

Institut für Neurowissenschaften und Medizin
Nuklearchemie (INM-5)

Synthese und trägerarme Radiofluorierung von A_{2A}-Adenosin-Rezeptorliganden für die Positronen-Emissions-Tomographie

Marcel Alexander René Skraban

Synthese und trägerarme Radio- fluorierung von A_{2A}-Adenosin-Rezeptor- liganden für die Positronen-Emissions- Tomographie

Marcel Alexander René Skraban

Berichte des Forschungszentrums Jülich; 4405
ISSN 0944-2952
Institut für Neurowissenschaften und Medizin
Nuklearchemie (INM-5)
Jül-4405

D 38 (Diss., Köln, Univ., 2017)

Vollständig frei verfügbar über das Publikationsportal des Forschungszentrums Jülich (JuSER)
unter www.fz-juelich.de/zb/openaccess

Forschungszentrum Jülich GmbH
Zentralbibliothek, Verlag
52425 Jülich
Tel.: +49 2461 61-5220
Fax: +49 2461 61-6103
E-Mail: zb-publikation@fz-juelich.de
www.fz-juelich.de/zb



This is an Open Access publication distributed under the terms of the [Creative Commons Attribution License 4.0](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Meinen Eltern

Kurzzusammenfassung

Der A_{2A}-Adenosin-Rezeptor (A_{2A}AR) spielt im Gehirn eine wichtige Rolle bei der Regulation von Glutamat und der Freisetzung von Dopamin. Neurodegenerative Erkrankungen wie die Parkinson-Krankheit weisen ein verändertes Expressionsprofil des A_{2A}AR auf, welches mit Hilfe entsprechend sensitiver Radioliganden für die Positronen-Emissions-Tomographie (PET) nachgewiesen werden kann. Daher war das Ziel der vorliegenden Arbeit die Entwicklung eines potenten, hochaffinen und selektiven A_{2A}AR-Liganden, der mit [¹⁸F]Fluorid markiert wurde.

Hierfür wurde eine Reihe von A_{2A}AR-Antagonisten hergestellt, die als Leitstruktur eine Benzothiazolstruktur enthielten. Ausgehend von 4-Methoxy-7-morpholinobenzo[d]thiazol-2-amin wurden acht verschiedene potentielle Liganden synthetisiert. Durch *in vitro* Experimente wurde ihre Affinität und Subtypselektivität für den A_{2A}AR und den komplementären A₁-Adenosinrezeptor (A₁AR) bestimmt. Diese Experimente zeigten, dass 4-(Fluormethyl)-4-hydroxy-N-(4-methoxy-7-morpholinobenzo[d]thiazol-2-yl)piperidin-1-carboxamid den vielversprechendsten Kandidaten darstellte. In einem zweiten Schritt wurden verschiedene Radiofluorierungsvorläufer mit unterschiedlichen Abgangsgruppen an der primären Hydroxylfunktion (Mesylat, Tosylat, Nosylat) und verschiedenen Schutzgruppen an der tertiären Hydroxylfunktion (THP, Acetyl, Boc) und am Carboxamidstickstoff (POM, Boc) hergestellt.

Der Zielligand und die entsprechenden Vorläufer wurden in ausreichender Menge und Reinheit synthetisiert und durch entsprechende physikalisch-chemische Methoden charakterisiert. Bindungsstudien zeigten eine hohe Affinität von 4-(Fluormethyl)-4-hydroxy-N-(4-methoxy-7-morpholinobenzo[d]thiazol-2-yl)piperidin-1-carboxamid zum A_{2A}AR (K_i von 0,7 nM und 2,1 nM) in Kombination mit einer hohen Selektivität gegenüber dem A₁AR (K_i >> 1 µM). Erste Radiofluorierungsexperimente zeigten eine Inkompatibilität gegenüber den eingesetzten Acetyl- und THP-Schutzgruppen und führten unter den basischen ¹⁸F-Markierungsbedingungen zum Eliminierungsprodukt. Daher wurden verschiedene, alternative Schutzgruppenstrategien entwickelt, die sowohl den amidischen Stickstoff als auch die tertiäre Hydroxylfunktion einschlossen. Als zielführend erwies sich die Verwendung eines zyklischen Sulfits, das sowohl als Schutzgruppe als auch als Abgangsgruppe diente.

Über den zyklische Sulfitorläufer wurde das gewünschte Produkt 4-([¹⁸F]Fluormethyl)-4-hydroxy-N-(4-methoxy-7-morpholinobenzo[d]thiazol-2-yl)piperidin-1-carboxamid nach Isolierung mittels HPLC in radiochemischen Ausbeuten von 7±3 % erhalten. Erste pharmakologische Studien zeigten eine hochaffine und selektive Bindung des Liganden exklusiv im *Corpus Striatum* von Rattenhirnschnitten. Weitere *in vivo* Studien werden zeigen, ob dieser neue Ligand für die *in vivo* PET-Bildgebung geeignet ist.

Abstract

The A_{2A} adenosine receptor (A_{2A}AR) localized in the brain has important roles in the regulation of glutamate and dopamine release. In several brain disorders like Parkinson's disease the expression profile of A_{2A}AR is altered which can be sensitively detected with the aid of corresponding radioligands for the positron emission tomography (PET). Therefore, the aim of the present study was to develop a potent and selective A_{2A}AR ligand radiolabeled with no-carrier-added (n.c.a.) [¹⁸F]fluoride.

A series of A_{2A}AR antagonists containing the benzothiazole as lead structure were prepared for this project. Starting from 4-methoxy-7-morpholinobenzo[d]thiazol-2-amine, eight different potential radioligands were synthesized. In *in vitro* experiments the affinity and subtype selectivity of different ligands for the A_{2A}AR and the complementary A₁ adenosine receptor (A₁AR) were determined. These experiments showed that 4-(fluormethyl)-4-hydroxy-N-(4-methoxy-7-morpholinobenzo[d]thiazol-2-yl)piperidine-1-carboxamide represented the most promising candidate. In a second step, various labelling precursors bearing different leaving groups at the 1° hydroxyl function (mesylate, tosylate, nosylate), and different protecting groups at the 3° hydroxyl function (THP, acetyl, Boc), and at the carboxamide nitrogen (POM, Boc) were prepared.

The target ligand and the corresponding precursors were synthesized in sufficient amounts and purities and were characterized by appropriate physicochemical methods. Binding studies revealed a high affinity of 4-(fluormethyl)-4-hydroxy-N-(4-methoxy-7-morpholinobenzo[d]thiazol-2-yl)piperidine-1-carboxamide for the A_{2A}AR (K_i 0.7 nM and 2.1 nM) in combination with a high selectivity over the A₁AR (K_i >> 1 μM). First radiofluorination experiments revealed incompatibility of the acetyl and THP protecting groups to the basic labelling conditions and resulted in dehydration. Therefore, alternative protection group strategies were developed to overcome these obstacles. The use of cyclic sulfites proved to be successful and the product 4-([¹⁸F]fluormethyl)-4-hydroxy-N-(4-methoxy-7-morpholinobenzo[d]thiazol-2-yl)piperidine-1-carboxamide was obtained after HPLC separation in 7±3 % radiochemical yields. First autoradiographic studies showed a highly affine and selective binding exclusively at the striatum on rat brain slices with a low unspecific binding. Further *in vivo* studies will show, if this new ligand is suitable for *in vivo* PET-imaging.

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung.....	1
1.1	Positronen-Emissions-Tomographie (PET).....	1
1.1.1	Grundlagen.....	1
1.1.2	Fluor-18.....	3
1.2	Adenosinrezeptoren und -liganden.....	14
1.2.1	Adenosin	14
1.2.2	Adenosinrezeptoren.....	15
1.2.3	Agonisten und Antagonisten	18
1.2.4	Ligandenbindung	18
1.2.5	Entwicklung eines neuen Radioliganden für das ZNS	23
1.2.6	Adenosinrezeptorliganden für die Positronen-Emissions-Tomographie	25
1.3	Auswahl des Leit-Heterobizyklus zur Entwicklung eines neuen ¹⁸ F-fluorierten Adenosin-A _{2A} -Rezeptorliganden.....	29
2	Problemstellung	30
3	Ergebnisse und Diskussion.....	32
3.1	Synthese potentieller Adenosin-A _{2A} -Rezeptorliganden auf Aminobenzothiazol-Basis..	32
3.1.1	Synthese des 4-Methoxy-7-morpholin-4-yl-benzothiazol-2-ylamin 1 als Leit-Heterobizyklus für potentielle Adenosin-A _{2A} -Rezeptorliganden	32
3.1.2	Neue Pyridyl-, Sulfonyl-, Piperazyl-Derivate auf Basis des Leit-Heterobi-zyklusses als potentielle Adenosin-A _{2A} -Rezeptorliganden	33
3.1.3	Neue Piperidiny-Derivate auf Basis des Leit-Heterobizylusses als potentielle Adenosin-A _{2A} -Rezeptorliganden	35
3.2	Entwicklung von Modellverbindungen für die Radiomarkierung von Derivaten des 4-Methoxy-7-morpholin-4-yl-benzothiazol-2-ylamins 1	37
3.2.1	Synthese und Radiomarkierung tert-Butyloxycarbonyl-geschützter Modell-Markierungsvorläufer	37
3.2.2	Synthese und Radiomarkierung Benzyl-geschützter Modell-Markierungsvorläufer ..	39
3.2.3	Synthese und Radiomarkierung Cbz-geschützter Modell-Markierungsvorläufer	41
3.3	Synthese und Radiomarkierung der Markierungsvorläufer auf Aminobenzothiazol-Basis	49

3.3.1 Synthese von 2,2-Dimethyl-1,3-dioxa-8-azaspiro[4.5]decan 53	50
3.3.2 Synthese von N-(4-Methoxy-7-morpholino-benzo-thiazol-2-yl)-2,2-dimethyl-1,3-dioxa-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxamid 54	50
3.3.3 ¹⁸ F-Markierung unter Verwendung der Vorläuferverbindungen 63 , 64 und 65	53
3.3.4 Syntheseversuch eines zyklischen Sulfats als ¹⁸ F-Markierungsvorläufer	58
3.3.5 ¹⁸ F-Fluorierung unter der Verwendung eines zyklischen Sulfits 80 als Markierungsvorläufer	60
3.4 Ergebnisse der autoradiographischen in vitro Studien von [¹⁸ F] 19 an Rattenhirnschnitten	65
4 Experimenteller Teil	66
4.1 Organisch-präparative Synthesen	67
4.2 Radiosynthesen	101
4.2.1 Produktion des verwendeten Radiofluorids	101
4.2.2 Markierung mit Fluor-18	101
4.2.3 Entschützung des ¹⁸ F-markierten Produkts	102
4.2.4 Festphasenextraktion und HPLC-Trennung	102
4.2.5 Radioanalytik	102
4.3 Rezeptorbindungsstudien	106
4.3.1 Untersuchung der Bindungseigenschaften mittels Kompetitionassays	106
4.3.2 Autoradiographische Untersuchungen	106
5 Zusammenfassung	108
6 Anhang	112
6.1 Rezeptorbindungsstudien	112
6.1.1 Untersuchung der Bindungseigenschaften mittels Kompetitionassays	112
6.1.2 Autoradiographische in vitro Studien von [¹⁸ F] 19 an Rattenhirnschnitten	114
6.2 Abkürzungsverzeichnis	116
6.3 Übersicht der synthetisierten Verbindungen	119
7 Literaturverzeichnis	129

1 Einleitung

1.1 Positronen-Emissions-Tomographie (PET)

1.1.1 Grundlagen

Die Positronen-Emissions-Tomografie (PET) ist eine medizinische, bildgebende Diagnosemethode, die Stoffwechselprozesse im Körper mittels kurzlebiger Positronenstrahler sichtbar macht. Bei diesem Positronenzerfall (auch β^+ -Zerfall genannt) konvertiert im Atomkern ein Proton zu einem Neutron unter gleichzeitiger Emission eines Positrons (β^+) und eines Neutrinos (ν). Die Abgabe der hohen kinetischen Energie des Positrons erfolgt auf einem Bremsweg von einigen Millimetern in Wasser und Gewebe, woraufhin sich seine „Vernichtung“ durch Rekombination mit seinem Antiteilchen, dem Elektron, anschließt [1,2]. Bei dieser sogenannten Annihilation werden zwei Photonen der Energie von 511 keV (Annihilationsstrahlung, Vernichtungsstrahlung) in einem Winkel von 180° zueinander emittiert. Diese Vernichtungsstrahlung ist in der Lage, das Gewebe zu durchdringen, und kann dann durch zwei in Koinzidenz geschaltete Kristalldetektoren außerhalb des Körpers nachgewiesen werden. Dabei sind die Detektoren ringförmig um den Patienten angeordnet (Abbildung 1). Da die kumulierte Zählrausbeute beider Zähler aufgrund des 180° Winkels beider ausgesandten Photonen tiefenunabhängig ist, lassen sich Streu- und Absorptionsverluste durch unabhängige Transmissionsmessungen genau bestimmen und entsprechend korrigieren. Bei Kenntnis der spezifischen Aktivität zum Zeitpunkt der Messung und unter der Annahme, dass der Ligand unverändert vorliegt, ist man in der Lage, die Konzentrationen markierter Verbindungen im nano- bis femtomolaren Bereich zu quantifizieren. Durch Kombination mehrerer gemessener Schichten lassen sich dreidimensionale Aufnahmen von Gewebe und Organen mit einer Ortsauflösung im Millimeterbereich rekonstruieren [3].

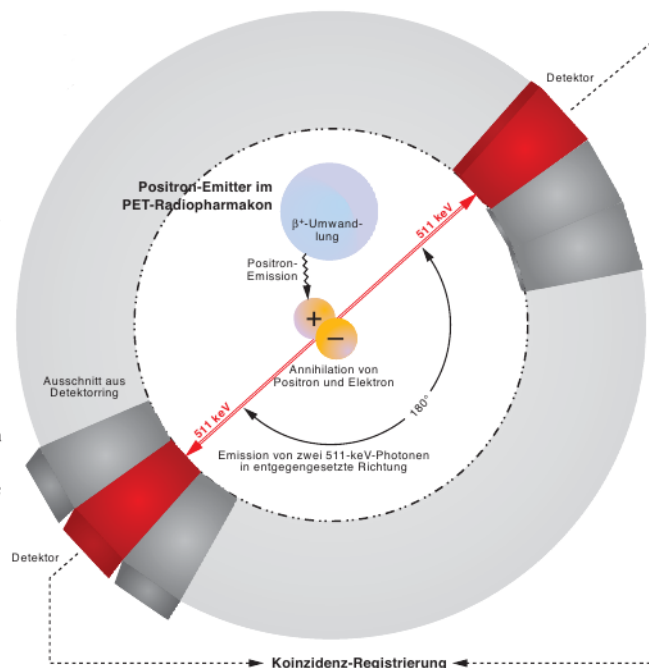


Abbildung 1: Schematische Darstellung der Messanordnung eines Positronen-Emissions-Tomographen (aus [3] Copyright Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA. Reproduced with permission).

Zu denen häufig verwendeten Positronenstrahlern gehören Kohlenstoff-11 (^{11}C ; $T_{1/2} = 20,4 \text{ min}$), Sauerstoff-15 (^{15}O ; $T_{1/2} = 2 \text{ min}$), Stickstoff-13 (^{13}N ; $T_{1/2} = 9,97 \text{ min}$) und Fluor-18 (^{18}F ; $T_{1/2} = 109,7 \text{ min}$). Diese Radionuklide lassen sich an einem Niederenergie-Zyklotron mit einem Energiebereich einer Protonenenergie von $\leq 18 \text{ MeV}$ bzw. einer Deuteronenergie von $\leq 15 \text{ MeV}$ herstellen.

Tabelle 1: Physikalische Eigenschaften und Kernreaktionen zur Herstellung der üblich benutzten PET-Radionuklide [4].

Nuklid	$T_{1/2}$ [min]	Zerfallsart	E_{Max} [MeV]	Max. Reichweite* [mm]	Haupt-Darstellungs- Kernreaktion	Max. theo. MA [GBq/ μmol]
^{15}O	2,04	β^+ , 100 %	1,73	8,2	$^{14}\text{N}(\text{d},\text{n})^{15}\text{O}$	$3,39 \times 10^6$
^{13}N	9,97	β^+ , 100 %	1,20	5,4	$^{16}\text{O}(\text{p},\alpha)^{13}\text{N}$	$6,99 \times 10^5$
^{11}C	20,4	β^+ , 100 %	0,96	4,1	$^{14}\text{N}(\text{p},\alpha)^{11}\text{C}$	$3,41 \times 10^5$
^{18}F	109,7	β^+ , 97 % EC. 3 %	0,63	2,4	$^{18}\text{O}(\text{p},\text{n})^{18}\text{F}$ als F^-/F_2 $^{20}\text{Ne}(\text{d},\alpha)^{18}\text{F}$ als F_2	$6,32 \times 10^4$

*Maximale Reichweite in Wasser; MA = molare Aktivität, EC = Electron Capture

Anwendungsmöglichkeiten der PET

Mit Hilfe der PET können physiologische Prozesse auf molekularer Ebene *in vivo* dargestellt werden. Voraussetzung hierfür ist, dass ein geeignetes radiomarkiertes Molekül, wie beispielsweise ein Rezeptorligand, existiert.

Heute umfasst der Einsatz von PET eine Vielzahl unterschiedlicher Untersuchungen, so für die Diagnose von Krebserkrankungen, der Charakterisierung von neurologischen Fehlfunktionen im Gehirn, der Untersuchung des Blutstroms in Hirn und Organen sowie bei koronaren Herzerkrankungen [5–8].

Auch für die Entwicklung neuer Medikamente und ihrer optimalen Dosis kann die PET ggf. eingesetzt werden [9–13]. Im letzten Jahrzehnt wurde damit begonnen, die PET mit der Computertomographie (CT) und jüngst auch mit der Magnetresonanztomographie (MRT) zu kombinieren, wodurch die Anwendung von PET in der klinischen Nuklearmedizin ein starkes Wachstum erfährt. Dies gilt vor allem im Bereich der Onkologie [14–17].

Der am häufigsten eingesetzte PET-Tracer ist die 2-[^{18}F]Fluor-2-desoxy-D-glucose ([^{18}F]FDG). Dabei handelt es sich um ein mit Fluor-18 markiertes Glukosemolekül. Tumorzellen besitzen einen erhöhten Energiebedarf, der durch Glukose gedeckt wird. Das [^{18}F]FDG wird in die Tumorzelle aufgenommen. Das enthaltene Fluoratom bewirkt, dass dieses Molekül nach erfolgter Phosphorylierung nicht weiter verstoffwechselt werden kann und so eine Anreicherung des Tracers in der Tumorzelle stattfindet.

Durch die Anwendung kurzlebiger Radionukliden bei PET-Untersuchungen wird die Strahlendosis für den Patienten niedrig gehalten. So beträgt die Strahlendosis durch eine PET-Untersuchung mit [^{18}F]FDG ca. 5-10 mSv, was wiederum nur etwa der zwei bis dreifachen Strahlenexposition der natürlichen jährlichen Strahlendosis entspricht. Bei einer Kombination mit CT erhöht sich die Gesamtstrahlendosis um die CT-Komponente. Diese ist gewebespezifisch und liegt beispielsweise bei einem CT des Thorax bei 8 mSv [18,19].

1.1.2 Fluor-18

Das wohl am häufigsten eingesetzte Radionuklid für die PET ist Fluor-18. Es zeichnet sich durch seine besonders günstigen Zerfallseigenschaften aus. Seine relativ geringe, maximale Positronenenergie von $E_{\beta^+} = 0,63 \text{ MeV}$ führt zu einer kurzen Positronenreichweite im Gewebe von maximal 2-3 mm und ermöglicht eine hohe Auflösung der PET-Aufnahmen [8]. Mit einer Halbwertszeit (HWZ) von 109,7 min ist ausreichend Zeit für mehrstufige Markierungssynthesen. Unter Berücksichtigung der längeren HWZ lassen sich ^{18}F -Tracer problemlos zu nuklearmedizinischen Einrichtungen ohne Zyklotron transportieren. Es wird in diesem

Zusammenhang vom Satellitenkonzept gesprochen. Dies ist für die kurzlebigen, Positronenemitter Sauerstoff-15, Stickstoff-13 und Kohlenstoff-11 nicht möglich. Ein weiterer Vorteil einer ^{18}F -markierten Verbindung ist, dass aus einer Produktionscharge genügend Aktivitäten für mehrere Patientendosen hergestellt werden können.

Produktion des Radionuklids Fluor-18

Vor allem in den 1970er Jahren wurde Fluor-18 an Kernreaktoren durch die Bestrahlung von Li_2CO_3 mit thermischen Neutronen zwei aufeinanderfolgender Kernreaktionen ($^6\text{Li}(\text{n},\alpha)^3\text{H} \rightarrow ^{16}\text{O}(^3\text{H},\text{n})^{18}\text{F}$) hergestellt, was allerdings recht ineffektiv ist. Heute wird Fluor-18 an Niederenergie-Zyklotronen (≤ 18 MeV Protonenenergie) produziert. Im Hinblick auf die chemische Spezies und die zu erreichende molare Aktivität (MA) sind die Wahl des Targets und die entsprechende Kernreaktion von entscheidender Bedeutung. Dabei werden im Wesentlichen die in Tabelle 2 aufgeführten Reaktionen verwendet [20,21].

