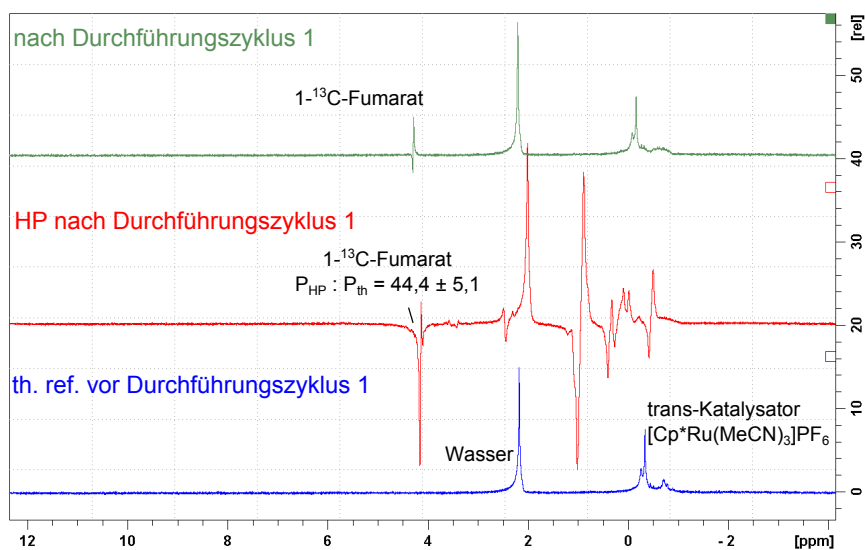


Abbildung 5.13: ^1H -Spektrum mit hyperpolarisiertem $1\text{-}^{13}\text{C}$ -Fumarat in 1:1-Aceton: D_2O -Gemisch als Lösungsmittel nach Durchführungszyklus 1 (mitte), mit Referenzspektren vorher (unten) und nachher (oben). Charakteristisches Antiphasensignal für $p\text{-H}_2$ induzierte HP erkennbar. Alle Spekten aufgenommen nach einem Flipwinkel $\alpha = 45^\circ$.

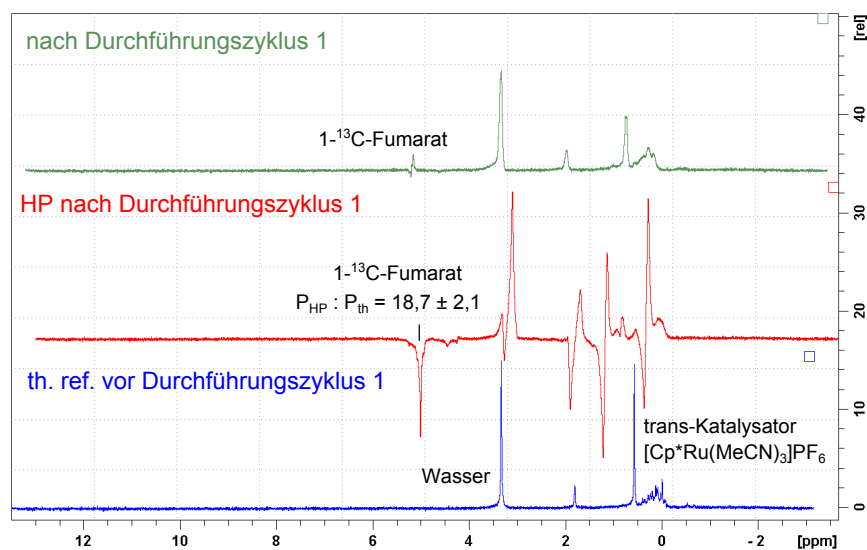


Abbildung 5.14: ¹H-Spektrum mit hyperpolarisiertem 1-¹³C-Fumarat in 1:1-Methanol:D₂O-Gemisch als Lösungsmittel nach Durchführungszyklus 1 (mitte), mit Referenzspektren vorher (unten) und nachher (oben). Charakteristisches Antiphasensignal für p-*H*₂ induzierte HP auf Fumarat erkennbar. Die restlichen hyperpolarisierten antiphasischen Signale stammen von der hyperpolarisierten Katalysatorschutzgruppe und von Succinat. Alle Spekten aufgenommen nach einem Flipwinkel $\alpha = 45^\circ$.

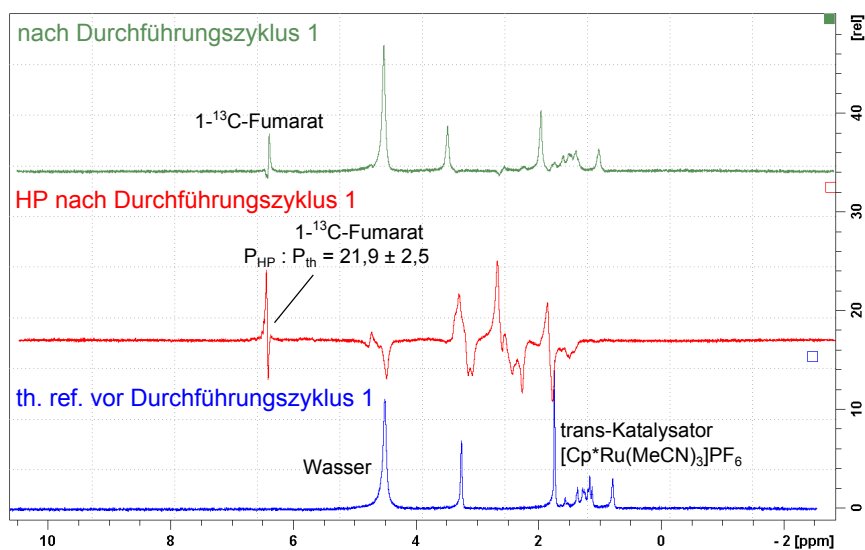


Abbildung 5.15: ^1H -Spektrum mit hyperpolarisiertem $1\text{-}^{13}\text{C}$ -Fumarat in 1:1-Ethanol: D_2O -Gemisch als Lösungsmittel nach Durchführungszyklus 1 (mitte), mit Referenzspektren vorher (unten) und nachher (oben). Charakteristisches Antiphasensignal für $p\text{-H}_2$ induzierte HP auf Fumarat erkennbar. Die restlichen hyperpolarisierten antiphasischen Signale stammen von der hyperpolarisierten Katalysatorschutzgruppe und von Succinat. Alle Spekten aufgenommen nach einem Flipwinkel $\alpha = 45^\circ$.

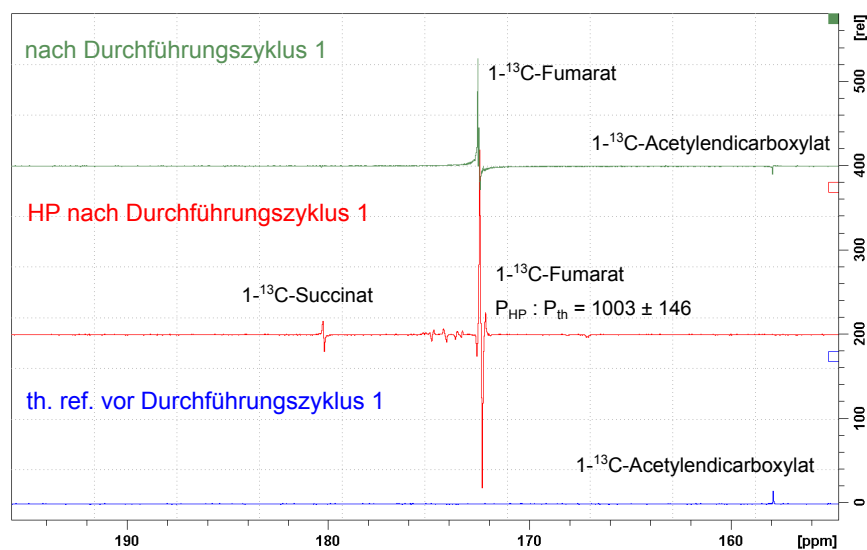


Abbildung 5.16: ¹³C-Spektrum mit hyperpolarisiertem 1-¹³C-Fumarat in 1:1-Aceton:*D*₂*O*-Gemisch als Lösungsmittel nach Durchführungszyklus 1 (mitte), mit Referenzspektren vorher (unten) und nachher (oben). Charakteristisches Antiphasensignal für *p*-*H*₂ induzierte HP auf Fumarat erkennbar. Die restlichen hyperpolarisierten antiphasischen Signale stammen von der hyperpolarisierten Katalysatorschutzgruppe und von Succinat. Alle Spekten aufgenommen nach einem Flipwinkel $\alpha = 45^\circ$.