Tabelle 2: Übersicht der verschiedenen Kernreaktionen zur Darstellung von Fluor-18 [21].

Kernreaktion	$^{18}\text{O}(\text{p},\text{n})^{18}\text{F}$	$^{16}\text{O}(^3\text{He},\text{p})^{18}\text{F}$	$^{20}\text{Ne}(\text{d},\alpha)^{18}\text{F}$	$^{18}\text{O}(\text{p},\text{n})^{18}\text{F}$
Target	H_2^{18}O	H_2O	Ne (200 $\mu\text{mol F}_2$)	$^{18}\text{O}_2$, Kr
Teilchenenergie [MeV]	16 $\rightarrow$ 3	36 $\rightarrow$ 0	14 $\rightarrow$ 0	16 $\rightarrow$ 3
Chemische Form des ^{18}F	$^{18}\text{F}^-_{\text{aq}}$	$^{18}\text{F}^-_{\text{aq}}$	$^{18}\text{F}_2$	$^{18}\text{F}_2$
Targetausbeute [GBq/ μAh]	2,22	0,26	0,40	1,00
Molare Aktivität [MBq/ μmol]	$\approx 600 \times 10^3$	$\approx 30 \times 10^3$	≈ 100	≈ 600

Eine Klassifizierung für radioaktive Markierungen bezieht sich auf den Trägergehalt. Es wird wie folgt unterschieden:

- trägerfreie oder carrier-free (c.f.) Synthese
- trägerarme (ohne Zugabe eines Trägers) oder no-carrier-added (n.c.a.) Synthese
- geträgerte oder carrier-added (c.a.) Synthese

Nur bei isotonenreinen Radionukliden wird von einem trägerfreien System gesprochen. Diesen Idealfall gibt es jedoch nur für reine Radioelemente wie beispielsweise dem Technetium. Meist sind Spuren des stabilen Isotops („Träger“) bei Radiomarkierungen anwesend, das bedeutet, die theoretisch erzielbare molare Aktivität ist meist wesentlich höher als die praktisch erhaltene. Die Synthesen ohne absichtlich hinzugefügten Träger werden als trägerarm bezeichnet, da ein Trägereintrag aus der Umwelt nicht ausgeschlossen werden kann.

Am Zyklotron kann Fluor-18 als elektrophiles $[^{18}\text{F}]\text{F}_2$ -Molekül oder als nukleophiles $[^{18}\text{F}]\text{F}^-$ -Ion hergestellt werden.

Für die Produktion von elektrophilem, gasförmigen $[^{18}\text{F}]\text{F}_2$ wird typischerweise ein, mit natürlichem Neon, befülltes Gas-Target verwendet. Bei der Bestrahlung mit Deuteronen mittlerer Energie (max. 15 MeV) wird das $[^{18}\text{F}]\text{F}_2$ über die Kernreaktion $^{20}\text{Ne}(\text{d},\alpha)^{18}\text{F}$ hergestellt [22]. Alternativ wird ein mit Sauerstoff-18-Gas befülltes Target verwendet, um $[^{18}\text{F}]\text{F}_2$ über die $^{18}\text{O}(\text{p},\text{n})^{18}\text{F}$ -Kernreaktion herzustellen [22–24]. Da diese Kernreaktion effektiver ist, können höhere Ausbeuten erzielt werden als bei der Verwendung des ^{20}Ne -Gas-Targets. Nachteil bei der Produktion am ^{18}O -Gas-Target ist, dass das Targetmaterial sehr teuer ist und es sich um eine zweistufige Bestrahlung handelt [21].

Für die Extraktion des radioaktiven Fluor-18 aus dem Gastarget beider Kernreaktionen ist der Zusatz von geringen Mengen an elementarem Fluor-19 als Träger (c.a.) notwendig. Dies führt zu einer geringen molaren Aktivität von 0,37 – 0,74 GBq/ μmol des $[^{18}\text{F}]\text{F}_2$ [8,25].

Durch eine spezielle Post-Target-Methode, unter Verwendung einer elektrischen Entladung an Methyl $[^{18}\text{F}]\text{fluorid}$, lässt sich $[^{18}\text{F}]\text{F}^-$ in $[^{18}\text{F}]\text{F}_2$ überführen, wodurch im Vergleich zur „in-Target“ Produktion von $[^{18}\text{F}]\text{F}_2$ höhere molare Aktivitäten von 55 GBq/ μmol möglich sind [26].

Das nukleophile $[^{18}\text{F}]\text{fluorid}$ lässt sich ohne Zusatz von Träger (n.c.a.) in großen Ausbeuten über die $^{18}\text{O}(\text{p},\text{n})^{18}\text{F}$ Kernreaktion herstellen. Dabei treffen Protonen mit 17 MeV auf ein mit ^{18}O -angereichertem Wasser befülltes Flüssigkeitstarget (Abbildung 2) [20,27,28].

Mit dieser Methode sind theoretisch molare Aktivitäten von 5580 GBq/ μmol möglich [29], wobei eine molare Aktivität von 185 GBq/ μmol bei routinemäßiger Produktion von $[^{18}\text{F}]\text{F}^-$ typisch ist [30]. Die Reinigung des so hergestellten nukleophilen $[^{18}\text{F}]\text{fluorids}$ erfolgt in der Regel mittels eines Anionenaustauschers [31].

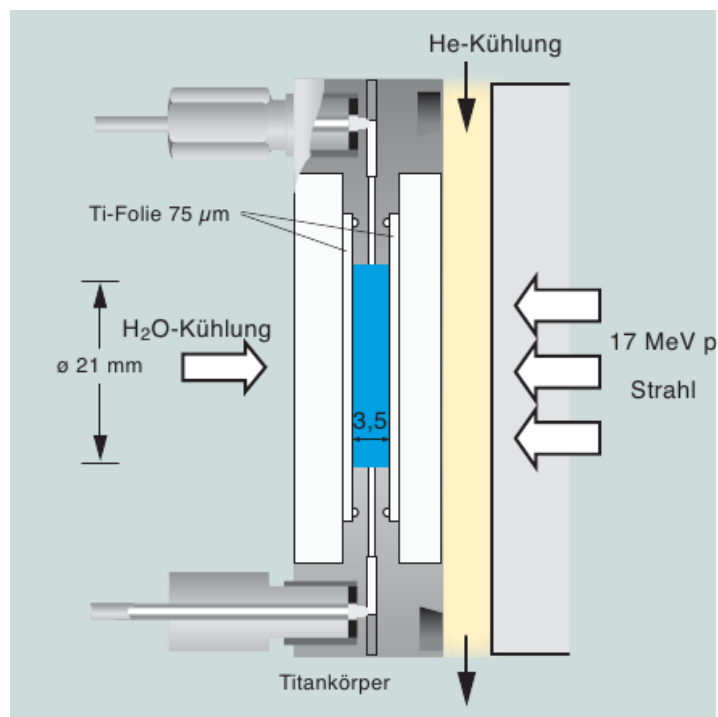


Abbildung 2: Schematische Darstellung eines Mitteldruck-Wasser-Targets zur Produktion von [^{18}F]Fluorid über die $^{18}\text{O}(\text{p},\text{n})^{18}\text{F}$ -Reaktion (aus [20] Copyright Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA. Reproduced with permission).

Radiosynthesestrategie

Die Arbeit mit kurzlebigen Radionukliden, der Produktion von Radiotracer in ausreichender Menge mit adäquater molarer Aktivität, besitzt einige Herausforderungen. Die ^{18}F -Markierung sollte wenn möglich als letzter Reaktionsschritt erfolgen. Da die entsprechenden Radionuklide nur in nanomolaren Mengen vorhanden sind, werden oft schnellere und effektivere Reaktionen im Vergleich mit der traditionellen organischen Chemie erforderlich. Dabei können die kleinsten Spuren einer Verunreinigung die Markierungsreaktion stören, weshalb eine hohe Stoffreinheit notwendig ist. Für die Markierungsreaktion ist meist eine hohe molare Aktivität notwendig, da ein hoher Trägeranteil einen negativen Einfluss auf die radiochemische Ausbeute (RCA) haben kann. Besonders bei der Synthese und anschließender Anwendung von Radioliganden ist eine hohe molare Aktivität wichtig, da sonst der nicht radioaktiv markierte Anteil des Liganden zu groß wird, wodurch weniger Rezeptoren für den radioaktiven Liganden zur Verfügung stehen [8].

Methoden zur Radiomarkierung mit Fluor-18

Moleküle können auf direktem oder indirektem Weg mit Fluor-18 markiert werden.

Direkte Radiofluorierungen sind über elektrophile Substitution- und Additionsreaktionen und über nukleophile Substitutionsreaktionen möglich. Bei diesen Methoden wird Fluor-18 in einem Schritt in das Zielmolekül eingefügt.

Da eine direkte ^{18}F -Fluorierung bei funktionell anspruchsvollen Molekülen meist nicht möglich ist, wird eine ^{18}F -Markierung nur indirekt über eine intermediäre ^{18}F -markierte Verbindung möglich. Im Falle von kleinen Molekülen wie Aminosäuren oder Rezeptorliganden spricht man hierbei von ^{18}F -markierten Markierungsbausteine, Building-blocks oder Synthons, im Falle von Makromolekülen (wie Peptide, Proteine, Antikörper) von prosthetischen Gruppen. Dabei werden mehrstufige Synthesen notwendig, um das markierte Zielmolekül zu erhalten. Eine prosthetische Gruppe ist ein kleines, mit ^{18}F -markiertes Synthon, welches reaktive, funktionelle Gruppen trägt, um es nachfolgend in das entsprechende Molekül einfügen zu können. Die Aufbaureaktionen und der Einsatz prosthetischer Gruppen sind in mehreren Review-Artikel beschrieben und werden im Folgenden nicht näher erläutert [8,21,32–35].

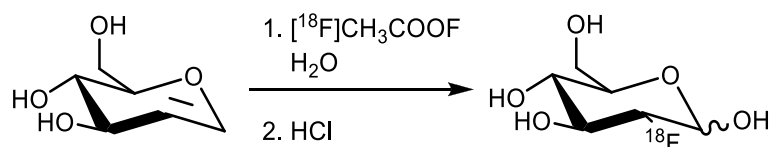
Elektrophile Markierungsreaktion mit $[^{18}\text{F}]\text{F}_2$

Das hergestellte $[^{18}\text{F}]\text{F}_2$ kann direkt für Markierungen an elektronenreichen Substraten wie Alkenen oder Aromaten verwendet werden. Da die elektrophile Substitution über $[^{18}\text{F}]\text{F}_2$ aufgrund seiner hohen Reaktivität oft unspezifisch ist, entsteht ein Gemisch aus ^{18}F -markierten Produkten [36]. Daher wird es meist in weniger reaktive, dafür selektive ^{18}F -Markierungsreagenzien wie Acetylhypo $[^{18}\text{F}]$ fluorid [37] oder $[^{18}\text{F}]\text{Fluor-N-derivate}$ überführt. Eine höhere Regioselektivität kann durch die Verwendung spezifische ^{18}F -Fluor-demetallierungsreaktionen, beispielsweise über eine Trialkylzinnguppe, erzielt werden [38].

Die elektrophile Radiofluorierung mit $[^{18}\text{F}]\text{F}_2$ wird wegen der geringen erzielbaren molaren Aktivität nicht mehr häufig als Markierungsreaktionen verwendet, da dieses produktionsbedingt nur in geträgerter Form darstellbar ist. Durch Spülen des Targets mit ^{19}F -Gas besteht maximal ein Fluoratom des Fluormoleküls aus Fluor-18, Dadurch ist die theoretisch erzielbare radiochemische Ausbeute einer elektrophilen ^{18}F -Substitution auf maximal 50 % begrenzt.

Aktuell wird die elektrophile ^{18}F -Fluorierung hauptsächlich bei der Produktion von ^{18}F -markierten aromatischen Aminosäuren, wie 6- $[^{18}\text{F}]\text{Fluor-L-Dopa}$ und 2- $[^{18}\text{F}]\text{Fluor-L-tyrosin}$ verwendet [8,39,40].

Die elektrophile ^{18}F -Fluorierung ist in der Radiotracerherstellung von historischer Bedeutung. Mit ihr gelang zum Beispiel die erste Synthese des PET-Tracers $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$ [40].



Schema 1: Elektrophile ^{18}F -Fluorierung zur Herstellung von $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$ mittels Acetyl $[^{18}\text{F}]\text{hypo}$ -fluorit (nach [40]).

Nukleophile Markierungsreaktionen mit $[^{18}\text{F}]\text{Fluorid}$

Nukleophile Substitutionen mit n.c.a. $[^{18}\text{F}]\text{Fluorid}$ gehören heute zu den gebräuchlichsten ^{18}F -Markierungsreaktionen von Molekülen. Sie liefern darüber hinaus die höchsten molaren Aktivitäten von ^{18}F -markierten Radiopharmaka [21].

Die Radiofluorierungsmethoden mit $[^{18}\text{F}]\text{Fluorid}$ sind ebenfalls limitiert, aber es existieren wesentlich mehr Möglichkeiten gegenüber der elektrophilen Markierungsreaktion. $[^{18}\text{F}]\text{Fluorid}$ eignet sich sowohl für aliphatische nukleophile Substitution ($\text{S}_{\text{N}}2$) sowie für die aromatische nukleophile Substitutionsreaktion ($\text{S}_{\text{N}}\text{Ar}$).

Aspekte der nukleophilen ^{18}F -Fluorierung

Das aus der Produktion vorliegende $[^{18}\text{F}]\text{Fluoridion}$ ist stark durch Wasser-Moleküle solvatisiert und daher für eine nukleophile Reaktion inaktiv. Für die Markierungsreaktionen ist es notwendig, in einem hochreinen und wasserfreien Medium zu arbeiten und das $[^{18}\text{F}]\text{Fluorid}$ durch das Entfernen der Hydrathülle zu aktivieren. Dies geschieht klassisch durch die Zugabe eines Anionenaktivatorsystems gefolgt von mindestens drei azeotropen Destillationen der wässrigen $[^{18}\text{F}]\text{Fluorid}$ -/Aktivatorlösung mit Acetonitril [30]. Als Anionenaktivator wird beispielsweise der Aminopolyether Kryptofix[®] 2,2,2 (K222) eingesetzt. Alternativ wirken große Kationen wie Cs^+ oder Tetrabutylammonium-Kation ($t\text{-BuN}^+$) aktivierend für nukleophile ^{18}F -Fluorierung [41]. So lässt sich in dipolar-aprotischen Lösungsmitteln ein unsolvatisiertes, aktiviertes $[^{18}\text{F}]\text{Fluorid}$ -Anion von hoher Nukleophilie herstellen.

Darüber hinaus wurde bereits von nukleophilen ^{18}F -Fluorierungen in ionischen Lösungen berichtet, bei denen die Gegenwart von Wasser toleriert wurde, wodurch eine aufwendige Trocknung nicht notwendig war [42,43].

Da sich das anionische $[^{18}\text{F}]\text{Fluorid}$ sehr leicht protonieren lässt, müssen für die Reaktivität der nukleophilen Substitution verschiedene Parameter berücksichtigt werden. Vorläufer-

verbindungen sowie Lösungsmittel dürfen keine Protonenquellen enthalten. Weiterhin werden für die Reaktionen schwach basische Bedingungen bevorzugt [44]. In Anwesenheit von Metallsalzen lassen sich die meisten organischen Substrate gut in polaren Lösungsmitteln lösen. Generell betrachtet zeigt sich, dass die S_N -Reaktion in aprotischen Lösungsmitteln mit höheren Ausbeuten abläuft [45]. Aus diesem Grund werden die meisten nukleophilen ^{18}F -Fluorierungen in polar aprotischen Lösungsmitteln wie Acetonitril (ACN , CH_3CN), Dimethylformamid (DMF) oder Dimethylsulfoxid (DMSO) durchgeführt [46].

Die Struktur der Vorläuferverbindung ist von großer Bedeutung für die nukleophile ^{18}F -Fluorierung. Bei aliphatischen Reaktionen greift das $[^{18}\text{F}]\text{Fluorid}$ von der Elektronenmangelseite an. Dabei kommt es bei chiralen Verbindungen zu einer Inversion der Konfiguration, wie im Falle der nukleophilen Synthese von 2- $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$ [47]. Von Vorteil ist es daher, wenn die Abgangsgruppe nur schwach an das α -Kohlenstoffatom gebunden ist und sich so bei der Reaktion simultan lösen kann. Effektive Abgangsgruppen für die S_N2 -Reaktion sind: Halogene wie, Bromide, Iodide und besonders Sulfonsäureester wie Triflate, Mesylate, Tosylate und Nosylate. Die Radiofluorierung entsprechender Vorläuferverbindungen verläuft in der Regel in guten radiochemischen Ausbeuten und findet bei relativ milden Reaktionsbedingungen ($80\text{-}120^\circ\text{C}$, $10\text{-}20\text{ min}$) statt. Allerdings bedeutet eine höhere Reaktivität der Abgangsgruppe, ein höheres Risiko möglicher Nebenreaktionen wie beispielsweise Eliminierungen [30,44]. Daher wurden seit kurzem neue nukleophile Abgangsgruppen entwickelt, um die aliphatische ^{18}F -Fluorierung mit $[^{18}\text{F}]\text{KF}$ zu verbessern. Die dabei verwendeten Arylsulfonsäure-Derivate besitzen eine metallchelatisierende Einheit, welche die Ladung des Übergangszustandes stabilisiert. Im Vergleich zu anderen Abgangsgruppen lassen sich so in Abwesenheit des Cryptanden höhere radiochemische Ausbeuten erzielen [48].

Bei der $S_N\text{Ar}$ ist der geschwindigkeitsbestimmende Schritt der Angriff des Nukleophils. Daher hat die Abgangsgruppe, im Vergleich mit der S_N2 , nur wenig bis keinen Einfluss auf die Bildung des Produkts [45]. Trotzdem ist sowohl eine gute Abgangsgruppe wie beispielsweise die Nitro- oder Trimethylammoniumgruppe als auch ein aktivierender Substituent mit -M-Effekt in *o*- oder *p*-Position zur Durchführung einer $S_N\text{Ar}$ -Reaktion notwendig. Darüber hinaus erfordert eine erfolgreiche aromatische ^{18}F -Fluorierung in der Regel sehr harsche Reaktionsbedingungen mit höheren Temperaturen, weshalb nur höhersiedende Lösungsmittel wie DMF oder DMSO eingesetzt werden [49,50].

Um die Markierung mit $[^{18}\text{F}]\text{Fluorid}$ zu verbessern, wurden zahlreiche neue Techniken entwickelt. Hierzu gehört unter anderem auch die Verwendung von Mikrowellen, welche sowohl beim Trocknen als auch bei der Markierungsreaktion selber eingesetzt werden können. Solche ^{18}F -Markierungsreaktionen verlaufen schneller, effektiver (Verbesserung der RCA,

weniger Zersetzung) und in manchen Fällen auch selektiver [51–53]. Im Vergleich zum herkömmlichen Erhitzen einer Reaktion wird bei der Verwendung der Mikrowelle meist eine geringere Menge der Vorläuferverbindung benötigt [54]. Verbesserte Ausbeuten lassen sich sowohl für die direkte aromatische [55] und die aliphatische ^{18}F -Fluorierung [56], als auch für ^{18}F -Fluoralkylierungsreaktionen beobachten [57].

Eine weitere neue Markierungstechnologie basiert auf einer Festphasenreaktion, bei der das ^{18}F Fluorid oder der inaktive Vorläufer auf einer Polymermatrix gebunden ist [58], wodurch eine Miniaturisierung der Synthese auf Mikroreaktoren oder Chips ermöglicht wird. Dabei zeigten sich bereits Vorteile bei der Reinigung des finalen Produkts und bei der Automatisierung der Radiosynthese [59,60].

Bei den hier beschriebenen ^{18}F -Fluorierungsmethoden wurde das ^{18}F Fluorid meist in Gegenwart eines geeigneten Aktivatorsystems azeotrop getrocknet. Jüngst zeigte sich, dass dies nicht zwingend notwendig ist. Bei der neu entwickelten „minimalistischen Methode“ wird das ^{18}F Fluorid mit Hilfe einer QMA-Kartusche getrocknet. Dabei wird das ^{18}F Fluorid auf der Kartusche fixiert und das enthaltene restliche Wasser durch Spülen mit Methanol entfernt. Anschließend lässt sich das ^{18}F Fluorid mit Methanol eluieren (siehe Abbildung 3). Handelt es sich bei der Vorläuferverbindung um ein Oniumsalz, so kann dieses direkt in Methanol gelöst mit dem ^{18}F Fluorid eluiert werden. Nach Entfernen des Methanols unter vermindertem Druck kann die Markierungsreaktion im entsprechenden Reaktionsmedium durchgeführt werden. Vorteile dieser Methode sind die enorme Zeitersparnis beim Trocknen und die Reduzierung von Nebenreaktionen mit dem Aktivatorsystem, da hier lediglich der Vorläufer, ^{18}F Fluorid und Lösungsmittel an der Reaktion teilnehmen [61].