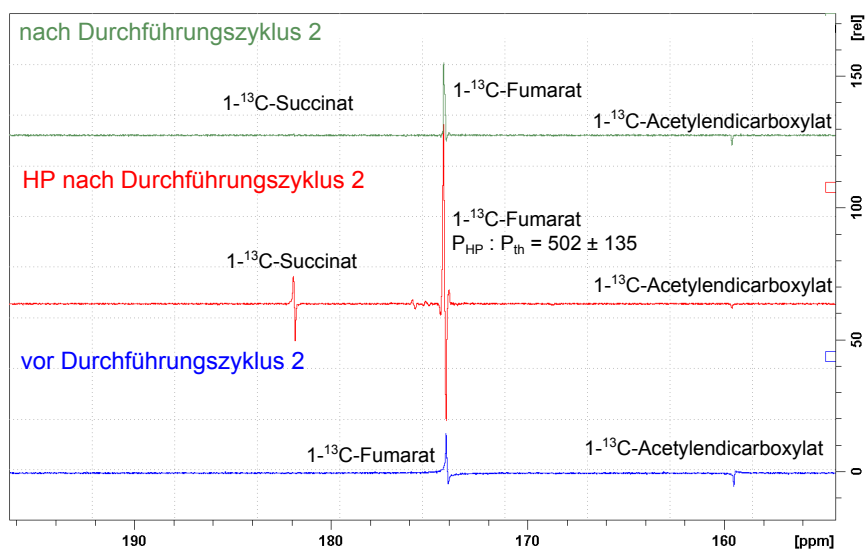


Abbildung 5.17: ^{13}C -Spektrum mit hyperpolarisiertem $1\text{-}^{13}\text{C}$ -Fumarat in 1:1-Methanol: D_2O -Gemisch als Lösungsmittel nach Durchführungszyklus 2 (mitte), mit Referenzspektren vorher (unten) und nachher (oben). Charakteristisches Antiphasensignal für $p\text{-}H_2$ induzierte HP auf Fumarat erkennbar. Die restlichen hyperpolarisierten antiphasischen Signale stammen von der hyperpolarisierten Katalysatorschutzgruppe und von Succinat. Alle Spekten aufgenommen nach einem Flipwinkel $\alpha = 45^\circ$.

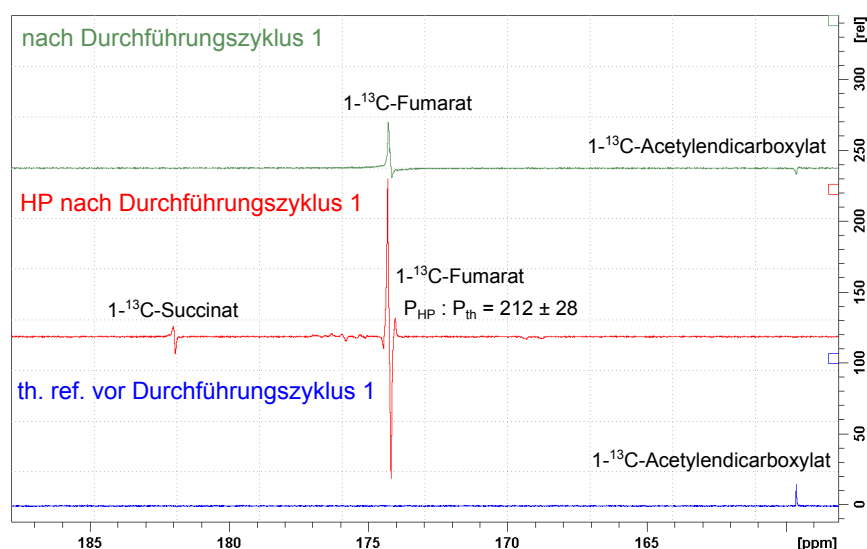


Abbildung 5.18: ¹³C-Spektrum mit hyperpolarisiertem 1-¹³C-Fumarat in 1:1-Ethanol:D₂O-Gemisch als Lösungsmittel nach Durchführungszyklus 1 (mitte), mit Referenzspektren vorher (unten) und nachher (oben). Charakteristisches Antiphasensignal für p-H₂ induzierte HP auf Fumarat erkennbar. Die restlichen hyperpolarisierten antiphasischen Signale stammen von der hyperpolarisierten Katalysatorschutzgruppe und von Succinat. Alle Spekten aufgenommen nach einem Flipwinkel $\alpha = 45^\circ$.

Es ist sowohl aus den Bildern 5.16 bis 5.18, als auch aus Tabelle 5.8 deutlich zu erkennen, dass die Hydrierreaktion nicht bei 1-¹³C-Fumarat stoppt, sondern weiter zu 1-¹³C-Succinat voranschreitet. In den Abbildungen 5.13 bis 5.15 ist dies nicht eindeutig erkennbar, da das Signal von hyperpolarisiertem Succinat inmitten der Signale der hyperpolarisierten Schutzgruppen des Katalysators liegt. Aus den hochaufgelösten ¹³C-Referenzspektren, welche nach den Experimenten aufgenommen wurden, ist jedoch deutlich ein Signal von 1-¹³C-Succinat zu erkennen. Auch die Entdecker dieses Katalysators, haben eine Überreduktion über die Doppelbindung hinweg zur Einfachbindung beobachtet.[18] Für die gezielte Herstellung von hyperpolarisierten Molekülen mit Doppelbindung ist dies ein Problem.

Im Durchschnitt über alle Experimente beträgt der Reaktionsumsatz zu 1-¹³C-Fumarat 59,5% nach acht Durchführungszyklen und der Umsatz zu 1-¹³C-Succinat 14,6%, in Summe ergibt sich ein mittlerer Gesamtumsatz von 74,1%, was angibt, dass 74,1% der 1-¹³C-Acetylendicarboxylat-Moleküle reagiert haben. Die einzelnen Umsätze ins Verhältnis gesetzt, ergibt sich $\frac{\partial U_{Fum}}{\partial U_{Succ}} = 24,5\%$. Die Anzahl der Succinatmoleküle in der Probe bei einem Reaktionsfortschritt von 74,1% entspricht ca. einem Viertel der Anzahl der

Fumaratmoleküle, welche das gewünschte Ergebnis der Reaktion waren. Etwa ein Fünftel des Reaktionsumsatzes zu $1\text{-}^{13}\text{C}$ -Fumarat ist durch das Weiterreagieren zu $1\text{-}^{13}\text{C}$ -Succinat demnach wieder verloren gegangen. Dies ist ein beträchtlicher Anteil. Man sollte daher im nächsten Schritt untersuchen, ob das Weiterreagieren zu $1\text{-}^{13}\text{C}$ -Succinat sich durch Anpassen der Reaktionsbedingungen unterbinden lässt.

Betrachtet man die Werte für $\frac{P_{HP}}{P_{th}}$, das eigentliche Ziel dieses Kapitels, so fällt auf, dass diese mit Werten zwischen 18,7 und 44,4 auf Protonen und 212 bis 1003 auf ^{13}C deutlich höher liegen, als die Ergebnisse für $1\text{-}^{13}\text{C}$ -Succinat mit $\frac{P_{HP}}{P_{th}} = 3,6$ auf Protonen und $\frac{P_{HP}}{P_{th}} = 52$ auf ^{13}C . Hierfür kommen mehrere Gründe in Frage, wie die längere T_1 -Zeit von $1\text{-}^{13}\text{C}$ -Fumarat auf Protonen, sowie eventuell bessere Eigenschaften des Katalysators $[Cp^*Ru(MeCN)_3]PF_6$ im Hinblick auf paarweise Hydrierung und Erhaltung der Kernspinorientierung von para-Wasserstoff. Das Hauptziel des Kapitels, eine para-Wasserstoff induzierte Hyperpolarisation auf $1\text{-}^{13}\text{C}$ -Fumarat nachzuweisen, ist hiermit als erfüllt anzusehen.

In zukünftigen Messungen dieser Art könnte man zusätzlich die Messfehler senken, indem man bis zum letzten FID nach einem Durchführungszyklus länger wartet als die 5-fache T_1 -Zeit.

Den hochaufgelösten thermischen Referenzspektren, welche nach den ALTADENA-Experimenten aufgenommen wurden, lässt sich entnehmen, dass, genau wie im Test mit 2-Hexin, vollständig in trans-Stellung hydriert wurde. Es sind bei der Reaktion keine nachweisbaren Mengen von toxischem Maleat entstanden.

Insgesamt ist, bis auf die störende Eigenschaft, dass die Hydrierreaktion nicht bei Fumarat stoppt, alles was als Ergebnis der Experimente dieses Abschnitts beobachtet werden konnte als Erfolg anzusehen.

Mit $[Cp^*Ru(MeCN)_3]PF_6$ als Katalysator ist eine Erzeugung para-Wasserstoff induzierter Hyperpolarisation über trans-Hydrierung in wässrig verdünnten Lösungsmitteln praktisch auf Anhieb gelungen. Es wurde sogar ein Versuch unternommen hyperpolarisiertes $1\text{-}^{13}\text{C}$ -Fumarat mithilfe von $[Cp^*Ru(MeCN)_3]PF_6$ in reinem D_2O als Lösungsmittel herzustellen. Hierbei war die Überreduktion zu $1\text{-}^{13}\text{C}$ -Succinat zwar noch höher als sonst und die Hyperpolarisation auf $1\text{-}^{13}\text{C}$ -Fumarat war weniger ausgeprägt, dennoch ist es ein Erfolg, dass das gelungen ist.

Im nächsten Schritt sollte eine genauere Untersuchung der Physik des Spinsystems von hyperpolarisiertem $1\text{-}^{13}\text{C}$ -Fumarat folgen, einschließlich Simulationen, PASADENA-Experimenten sowie Polarisationsübertragung mittels PH-INEPT+ -Sequenz. Wie auf S. 35 diskutiert wird, ist es unklar,

warum die Hyperpolarisation auf 1-¹³C Fumarat in diesem Kapitel sichtbar sein konnte, da es im thermischen Spektrum von 1-¹³C-Fumarat keine Anzeichen auf eine Unterscheidbarkeit der Signale der einzelnen Protonen gibt. Umso mehr ist es erstaunlich, dass die Hyperpolarisation in den Experimenten dieses Kapitels so deutlich sichtbar war. Möglicherweise könnte ein sogenanntes „Level Anticrossing“ mit der ¹³C-Markierung die Ursache dafür sein. [1, 13] Dies sollte unbedingt näher untersucht werden. Weiterhin soll das Spinsystem von 1-¹³C-Fumarat und besonders auch von unmarkiertem Fumarat erforscht werden, um herauszufinden ob auf den Molekülen ein langlebiger Singulett-Zustand existiert. Schließlich soll die Forschung auf die Reaktion Acetylendicarboxylat zu Fumarat ohne Markierung sowie mit anderen Markierungen ausgeweitet werden.

Kapitel 6

Fazit

Kapitel 4 hat nachgewiesen, dass $1\text{-}^{13}\text{C}$ Succinat mittels para-Wasserstoff hyperpolarisiert werden kann. Damit ist bewiesen, dass para-Wasserstoff induzierte Hyperpolarisation auf dem Molekül Succinat (Bernsteinsäure Dinatriumsalz) prinzipiell möglich und eine Anwendung als metabolisches Kontrastmittel denkbar ist. Nachteilig für eine spätere medizinische Anwendung ist hierbei die kurze Lebensdauer der Hyperpolarisation, bedingt durch die kurze T_1 -Zeit von Succinat auf Protonen in der Größenordnung von wenigen Sekunden. Auf ^{13}C ist die T_1 -Zeit jedoch mit (50 ± 1) s lang genug für eine medizinische Anwendung. Ein großer Vorteil ist hingegen, dass sowohl Fumarat (Fumarsäure Dinatriumsalz), das Ausgangsprodukt der Reaktion, als auch Succinat, als hyperpolarisiertes Reaktionsprodukt, nicht toxisch sind. Für das Problem, dass der Katalysator toxisch ist, wird bereits an einer Lösung gearbeitet.

Für eine mögliche Anwendung bleibt zu untersuchen, ob die Lebensdauer der Hyperpolarisation auf $1\text{-}^{13}\text{C}$ -Succinat erhöht werden kann, beispielsweise durch weitere Kernmarkierungen wie Deuterierungen.

Des Weiteren wäre für die spätere Anwendung eine zuverlässige Methode nötig, Succinat unter sterilen Bedingungen kontinuierlich zu hyperpolarisieren. Hierfür kommt eine Reaktion durch gasdurchlässige Membranen besonders stark in Frage. Optimalerweise sollte die kontinuierliche Hyperpolarisierung im PASADENA Experiment geschehen, da hier die Bedingungen besser kontrollierbar sind. Sollte das nicht möglich sein, wäre auch eine kontinuierliche Hyperpolarisierung von Succinat durch gasdurchlässige Membranen im ALTADENA-Experiment denkbar.

Zusätzlich ist zu untersuchen, ob Succinat, in allen Kombinationen von Kernmarkierungen, einen Singulett-Zustand bildet und ob dieser zur längeren Speicherung von Hyperpolarisation geeignet ist. Falls ein für NMR unsichtbarer, hyperpolarisierter Singulett-Zustand auf Succinat nachgewiesen wird,

muss auch eine zuverlässige Methode entwickelt werden, diesen zu brechen und die darin gespeicherte Hyperpolarisation sichtbar zu machen, unabhängig davon, ob man den Singulett-Zustand zur längeren Speicherung von Hyperpolarisation nutzen kann oder nicht.

Zusammenfassend kann man festhalten, dass bis zur Anwendung von hyperpolarisiertem Succinat eine umfassende Erforschung des zugrunde liegenden Spinsystems, sowie sehr viel technische Optimierung nötig ist. Mit dem direkten experimentellen Nachweis von Hyperpolarisation auf $1\text{-}^{13}\text{C}$ Succinat ist allerdings der Grundstein für weitere Untersuchungen gelegt.

In Kapitel 5 sind zwei Erfolge beschrieben, welche im Rahmen der Arbeit erreicht werden konnten.

Der Erste ist das erstmalige gezielte Einsetzen der in trans-Stellung hydrierenden Katalysatoren $Cp^*Ru(cod)Cl$ und $[Cp^*Ru(MeCN)_3]PF_6$ zur Erzeugung para-Wasserstoff induzierter Hyperpolarisation mit positivem Ergebnis, in einer Reihe von Lösungsmitteln. Insbesondere, dass die genannten Katalysatoren in Ethanol und in Ethanol-Wasser-Gemischen arbeiten ist für die mögliche medizinische Anwendung ein sehr bedeutendes Ergebnis. Hiermit wurde nicht nur zum ersten Mal eine gezielte trans-PHIP-Hydrierung durchgeführt, sondern dies auch in einem Lösungsmittel, welches für den Menschen in kleinen Mengen nicht gefährlich ist.

Die genannten Katalysatoren könnten den Weg zu zahlreichen weiteren hyperpolarisierbaren Molekülen ebnen, welche bisher wegen fehlender Möglichkeiten eine Hydrierung in trans-Stellung durchzuführen unerreicher waren.

Nachteile der Katalysatoren sind eine geringe Reaktionsgeschwindigkeit, sowie die Tatsache, dass die Reaktion nicht nach einer Hydrierung von Dreifach- zu Doppelbindung stoppt, sondern ein Teil der Reaktionsprodukte mit Doppelbindung nochmals zu einer Einfachbindung hydriert wird. Für ein gezieltes Hyperpolarisieren von Molekülen mit Doppelbindung ist insbesondere letzteres ein Hindernis.

Mithilfe der beiden Katalysatoren, konnte para-Wasserstoff induzierte Hyperpolarisation auch auf $1\text{-}^{13}\text{C}$ -Fumarat nachgewiesen werden. Die Reaktionen wurden in 1:1-Gemischen aus Wasser und Aceton, Methanol oder Ethanol durchgeführt. Insbesondere $[Cp^*Ru(MeCN)_3]PF_6$ führte hierbei zu guten Ergebnissen. Dies führt zum unmittelbaren Schluss, dass eine paarweise trans-Hydrierung von Acetylendicarboxylat (Acetylendicarbonsäure Dinatriumsalz) mit para-Wasserstoff hyperpolarisiertes Fumarat (Fumarsäure Dinatriumsalz) hervorbringt, welches somit ein geeigneter Kandidat für ein hyperpolarisiertes metabolisches Kontrastmittel sein kann, ebenso wie 1-

^{13}C -Succinat. Der Vorteil von Fumarat gegenüber Succinat ist die deutlich längere T_1 -Zeit auf Protonen, was die Hyperpolarisation langlebiger und somit besser nutzbar macht. Zudem ist für Fumarat aufgrund seiner Struktur mit Doppelbindung die Wahrscheinlichkeit höher, dass es nach einer Hydrierung mit para-Wasserstoff einen langlebigen Singulett-Zustand bilden kann. Solche langlebigen hyperpolarisierten Singulett-Zustände sind für medizinische Anwendungen außerordentlich nützlich. [5] Das Verhalten von Fumarat im Hinblick auf hyperpolarisierte Singulett-Zustände konnte im Rahmen der Arbeit nicht erforscht werden, es lohnt sich jedoch in Zukunft dieser Frage nachzugehen.

Der Nachteil von hyperpolarisiertem Fumarat ist, dass es durch Hydrierung von toxischem Acetylendicarboxylat gewonnen wird. Aus diesem Grund ist für eine medizinische Anwendung ein vollständiger Umsatz der Probe sehr wichtig. Um dies mit $[Cp^*Ru(MeCN)_3]PF_6$ als Katalysator zu erzielen muss nach einer Lösung für dessen Nachteile gesucht werden.