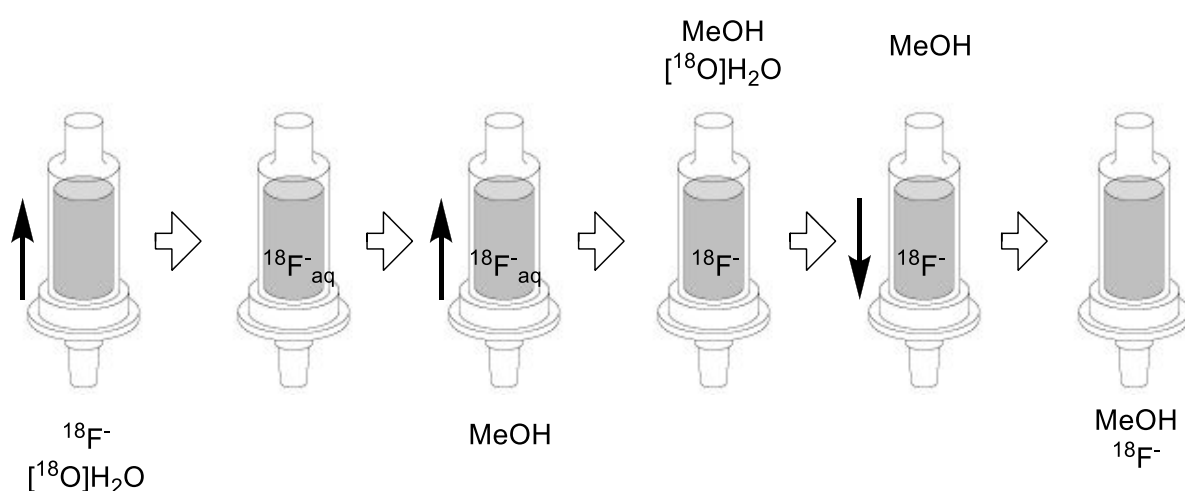


Abbildung 3: Ablauf der Trocknung nach der „minimalistischen Methode“ (nach [61]).

Protische Lösungsmittel bei ^{18}F -Fluorierungsreaktionen

Protische Lösungsmittel galten generell als schlechte Reaktionsmedien für die nukleophile Fluorierung, da sie Wasserstoffbrückenbindungen zum Fluorid ausbilden und dadurch die Reaktivität des Nukleophils herabgesetzt wird [45]. Dennoch zeigten erst kürzlich durchgeführte Studien, dass *tert*-Alkohole und auch biterminale Hydroxypolyether [15,62,63] die Reaktivität von Alkalimetallfluoriden verbessern können. Quantenchemische Untersuchungen der $\text{S}_{\text{N}}2$ -Reaktion $[\text{F}^- + \text{C}_3\text{H}_7\text{OMs} \rightarrow \text{C}_3\text{H}_7\text{F} + \text{MsO}^-]$ in *tert*-Butanol (*t*-BuOH) zeigten, dass die relative Energie der Aktivierungsbarriere genauso niedrig ist wie in ACN als Lösungsmittel. Es wurde herausgefunden, dass das Fluorid nur begrenzt mit der sauren OH-Funktion des voluminösen Lösungsmittels wechselwirkt (Abnahme der Löslichkeit) was sich katalytisch auf die $\text{S}_{\text{N}}2$ -Reaktion auswirkt [64]. Bei dieser Studie wurde das Fluorid als freies Fluoridanion ohne Gegenion behandelt, um zu simulieren, dass die Wechselwirkung mit Kationen minimalisiert wird, wenn voluminöse Cryptanden oder Gegenionen verwendet werden. In Gegenwart von Kationen, so zeigt eine mechanistische Studie, kann eine -OH-Gruppe des Lösungsmittels als Lewis-Base fungieren und so mit dem Kation interagieren, wodurch die unvorteilhafte Coulomb-Wechselwirkung zum Nukleophil reduziert wird [65,66]. Es wird auch von einem neuen Reaktionstypen berichtet, bei dem das Fluorid als Ionenpaar mit Gegenion reagiert. Protische Lösungsmittel besitzen die Fähigkeit, diesen Reaktionstypen zu unterstützen, wenn diese mit einem voluminösen und polarisierten Kation, wie beispielsweise Cs^+ zusammenwirken [65]. Dieser Vorteil wurde vor kurzem auch bei der nukleophilen aromatischen Substitution beschrieben [67].

Neben der Aktivierung des Fluorids existieren noch zwei weitere Vorteile für die Verwendung von protischen Lösungsmitteln. Dabei handelt es sich um die Bildung möglicher Wasserstoffbrückenbindungen mit der Abgangsgruppe (z.B. dem Sauerstoffatom von aliphatischen Sulfonsäuren oder der aromatischen Nitro-Gruppe) und zu anderen reaktiven Heteroatomen im Substrat [15,65,67]. Diese Wechselwirkungen tragen zur Verbesserung der nukleophilen Fluorierung bei, da sich die Eigenschaften der Abgangsgruppe verbessern lassen, wodurch unerwünschte Nebenreaktionen reduziert werden können. Dieser mögliche katalytische Effekt von protischen Lösungsmitteln mit dem Gegenion ist in Abbildung 4 skizziert.

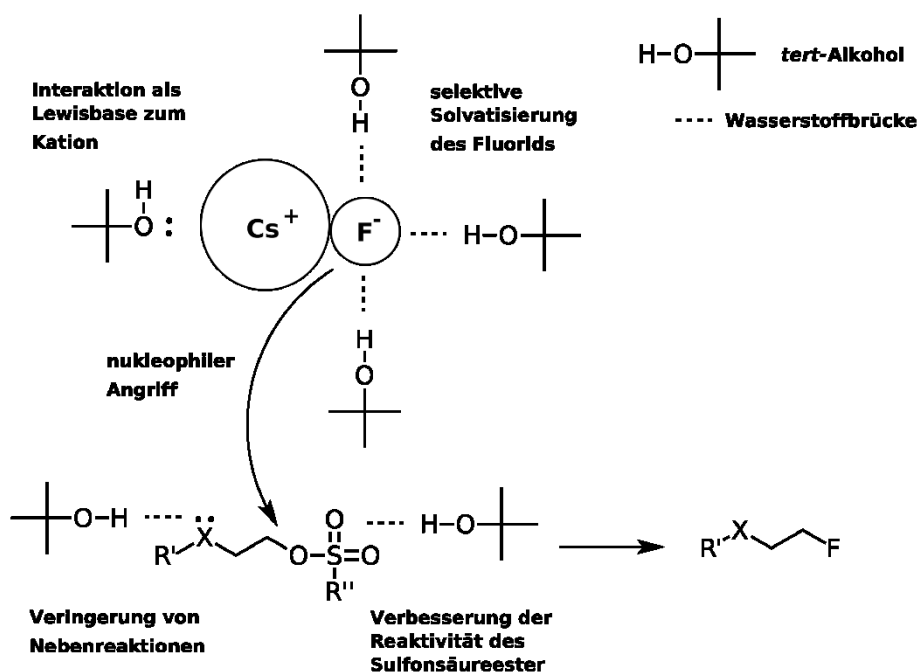


Abbildung 4: Schematische Darstellung der möglichen Wechselwirkungen zwischen dem Solvent, dem Nukleophil und dem Zielmolekül bei der S_N2 -Reaktion, nach [15].

Obwohl die Studien die Vorteile von *tert*-Butanol als Lösungsmittel für die nukleophile ^{18}F -Fluorierung zeigen, wurden bis jetzt nur wenige weitere protische Lösungsmittel, unter der Verwendung von Tracermengen (pmol - nmol) an $[^{18}\text{F}]$ Fluorid, untersucht. Bei der Radiofluorierung eines Thymidinanalogen, dem 3'-Deoxy-3'- $[^{18}\text{F}]$ fluorthymidin ($[^{18}\text{F}]$ FLT), wurden weitere Untersuchungen bezüglich protischer Lösungsmittel gemacht. Dabei stellte sich heraus, dass die ^{18}F -Fluorierung mit Tetrabutylammonium $[^{18}\text{F}]$ fluorid ($[^{18}\text{F}]$ TBAF) in *tert*-Alkoholen zu höheren radiochemischen Ausbeuten unter milderer Reaktionsbedingungen führt, als unter den zuvor beschriebenen Methoden mit konventionellen Lösungsmitteln [62,68]. Erfolgreiche Radiofluorierungen in *t*-BuOH waren sowohl mit Tetrabutylammonium (Bu_4N^+) als auch mit Cs^+ als Gegenkation zum $[^{18}\text{F}]$ Fluorid möglich. Das Phasentransfersystem K222/ $[^{18}\text{F}]$ KF wurde unter diesen Bedingungen nicht getestet [69]. Für diese Studie wurde Cs^+ als Kation in Gegenwart des Cryptanden (K222) verwendet. Dennoch zeigte sich bei der Optimierung der Methode für die Automatisierung, dass sich bei der Verwendung von Bu_4N^+ als Kation bessere Ausbeuten erzielen lassen [62,69]. ^{18}F -Fluorierungen von Sulfonsäureestern eines alternativen Vorläufers für $[^{18}\text{F}]$ FLT wurde unter ähnlichen Synthesbedingungen (Tetrabutylammoniumhydrogencarbonat, TBAHCO_3) untersucht, wobei sich zeigte, dass hier keine Unterstützung durch das Lösungsmittel stattfand [70]. Der Einfluss von protischen Lösungsmitteln auf die aromatische ^{18}F -Fluorierungen wurde ebenfalls untersucht. Dabei ließ sich ein Trimethylammoniumvorläufer sowohl in Acetonitril als auch im protischen Lösungsmittel (ACN:*t*-BuOH; 2:8) unter milden Bedingungen (40 °C, 10 min) zur ^{18}F -Fluorierung einsetzen. Mit dem Aktivatorsystem K222/ KHCO_3 ließen sich nur geringe

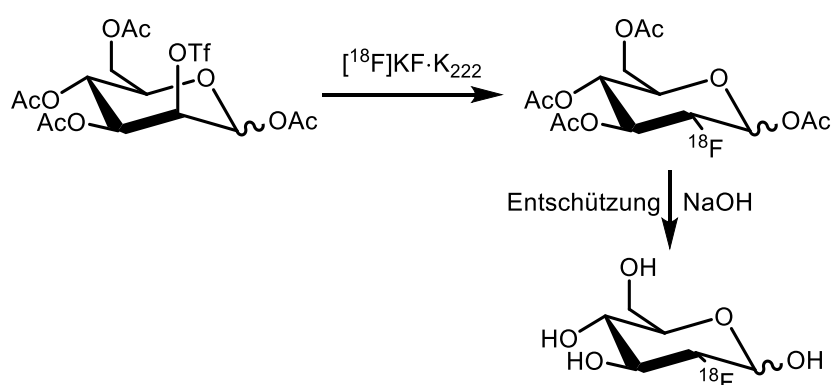
Mengen des markierten Produkts erhalten. Durch die Verwendung des voluminöseren Bu_4N^+ als Kation ließen sich die radiochemischen Ausbeuten verbessern. Dabei lag die Abgangsgruppe in einem Nicotinsäurederivat durch den Pyridinring und durch den Tetrafluorphenylesterrest stark aktiviert vor [71].

Der positive Einfluss von protischen Lösungsmitteln führte auch bei der Durchführung der Kupfer-vermittelten ^{18}F -Markierung an Pinakolarylboraten und Boronsäuren zu verbesserten „radiochemischen Umsätzen“. In einer Lösung bestehend aus 10 – 50 % Alkohol in Dimethylacetamid (DMAc) konnten nach 10 Minuten „radiochemische Umsätze“ von > 90 % erzielt werden [72].

Aliphatische ^{18}F -Substitution

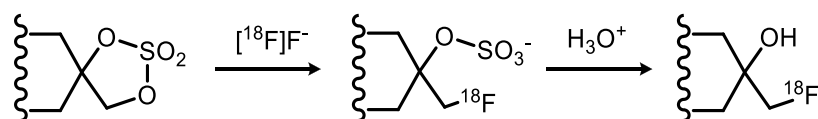
Die über den $\text{S}_{\text{N}}2$ -Mechanismus durchgeführte direkte ^{18}F -Markierung von aliphatischen Verbindungen verläuft meist mit Hilfe von Sulfonsäureestern (Triflat, Tosylat, Mesylat, Nosylat) oder Halogeniden (Iodid, Bromid) als Abgangsgruppe und ist weit verbreitet [46]. Um Konkurrenzreaktionen mit anderen reaktiven funktionellen Gruppen (Säure-, Alkohol- oder Aminogruppen) zu vermeiden, müssen diese zuvor geschützt werden. Daher sind zusätzliche Reinigungs- und Syntheseschritte notwendig, welche die Reaktionszeit verlängern und eine Automatisierung erschweren.

Ein klassisches Beispiel dieser Methode ist die heutige Synthese von $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$ (Schema 2). Etwa 90 % der klinischen PET-Studien werden mit $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$ durchgeführt [47,73].



Schema 2: Synthese von $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$ durch nukleophile Substitution mit anschließender Hydrolyse des ^{18}F -markierten Zuckers (nach [47,73]).

Bekannt, aber weniger gebräuchlich, sind nukleophile Reaktionen, die über einen Ringöffnungsmechanismus verlaufen [74,75]. Tewson *et al.* beschreibt unter anderem auch eine selektive Radiofluorierung mit Hilfe von zyklischen Sulfaten [76].



Schema 3: Selektive ^{18}F -Markierung eines zyklischen Sulfats.

Nukleophile aromatische Substitution

Die nukleophile aromatische Substitution mit n.c.a. $[^{18}\text{F}]$ Fluorid ist von großer Bedeutung bei der Synthese ^{18}F -markierter Radiopharmaka, da im aromatischen Ring ^{18}F -fluorierte Verbindungen meist eine höhere *in vivo* Stabilität besitzen als aliphatische. Letztere können leichter enzymatisch gespalten werden [30]. In den letzten Jahren konnten große Fortschritte bei der Methodenentwicklung zur nukleophilen aromatischen ^{18}F -Fluorierung erzielt werden. Anfänglich war nur die Radiofluorierung elektronenarmer Aromaten über eine $\text{S}_{\text{N}}\text{Ar}$ -Reaktion möglich. Hierfür waren aktivierende Substituenten mit mesomer-elektronenziehenden Eigenschaften in *ortho*- oder *para*-Stellung zur Abgangsgruppe notwendig. Durch die Einführung von Iodoniumsalze als Markierungsvorläufer zur ^{18}F -Markierung war dann auch eine direkte Synthese elektronenreicher aromatischer Verbindung ohne die Notwendigkeit einer zusätzlich aktivierenden Gruppe möglich geworden [21,30,77–84]. Eine weitere Verbesserung konnte über die neuartigen Kupfer-vermittelten ^{18}F -Fluorierungsmethoden erzielt werden, die eine hohe Verträglichkeit gegenüber funktioneller Gruppen zeigen und eine hohe Chemoselektivität aufweisen [61,85–94]. Die Details sind in mehreren Review-Artikeln beschrieben und werden im Folgenden nicht näher erläutert [34,86,88].

1.2 Adenosinrezeptoren und -liganden

1.2.1 Adenosin

Der Botenstoff Adenosin ist im Körper weit verbreitet und als extrazelluläres Signalmolekül an einer Vielzahl von physiologischen Funktionen beteiligt. Unter anderem entfaltet es seine Effekte als physiologischer Agonist an membranständigen Rezeptorproteinen, den Adenosin-Rezeptoren.

Adenosin gehört zur Gruppe der Purinnukleoside und besteht aus der heterobizyklischen Nukleinbase Adenin und dem Zucker β -D-Ribose (Abbildung 5).

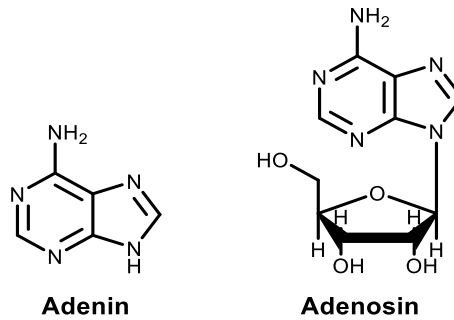


Abbildung 5: Strukturen von Adenin (9*H*-Purin-6-amin) und Adenosin (9-β-D-Ribofuranosyl-adenin).

Die biologischen Wirkungen des Adenosins werden über Adenosinrezeptoren (ARs) an den Zelloberflächen vermittelt. Vom Adenosinrezeptor, der zur Superfamilie der G-Protein-gekoppelten Rezeptoren (engl. G-protein coupled receptors, GPCRs) gehört, wurden bisher die vier Subtypen A_1 , A_{2A} , A_{2B} und A_3 durch molekulare Klonierung identifiziert und pharmakologisch charakterisiert [95–97].

1.2.2 Adenosinrezeptoren

A_1 - und A_2 ARs wurden erstmals durch van Calcar *et al.* beschrieben [98]. Ihre Untersuchungen an kultivierten Mäuseuronen zeigten, dass die Aktivierung von A_1 ARs zu einer Hemmung des Enzymeffektor Adenylatcyclase führt, während die Aktivierung von A_2 ARs den gegenteiligen Effekt hat [98]. Die Existenz der A_2 AR-Subtypen A_{2A} und A_{2B} wurde postuliert, nachdem im Gehirn der Ratte hochaffine A_2 ARs im *Corpus Striatum* und niedrig affine A_2 ARs im gesamten ZNS nachgewiesen wurden [99]. Der humane A_3 AR wurde von Zhou und Mitarbeitern durch molekularbiologische Studien, basierend auf früheren Arbeiten von Meyerhof und Mitarbeitern [100] identifiziert [101].

Eine Aktivierung des A_1 AR und des A_3 AR verringert durch Kopplung mit dem G_i -Protein den intrazellulären Anteil an zyklischem Adenosinmonophosphat (cAMP) und hemmt dadurch die Adenylatcyclase. Im Gegensatz dazu koppeln A_{2A} - und A_{2B} AR an das $G_{s/off}$ -Protein, aktivieren die Adenylatcyclase und führen somit zu einer Erhöhung der intrazellulären Konzentration von cAMP [102,103]. Die Konzentrationsänderung des cAMP wirkt sich auf die Aktivität der Proteinkinase A aus, welche die Übertragung von Phosphatresten auf Funktionsproteine katalysiert und so diese aktiviert werden. Durch Stimulierung der A_1 -, A_{2B} - und A_3 AR lässt sich zusätzlich eine Aktivierung der Phospholipase C bewirken, die in Folge die Spaltung des Membranphospholipids Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphat in Inositoltriphosphat (IP_3) und Diacylglycerin (DAG) bewirkt. IP_3 fördert dann die Freisetzung von gespeichertem Ca^{2+} und das DAG stimuliert die Proteinkinase C.

Adenosin zeigt eine unterschiedlich hohe Bindungsaffinitäten an ARs, weshalb in *high affinity* (A_1 und A_{2A} ; $K_i = 73$ und 150 nM) und *low affinity* (A_{2B} und A_3 ; $K_i = 5,1$ und $6,5$ μ M) ARs unterschieden werden kann [102].

Die Verteilung der Rezeptor-Subtypen im Körper ist gewebespezifisch. Während der A_1 AR in nahezu allen Körpergeweben in unterschiedlichen Konzentrationen exprimiert ist, liegt der A_{2A} AR angereichert im dorsalen *Corpus Striatum*- und dem *Nucleus accumbens* des Gehirns und in Geruchszellen vor [104]. Weitere Anreicherungen des A_{2A} AR finden sich im ventrikulären Gewebe und dem Koronargefäß des Herzen, in der Milz, der Thymusdrüse, in den Leukozyten (Lymphozyten und Granulozyten), auf den Thrombozyten, den Endothelzellen und im vaskulären Muskelgewebe.

Der A_{2B} AR ist in größeren Konzentrationen auch in der Blase und im Darm zu finden. Daher wird davon ausgegangen, dass dieser Subtyp für den Tonus der Gefäße und die Funktion von Mastzellen verantwortlich ist [105].

A_3 ARs werden generell nur gering exprimiert. Fundierte Erkenntnisse bezüglich ihrer physiologischen Relevanz liegen heute noch nicht vor.

Neuronale A_1 ARs sind in erster Linie im *Cortex*, *Hippocampus* und *Cerebellum* des Gehirns und im Rückenmark anzutreffen. Werden diese stimuliert, wird die Ausschüttung von Neurotransmittern verringert, wodurch es zu einem reduzierten neuronalen „Feuern“ kommt. A_1 AR Agonisten finden daher als potentielle Antiepileptika Anwendung [106]. Bei der Verwendung von A_1 AR Antagonisten können diese im Gegenzug stimulierenden Wirkungen auf das zentrale Nervensystem haben, weshalb sie als Therapeutika für neurodegenerative Erkrankungen wie zum Beispiel *Morbus Alzheimer* Verwendung finden.

Tabelle 3 gibt einen Überblick über Verteilung und physiologische Funktionen der verschiedenen Adenosinrezeptoren.

Tabelle 3: Verteilung und physiologische Funktionen der Adenosinrezeptoren nach [102].

	A ₁ AR	A _{2A} AR	A _{2B} AR	A ₃ AR
Gewebe mit hoher Rezeptordichte	Gehirn: Cortex, <i>Hippocampus</i> , <i>Cerebellum</i> ; Rückenmark, Fettgewebe; Herz; Niere.	Gehirn: <i>Corpus Striatum</i> , <i>Nucleus accumbens</i> ; Thrombozyten; Herz; Lunge; Fettgewebe; <i>Thymus</i> , vasc. Endothelzellen.	Gehirn; Lunge; Dickdarm; Blinddarm; Harnblase	speziesabhängig: Ratte: Testes >> Lunge, Niere > Gehirn; Mensch: Lunge, Leber >> Gehirn, Aorta, Niere > Testes > Herz.
G-Protein-Kopplung	G _i	G _s	G _i	G _i
Effektorsystem	AC ↑ K ⁺ -Kanäle ↑ Ca ²⁺ -Kanäle ↓	AC ↓	AC ↑ IP ₃ ↑	AC ↓ IP ₃ ↑

Gi = inhibitorische G-Proteine; Gs = cAMP abhängige Reaktionen; IP3 = Inositoltriphosphat; AC = Adenylatcyclase.

Bei Ratten werden neuronale A_{2A}ARs in hohen Konzentrationen im *Corpus Striatum* (*Caudateputamen* (2059 ± 203 fmol/mg Protein) und *Nucleus accumbens* (1694 ± 244 fmol/mg Protein) [107]) des zentralen Nervensystems exprimiert, während sie in anderen Gehirnregionen nicht zu finden sind. Sie sind unter anderem mit den Dopamin-D₂-Rezeptoren kolokalisiert [108].

Viele GPCRs können als Di- oder Multimere vorliegen. A_{2A}ARs sind in der Lage Heterodimer, mit A₁ARs oder Dopamin D₂-Rezeptoren zu bilden. Diese dabei entstehende direkte Wechselwirkung ist bei der Entwicklung neuer Pharmaka von Bedeutung [109].

Des Weiteren wird davon ausgegangen, dass A_{2A}AR am Krankheitsverlauf der psychischen Erkrankung Schizophrenie beteiligt sind. Durch geeignete radioaktiv markierte Liganden ließe sich dies ebenfalls mittels PET-Studien untersuchen [105]. In Anbetracht der Vielseitigkeit des A_{2A}ARs ist die Entwicklung eines affinen und selektiven n.c.a. radiomarkierten A_{2A}AR-Liganden für PET-Studien von großem Interesse, weil er ein potentes Werkzeug zur Diagnostik neurodegenerativer Erkrankungen darstellen könnte [110].

1.2.3 Agonisten und Antagonisten

Substanzen, die, wie Adenosin, am Zielrezeptorsystem durch eine spezifische Signaltransduktion in der zugehörigen Zelle aktivieren, werden Agonisten genannt.

Zunächst wurden Analoga entwickelt, um die aktivierende Wirkung von Adenosin nachzuahmen. Dabei entstand eine Vielzahl von adenosinähnlichen Verbindungen mit unterschiedlicher Affinität, agonistischem Potenzial und Subtyp-Selektivität, die für verschiedene therapeutische Anwendungen nützlich sind [95,111].

Substanzen, die an einen Rezeptor binden und keine Signalkaskade auslösen, werden als Antagonisten bezeichnet. Auch diese können potente therapeutische Möglichkeiten aufweisen.

Es wurde gezeigt, dass natürlich vorkommende Methylxanthine wie beispielsweise Koffein, Theophyllin oder Theobromin an drei der vier bekannten Adenosinrezeptorsubtypen binden, ohne eine Aktivierung des Rezeptorsystems zu bewirken; sie können jedoch Agonisten aus ihrer Bindung verdrängen. Diese Verbindungsklasse stellt ein Beispiel für natürlich vorkommende A_{2A} -Adenosinrezeptor-Antagonisten dar.

1.2.4 Ligandenbindung

1.2.4.1 Theorie

Für die Entwicklung eines neuen Liganden für den A_{2A} -Rezeptor ist es hilfreich, die Eigenschaften sowie Struktur des Rezeptors möglichst gut zu kennen. Aus diesem Grund wurden zunächst molekulare Modelle für die Ratte und den menschlichen A_{2A} AR vorgeschlagen [112–114].

Durch Kristallisation des Proteins als Komplex mit dem hochaffinen Antagonisten ZM241385 gelang es, die räumliche Struktur des A_{2A} AR mittels Röntgenstrukturanalytik aufzuklären (siehe Abbildung 6) [115].

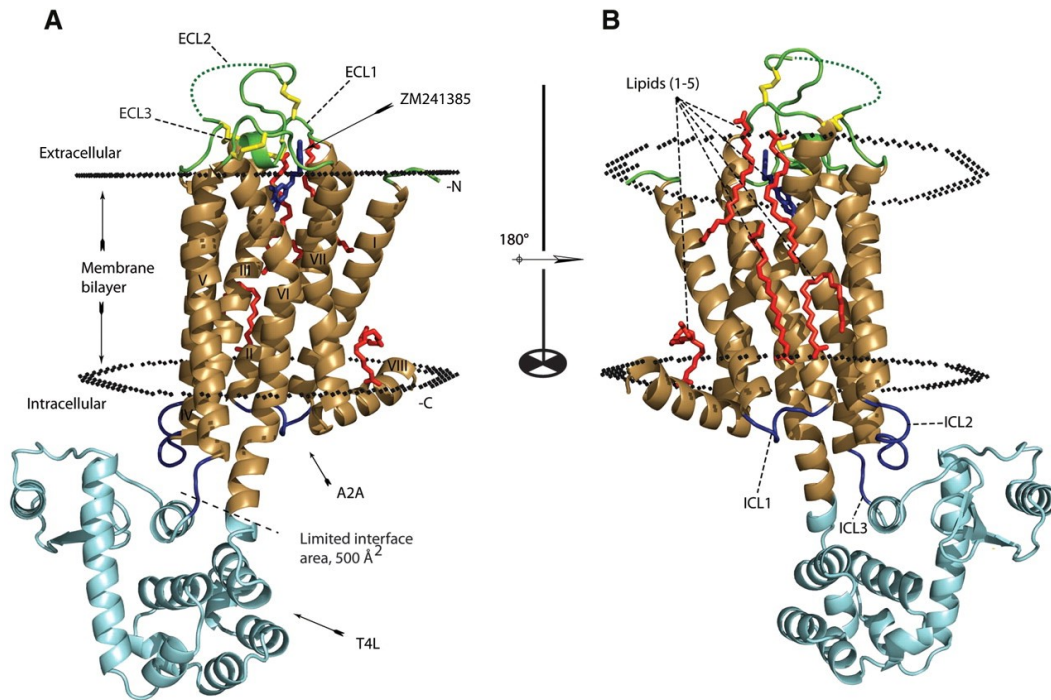


Abbildung 6: Kristallstruktur des A_{2A}AR. (A) zeigt die Transmembran-Helices I-VIII (Braun), die vier extrazellulären Disulfidbindungen (gelb), den Antagonist ZM241385 (dunkelblau in Bindungstasche) und den intrazellulären Loops (hellblau). (B): Objekt, um 180 ° um die x-Achse gedreht ([115] Reprinted with permission from AAAS).

In Abbildung 7 ist dargestellt, wie sich ZM241385 in die Bindungstasche des A_{2A}AR einfügt und an welchen Stellen eine Wechselwirkung stattfindet. Dabei wird auch davon ausgegangen, dass der Tryptophanrest (Trp246), in Position 6,48 der Helix VI, durch seine Beweglichkeit, wie ein Schalter, das Gleichgewicht zwischen aktiven und inaktiven Zustand des Rezeptors kontrollieren kann.

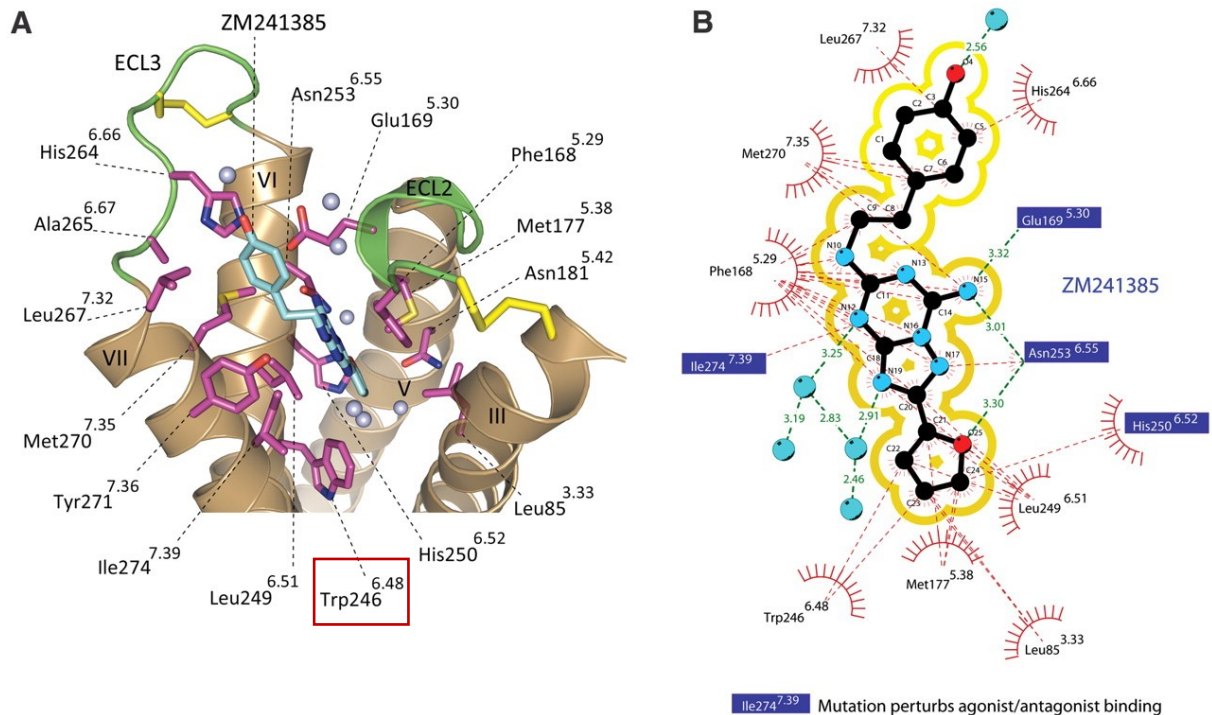


Abbildung 7: Ligandenbindungstasche eines A_{2A}AR und seine Bindung zu ZM241385, (A) Reste einer Größe von 5 Å des ZM241385 sind als Stäbchen dargestellt. Stickstoffatome sind blau gefärbt; Sauerstoffatome, rot; und Schwefelatome, gelb. Es sind nur die interagierenden Helices, ECL3 und das zusammenwirkende ECL2 gezeigt. Die zwei Disulfidbrücken nahe der Bindungstasche sind gelb eingefärbt. ZM241385 ist kollinear zu den transmembranen Helices V, VI und VII und erstreckt sich in die Bindungstasche, wo es am ECL3 der Transmembranen Helices VI und VII endet. Trp246^{6,48} ist 3 Å vom Furanring des ZM241385 entfernt und kann so durch Assoziation den Antagonisten stabilisieren. Die Bindungstasche enthält sieben geordnete Wassermoleküle (hellblau). (B) Schematische Darstellung der Wechselwirkungen zwischen A_{2A}AR und ZM241385 in der Aminosäurebindungstasche, kombiniert mit Mutationsanalyse für Adenosin-Agonisten und/oder Antagonistenwechselwirkung. Berichtete Mutationen stören die Bindung von Antagonisten und/oder Agonisten (siehe blaue Quadrate: Glu169^{5,30}, His250^{6,52}, Asn253^{6,55} und Ile274^{7,39}); ([115] Reprinted with permission from AAAS).

Unter Berücksichtigung der Struktur des A_{2A}AR sowie der Wechselwirkungen in der Bindungstasche können nun gezielt neue Liganden entwickelt werden.

1.2.4.2 Bindungsassays

Unter einem Radioliganden ist eine radioaktiv markierte Substanz zu verstehen, die selektiv an ein Makromolekül, z.B. einen Rezeptor bindet. Mit Hilfe von Bindungsstudien lassen sich Informationen über seine Affinität und Selektivität in Bezug auf das Zielrezeptorsystem erhalten. Sättigungsstudien werden im chemischen (thermodynamischen) Gleichgewicht durchgeführt:



$k_{\text{Bdg.}}$ = Geschwindigkeitskonstante Bindung,
 $k_{\text{Dis.}}$ = Geschwindigkeitskonstante Dissoziation.

Es gelten folgende Annahmen für eine Bindungsstudie:

- Treffen Ligand und Rezeptor aufeinander, kann durch eine reversible Bindung ein sogenannter Rezeptorligandkomplex entstehen. Die Anzahl der pro Zeiteinheit gebildeten Bindungen ergibt sich aus dem Produkt: $c(\text{Ligand}) \cdot c(\text{Rezeptor}) \cdot k_{\text{Bdg.}}$ mit $k_{\text{Bdg.}}$ als Geschwindigkeitskonstante der Bindungsbildung und der Einheit $\text{M}^{-1}\text{min}^{-1}$.
- Die Dauer der Ligand-Rezeptorbindung ist unter anderem abhängig von der Affinität, die der Ligand zum Rezeptor hat. Die Dissoziationsrate (Anzahl der Abspaltungen pro Zeiteinheit) ist dabei gegeben durch $c(\text{Ligand-Rezeptor-Komplex}) \cdot k_{\text{Dis.}}$ wobei $k_{\text{Dis.}}$ die Geschwindigkeitskonstante der Dissoziation mit der Einheit min^{-1} darstellt.
- Nach der Dissoziation des Ligand-Rezeptor-Komplexes liegen Ligand und Rezeptor wieder unverändert vor.
- Im Gleichgewicht gilt, dass die Bildungsrate des Ligandenrezeptorkomplexes und die der Dissoziation gleich sind.

Aus dem chemischen Gleichgewicht wird die Dissoziationskonstante K_D abgeleitet, welche ein Maß für die Affinität des Liganden zu dem Rezeptor ist. Dabei handelt es sich um die Gleichgewichtskonzentration des Liganden, bei der die Hälfte aller vorhandenen Rezeptoren (B_{max}) besetzt ist.

Der K_D -Wert ist gemäß der folgenden Gleichung definiert:

$$K_D = \frac{k_{\text{Bdg.}}}{k_{\text{Dis.}}} = \frac{c(\text{freier Ligand}) \cdot c(\text{freier Rezeptor})}{c(\text{Ligand-Rezeptor-Komplex})} = \frac{c(L) \cdot c(R)}{c(LR)} \quad [\text{mol L}^{-1}]. \quad (2)$$

In der vorliegenden Arbeit wurden die Affinitäten synthetisierter Verbindungen mit Kompetitionsstudien ermittelt, bei denen ein bekannter und charakterisierter Radioligand mit bekannter Affinität (K_D) in einer konstanten Konzentration eingesetzt wird. Testverbindungen werden in verschiedenen Konzentrationen gleichzeitig mit dem Radioliganden zu den Aufarbeitungen gegeben und inkubiert, welche die interessierenden Rezeptoren, z.B. in Gewebehomogenaten enthalten. Im idealen Fall wird ein sigmoider Graph, wie in Abbildung 8 dargestellt, erhalten.

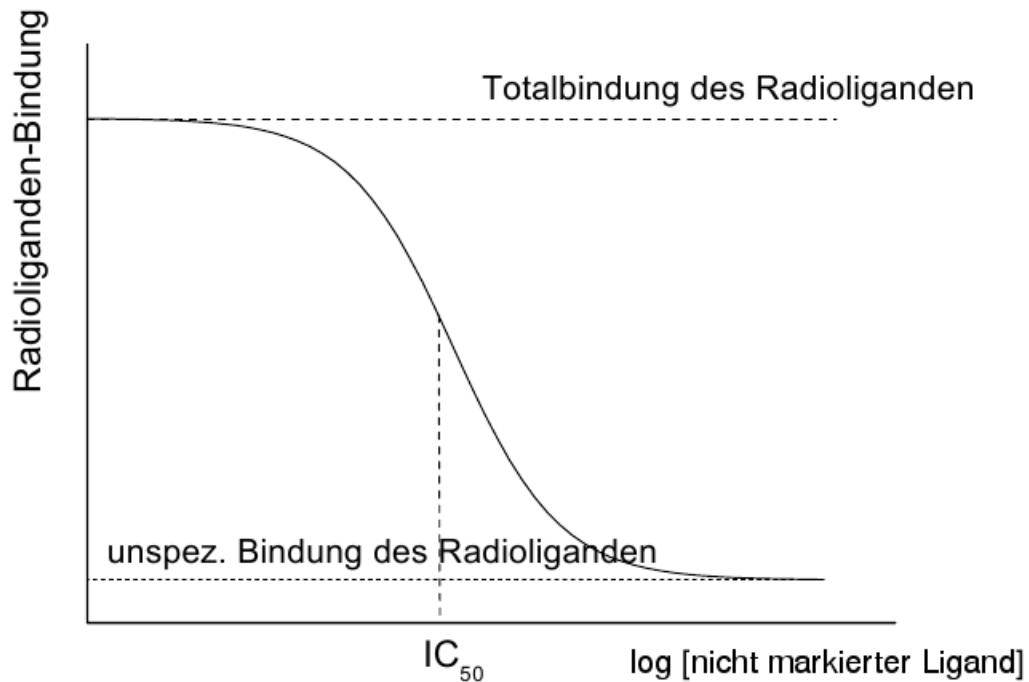


Abbildung 8: Sigmoider Kurvenverlauf einer Verdrängungsstudie mit einem Radioliganden, konstanter Konzentration (Radioaktivität).

Der Graph zeigt ein Plateau bei niedrigen Konzentrationen des nicht radioaktiven Liganden, welches der Totalbindung des zu markierenden Liganden entspricht. Bei hohen Konzentrationen des nicht markierten Liganden nähert sich der Graph meist einem von Null verschiedenem Grenzwert. Dieser Plateaubereich entspricht der unspezifischen Bindung des Radioliganden. Die Konzentration am Wendepunkt der Funktion beschreibt genau den Punkt, an dem die Hälfte des Radioliganden durch den nicht radioaktiven Liganden verdrängt wurde und wird als IC_{50} -Wert (inhibitory concentration 50 %) bezeichnet (Abbildung 8).

Der IC_{50} -Wert ist in erster Näherung proportional zur Inhibitionskonstante (K_i -Wert).

Üblicherweise wird die Cheng-Prusoff-Näherung verwendet, um aus dem ermittelten IC_{50} -Wert die Inhibitionskonstante zu berechnen [116].

$$K_i = \frac{IC_{50}}{1 + \frac{c(\text{Radioligand})}{K_D}} \quad (3)$$

Theoretisch ist die Inhibitionskonstante K_i mit der Dissoziationskonstante K_D identisch. In der Praxis können diese Werte jedoch gering voneinander abweichen.

1.2.5 Entwicklung eines neuen Radioliganden für das ZNS

Für die Entwicklung eines PET-Liganden für das zentrale Nervensystem (ZNS) muss die neue Verbindung zunächst hinsichtlich ihrer biologischen und pharmakologischen Eigenschaften evaluiert werden. Dazu werden diverse *in vitro* Untersuchungen durchgeführt, wobei unter anderem das Bindungspotenzial des neuen Liganden hinsichtlich Spezifität und Affinität bestimmt wird. Hierfür existieren verschiedene Herangehensweisen. In der Vergangenheit wurde der bereits fertige Radioligand intravenös in Nagetiere injiziert, welche nach einer gewissen Zeit getötet wurden, um im Anschluss das Zielgewebe zu untersuchen. So wurden beispielsweise auch *post mortem* Hirnschnitte angefertigt und diese mit Hilfe von Filmen ausgewertet. Diese Vorgehensweise hatte den Nachteil, dass erst der fertige Radioligand bei diesen Untersuchungen zeigte, ob er für das Zielsystem geeignet war.