Des Weiteren muss für jegliche Anwendung von para-Wasserstoff induziert hyperpolarisiertem Fumarat die Physik des Spinsystems des Moleküls in verschiedenen Markierungen besser verstanden werden. Hierzu sind Simulationen und weitere Experimente nötig. Das Verhalten von hyperpolarisiertem Fumarat im PASADENA-Experiment ist zur Zeit gar nicht erforscht.

Insgesamt konnte im Rahmen dieser Arbeit bestätigt werden, dass Fumarat und Succinat prinzipiell mittels para-Wasserstoff hyperpolarisiert werden können und somit das wichtigste Kriterium erfüllen potentiell als hyperpolarisierte metabolische MRT-Kontrastmittel eingesetzt zu werden. Es wurde auch gezeigt, dass zwei, im Jahr 2013 publizierte [18], Katalysatoren für Hydrierreaktionen in trans-Stellung zur Herstellung von para-Wasserstoff induzierter Hyperpolarisation geeignet sind.

Es konnten jedoch keine detaillierten Lösungen ausgearbeitet werden, wie die Hyperpolarisation von Fumarat und Succinat am effektivsten hergestellt und wie sie am effektivsten genutzt werden kann. Hierzu sind zahlreiche weitere Nachforschungen nötig, für welche diese Arbeit die Grundlage liefert.

Im Detail sind zusätzlich viele weitere Fragestellungen akademischer Natur zu den Spinsystemen der verwendeten Moleküle aufgekommen, welche nicht geklärt werden konnten.

Zusammenfassend hat diese Masterarbeit mehr wissenschaftliche Fragen aufgeworfen, als sie beantwortet hat.

Die führende Frage, ob Fumarat und Succinat geeignet als metabolische Kontrastmittel eingesetzt zu werden kann mit dieser Arbeit nicht final beantwortet werden, der prinzipielle Nachweis einer Hyperpolarisierbarkeit erhöht jedoch deutlich die Chancen auf eine positive Antwort in Zukunft.

Anhang A

Hyperpolarisiertes Succinat

A.1 Konzentrationsreihe des wasserlöslichen Katalysators

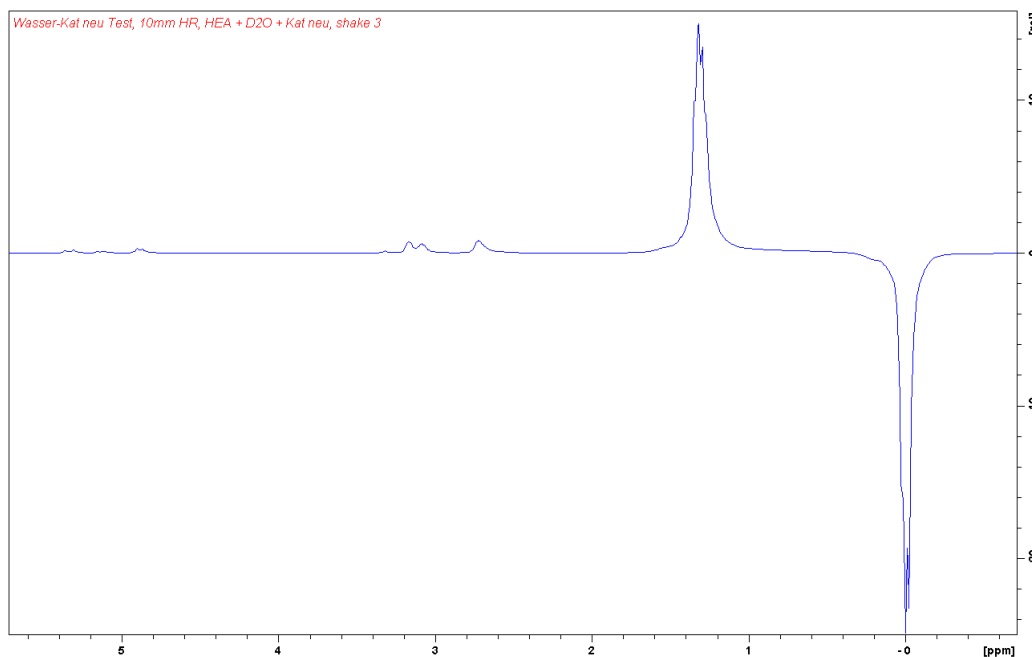


Abbildung A.1: NMR-Spektrum von hyperpolarisiertem 2-Hydroxyethylpropionat nach ALTADENA-Experiment. Zu sehen sind antiphase Hyperpolarisierte Peaks, welche typisch sind für para-Wasserstoff induzierte Hyperpolarisation. Der Nachweis dieser impliziert, dass der verwendete wasserlösliche Katalysator $\text{Rh}(\text{nor})(\text{ppbs})\text{BF}_4$ das Substrat 2-Hydroxyethylacrylat paarweise hydriert hat.

A.1.1 Herleitung der Reaktionskinetik

Sei N_0 die Anzahl der Substrat- und M die Anzahl der Katalysatormoleküle in der Probe vor der Reaktion (zur Zeit $t = 0$). Wegen Annahme 3 gilt $M = \textit{konstant}$. $N(t)$ sei die Anzahl der Substratmoleküle zum Zeitpunkt t . Ferner gelte $N(t \rightarrow \infty) \rightarrow 0$.

Die Wahrscheinlichkeit, dass zum Zeitpunkt t ein konkretes Katalysatormolekül auf ein beliebiges Substratmolekül trifft ist zunächst (ohne Annahme 2):

$$P_{Kat, konkret-Sub}(t) = \frac{N(t)}{N_0 + M - 1}$$

Unter Berücksichtigung von Annahme 2 kommt die Wahrscheinlichkeit P_L als Faktor hinzu. Da es im System M Katalysatormoleküle gibt, ist $P_{Kat, konkret-Sub}(t)$ mit M zu multiplizieren, um die Wahrscheinlichkeit $P_{Kat-Sub}$ zu erhalten, dass ein beliebiges Katalysatormolekül auf ein beliebiges Substratmolekül trifft.

$$P_{Kat-Sub}(t) = \frac{N(t)}{N_0 + M - 1} \cdot P_L \cdot M$$

Um daraus die Wahrscheinlichkeit zu erhalten, dass ein beliebiges Katalysatormolekül auf ein beliebiges Substratmolekül auf ein beliebiges Wassermolekül trifft, muss $P_{Kat-Sub}$ mit P_{H_2} multipliziert werden. Durch Umformung ergibt sich die gesuchte Abhängigkeit von der Katalysatorkonzentration K .

$$\begin{aligned} P_{Kat-Sub-H_2}(t) &= \frac{N(t)}{N_0 + M - 1} \cdot P_L \cdot M \cdot P_{H_2} & P_L \cdot P_{H_2} &\equiv P_{Umg} \\ &\approx N(t) \cdot \frac{M}{N_0 + M} \cdot P_{Umg} & \text{für } N_0 + M &\gg 1 \\ &= N(t) \cdot K \cdot P_{umg} & \text{vgl. Gl. (4.1)} \end{aligned}$$

Annahme 4 setzt nun $P_{Kat-Sub-H_2}$ gleich mit der Wahrscheinlichkeit, dass zum Zeitpunkt t eine paarweise Hydrierreaktion stattfindet.

Mit Annahme 5 kann man $P_{Kat-Sub-H_2}$ mit dem Anteil von $N(t)$ gleichsetzen, der zum Zeitpunkt t reagiert. Es ergibt sich folgende Differentialgleichung mit folgender Lösung:

$$\begin{aligned}
 \dot{N} &= -P_{Kat-Sub-H_2} \\
 &= -N(t) \cdot K \cdot P_{umg} \\
 \Rightarrow N(t) &= N_0 e^{-K \cdot P_{umg} \cdot t} \quad (\text{unter Berücksichtigung der Randbed.})
 \end{aligned}$$

Für den Reaktionsumsatz U zum Zeitpunkt t in Abhängigkeit der Katalysatorkonzentration K gilt damit:

$$U(t) = \frac{N_{Produkt}(t)}{N_0} \quad \text{vgl. Gl. (4.2)} \quad (\text{A.1})$$

$$= \frac{N_0 - N(t)}{N_0} \quad (\text{A.2})$$

$$\Rightarrow U(t, K) = 1 - e^{-K \cdot P_{umg} \cdot t} \quad (\text{A.3})$$

Gleichung (A.3) beschreibt die Kurve, die durch die Datenpunkte in Tabellen 4.1 und 4.2 gefittet werden muss. Im Experiment wurde $t = 30 \text{ s}$ gesetzt und K variiert.