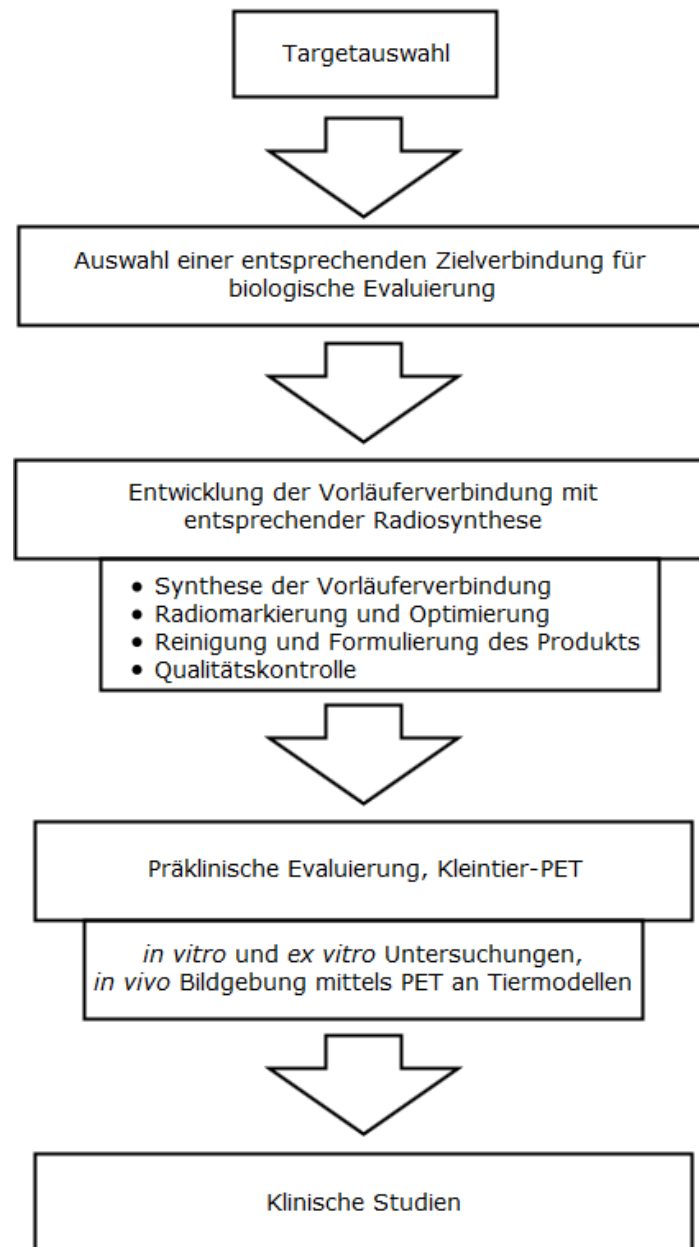
Um das Potential einer neuen Verbindung vor der Synthese eines geeigneten Radioliganden zu bestimmen, ist es heute üblich, den nicht radioaktiven Liganden vorab durch *in vitro* Konkurrenzexperimente zu evaluieren. Diese können an Hirnhomogenaten verschiedener Spezies oder an den Zielrezeptor exprimierenden Zellen durchgeführt werden. Mit Konkurrenzassays ist es möglich, die Affinität und Selektivität eines Liganden durch die kompetitive Verdrängung eines bekannten, spezifischen, radioaktiv markierten (vorzugsweise tritiierten) Rezeptorliganden zu bestimmen. Für den A_{2A}AR ist hierfür der Antagonist [³H]ZM241385 ([2-³H]4-(2-(7-Amino-2-(furan-2-yl)-[1,2,4]triazol[1,5-a][1,3,5]triazin-5-yl-amino)-ethyl)phenol) und für den A₁AR der Antagonist [³H]DPCPX (1,3-[³H]Dipropyl-8-cyclopentanylxanthin) geeignet.

Zeigen die Verdrängungsexperimente, dass sich der Ligand affin und selektiv bindet, wird der entsprechende Radioligand hergestellt. Mit diesem radioaktiv markierten Liganden können autoradiographische Untersuchungen an Hirnschnitten durchgeführt werden. Hierdurch können wertvolle Informationen über die Regionen, in denen sich der Ligand anreichert, sowie über das unspezifische Bindungsprofil erhalten werden [117].

Nach erfolgreichen *in vitro* Untersuchungen werden die Eigenschaften des neuen Tracers durch *in vivo* PET-Experimente an Ratten, Mäusen und/oder nicht menschlichen Primaten evaluiert. Während der gesamten Messung können permanent Blutproben genommen und auf die Entstehung entsprechender Metabolite analysiert werden. Mit den erhaltenen Daten lässt sich die Metabolisierungsrate bestimmen [118,119]. Darüber hinaus lassen sich Informationen über den zeitlichen Aktivitätsverlauf in Blut und Blutplasma erhalten. Mit speziellen *in vivo* Methoden ist es möglich, das pharmakokinetische Verhalten der neuen Verbindung zu analysieren. So kann die Verteilung des Tracers im gesamten Körper *in vivo* mit der PET-Kamera untersucht werden.

Aus der Berechnung des Verhältnisses der Radioaktivitätsanreicherung im Zielgewebe und Nicht-Zielgewebe lassen sich Informationen über den Anteil der spezifischen Bindung gewinnen [120].

Eine Übersicht über die wesentlichen Schritte in der Radioligandentwicklung ist in Schema 4 dargestellt.



Schema 4: Wesentliche Schritte für die Entwicklung eines neuen Radioliganden.

Anforderungsprofil

Ein PET-Radioligand für die Bildgebung im Gehirn sollte verschiedene Anforderungen erfüllen. Für die kontrastreiche Darstellung ist eine ausreichend hohe und spezifische Akkumulation im Zielgewebe notwendig, damit ein hohes Signal-Rausch-Verhältnis entsteht. Darüber hinaus ist ein schnelles Ausscheiden aus Bereichen des Untergrunds gewünscht, um die spezifische Aufnahme im Zielgewebe besser bestimmen zu können [121]. Um bei PET-Messungen ein klar interpretierbares Signal zu erhalten, ist es notwendig, dass entstehende radiomarkierte Metabolite nicht zur spezifischen Bindung beitragen und weder die Blut-Hirn-Schranke (BHS) überwinden, noch im Gehirn gebildet werden. Ein langsamer Metabolismus des Radioliganden über den Zeitraum der Datenerfassung ist von Vorteil [122]. Nach Beendigung der Messung ist eine schnelle Plasmaausscheidung erwünscht [25].

Für die Entwicklung eines neuen Radioliganden sollten die folgenden Parameter berücksichtigt werden:

Die Lipophilie der Tracer ($\log P$ oder $\log D$) hat Einfluss auf die Fähigkeit der Moleküle Zellmembranen oder andere biologische Barrieren, wie beispielsweise die Bluthirnschranke, zu überwinden. Es ist bekannt, dass mit steigender Lipophilie der Anteil der unspezifischen Bindung zunimmt. Ein typischer $\log P$ - Wert für Radioligand zum Überwinden der BHS liegt zwischen 1 und 4 [122]. Viele Radiotracer besitzen einen $\log P$ - Wert unter 3, allerdings gibt es auch etliche Ausnahmen von dieser Regel [8]. Die Anreicherung des Radiotracers, im entsprechenden Zielsystem, hängt von seiner Affinität (K_d oder K_i , typischerweise im nanomolaren Bereich), sowie von der Anzahl verfügbarer Bindungsstellen ($B_{\max}$) ab [122]. Von besonders großer Bedeutung ist die Selektivität des Liganden. Das heißt, dass dieser sich möglichst ausschließlich an das Zielsystem bindet. Nicht vorhersehbar ist der Einfluss der Molekülstruktur auf aktive Transportmechanismen, sowie auf Bindungsaffinität und Selektivität an andere Rezeptoren [121,123]. Ein weiterer wichtiger und beeinflussender Parameter von Rezeptorliganden und toxische Substanzen ist die molare Aktivität, welche als Radioaktivität pro Stoffmenge der markierten Komponente angegeben wird. Um pharmakologische Effekte zu vermeiden, sollte der Radioligand, besonders bei Kleintierstudien, nur in Dosen im micromolaren Bereich, verabreicht werden. Für PET-Tracer werden typischerweise MA von 50-500 GBq/ μmol benötigt [8].

1.2.6 Adenosinrezeptorliganden für die Positronen-Emissions-Tomographie

Da PET und Einzel-Photonen-Emissions-Tomographie (engl. single photon emission computed tomography, SPECT) die einzigartige Möglichkeit bieten, mittels geeigneter Radiotracer Neurorezeptoren *in vivo* zu visualisieren und zu untersuchen, sind in der

Vergangenheit einige Versuche zur Entwicklung von selektiven A_{2A}AR Radiotraceren unternommen worden.

In diesem Zusammenhang sind mehrere Verbindungen für die *in vivo*-Bildgebung von neuronalen A_{2A}ARs beschrieben worden [124–135].

Dabei handelt es sich überwiegend um mit ¹¹C-markierte Verbindungen deren Strukturen in Abbildung 9 gezeigt sind. Bis heute sind lediglich drei ¹⁸F-markierte A_{2A}-Rezeptorliganden beschrieben worden (Abbildung 10 und Abbildung 11).

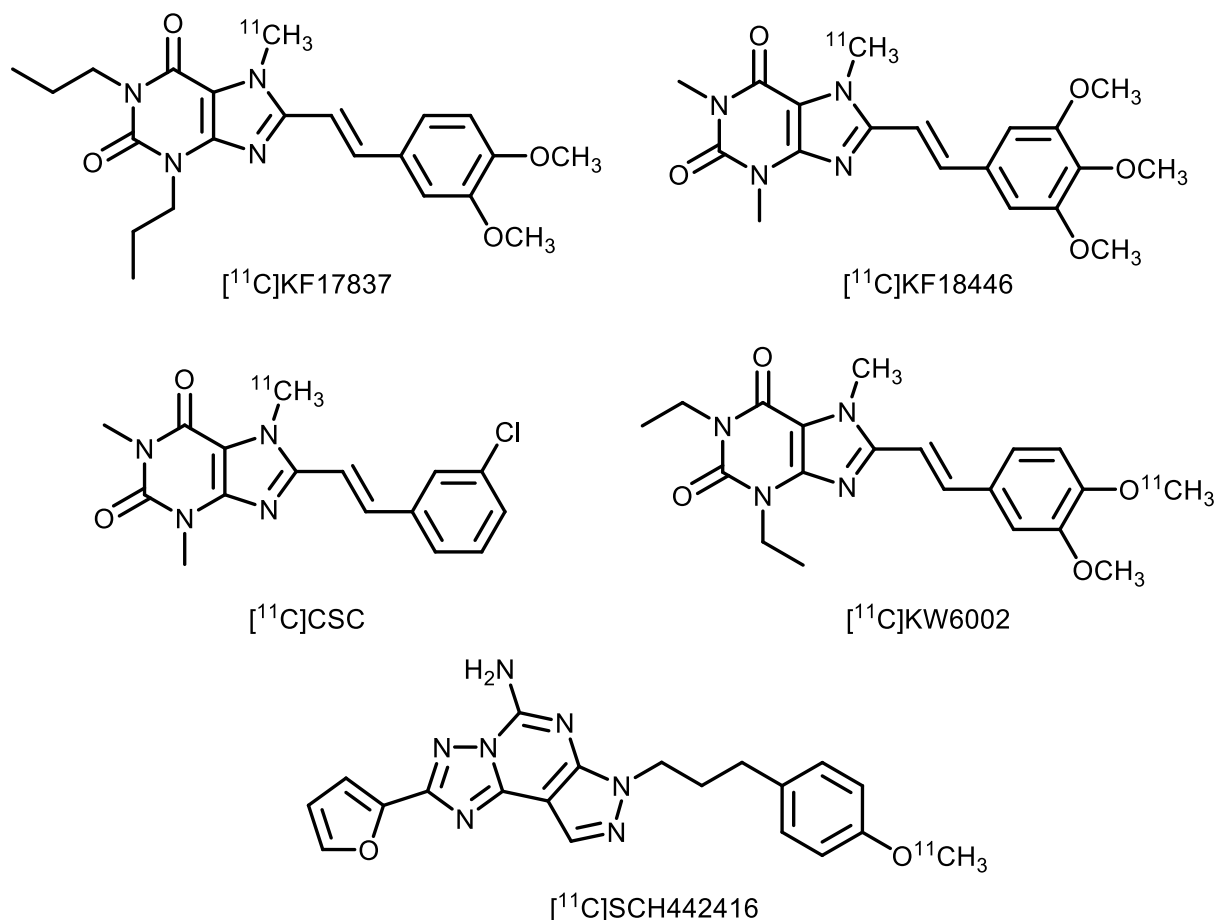


Abbildung 9: Auszug an Strukturen der bisher synthetisierten, mit ¹¹C-markierten A_{2A}AR Radioliganden für die PET.

Generell lassen sich A_{2A}-Liganden in zwei unterschiedliche Klassen einteilen: Xanthinderivate und Nicht-Xanthinderivate.

Das Styrylxanthin [¹¹C]KF17837 ((E)-8-(3,4-Dimethoxystyryl)-1,3-dipropyl-7-[¹¹C]methylxanthin) gehört zu den ersten radiomarkierten, selektiven A_{2A}AR Antagonisten [136]. Bei *in vivo* Untersuchungen an nicht menschlichen Primaten zeigte sich keine spezifische Anreicherung in den A_{2A}AR exprimierenden Regionen des Gehirns. Da darüber hinaus die

Überwindung der BHS unzureichend ist, eignet sich dieser Ligand nicht für *in vivo* PET-Studien des ZNS [133,134].

[¹¹C]KF18446 ((E)-8-(3,4,5-Trimethoxystyryl)-7-[¹¹C]methylxanthin) ist eine Weiterentwicklung von [¹¹C]KF17837 [137]. Dieser Ligand bindet selektiv im *Corpus Striatum*. Mittels *in vivo* Experimenten konnte gezeigt werden, dass eine verbesserte BHS-Gängigkeit vorliegt, weshalb die striatale Aufnahme von [¹¹C]KF18446 zehnmal so hoch ist wie die des [¹¹C]KF17837 [137]. Ein wesentlicher Nachteil dieser Verbindung ist die Photoisomerisierung vom hoch affinen *E*-Isomer zum wenig affinen *Z*-Isomer [138].

Bei [¹¹C]CSC ((E)-8-(3-Chlorstyryl)-1,3-dimethyl-7-[¹¹C]methylxanthin) handelt es sich um das ¹¹C-markierte Analogon des A_{2A}AR Antagonisten 8-(3-Chlorstyryl)koffein [139]. Dieser Ligand wurde hinsichtlich seiner biologischen Verteilung evaluiert. Dabei zeigten autoradiographische Untersuchungen an Mäusehirnen eine deutliche Anreicherung im *Corpus Striatum*. Bei dynamischen PET-Studien an Hasen wurde nach zwei Minuten die maximale Aufnahme des Radioliganden im Gehirn beobachtet [140]. Allerdings zeigte sich, dass [¹¹C]CSC nach wenigen Minuten fast vollständig aus dem Gehirn verschwunden war, weshalb er für PET-Studien ungeeignet ist [137].

Ausgehend vom O-Desmethylvorläufer KF23325 wurde KW6002 ((E)-1,3-diethyl-8-(3,4-dimethoxystyryl)-7-methylxanthin) mit [¹¹C]CH₃I markiert [141]. Bei *in vivo* PET-Untersuchen mit [¹¹C]KW6002 an Ratten konnte eine Bindung im Bereich des *Corpus Striatums* aber auch im frontalen *Cortex* beobachtet werden. Durch nichtradioaktives KW6002 fand eine Verdrängung statt. Allerdings handelt es sich bei diesen Regionen nicht ausschließlich um die bekannten, den A_{2A}AR exprimierenden Regionen des Gehirns, weshalb sich auch dieser Ligand nicht für weitere PET-Untersuchen des A_{2A}AR-Systems eignet [125].

Ein großer Nachteil aller Styrylxanthine liegt in der Photoisomerie der Doppelbindung, die in Lösung stattfindet und zur Bildung des weniger affinen *Z*-Isomers führt.

Das Nicht-Xanthin [¹¹C]SCH442416 ist ein Derivat der zweiten Generation des sehr selektiven und affinen A_{2A}-Antagonisten SCH58261 [142]. PET-Untersuchungen mit [¹¹C]SCH442416 an nicht menschlichen Primaten zeigten nach 5-10 min eine maximale Aufnahme des Tracers in den, den A_{2A}AR exprimierenden, Regionen des Gehirns [143]. Aufbauend auf diese Ergebnisse sind Humanstudien geplant.

Zusammenfassend lässt sich über die mit ¹¹C-markierten Liganden sagen, dass die bisher mittels PET am Primatenhirn erhaltenen Daten für die Bioverteilungen der Liganden [¹¹C]KF17837 und [¹¹C]CSC nicht mit den in autoradiographischen Untersuchungen gefundenen Ergebnissen übereinstimmen. Der beschriebene Radioligand [¹¹C]SCH442416

erscheint momentan als einer der vielversprechendsten Kandidaten für die Bildgebung des A_{2A}AR.

Im Gegensatz zu den mit ¹¹C-markierten Liganden sind die mit ¹⁸F-markierten Verbindungen ausnahmslos Nicht-Xanthine. Zwei Liganden sind Derivate des SCH442416 (2-(2-Furanyl)-7-[3-(4-methoxyphenyl)propyl]-7H-pyrazolo[4,3-e][1,2,4]triazolo[1,5-c]pyrimidin-5-amin). Dabei handelt es sich um die an der phenolischen OH-Gruppe ¹⁸F-fluorethylierten oder ¹⁸F-fluorpropylierten Verbindungen [¹⁸F]MRS5425 ([¹⁸F]FESCH) und [¹⁸F]FPSCH (Abbildung 10). Beide Liganden wurden bereits *in vitro* und *in vivo* an der Ratte evaluiert und zeigen eine Anreicherung in den A_{2A}AR exprimierenden Regionen des Gehirns [144].

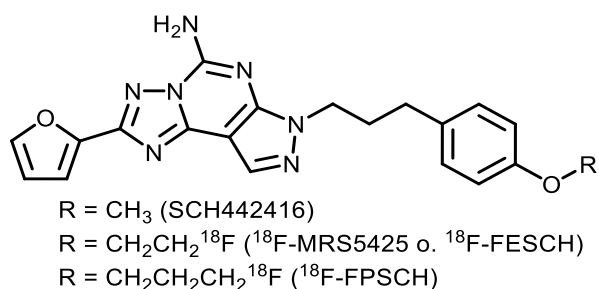


Abbildung 10: Struktur von SCH442416, [¹⁸F]MRS5425 ([¹⁸F]FESCH) und [¹⁸F]FPSCH [144].

Die dritte Verbindung ist das dem SCH420814 ((2-(2-Furanyl)-7-(2-(4-(4-(2-methoxyethoxy)phenyl)-1-piperazinyl)ethyl)-7H-pyrazolo(4,3-e)(1,2,4)triazolo-(1,5-c)pyrimidine-5-amine, Preladenant)) verwandte [¹⁸F]MNI-444 (Abbildung 11). Dieser O-¹⁸F-fluorethylierte Tracer wurde bereits am Rhesusaffen evaluiert, wobei eine selektive Anreicherung des Liganden im *Corpus Striatum* beobachtet wurde [145]. Aufbauend auf diesen Ergebnissen wurden zum ersten Mal *in vivo* PET-Studien am Menschen durchgeführt und die Verbindung evaluiert [146]. Es zeigte sich eine Anreicherung in den Arealen des Gehirns in welchem der A_{2A}AR exprimiert ist. Bindungskinetik, Stabilität und biologische Halbwertszeit wurden ebenfalls evaluiert. Es zeigte sich, dass es sich bei dieser Verbindung um einen vielversprechenden Kandidaten für die *in vivo* A_{2A}AR PET-Bildgebung handelt.

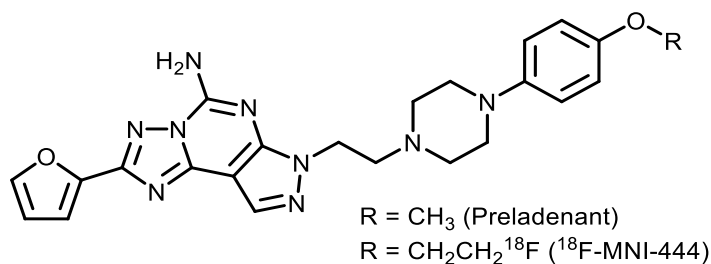


Abbildung 11: Struktur von Preladenant und [¹⁸F]MNI-444 [145].

1.3 Auswahl des Leit-Heterobizykls zur Entwicklung eines neuen ^{18}F -fluorierten Adenosin- $\text{A}_{2\text{A}}$ -Rezeptorliganden

In der Patentliteratur wurde 4-Methoxy-7-morpholin-4-yl-benzothiazol-2-ylamin **1** (Abbildung 12) als Leitstruktur für die Entwicklung neuer affiner und selektiver Liganden für das Adenosin- $\text{A}_{2\text{A}}$ -Rezeptorsystem beschrieben [147].

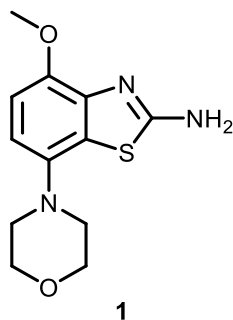


Abbildung 12: 4-Methoxy-7-morpholin-4-yl-benzothiazol-2-ylamin **1** als Leitstruktur.

Auf Basis dieser Leitstruktur sollen neue Zielverbindungen synthetisiert werden. Diese bestehen formal aus drei verschiedenen Einheiten. Dabei handelt es sich um eine substituierte Aminobenzothiazolkomponente und eine pharmakophore Gruppe, welche über einen Linker miteinander verbunden sind (siehe Abbildung 13).

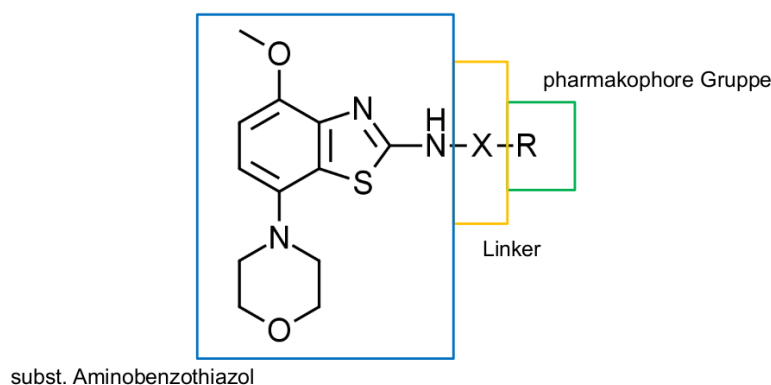


Abbildung 13: Grundlegender Aufbau der neuen Liganden.

Durch die Variation des Linkers und der pharmakophoren Gruppe ist es möglich, die Affinität und Selektivität des Liganden zu modifizieren. So kann auch Einfluss auf die Lipophilie der Verbindung genommen werden, welche bei Überwindung der BHS eine Rolle spielt. So ergibt sich eine Vielzahl an potentiellen neuen Zielverbindungen.

2 Problemstellung

Mit Positronenstrahlern trägerarm (n.c.a.) markierte, selektive und hochaffine Liganden des Adenosin-A_{2A}-Rezeptors stellen attraktive Sonden dar, um *in vivo* physiologische und pathologische Veränderungen dieses Rezeptorsystems bei neurodegenerativen Erkrankungen mit Hilfe der Positronen-Emissions-Tomographie (PET) zu visualisieren. Alle bisher synthetisierten selektiven und affinen A_{2A}-Radioliganden eigneten sich meist aufgrund ihrer zu großen Lipophilie und ihres zu großen unspezifischen Bindungspotentials nicht für die Anwendung am Menschen. Darüber hinaus handelt es sich bei den meisten bisher beschriebenen A_{2A}-Radioliganden um Kohlenstoff-11 markierte Verbindungen.

Bereits in früheren Arbeiten im INM-5 konnte ein selektiver und affiner radiofluorierter A_{2A}-Adenosinrezeptor-Ligand auf Basis eines substituierten Aminobenzothiazols als Leitstruktur hergestellt werden. Bei *in vitro* Untersuchungen stellte sich jedoch heraus, dass die Lipophilie und damit der Anteil der unspezifischen Bindung zu groß ist. Dennoch konnte eine generelle Verdrängung des Liganden im Striatum beobachtet werden.

Ziel dieser Arbeit war es, aufbauend auf zuvor erhaltenen Ergebnissen, einen geeigneten selektiven und affinen mit ¹⁸F-markierten A_{2A}-Adenosinrezeptorliganden herzustellen. Für neu herzustellende Zielverbindungen diente das 4-Methoxy-7-morpholin-4-yl-benzothiazol-2-ylamin als Leit-Heterobizyklus. Eine verbesserte Lipophilie kann durch geschickte Wahl der pharmakophoren Gruppe erzielt werden. Um dies zu erreichen, wurden zunächst verschiedene Pyridin-, Sulfonyl-, Piperazin- und Piperidinderivate synthetisiert und auf ihre Bindungseigenschaften zum A_{2A}AR und A₁AR hin untersucht.

Auf Basis dieser Ergebnisse sollte dann ein entsprechender Markierungsvorläufer hergestellt werden. Da für eine trägerarme Radiomarkierung nur [¹⁸F]Fluorid zur Verfügung steht, war es notwendig, dass sich diese für die Radiofluorierung mittels nukleophiler Substitution eignet. Da die Synthese eines Markierungsvorläufers auf Basis der Aminobenzothiazole sehr aufwendig ist, sollten zunächst die optimalen ¹⁸F-Markierungsparameter anhand von Modellverbindungen mit verschiedenen Schutz- und Abgangsgruppen untersucht werden.

Die aus der Modellverbindung gewonnenen Erkenntnisse sollten anschließend auf den ¹⁸F-Markierungsvorläufer mit Aminobenzothiazolstruktur übertragen werden. Dabei war darauf zu achten, dass potentielle Nebenreaktionen, die bei der nukleophilen Radiofluorierung stattfinden können, durch die geschickte Wahl von Schutzgruppen unterbunden werden. Nach erfolgreicher Vorläufersynthese war die Substitutionsreaktion mit n.c.a. [¹⁸F]Fluorid in Hinblick auf eine hohe molare Aktivität und radiochemische Ausbeuten durch Variation der Reaktionstemperatur, Reaktionszeit, Reaktionsmedium, Vorläufermenge und Art und Konzentration des Aktivatorsystems zu optimieren.

Für die erforderliche Radioanalytik der Ausbeutebestimmungen sowie zur Isolierung der Radioliganden sind entsprechende radiochromatographische Verfahren mittels DC und HPLC zu entwickeln.

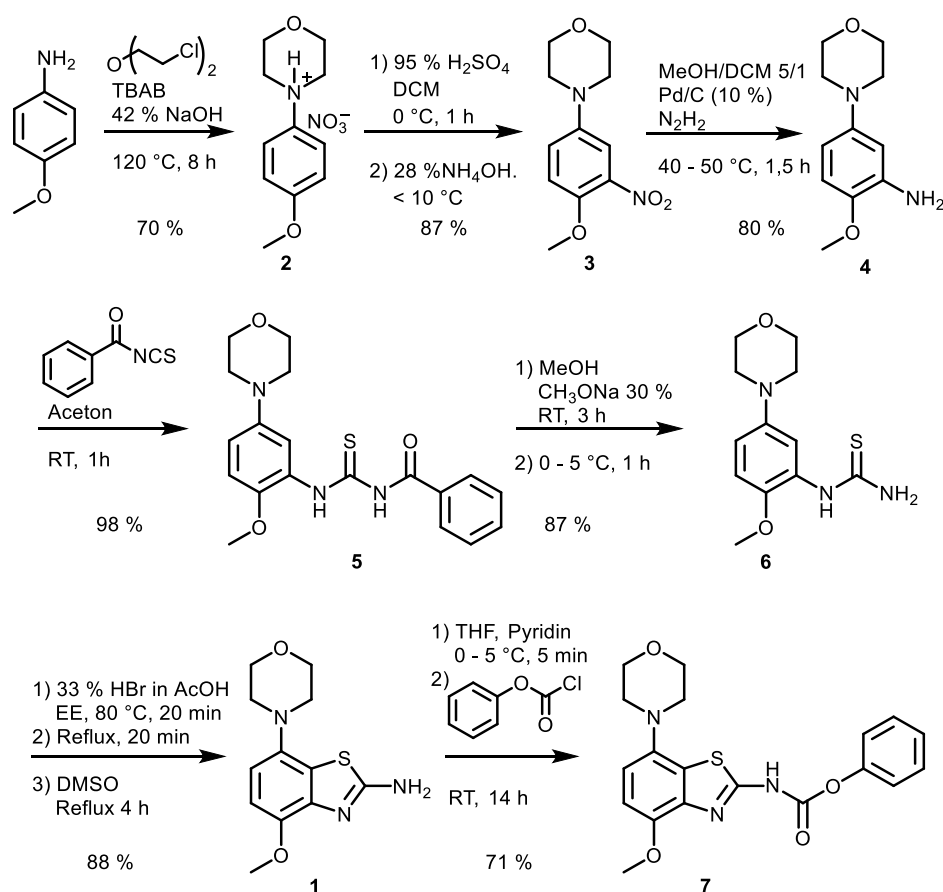
Die hergestellten neuen Verbindungen sollten dann für *in vitro* Bindungsstudien zur Verfügung gestellt werden, um ihre Affinitäten und Selektivitäten zum Adenosin-A_{2A}-Rezeptor zu bestimmen und zu klären, ob die neue Verbindung prinzipiell als PET-Ligand für die *in vivo* Bildgebung geeignet sein könnte.

3 Ergebnisse und Diskussion

3.1 Synthese potentieller Adenosin-A_{2A}-Rezeptorliganden auf Aminobenzothiazol-Basis

3.1.1 Synthese des 4-Methoxy-7-morpholin-4-yl-benzothiazol-2-ylamin **1** als Leit-Heterobizyklus für potentielle Adenosin-A_{2A}-Rezeptorliganden

Der Leit-Heterobizyklus 4-Methoxy-7-morpholin-4-yl-benzothiazol-2-ylamin **1** wurde ausgehend vom p-Anisidin in einer 6-stufigen Synthese hergestellt (siehe Schema 5). Im ersten Reaktionsschritt wurde die Aminfunktion des p-Anisidin in Gegenwart von 2-Chlor-ethylether in das 4-(4-Methoxyphenyl)morpholinnitrat **2** überführt. Auf die anschließende Nitrierung zum 4-(4-Methoxy-3-nitrophenyl)morpholin **3** folgte die Reduktion zum 2-Methoxy-5-morpholinoanillin **4**. Durch die Umsetzung mit Benzoylisothiocyanat ließ sich der 1-Benzoyl-3-(2-methoxy-5-morpholin-4-yl-phenyl)thioharnstoff **5** erhalten. Nach der Entschützung zum 2-Methoxy-5-morpholin-4-yl-phenylthioharnstoff **6** folgte die Zyklisierung zum 4-Methoxy-7-morpholin-4-yl-benzothiazol-2-ylamin **1**.



Schema 5: Syntheseweg von 4-Methoxy-7-morpholin-4-yl-benzothiazol-2-ylamin **1** und dem Phenyl-4-methoxy-7-morpholinobenzothiazol-2-ylcarbamate **7** ausgehend von p-Anisidin.

Da für einige Folgereaktionen das Phenyl-4-methoxy-7-morpholinobenzothiazol-2-ylcarbamat **7** von Interesse war, wurde Verbindung **1** entsprechend mit Phenylchlorformiat umgesetzt um das Phenyl-4-methoxy-7-morpholinobenzothiazol-2-ylcarbamat **7** zu erhalten.

3.1.2 Neue Pyridyl-, Sulfonyl-, Piperazyl-Derivate auf Basis des Leit-Heterobi-zyklusses als potentielle Adenosin-A_{2A}-Rezeptorliganden

Liganden mit potentieller Affinität zum Adenosin-A_{2A}-Rezeptor, welche auf dem Leit-Heterobizyklus 4-Methoxy-7-morpholin-4-yl-benzothiazol-2-ylamin **1** basieren, können durch die Wahl der pharmakophoren Gruppe (siehe Abbildung 13) in ihrer Lipophilie beeinflusst werden.

In diesem Zusammenhang wurden zunächst sechs neue Liganden für den Adenosin-A_{2A}-Rezeptor synthetisiert (siehe Abbildung 14).

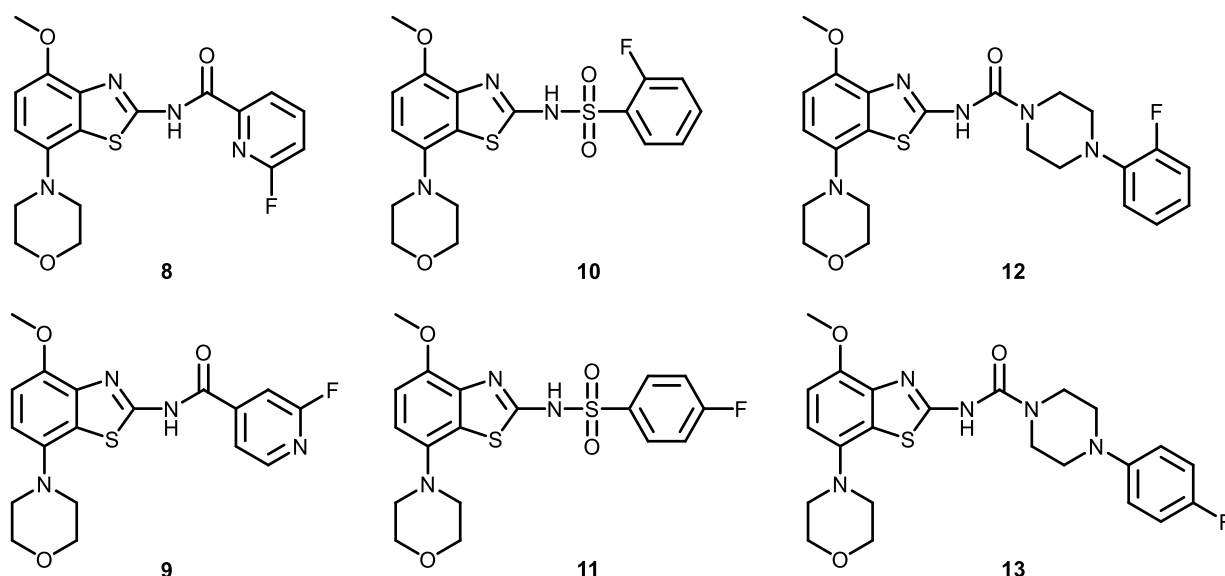
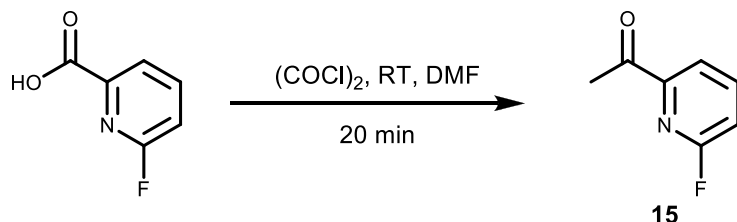


Abbildung 14: Übersicht der neuen Zielverbindungen Liganden mit potentieller Affinität zum Adenosin-A_{2A}-Rezeptor.

Die Synthese der Verbindungen 2-Fluor-*N*-(4-methoxy-7-morpholinobenzothiazol-2-yl)isonicotinamid **8** und 6-Fluor-*N*-(4-methoxy-7-morpholinobenzothiazol-2-yl)picolinamid **9** erfolgte durch die Reaktion von **1** mit dem jeweiligen zuvor hergestellten Rohprodukt von 2-Fluorisonicotinsäurechlorid **14** bzw. 6-Fluoripicolinsäurechlorid **15** (Schema 6 und 7) .

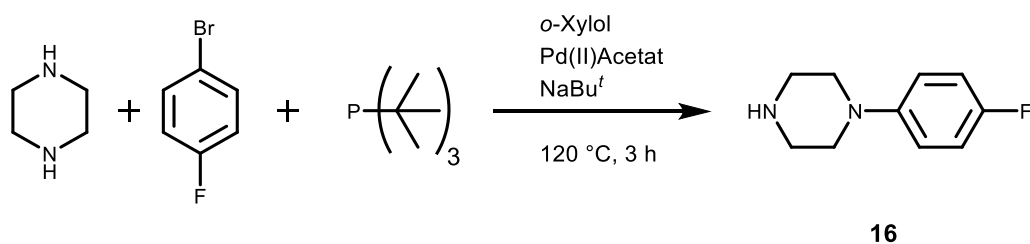


Schema 6: Synthese der von 2-Fluorisonicotinsäurechlorid **14**.



Schema 7: Synthese der von 6-Fluorpicolinsäurechlorid **15**.

Aus der Reaktion von **1** mit dem entsprechenden Fluorbenzolsulfonylchlorid konnten die Verbindungen 4-Fluor-*N*-(4-methoxy-7-morpholinobenzothiazol-2-yl)benzolsulfonamid **10** und 2-Fluor-*N*-(4-methoxy-7-morpholinobenzothiazol-2-yl)benzolsulfonamid **11** synthetisiert werden. Die Verbindungen 4-(2-Fluorphenyl)-*N*-(4-methoxy-7-morpholinobenzo[d]thiazol-2-yl)piperazin-1-carboxamid **12** und 4-(4-Fluorphenyl)-*N*-(4-methoxy-7-morpholinobenzo[d]thiazol-2-yl)piperazin-1-carboxamid **13** ließen sich aus der Reaktion von **7** mit der jeweiligen Piperazinverbindung herstellen. Das zur Synthese von Verbindung **13** benötigte 4-Fluorphenylpiperazin **16** wurde vorab synthetisiert [148] (siehe Schema 8).



Schema 8: Synthese von 4-Fluorphenylpiperazin **16** [148].

3.1.2.1 Untersuchung der Bindungseigenschaften zum Adenosin A_{2A} und A₁ Rezeptor der Derivate **8**, **9**, **10**, **11**, **12** und **13** mittels Kompetitionsassays

Nach der erfolgreichen Synthese von **8**, **9**, **10**, **11**, **12** und **13** als potenziellen Liganden für das A_{2A}-Rezeptorsystem wurden entsprechende Rezeptorbindungsstudien (siehe Kapitel 6.1.1) durch die Radiopharmakologiegruppe des Institutes durchgeführt. Mit Kompetitionsassays wurden die neuen Verbindungen hinsichtlich ihrer Affinität und Selektivität zum A_{2A}AR untersucht. Es zeigt sich, dass alle Verbindungen nicht an den A₁AR binden. Allerdings zeigt

sich auch, dass unter den experimentellen Bedingungen des Assays, keine Bindung an den A_{2A}AR für die Verbindungen **9**, **10**, **11** und **12** zu beobachten war. Die Affinitäten der Verbindungen **8** und **13** zum A_{2A}AR sind nicht sehr hoch, aber dennoch messbar. Ideal sind Affinitäten im einstelligen nanomolaren Bereich, weshalb sich diese Verbindungen nicht für die weitere Entwicklung eines neuen Radioliganden für den A_{2A}AR eignen.

3.1.3 Neue Piperidiny-Derivate auf Basis des Leit-Heterobizyklus als potentielle Adenosin-A_{2A}-Rezeptorliganden

Bei der Recherche nach neuen potenziellen Zielverbindungen fiel das Augenmerk auf das 4-Hydroxy-*N*-(4-methoxy-7-morpholinobenzothiazol-2-yl)-4-methylpiperidin-1-carboxamid (Tozadenant oder SYN-115) **17** (Abbildung 15). Dabei handelt es sich um ein Therapeutikum für die Parkinson'sche Krankheit, welches bereits erfolgreich in der präklinischen Phase II getestet wurde [149].

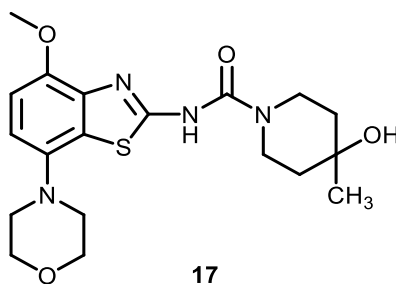


Abbildung 15: 4-Hydroxy-*N*-(4-methoxy-7-morpholinobenzothiazol-2-yl)-4-methylpiperidin-1-carboxamid (Tozadenant, SYN-115) **17**.

Da das Zielmolekül mit Fluor-18 markiert werden soll, war nun die Überlegung, an welcher Position des Moleküls es sinnvoll ist, ein Fluoratom einzufügen. Es wurden schließlich die in Abbildung 16 gezeigten, zwei Möglichkeiten für ein fluoriertes Derivat des Tozadenants ausgewählt. Dabei wird entweder die 4-Hydroxyfunktion oder ein Wasserstoffatom des Methylsubstituenten, in Vierposition am Piperidin, durch ein Fluoratom ersetzt.

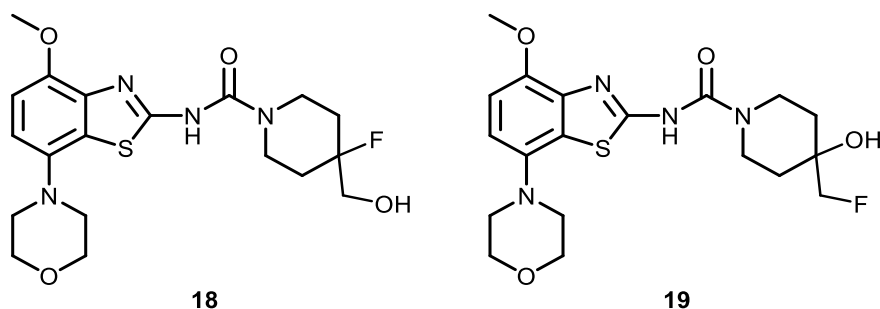
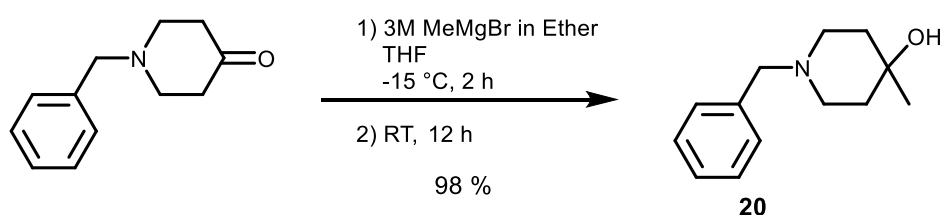
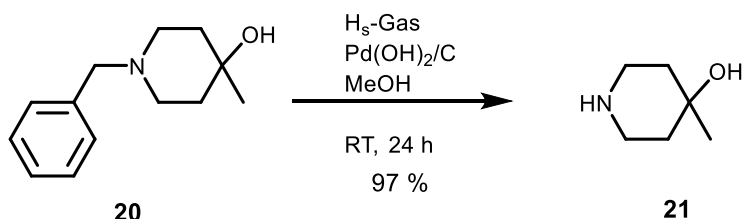


Abbildung 16: Zwei vom Tozadenant **17** abgeleitete Zielverbindungen 4-Fluor-4-(hydroxymethyl)-*N*-(4-methoxy-7-morpholinobenzothiazol-2-yl)piperidin-1-carboxamid **18** und 4-(Fluormethyl)-4-hydroxy-*N*-(4-methoxy-7-morpholinobenzo[d]thiazol-2-yl)piperidin-1-carboxamid **19**.