A.2 PASADENA-Experimente mit 1-¹³C-Fumarat

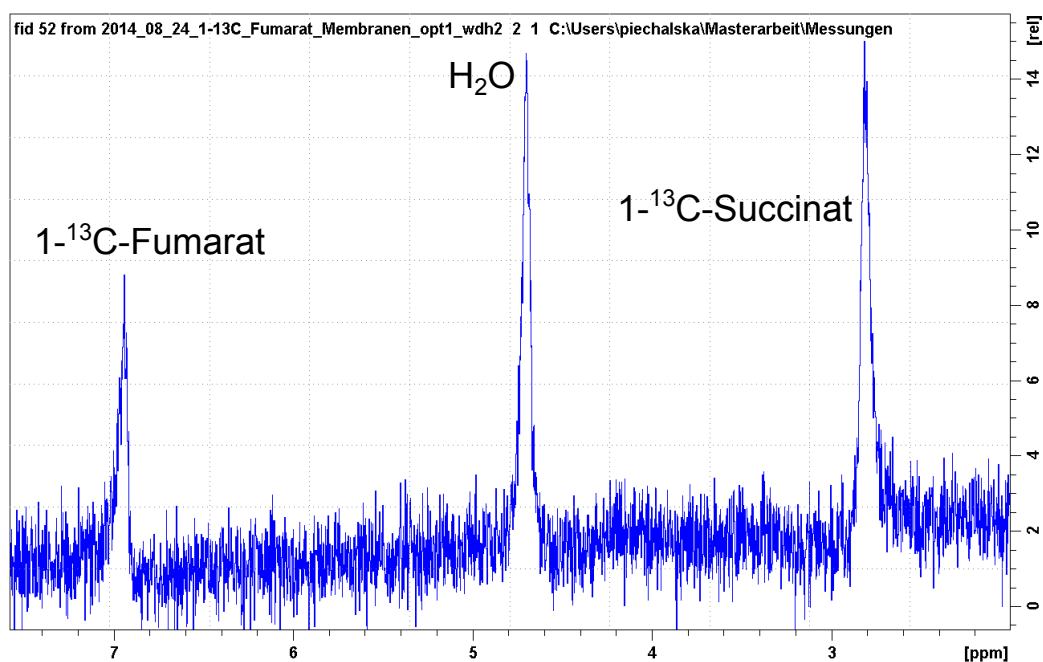


Abbildung A.2: NMR-Spektrum, aufgenommen während der Reaktion 1-¹³C-Fumarat zu 1-¹³C-Succinat im PASADENA-Experiment mit optimiertem Membranmodul mit verkürzten Membranfasern und mit optimierter Versuchsvorbereitung. Während des Experiments wurde die Probe im Probenkopf auf 80°C geheizt, der p-H₂-Druck im System betrug 5,2 bar. Es ist keine Hyperpolarisation erkennbar.

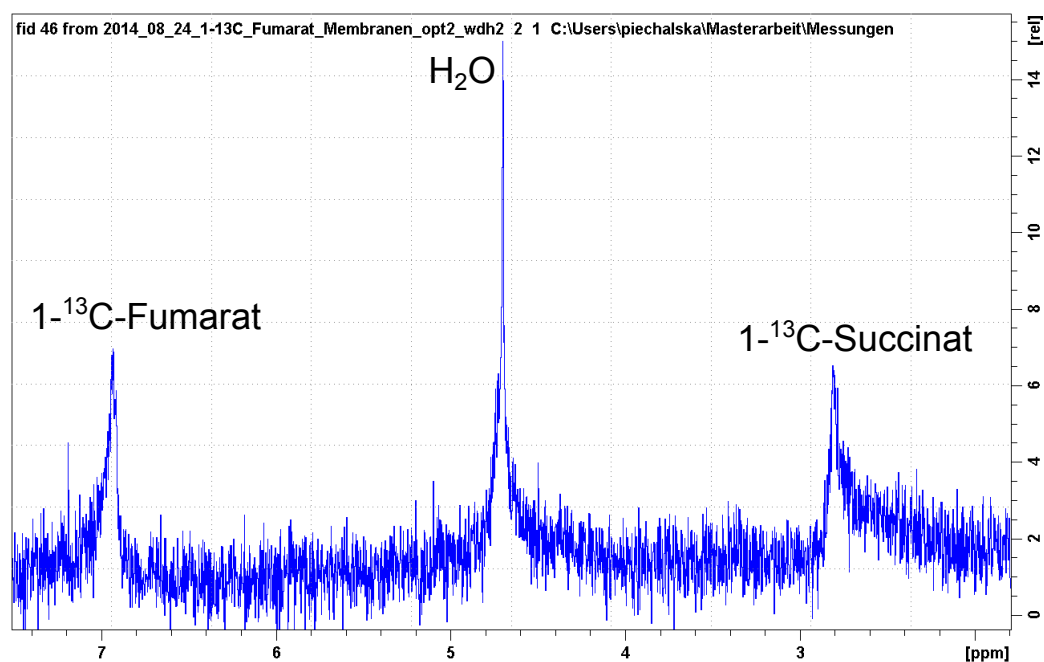


Abbildung A.3: NMR-Spektrum, aufgenommen während der Reaktion 1-¹³C-Fumarat zu 1-¹³C-Succinat im PASADENA-Experiment mit optimiertem Membranmodul mit kleinerer Anzahl an Membranfasern (8-10 statt 20-25 Stück) und mit optimierter Versuchsvorbereitung. Während des Experiments wurde die Probe im Probenkopf auf 80°C geheizt, der p-H₂-Druck im System betrug 5,2 bar. Es ist keine Hyperpolarisation erkennbar.

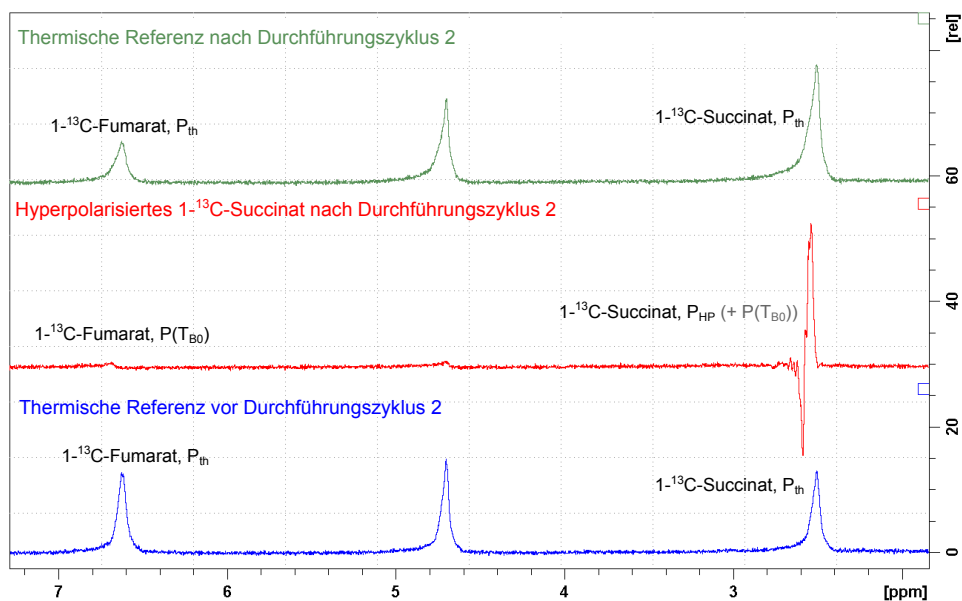


Abbildung A.4: NMR-Spektren aus ALTADENA-Experiment mit $1\text{-}^{13}\text{C}$ -Fumarat als Substrat, mit losen Membranfasern in der Katalysator-Substrat-Lösung. Spektrum mit hyperpolarisiertem $1\text{-}^{13}\text{C}$ -Succinat nach Durchführungszyklus 2 (mitte), mit thermischen Referenzen vorher (unten) und nachher (oben). Charakteristisches Antiphasensignal für $p\text{-H}_2$ induzierte HP erkennbar. Alle Spekten aufgenommen nach einem Flipwinkel $\alpha = 45^\circ$.