Für erneute Bindungsstudien wurden die entsprechenden Zielverbindungen (siehe Abbildung 16) und das Tozadenant (Abbildung 15) als Referenz hergestellt. Hierfür wurde das Phenylcarbamat **7** mit dem zuvor aus dem 1-Benzyl-4-methylpiperidin-4-ol **20** (Schema 9) hergestellten 4-Methylpiperidin-4-ol **21** (Schema 10) umgesetzt.



Schema 9: Synthese von 1-Benzyl-4-methylpiperidin-4-ol **20** nach [150].



Schema 10: Synthese von 4-Methylpiperidin-4-ol **21**.

Die Verbindungen 4-Fluor-4-(hydroxymethyl)-*N*-(4-methoxy-7-morpholinobenzo-thiazol-2-yl)piperidin-1-carboxamid **18** und 4-(Fluormethyl)-4-hydroxy-*N*-(4-methoxy-7-morpholino-benzo[d]thiazol-2-yl)piperidin-1-carboxamid **19** ließen sich durch die Umsetzung von **7** mit den entsprechenden Piperidinderivaten mit Ausbeuten von 56 % und 99 % herstellen.

3.1.3.1 Untersuchung der Bindungseigenschaften zum Adenosin A_{2A} und A₁ Rezeptor der Derivate **17**, **18** und **19** mittels Kompetitionsassays

Auch die potenziellen Liganden **17**, **18** und **19** wurden hinsichtlich ihres Bindungsverhaltens untersucht (Tabelle 10). Es zeigte sich, dass Verbindung **19** eine affine und selektive

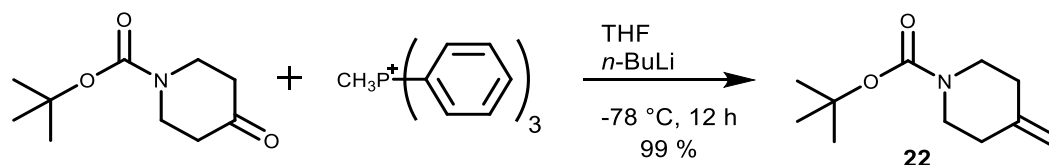
Verbindung ähnlich dem Tozadenant ist. Auch ihre Lipophilie ähnelt sich, was sich aus dem theoretisch berechneten clogP-Werte ergibt. Da es sich bei Verbindung **19** anscheinend um eine vielversprechende Liganden für den A_{2A}AR handelt, wurde auf Basis dieser Ergebnisse im Folgenden entsprechende Vorläuferverbindungen für Markierung mit n.c.a. [¹⁸F]Fluorid entwickelt.

3.2 Entwicklung von Modellverbindungen für die Radiomarkierung von Derivaten des 4-Methoxy-7-morpholin-4-yl-benzothiazol-2-ylamins **1**

Da es sich bei den zu entwickelnden Markierungsvorläufern zur ¹⁸F-Fluorierung von Derivaten des 4-Methoxy-7-morpholin-4-yl-benzothiazol-2-ylamins **1** um synthetisch aufwendige und komplexe Moleküle handelt, wurde die Möglichkeit einer nukleophilen Radiofluorierung zunächst an strukturell ähnlichen Modellverbindungen untersucht. Hierfür wurden unterschiedlich geschützte Modellvorläuferverbindungen synthetisiert. Bei der Modellverbindung handelt es sich um ein 4-Hydroxymethylpiperidin-4-ol, dessen Stickstoffatom durch eine Schutzgruppe geschützt ist. Es wurden Modellverbindungen mit *tert*-Butyloxycarbonyl(Boc)-, Benzyl- und Benzyloxycarbonyl(Cbz)-Schutzgruppen hergestellt. Für die Entwicklung der Modellvorläufer wurden zwei Strategien verfolgt. Zum einen wurde versucht, ein zyklisches Sulfat als Markierungsvorläufer herzustellen. Zum anderen wurde eine Strategie aus verschiedenen Abgangs- und Schutzgruppen verwendet.

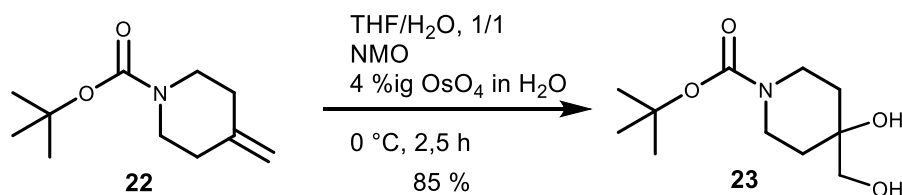
3.2.1 Synthese und Radiomarkierung *tert*-Butyloxycarbonyl-geschützter Modell-Markierungsvorläufer

Die *N*-Boc-geschützten Piperidinderivate wurden ausgehend vom *N*-Boc-Piperidon synthetisiert [151]. In einem ersten Schritt wird das *N*-Boc-Piperidon in Gegenwart von Methyltriphenylphosphoniumbromid und *n*-BuLi bei -78 °C zur entsprechenden Methylenverbindung, das *N*-Boc-4-methylenpiperidin **22**, umgesetzt (Schema 11).



Schema 11: Synthese von *N*-Boc-4-methylenpiperidin **22** [151].

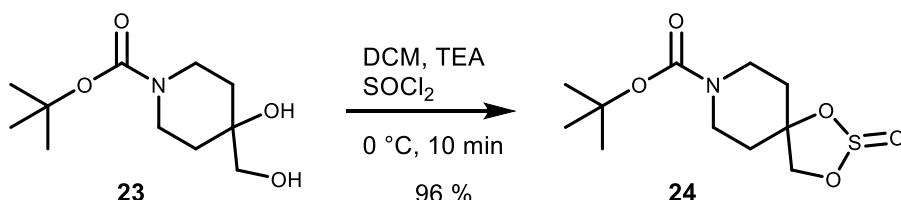
In Gegenwart von OsO₄ und *N*-Methylmorpholin-*N*-oxid (NMO) als Co-oxidans lässt sich aus Verbindung **22** das entsprechende Diol, das *N*-Boc-4-hydroxy-4-(hydroxymethyl)piperidin **23**, erhalten (Schema 12, [152]).



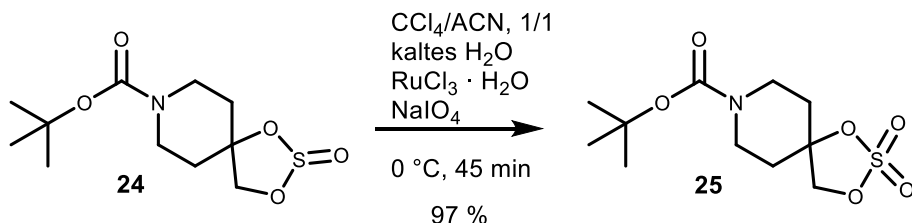
Schema 12: Synthese von *N*-Boc-4-hydroxy-4-(hydroxymethyl)piperidin **23** nach [152].

Da es sich bei zyklischen Sulfaten um selektiv zu radiofluorierende Vorläufer handelt, wurde versucht, das Diol **23** in Gegenwart von Diisopropylethylamin (DIPEA) bei 0 °C mit Thionylchlorid in Tetrahydrofuran (THF) in das zyklische Sulfit, das 1,1-Dimethylethyl-1,3-dioxa-2-thia-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat-2-oxid **24** zu überführen. Allerdings konnte das Sulfit **24** unter diesen Bedingungen nicht synthetisiert werden. Auch die direkte Weiterverarbeitung zum Sulfat, dem 1,1-Dimethylethyl-1,3-dioxa-2-thia-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat-2,2-dioxid **25**, in Gegenwart von RuCl_3 und Natriumperiodat als Co-oxidans konnte nicht beobachtet werden. Alternativ wurde versucht, das Diol **23** in Gegenwart von NaH und Sulfonyldiimidazol [153] in das gewünschte zyklische Sulfat **25** zu überführen. Aber auch hier konnte keine Reaktion beobachtet werden.

Mit der von Kim *et al.* beschriebenen Methode [154] gelang es schließlich, das zyklische Sulfit **24** (Schema 13) in Ausbeuten von 69 % zu isolieren. Im Anschluss konnte erfolgreich das zyklische Sulfat **25** (Schema 14) synthetisiert werden. Wichtig dabei war, dass das Sulfit für die Oxidation mit RuCl_3 sauber vorlag.

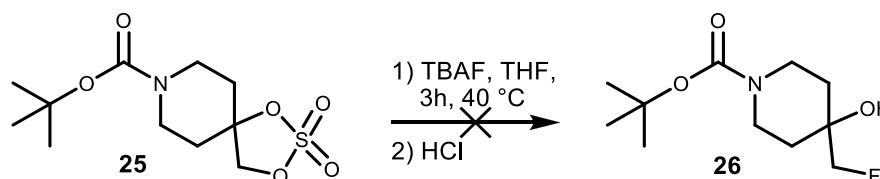


Schema 13: Synthese des zyklischen Sulfits 1,1-Dimethylethyl-1,3-dioxa-2-thia-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat-2-oxid **24** als Zwischenstufe [154].



Schema 14: Synthese des zyklischen Sulfats 1,1-Dimethylethyl-1,3-dioxa-2-thia-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat-2,2-dioxid **25** [154].

In einem weiteren Schritt sollte das zyklische Sulfat in Gegenwart von Tetrabutylammoniumfluorid (TBAF) selektiv zum *tert*-Butyl-4-(fluormethyl)-4-hydroxypiperidin-1-carboxylat **26** fluoriert werden (Schema 15).



Schema 15: Fluorierung von **25** in Gegenwart von TBAF und anschließende Hydrolyse.

Hierfür wurden Lösungsmittel, Reaktionszeit und -temperatur, die eingesetzten Äquivalente von TBAF sowie die verwendete Säure für die Hydrolyse in Schritt 2 variiert (Tabelle 4).

Tabelle 4: Variation der Reaktionsbedingungen für die Fluorierung von **25**.

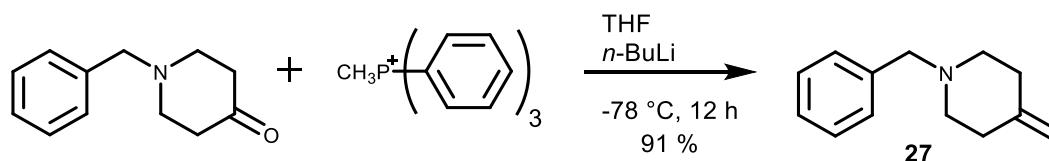
LM	25 /TBAF	t [h]	T [°C]	Säure
THF	1/1	3	40	4N HCl in Dioxan, RT, 2 h
THF	1/1	3	40	2N HCl, 10 min, 55 °C
THF	1/2	3	RT	konz. H ₂ SO ₄ , RT, 20 min
Aceton	1/2	2	RT	kat. H ₂ SO ₄ (H ₂ SO ₄ /H ₂ O, 1/10) nach [155]
Aceton	1/2	2	50	kat. H ₂ SO ₄ (H ₂ SO ₄ /H ₂ O, 1/10) nach [155]

Unter keiner der in Tabelle 4 aufgeführten Bedingung konnte jedoch eine selektive Fluorierung des zyklischen Sulfats **25** beobachtet werden.

Zur besseren analytischen Detektierbarkeit wurde die Boc-Schutzgruppe durch die UV-aktive Benzylschutzgruppe ersetzt.

3.2.2 Synthese und Radiomarkierung Benzyl-geschützter Modell-Markierungs-vorläufer

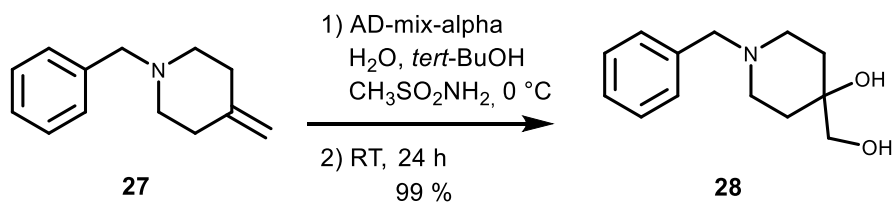
Das 1-Benzyl-4-methylenpiperidin **27** wurde analog zu Verbindung **22** aus dem *N*-Benzylpiperidon synthetisiert (Schema 16) [151].



Schema 16: Synthese von 1-Benzyl-4-methylenpiperidin **27**.

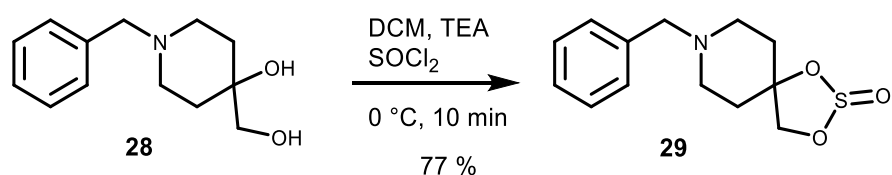
Unter Verwendung von AD-Mix- α (Mischung aus: K₂OsO₂, K₃Fe(CN)₆, K₂CO₂ und (DHQ)₂PHAL (Hydroquinin-1,4-phthalazindiyldiether) [156]; für die Verwendung von

enantioselektiver, asymmetrischer Dihydroxylierung) ließ sich das 1-Benzyl-4-hydroxymethylpiperidin-4-ol **28** herstellen [157] (Schema 17).



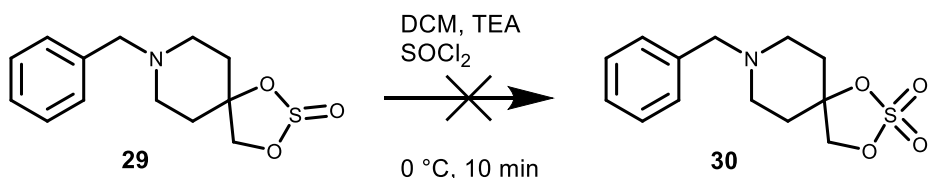
Schema 17: Synthese von 1-Benzyl-4-hydroxymethylpiperidin-4-ol **28**.

Unter den Bedingungen von Kim *et al.* [154] gelang es, das zyklische Sulfit, Benzyl-1,3-dioxa-2-thia-8-azaspiro[4.5]decan-2-oxid **29**, herzustellen (Schema 18).



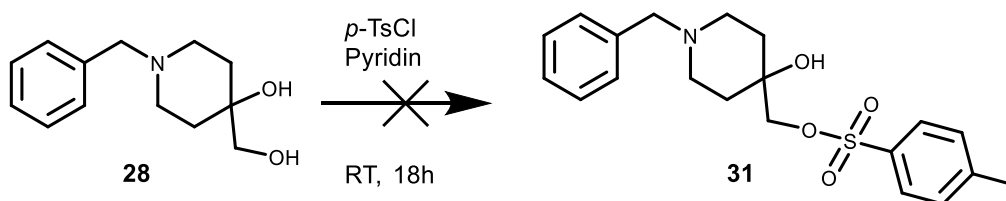
Schema 18: Synthese von Benzyl-1,3-dioxa-2-thia-8-azaspiro[4.5]decan-2-oxid **29** [154].

Allerdings schlug die Oxidation zum zyklischen Sulfat fehl (Schema 19) [154]. Auch die von Katzenellenbogen *et al.* [158] beschriebene Oxidation der zyklischen Sulfite in Gegenwart von Tetrabutylammoniumoxon (*n*-Bu₄NHSO₅) zu den entsprechenden zyklischen Sulfate führte nicht zum gewünschten Ergebnis.

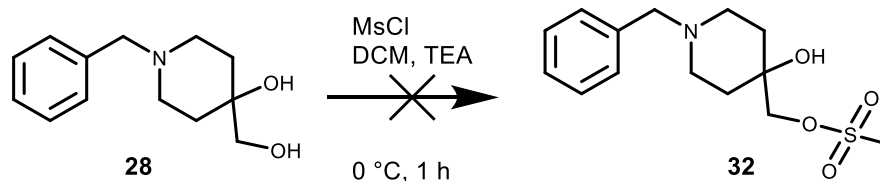


Schema 19: Versuchte Oxidation von Benzyl-1,3-dioxa-2-thia-8-azaspiro[4.5]decan-2-oxid **29** zum Sulfat **30**.

Da das zyklische Sulfat nicht zu synthetisieren war, wurde im Folgenden eine Strategie aus verschiedenen Abgangs- und Schutzgruppen verwendet. Dabei zeigte sich, dass sich bei der Umsetzung des Diols **28** mit Tosylchlorid nicht das gewünschte (1-Benzyl-4-hydroxypiperidin-4-yl)methyl-4-methylbenzolsulfonat **31** entstand (Schema 20). Auch in Gegenwart von Mesylchlorid konnte kein (1-Benzyl-4-hydroxypiperidin-4-yl)methylmethansulfonat **32** erhalten werden (Schema 21).



Schema 20: Versuch der Synthese von (1-Benzyl-4-hydroxypiperidin-4-yl)methyl-4-methylbenzolsulfonat **31** [159].



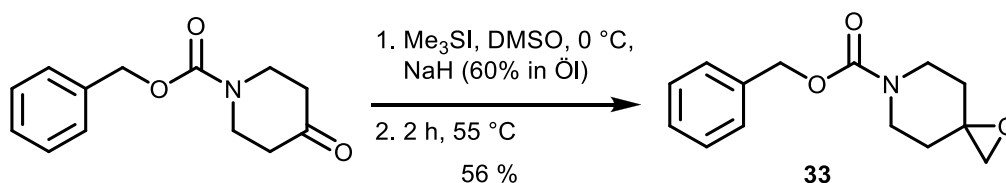
Schema 21: Versuch der Synthese von (1-Benzyl-4-hydroxypiperidin-4-yl)methylmethansulfonat **32**.

Da es sich bei den eigentlichen Vorläuferverbindungen um harnstoffähnliche Verbindungen handelt, wurde bei der weiteren Entwicklung der Modellverbindungen Cbz-geschützte Piperidinderivate verwendet.

3.2.3 Synthese und Radiomarkierung Cbz-geschützter Modell-Markierungsvorläufer

3.2.3.1 Cbz-geschütztes Epoxid als Modell-Markierungsvorläufer

Ausgehend vom Cbz-Piperidon wurde in einem ersten Syntheseschritt das Epoxid Benzyl-1-oxa-6-azaspiro[2,5]octan-6-carboxylat **33** hergestellt. Wie aus der Literatur bekannt ist, kann ein solches Epoxid bereits als Vorläufer für die Radiofluorierung verwendet werden [160].



Schema 22: Synthese der Verbindung **33** als möglicher Modellvorläufer.

¹⁸F-Markierung der Epoxid-Modellverbindung

Bei dem Versuch das hergestellte Epoxid **33** (3,6 μmol) mit n.c.a. [¹⁸F]Fluorid unter der Verwendung des Aktivatorsystems K222/CO₃, im Lösungsmittel 2-Methyl-2-butanol bei 100 °C ([160]) zu markieren, konnte keine Radiofluorierung beobachtet werden.

Um zu untersuchen, ob eine ^{18}F -Fluorierung des Epoxides prinzipiell möglich ist, und ob das Lösungsmittel einen Einfluss auf diese hat, wurden zunächst durch Experimente mit nicht-radioaktivem Fluorid in Gegenwart von TBAF untersucht. Unter der Verwendung von Tetrabutylammoniumhydrogencarbonat (TBAHCO_3) als Aktivatorsystem wurde das Epoxid **33** bei 80 °C mit TBAF in Gegenwart unterschiedlicher Lösungsmittel, wie ACN, THF, *n*-Butanol (*n*-BuOH), *t*-BuOH, 2-Methyl-2-butanol, DMSO, DMF und eine Mischung aus ACN/*n*-BuOH (50/20) umgesetzt. Mittels DC wurde nach 10 und 60 Minuten auf eine mögliche Reaktion geprüft. Bei keiner dieser Varianten konnte eine Reaktion beobachtet werden. Aus diesem Grund wurden im Folgenden Modellverbindungen mit klassischen Abgangsgruppen und Schutzgruppen synthetisiert.

3.2.3.2 Referenzverbindungen der Cbz-geschützten Modell-Markierungsvorläufer

Für die Identifikation der entstanden ^{18}F -fluorierten Produkte bei der Radiosynthese wurden für die Modellvorläuferverbindungen die entsprechend geschützten ^{19}F -Standardverbindungen Benzyl-4-(fluormethyl)-4-hydroxy-piperidin-1-carboxylat **34** und Benzyl-4-(fluormethyl)-4-(tetrahydro-2*H*-pyran-2-yloxy)piperidin-1-carboxylat **35** als Referenzen synthetisiert (Abbildung 17).

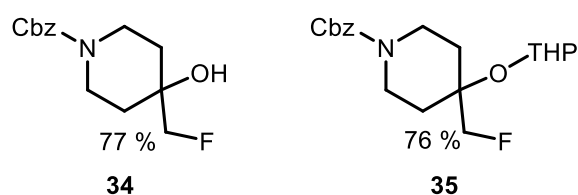
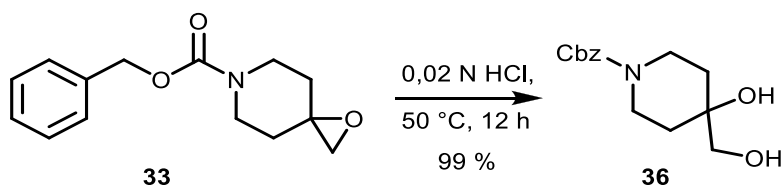


Abbildung 17: Referenzverbindungen Benzyl-4-(fluormethyl)-4-hydroxy-piperidin-1-carboxylat **34** und Benzyl-4-(fluormethyl)-4-(tetrahydro-2*H*-pyran-2-yloxy)piperidin-1-carboxylat **35** der Modellverbindung.