Abbildungsverzeichnis

2.1	Besetzungswahrscheinlichkeit der Rotationszustände mit $J = 0-5$ in Abhängigkeit der Temperatur. Es fällt auf, dass bei niedrigen Temperaturen der Rotationsgrundzustand $J = 0$ dominiert und dessen Besetzungswahrscheinlichkeit, in Summe mit den Besetzungswahrscheinlichkeiten anderer gerader J , für Temperaturen höher 250 K gegen $\frac{1}{4}$ geht, während die Besetzungswahrscheinlichkeit der Rotationszustände mit ungeradem J insgesamt gegen $\frac{3}{4}$ geht. Quelle [15]	14
2.2	Veranschaulichung der Hyperpolarisationserzeugung durch paarweise Hydrierung mit para-Wasserstoff	15
2.3	Levelschema eines zwei-Spin-Systems. Die chemische Verschiebung der Kerne bewirkt, dass die Zustände $ \uparrow\downarrow\rangle$ und $ \downarrow\uparrow\rangle$ nicht bei derselben Energie liegen. Die J -Kopplung ist als gestrichelte Linien bei den Energieniveaus veranschaulicht. Die Konfigurationen mit antiparalleler Kernspineinstellung sind energetisch ein wenig günstiger, die parallelen Kernspinkonfigurationen sind geringfügig ungünstiger. Durch Kombination der beiden Effekte erhält jeder der vier Energieübergänge in diesem System eine andere Energiedifferenz. Die Übergänge sind als vier Separate Resonanzen im Spektrum sichtbar. Die Besetzung der Zustände entspricht der Boltzmann-Verteilung. . .	16
2.4	Levelschema desselben zwei-Spin-Systems nach paarweiser Hydrierung mit para-Wasserstoff im PASADENA-Experiment. Hierbei wurden nur die Zustände $ \uparrow\downarrow\rangle$ und $ \downarrow\uparrow\rangle$ besetzt, die beiden anderen Zustände sind leer, was einer starken Überpopulation und damit Hyperpolarisation entspricht. Die vier möglichen Übergänge können zudem nur in eine Richtung angeregt werden, was zu antiphasischen Signalen führt.	16

2.5	Levelschema desselben zwei-Spin-Systems nach paarweiser Hydrierung mit para-Wasserstoff im ALTADENA-Experiment. Hierbei wurde nur der Zustand $ \downarrow\uparrow\rangle$ besetzt. Nach dem gleichen Prinzip, wie im PASADENA-Experiment ergibt dies eine Hyperpolarisation, jedoch bleiben nur noch die Übergänge 1 und 4 möglich. Das Ergebnis sind zwei antiphasische hyperpolarisierte Peaks im Spektrum.	17
3.1	Anteile von ortho- und para-Wasserstoff im Gleichgewicht in Abhängigkeit der Temperatur. Die eingezeichneten Pfeile deuten die Methode zur Anreicherung von para-Wasserstoff an. . .	19
3.2	Veranschaulichung einer paarweisen Hydrierreaktion anhand von Acetylendicarboxylat. Die beiden Wasserstoffatome eines H_2 Moleküls werden an ein Zielmolekül angebracht. Dies kann entweder in cis-Stellung geschehen, mit Maleat als Reaktionsprodukt, oder in trans-Stellung, mit Fumarat als Reaktionsprodukt. Als Reaktionsbedingungen ist ein Bereich angegeben, welcher alle für diese Arbeit typischen Reaktionsbedingungen umfasst.	20
3.3	Aufbau und Durchführung von ALTADENA-Experimenten in dieser Arbeit	23
3.4	Aufbau PASADENA Experiment. Alle PASADENA-Experimente dieser Arbeit wurden mit diesem Aufbau durchgeführt.	24
3.5	Schritte zur Vorbereitung eines PASADENA-Experimentes. . .	25
3.6	Schematische Darstellung der Pulssequenz PH-INEPT+ zur Übertragung von para-Wasserstoff induzierter Polarisation von Protonen auf ^{13}C . Quelle [16]	26
4.1	Reaktionsgleichung: paarweise Hydrierung von Fumarat mit para-Wasserstoff, Herstellung von hyperpolarisiertem Succinat	27
4.2	Strukturformel des wasserlöslichen PHIP-Katalysators (1,4-bis-[(phenyl-3-propane sulfonate)phosphine]butane)(2,5-norbornadiene) rhodium(I)tetrafluoroborate ($Rh(nor)(ppbs)BF_4$); der Katalysator führt eine paarweise Hydrierung aus, die Hydrierungsatome im Produkt stehen in cis-Stellung zueinander.	28

- 4.3 Reaktionsgleichung: paarweise Hydrierung von 1- ^{13}C -Fumarat mit para-Wasserstoff, Herstellung von hyperpolarisiertem 1- ^{13}C -Succinat. Die ^{13}C -Markierung dient der Symmetriebrechung, welche die Hydrierungsprotonen im NMR-Spektrum voneinander unterscheidbar machen soll. Auf diese Weise soll der direkte Nachweis von para-Wasserstoff induzierter Hyperpolarisation ermöglicht werden. 29
- 4.4 Fumarat (Fumarsäure Dinatriumsalz): Oben: Strukturformel und räumliches Modell des Moleküls; Mitte: wichtige NMR-Eigenschaften tabellarisch; Unten: hochaufgelöstes ^1H NMR Spektrum von Fumarat gelöst in D_2O 30
- 4.5 Succinat (Bernsteinsäure Dinatriumsalz): Oben: Strukturformel und räumliches Modell des Moleküls; Mitte: wichtige NMR-Eigenschaften tabellarisch; Unten: hochaufgelöstes ^1H NMR Spektrum von Succinat gelöst in D_2O 31
- 4.6 1- ^{13}C -Fumarat (Fumarsäure Dinatriumsalz, ^{13}C markiert an Position 1): Oben: Strukturformel und räumliches Modell des Moleküls; Mitte: wichtige NMR-Eigenschaften tabellarisch, av300 (Betriebsfrequenz 300 MHz, 7 T) und s700 (Betriebsfrequenz 700 MHz, 16,4 T) bezeichnen verschiedene Spektrometer, an denen ein hochauflösendes thermisches Spektrum aufgenommen wurde; Unten: hochaufgelöstes ^1H NMR Spektrum von 1- ^{13}C -Fumarat gelöst in D_2O , chemische Verschiebungen und J-Kopplungen eingezeichnet. 32
- 4.7 1- ^{13}C -Fumarat (Fumarsäure Dinatriumsalz, ^{13}C markiert an Position 1): hochaufgelöstes ^{13}C NMR Spektrum von 1- ^{13}C -Fumarat gelöst in D_2O , chemische Verschiebungen und J-Kopplungen eingezeichnet. 33
- 4.8 1- ^{13}C -Succinat (Bernsteinsäure Dinatriumsalz, ^{13}C markiert an Position 1): Oben: Strukturformel und räumliches Modell des Moleküls; Mitte: wichtige NMR-Eigenschaften tabellarisch; av300 (Betriebsfrequenz 300 MHz, 7 T) und s700 (Betriebsfrequenz 700 MHz, 16,4 T) bezeichnen verschiedene Spektrometer, an denen ein hochauflösendes thermisches Spektrum aufgenommen wurde; Unten: hochaufgelöstes ^1H NMR Spektrum von 1- ^{13}C -Succinat gelöst in D_2O 34
- 4.9 1- ^{13}C -Succinat (Bernsteinsäure Dinatriumsalz, ^{13}C markiert an Position 1): hochaufgelöstes ^{13}C NMR Spektrum von 1- ^{13}C -Succinat gelöst in D_2O 35

4.10	Reaktionsgleichung: paarweise Hydrierung von 2-Hydroxyethylacrylat mit para-Wasserstoff, Herstellung von hyperpolarisiertem 2-Hydroxyethylpropionat	36
4.11	Aufbau des Experiments für die Optimierung der Katalysatorkonzentration des wasserlöslichen Katalysators (Rh(nor)(ppbs)BF ₄) für die Reaktionen Fumarat + p-H ₂ → Succinat, sowie 2-Hydroxyethylacrylat + p-H ₂ → 2-Hydroxyethylpropionat . .	37
4.12	Schematische Darstellung der sechs Schritte der Versuchsdurchführung	39
4.13	Spektrum der Probe mit ursprünglich 10 mg (9,95 mg) Katalysator auf 40 mg (40,19 mg) Fumarat, aufgenommen nach Hydrierreaktion. Links, bei 6,419 ppm ist der Fumarat-Peak, rechts, bei 2,305 ppm der Succinat-Peak zu sehen.	42
4.14	Fit der theoretisch erwarteten Abhängigkeit U(K) (Gl. (A.3)) durch die Messpunkte für Fumarat als Substrat (Tab. 4.1) . .	48
4.15	Fit der theoretisch erwarteten Abhängigkeit U(K) (Gl. (A.3)) durch die Messpunkte für 2-Hydroxyethylacrylat als Substrat (Tab. 4.2)	49
4.16	Spektrum mit hyperpolarisiertem 1- ¹³ C-Succinat nach Durchführungszklus 2 (mitte), mit thermischen Referenzen vorher (unten) und nachher (oben). Charakteristisches Antiphasensignal für p-H ₂ induzierte HP erkennbar. Alle Spekten aufgenommen nach einem Flipwinkel $\alpha = 45^\circ$	51
4.17	¹³ C-Spektrum mit hyperpolarisiertem 1- ¹³ C-Succinat nach Durchführungszklus 1 (mitte), mit thermischen Referenzen vorher (unten) und nachher (oben). Charakteristisches Antiphasensignal für p-H ₂ induzierte HP erkennbar. Alle Spekten aufgenommen nach einem Flipwinkel $\alpha = 45^\circ$	56
4.18	Intensität der NMR-Signale von Fumarat und Succinat, aufgetragen gegen die Zeit der Messung. Unter gleichen Bedingungen wurde Fumarat im PASADENA-Experiment einmal mit thermischem Wasserstoff und einmal mit para-Wasserstoff zu Succinat hydriert. Jede Sekunde wurde ein Spektrum zur zeitlichen Verfolgung der Reaktion aufgenommen.	59
4.19	NMR-Spektrum PASADENA-Experiment ohne Optimierung .	61
4.20	Optimierte Membranmodule für schmalere Spektrallinien . . .	62
4.21	NMR-Spektrum PASADENA-Experiment mit Membranmodul mit verkürzten Membranfasern	63
4.22	NMR-Spektrum PASADENA-Experiment mit Membranmodul mit weniger Membranfasern	64

- 4.23 Optimierte Versuchsvorbereitung eines PASADENA-Experimentes, zum Ausschluss von Luft/Sauerstoff aus dem Versuchsaufbau. 66
- 4.24 Spektren nach PH-INEPT+ Sequenz während PASADENA . . 69
- 5.1 Reaktionsgleichung: paarweise trans-Hydrierung von Acetylendicarboxylat mit para-Wasserstoff, Herstellung von hyperpolarisiertem Fumarat 71
- 5.2 Reaktionsgleichung: paarweise trans-Hydrierung von 1-¹³C-Acetylendicarboxylat mit para-Wasserstoff, Herstellung von hyperpolarisiertem 1-¹³C-Fumarat 72
- 5.3 Katalysator *Chloro(pentamethylcyclopentadienyl) (cyclooctadiene)ruthenium(II) (Cp**Ru(cod)Cl*)* für paarweise trans-Hydrierung von Alkinen. 73
- 5.4 Katalysator *Pentamethylcyclopentadienyltris (acetonitrile)ruthenium(II) hexafluorophosphate ([Cp**Ru(MeCN)*]₃PF₆)* für paarweise trans-Hydrierung von Alkinen. 73
- 5.5 Reaktionsgleichung: paarweise cis- und trans-Hydrierung von 2-Hexin mit para-Wasserstoff, Herstellung von hyperpolarisiertem cis- bzw. trans-2-Hexen. 75
- 5.6 Auflösung des thermischen NMR-Spektrums von 2-Hexin gelöst in Aceton, aufgenommen bei 7 T (Betriebsfrequenz: 300 MHz). Mit einem Buchstaben gekennzeichnete Protonen sind chemisch und magnetisch äquivalent. (Teil 1) 76
- 5.7 Auflösung des thermischen NMR-Spektrums von 2-Hexin gelöst in Aceton, aufgenommen bei 7 T (Betriebsfrequenz: 300 MHz). Mit einem Buchstaben gekennzeichnete Protonen sind chemisch und magnetisch äquivalent. (Teil 2) 77
- 5.8 Auflösung des thermischen NMR-Spektrums von trans-2-Hexen gelöst in Aceton, aufgenommen bei 7 T (Betriebsfrequenz: 300 MHz). Mit einem Buchstaben gekennzeichnete Protonen sind chemisch und magnetisch äquivalent. (Teil 1) 78
- 5.9 Auflösung des thermischen NMR-Spektrums von trans-2-Hexen gelöst in Aceton, aufgenommen bei 7 T (Betriebsfrequenz: 300 MHz). Mit einem Buchstaben gekennzeichnete Protonen sind chemisch und magnetisch äquivalent. (Teil 2) 79
- 5.10 Auflösung des thermischen NMR-Spektrums von cis-2-Hexen gelöst in Aceton, aufgenommen bei 7 T (Betriebsfrequenz: 300 MHz). Mit einem Buchstaben gekennzeichnete Protonen sind chemisch und magnetisch äquivalent. (Teil 1) 81

5.11	Auflösung des thermischen NMR-Spektrums von cis-2-Hexen gelöst in Aceton, aufgenommen bei 7 T (Betriebsfrequenz: 300 MHz). Mit einem Buchstaben gekennzeichnete Protonen sind chemisch und magnetisch äquivalent. (Teil 2)	82
5.12	Acetylendicarboxylat (Acetylendicarbonsäure Dinatriumsalz): Oben: Strukturformel und räumliches Modell des Moleküls; Mitte: wichtige NMR-Eigenschaften tabellarisch; Unten: hochaufgelöstes ^{13}C NMR Spektrum von Acetylendicarboxylat gelöst in D_2O	88
5.13	^1H -Spektrum mit hyperpolarisiertem 1- ^{13}C -Fumarat in 1:1-Aceton: D_2O -Gemisch als Lösungsmittel nach Durchführungszyklus 1 (mitte), mit Referenzspektren vorher (unten) und nachher (oben). Charakteristisches Antiphasensignal für p- H_2 induzierte HP erkennbar. Alle Spekten aufgenommen nach einem Flipwinkel $\alpha = 45^\circ$	92
5.14	^1H -Spektrum mit hyperpolarisiertem 1- ^{13}C -Fumarat in 1:1-Methanol: D_2O -Gemisch als Lösungsmittel nach Durchführungszyklus 1 (mitte), mit Referenzspektren vorher (unten) und nachher (oben). Charakteristisches Antiphasensignal für p- H_2 induzierte HP auf Fumarat erkennbar. Die restlichen hyperpolarisierten antiphasischen Signale stammen von der hyperpolarisierten Katalysatorschutzgruppe und von Succinat. Alle Spekten aufgenommen nach einem Flipwinkel $\alpha = 45^\circ$	93
5.15	^1H -Spektrum mit hyperpolarisiertem 1- ^{13}C -Fumarat in 1:1-Ethanol: D_2O -Gemisch als Lösungsmittel nach Durchführungszyklus 1 (mitte), mit Referenzspektren vorher (unten) und nachher (oben). Charakteristisches Antiphasensignal für p- H_2 induzierte HP auf Fumarat erkennbar. Die restlichen hyperpolarisierten antiphasischen Signale stammen von der hyperpolarisierten Katalysatorschutzgruppe und von Succinat. Alle Spekten aufgenommen nach einem Flipwinkel $\alpha = 45^\circ$	94
5.16	^{13}C -Spektrum mit hyperpolarisiertem 1- ^{13}C -Fumarat in 1:1-Aceton: D_2O -Gemisch als Lösungsmittel nach Durchführungszyklus 1 (mitte), mit Referenzspektren vorher (unten) und nachher (oben). Charakteristisches Antiphasensignal für p- H_2 induzierte HP auf Fumarat erkennbar. Die restlichen hyperpolarisierten antiphasischen Signale stammen von der hyperpolarisierten Katalysatorschutzgruppe und von Succinat. Alle Spekten aufgenommen nach einem Flipwinkel $\alpha = 45^\circ$	95

- 5.17 ^{13}C -Spektrum mit hyperpolarisiertem $1\text{-}^{13}\text{C}$ -Fumarat in 1:1-Methanol: D_2O -Gemisch als Lösungsmittel nach Durchführungszyklus 2 (mitte), mit Referenzspektren vorher (unten) und nachher (oben). Charakteristisches Antiphasensignal für $p\text{-}H_2$ induzierte HP auf Fumarat erkennbar. Die restlichen hyperpolarisierten antiphasischen Signale stammen von der hyperpolarisierten Katalysatorschutzgruppe und von Succinat. Alle Spekten aufgenommen nach einem Flipwinkel $\alpha = 45^\circ$ 96
- 5.18 ^{13}C -Spektrum mit hyperpolarisiertem $1\text{-}^{13}\text{C}$ -Fumarat in 1:1-Ethanol: D_2O -Gemisch als Lösungsmittel nach Durchführungszyklus 1 (mitte), mit Referenzspektren vorher (unten) und nachher (oben). Charakteristisches Antiphasensignal für $p\text{-}H_2$ induzierte HP auf Fumarat erkennbar. Die restlichen hyperpolarisierten antiphasischen Signale stammen von der hyperpolarisierten Katalysatorschutzgruppe und von Succinat. Alle Spekten aufgenommen nach einem Flipwinkel $\alpha = 45^\circ$ 97
- A.1 NMR-Spektrum von hyperpolarisiertem 2-Hydroxyethylpropionat nach ALTADENA-Experiment. Zu sehen sind antiphasische Hyperpolarisierte Peaks, welche typisch sind für para-Wasserstoff induzierte Hyperpolarisation. Der Nachweis dieser impliziert, dass der verwendete wasserlösliche Katalysator $\text{Rh}(\text{nor})(\text{ppbs})\text{BF}_4$ das Substrat 2-Hydroxyethylacrylat paarweise hydriert hat. . . 104
- A.2 NMR-Spektrum, aufgenommen während der Reaktion $1\text{-}^{13}\text{C}$ -Fumarat zu $1\text{-}^{13}\text{C}$ -Succinat im PASADENA-Experiment mit optimiertem Membranmodul mit verkürzten Membranfasern und mit optimierter Versuchsvorbereitung. Während des Experiments wurde die Probe im Probenkopf auf 80°C geheizt, der $p\text{-}H_2$ -Druck im System betrug 5,2 bar. Es ist keine Hyperpolarisation erkennbar. 107
- A.3 NMR-Spektrum, aufgenommen während der Reaktion $1\text{-}^{13}\text{C}$ -Fumarat zu $1\text{-}^{13}\text{C}$ -Succinat im PASADENA-Experiment mit optimiertem Membranmodul mit kleinerer Anzahl an Membranfasern (8-10 statt 20-25 Stück) und mit optimierter Versuchsvorbereitung. Während des Experiments wurde die Probe im Probenkopf auf 80°C geheizt, der $p\text{-}H_2$ -Druck im System betrug 5,2 bar. Es ist keine Hyperpolarisation erkennbar. . . . 108

- A.4 NMR-Spektren aus ALTADENA-Experiment mit $1\text{-}^{13}\text{C}$ -Fumarat als Substrat, mit losen Membranfasern in der Katalysator-Substrat-Lösung. Spektrum mit hyperpolarisiertem $1\text{-}^{13}\text{C}$ -Succinat nach Durchführungszyklus 2 (mitte), mit thermischen Referenzen vorher (unten) und nachher (oben). Charakteristisches Antiphasensignal für $p\text{-}H_2$ induzierte HP erkennbar. Alle Spekten aufgenommen nach einem Flipwinkel $\alpha = 45^\circ$ 109

Tabellenverzeichnis

4.1	Messpunkte und -Ergebnisse für die Katalysatorkonzentrationsreihe mit Fumarat als Substrat. $m_{Katalysator}$: Masse des wasserlöslichen Katalysators Rh(nor)(ppbs)BF ₄ in der Probe, $m_{Fumarat}$: Masse des Fumarats in der Probe vor Versuchsdurchführung, K: Katalysatorkonzentration, U: Reaktionsumsatz	40
4.2	Messpunkte und -Ergebnisse für die Katalysatorkonzentrationsreihe mit HEA als Substrat. $m_{Katalysator}$: Masse des wasserlöslichen Katalysators Rh(nor)(ppbs)BF ₄ in der Probe, m_{HEA} : Masse von 2-Hydroxyethylacrylat in der Probe vor Versuchsdurchführung, K: Katalysatorkonzentration, U: Reaktionsumsatz	41
5.1	Chemische Verschiebungen der Protonen in 2-Hexin tabellarisch mit Fehlern.	77
5.2	J-Kopplungen der Protonen in 2-Hexin tabellarisch mit Fehlern.	77
5.3	Chemische Verschiebungen der Protonen in trans-2-Hexen tabellarisch mit Fehlern.	80
5.4	J-Kopplungen der Protonen in trans-2-Hexen tabellarisch mit Fehlern.	80
5.5	Chemische Verschiebungen der Protonen in cis-2-Hexen tabellarisch mit Fehlern.	82
5.6	J-Kopplungen der Protonen in cis-2-Hexen tabellarisch mit Fehlern.	83
5.7	Untersuchungsergebnisse: Funktionalität der trans-Katalysatoren	84
5.8	Ergebnisse Hyperpolarisation von 1- ¹³ C-Fumarat	91

Literaturverzeichnis

- [1] L. Buljubasich et al., *Level anti-crossings in ParaHydrogen Induced Polarization experiments with Cs-symmetric molecules*, Journal of Magnetic Resonance 219 (2012) 33-40
- [2] Eduard Y. Chekmenev, Jan Hövener et al., *PASADENA Hyperpolarization of Succinic Acid for MRI and NMR Spectroscopy* J. AM. CHEM. SOC. 2008, 130 , 4212-4213
- [3] Dumez, J. N., Pileio, G. et al., *Long-lived localization in magnetic resonance imaging*, Journal of Magnetic Resonance 246 (2014), 27-30
- [4] Meike Roth, *Sensitivity enhancement in NMR by using Parahydrogen Induced Polarization*, 2009, Dissertation
- [5] Dirk M. Graafen, *Parahydrogen Induced Polarization on a Clinical MRI System: Polarization Transfer of Two Spin Order*, 2013, Dissertation
- [6] Jan F. Dechent, *Proton Magnetic Resonance with Parahydrogen Induced Polarization: Imaging Strategies and Continuous Generation*, 2012, Dissertation
- [7] Meike Roth, *Synthese und Charakterisierung von ungesättigten Verbindungen für Parawasserstoffinduzierte Polarisierung (PHIP)*, 2007, Diplomarbeit
- [8] Jan F. Dechent, *Magnetresonanztomographie mit hyperpolarisierten antiphasischen Protonensignalen*, 2009, Diplomarbeit
- [9] Jan F. Dechent et al., *Proton magnetic resonance imaging with para-hydrogen induced polarization*, Phys. Chem. Chem. Phys., 2012, 14,2346?2352
- [10] Meike Roth et al., *Continuous 1 H and 13 C Signal Enhancement in NMR Spectroscopy and MRI Using Parahydrogen and Hollow- Fiber Membranes*, Angew. Chem. Int. Ed. 2010, 49, 8358?8362

- [11] Johannes Natterer, Joachim Bargon, *Parahydrogen induced polarization*, Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy 31 (1997), 293-315
- [12] O.W. Sorensen et al., *Product Operator Formalism for the Description of NMR Pulse Experiments*, Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy 16 (1983), 163-192
- [13] M.B. Franzoni et al., *Hyperpolarized 1 H long lived states originating from parahydrogen accessed by rf irradiation*, Phys. Chem. Chem. Phys., 2013, 15, 17233-17239
- [14] Dirk Graafen et al., *1 H NMR Spectroscopy and MR Imaging with Hyperpolarised Substances*, Annual Reports on NMR Spectroscopy, Volume 82, 2014 Elsevier Ltd., ISSN 0066-4103, <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-800184-4.00004-7>
- [15] *Hyperpolarization Methods in NMR Spectroscopy*, Topics in Current Chemistry 338, ISSN 0340-1022, Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2013
- [16] Mathias Haake et al., *Efficient NMR Pulse Sequences to Transfer the Parahydrogen-Induced Polarization to Hetero Nuclei*, J. Am. Chem. Soc. 1996, 118, 8688-8691
- [17] Malcolm H. Levitt, *Spin Dynamics*, John Wiley & Sons Ltd, 2008 (Second Edition), ISBN 978-0-470-51118-3
- [18] Karin Radkowski et al., *A Functional-Group-Tolerant Catalytic trans Hydrogenation of Alkynes*, Angew. Chem. Int. Ed. 2013, 52, 355?360
- [19] P. W. Atkins, R. S. Friedman, *Molecular Quantum Mechanics*, 4. Aufl., Oxford University Press, Oxford, 2004, ISBN 0199274983
- [20] Harald Günther, *NMR-Spektroskopie*, 2. Auflage, Georg Thieme Verlag Stuttgart, 1983
- [21] Marina Carravetta, Malcolm H. Levitt, *Theory of long-lived nuclear spin states in solution nuclear magnetic resonance. I. Singlet states in low magnetic field*, J. Chem. Phys 122, 214505 (2005)

Danksagung

Abschließend möchte ich allen, die zum Gelingen dieser Masterarbeit beigetragen haben, herzlich danken. Insbesondere gilt mein Dank

- Frau Dr. Kerstin Münnemann für Idee und Konzept des Themas dieser Arbeit, sowie für die intensive und interessierte Betreuung.
- Herrn Prof. Dr. Werner Heil für die Betreuung dieser Masterarbeit.
- Herrn Dr. Jan Falk Dechent für die Einarbeitung ins PHIP-Projekt sowie für hilfreiche Literaturempfehlungen.
- Herrn Dr. Dirk Markus Graafen für beratende Unterstützung und hilfreiche Literaturempfehlungen.
- Herrn Dr. Lisandro Buljubasich für hilfreiche Erklärungen per E-Mail.
- Herrn Dr. Robert Graf für wiederholte Hilfe bei der Bedienung des NMR-Spektrometers s300 und bei der Programmierung von Sequenzen.
- Herrn Dr. Manfred Wagner für die interessierte und zeitaufwändige Hilfe bei der Interpretation Erwartungen widersprechender NMR-Spektren.
- Frau Petra Kindervater für die interessierte und zeitaufwändige Hilfe bei der Interpretation von NMR-Spektren und bei der Bestimmung von T_1 -Zeiten
- Herrn Manfred Hehn und Herrn Hans-Peter Raich, für mehrere immer sehr gut ausgeführte und pünktlich beendete Reparaturen von Probenköpfen.