Das Benzyl-4-(fluormethyl)-4-hydroxy-piperidin-1-carboxylat **34** ließ sich in Gegenwart von Tetrabutylammoniumdihydrogentrifluorid aus dem Epoxid **33** herstellen [161]. Nach anschließendem Schützen mit DHP konnte das Benzyl-4-(fluormethyl)-4-(tetrahydro-2*H*-pyran-2-yloxy)piperidin-1-carboxylat **35** erhalten werden.

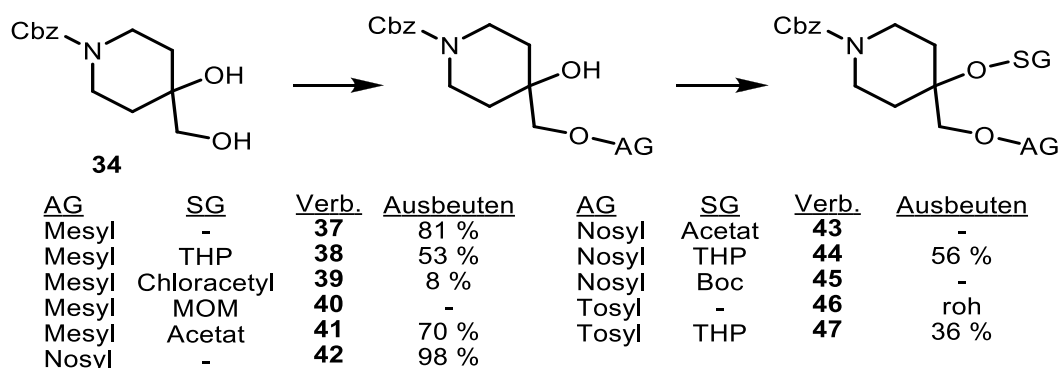
3.2.3.3 Cbz-geschützte Modell-Markierungsvorläufer mit Abgangs- und Schutzgruppe

Da sich das Epoxid **33** als Vorläuferverbindung nicht eignete, wurde dieses zunächst zum entsprechenden Benzyl-4-hydroxy-4-(hydroxymethyl)piperidin-1-carboxylat **36** hydrolysiert (Schema 23).



Schema 23: Hydrolyse des Epoxids **33** zum entsprechenden Diol **36**.

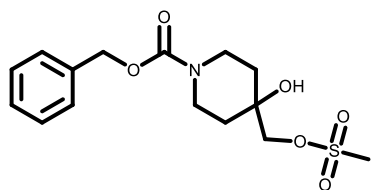
Nun war es möglich, mit klassischen Abgangsgruppen (AG) wie Mesyl-, Tosyl- oder Nosyl- zu arbeiten. Darüber hinaus konnte auch die Schutzgruppe (SG) der tertiären Hydroxylfunktion variiert werden. Als Schutzgruppen wurden Chloracetyl, Methoxymethyl (MOM), Acetat, Tetrahydropyran (THP) und Boc untersucht. Am Diol **36** wurde zunächst die Abgangsgruppe und anschließend die Schutzgruppe eingefügt (Schema 24).



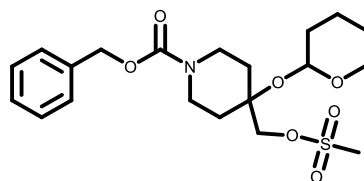
Schema 24: Strategie zur Synthese der Modellvorläuferverbindung **37** bis **47**.

In Tabelle 5 sind die Strukturen der aus dem Diol **36** synthetisierten Modellverbindungen **37** bis **47** dargestellt.

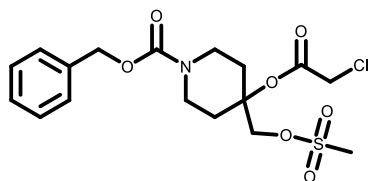
Tabelle 5: Übersicht der synthetisierten Modellverbindungen **37** bis **47** mit unterschiedlichen Abgangs- und Schutzgruppen.



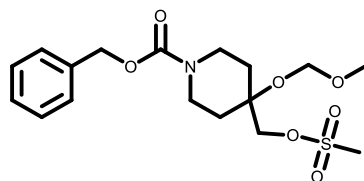
Benzyl-4-hydroxy-4-((methylsulfonyl)oxy)methylpiperidin-1-carboxylat **37**



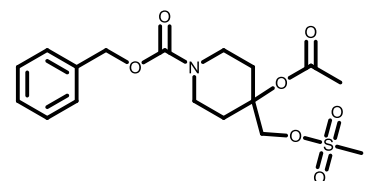
Benzyl-4-((methylsulfonyloxy)methyl)-4-(tetrahydro-2*H*-pyran-2-yloxy)piperidin-1-carboxylat **38**



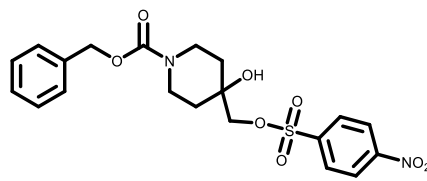
Benzyl-4-(2-chloroacetoxy)-4-((methylsulfonyloxy)methyl)piperidin-1-carboxylat **39**



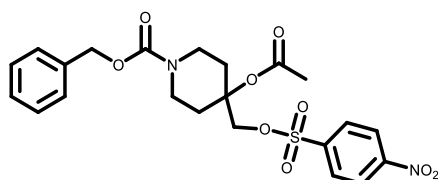
Benzyl-4-(methoxymethoxy)-4-((methylsulfonyloxy)methyl)piperidin-1-carboxylat **40**



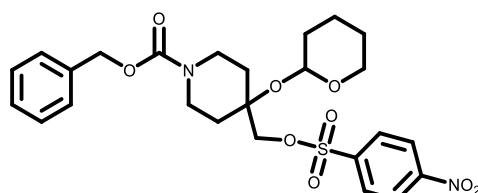
Benzyl-4-acetoxy-4-((methylsulfonyl)oxy)methylpiperidin-1-carboxylat **41**



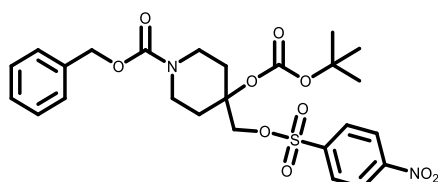
Benzyl-4-hydroxy-4-((4-nitrophenylsulfonyl)oxy)methylpiperidin-1-carboxylat **42**



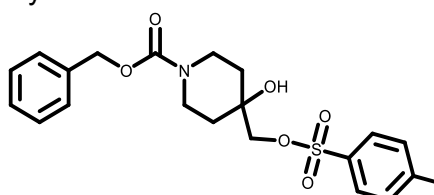
Benzyl-4-acetoxy-4-((4-nitrophenylsulfonyl)oxy)methylpiperidin-1-carboxylat **43**



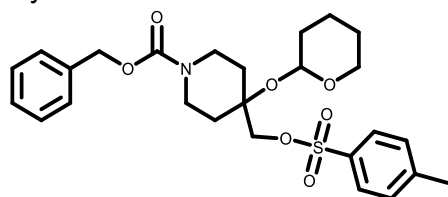
Benzyl-4-((4-nitrophenylsulfonyloxy)methyl)-4-(tetrahydro-2*H*-pyran-2-yloxy)piperidin-1-carboxylat **44**



Benzyl-4-(*tert*-butoxycarbonyloxy)-4-((4-nitrophenylsulfonyl)oxy)methylpiperidin-1-carboxylat **45**



Benzyl-4-(tetrahydro-2*H*-pyran-2-yloxy)-4-(tosyloxymethyl)piperidin-1-carboxylat **46**



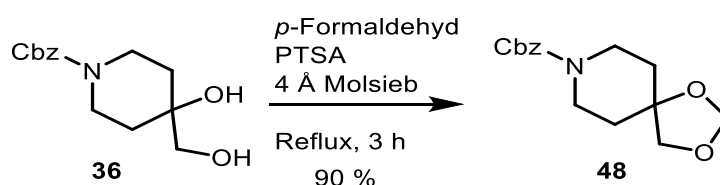
Benzyl-4-(tetrahydro-2*H*-pyran-2-yloxy)-4-(tosyloxymethyl)piperidin-1-carboxylat **47**

Ausgehend vom Alkohol **36** wurde erst die mesylierte Verbindung, das Benzyl-4-hydroxy-4-((methylsulfonyl-oxy)methyl)piperidin-1-carboxylat **37** hergestellt. Da für eine Radiofluorierung der tertiäre Alkohol geschützt werden muss, wurde **37** mit Dihydropyran (DHP) zum Benzyl-4-((methylsulfonyloxy)methyl)-4-(tetrahydro-2*H*-pyran-2-yloxy)piperidin-1-carboxylat **38** umgesetzt. Zunächst zeigte sich, dass diese Verbindung instabil ist und sich nach einiger Zeit die DHP-Gruppe wieder abspaltet. Durch die Zugabe von wenigen Tropfen DEA beim Entfernen des Lösungsmittels unter vermindertem Druck konnte die Zersetzung unterbunden werden. Alternativ wurde auch nach anderen Möglichkeiten gesucht, den tertiären Alkohol zu schützen. Durch die Verwendung unterschiedlicher Schutzgruppen der Vorläuferverbindungen, lässt sich im weiteren Vorgehen auch deren Einfluss auf die Markierung mit [¹⁸F]Fluorid untersuchen.

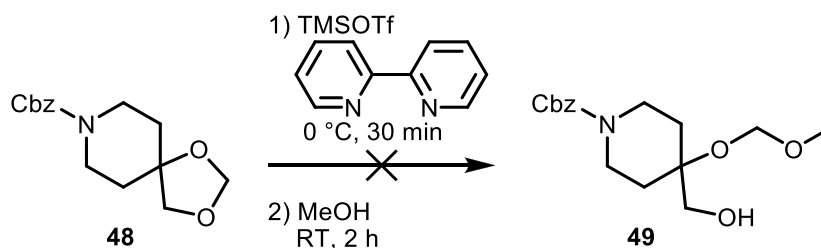
Eine potenzielle Schutzgruppe für den tertiären Alkohol stellt die Synthese der Chloracetylgeschützten Verbindung, dem Benzyl-4-(2-chloracetoxy)-4-((methylsulfonyloxy)methyl)piperidin-1-carboxylat **39**, dar. Aus diesem Grund wurde ausgehend von Verbindung **37** versucht die Verbindung **39** zu synthetisieren [162], was jedoch nicht gelang.

Alternativ fiel die Wahl auf die MOM-Schutzgruppe. Für das Einfügen der MOM-Gruppe am tertiären Alkohol wurden unterschiedliche Reaktionsstrategien verfolgt. Dazu gehörten die Scandiumtrifluormethansulfonat-katalysierte Methode [163], die ZrCl₄-katalysierte Reaktion [164] sowie die Umsetzung in Gegenwart von DIPEA und 4-*N,N*-Dimethylaminopyridin (DMAP) [165]. Jedoch gelang es nicht, die entsprechende MOM-geschützte Verbindung **40** herzustellen.

Bei all diesen Ansätzen wurde zunächst eine Abgangsgruppe am primären Alkohol eingeführt, worauf eine Schützung des tertiären Alkohols folgen sollte. Eine weitere Variante für das Einfügen einer MOM-Schutzgruppe verlief über die Bildung des Acetals Benzyl-1,3-dioxa-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat **48** [166] mit anschließender Acetalspaltung, nach [167], zum entsprechenden, am tertiären Alkohol MOM-geschützten Benzyl-4-(hydroxymethyl)-4-(methoxymethoxy)piperidin-1-carboxylat **49** (Schema 25).



Schema 25: Synthese von Benzyl-1,3-dioxa-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat **48**.



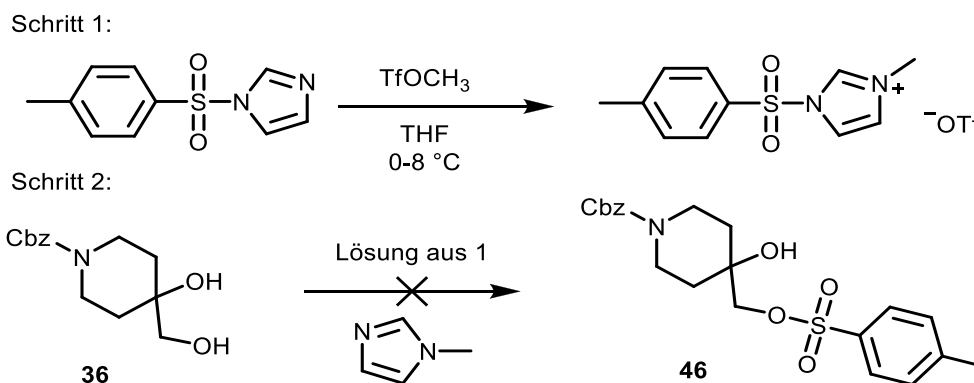
Schema 26: Synthese von Benzyl-4-(hydroxymethyl)-4-(methoxymethoxy)piperidin-1-carboxylat **49** [167].

Das Acetal **48** konnte erfolgreich dargestellt werden, die weitere Umsetzung zu Benzyl-4-(hydroxymethyl)-4-(methoxymethoxy)piperidin-1-carboxylat **49** wurde jedoch nicht beobachtet. Auch auf diesem Weg war es nicht möglich, das mesylierte und MOM-geschützte Benzyl-4-(methoxymethoxy)-4-((methylsulfonyloxy)methyl)piperidin-1-carboxylat **40** zu erhalten.

Zur Überprüfung des Einflusses der Abgangsgruppe auf die Radiomarkierungsausbeuten wurden auch diese variiert. Aus diesem Grund wurde die nosylischen Verbindung, Benzyl-4-hydroxy-4-((4-nitrophenylsulfonyloxy)methyl)piperidin-1-carboxylat **42**, hergestellt. Bei der Synthese handelt es sich um eine Kombination der von Koudith *et al.* [168], de Castro *et al.* [169] und Nájera [170] beschriebenen Reaktionsbedingungen. Nach erfolgreicher Synthese von Benzyl-4-hydroxy-4-((4-nitrophenylsulfonyloxy)methyl)piperidin-1-carboxylat **42** sollte auch hier der tertiäre Alkohol geschützt werden. THP-Schätzung ergab das Benzyl-4-((4-nitrophenylsulfonyloxy)methyl)-4-(tetrahydro-2H-pyran-2-yloxy)piperidin-1-carboxylat **44**. Um die potenzielle saure Entschätzung wie bei Verbindung **38** zu vermeiden, wurde auch hier DEA beim Konzentrieren zugesetzt. Die alternative Überführung der tertiären Hydroxyfunktion in einen Acetylesther in Gegenwart von InCl_3 [171] gelang ebenfalls nicht, weshalb das Benzyl-4-acetoxy-4-((4-nitrophenylsulfonyloxy)methyl)piperidin-1-carboxylat **43** nicht hergestellt werden konnte.

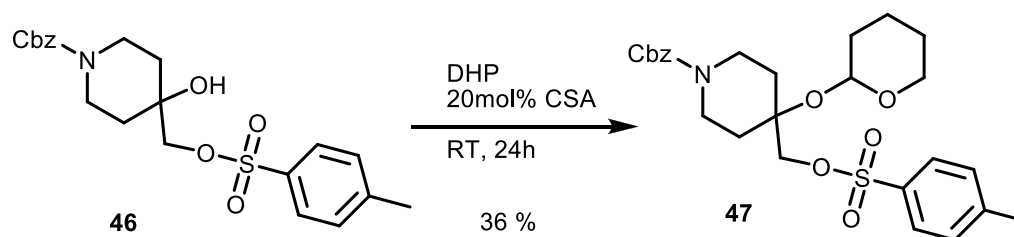
Die Umsetzung des tertiären Alkohols **38** mit einer Boc-Gruppe zum Benzyl-4-(*tert*-butoxycarbonyloxy)-4-((4-nitrophenylsulfonyloxy)methyl)piperidin-1-carboxylat **45** gelang ebenfalls nicht.

Neben der Mesylat- und Nosylat-Abgangsgruppe wurde als drittes auch die tosylierte Verbindung, das Benzyl-4-(tetrahydro-2H-pyran-2-yloxy)-4-(tosyloxymethyl)piperidin-1-carboxylat **46** synthetisiert und untersucht. In einer zweistufigen Synthese sollte das Diol **36** in die tosylierte ungeschützte Verbindung **46** überführt werden [172] (Schema 27).



Schema 27: Tosylierung des Cbz geschützten Diols **36**.

Das tosylierte Produkt **46** konnte nicht isoliert werden. Das Rohprodukt **46** wurde ohne Isolierung mit DHP weiter umgesetzt. Nach Reinigung konnte das THP-geschützte Benzyl-4-(tetrahydro-2*H*-pyran-2-yloxy)-4-(tosyloxymethyl)piperidin-1-carboxylat **47** mit 36 % Ausbeute isoliert werden (Schema 28).



Schema 28: Synthese von Benzyl-4-(tetrahydro-2*H*-pyran-2-yloxy)-4-(tosyloxymethyl)piperidin-1-carboxylat **47**.

¹⁸F-Markierung unter der Verwendung der Modellvorläuferverbindung **38**, **39**, **41**, **44** und **47**

Unter Verwendung der Vorläuferverbindungen **38**, **39**, **41**, **44** und **47** wurden ¹⁸F-Markierungsexperimente durchgeführt. Dabei wurden unter anderem die Parameter Temperatur, Vorläufermenge, Lösungsmittel und Reaktionszeit im Hinblick auf die zu erzielenden radiochemischen Ausbeuten untersucht. Die Tabelle 6 zeigt die Variation der durchgeführten Reaktionen und gibt Auskunft über die jeweiligen radiochemischen Ausbeuten, die über Radio-DC bestimmt wurden.

Tabelle 6: Übersicht der durchgeführten Radiomarkierungen mit den Cbz-geschützten Modellverbindungen **38**, **39**, **41**, **44** und **47**.

Verb.	LM*	Aktivatorsystem	c [μ mol]	Temp [$^{\circ}$ C]	t [min]	RCA DC [%]	n
38	DMSO	K222/K ₂ CO ₃	3,6	60	15	0	1
38	DMSO	K222/K ₂ CO ₃	3,6	100	15	9	1
38	DMSO	K222/K ₂ CO ₃	3,6	120	15	15	1
38	DMSO	K222/K ₂ CO ₃	3,6	140	15	23 $\pm$ 3	5
38	DMSO	K222/K ₂ CO ₃	3,6	160	15	19 $\pm$ 3	3
38	DMSO	K222/K ₂ CO ₃	7,2	140	15	18	1
38	2-Me-2-BuOH	K222/K ₂ CO ₃	3,6	60	30	0	1
38	2-Me-2-BuOH	K222/K ₂ CO ₃	3,6	100	30	0	1
38	2-Me-2-BuOH	K222/K ₂ CO ₃	3,6	120	30	7	1
38	DMF	K222/K ₂ CO ₃	3,6	120	30	1	1
39	DMSO	K222/K ₂ CO ₃	3,6	100	30	0	1
39	DMSO	K222/K ₂ CO ₃	3,6	140	10	12	1
41	DMSO	K222/K ₂ CO ₃	3,6	100	30	2	1
41	DMSO	K222/K ₂ CO ₃	3,6	140	20	5	1
44	DMSO	K222/K ₂ CO ₃	3,6	100	5	15 $\pm$ 1	3
44	DMSO	K222/K ₂ CO ₃	3,6	120	5	22 $\pm$ 3	3
44	DMSO	K222/K ₂ CO ₃	3,6	140	5	17 $\pm$ 1	3
44	ACN	K222/K ₂ CO ₃	3,6	100	5	4	1
47	DMSO	K222/K ₂ CO ₃	3,6	100	15	12 $\pm$ 4	2
47	DMSO	K222/K ₂ CO ₃	3,6	140	15	17 $\pm$ 1	3

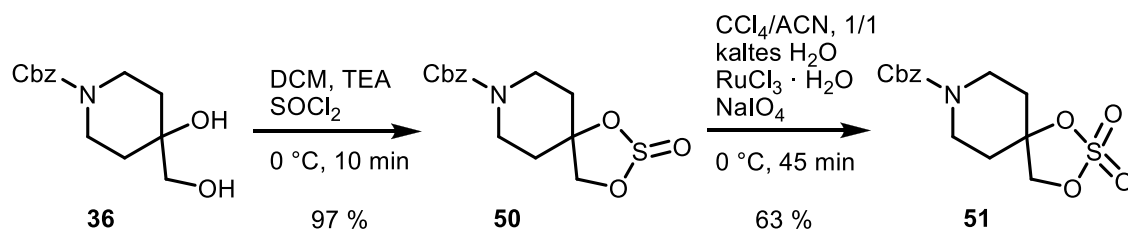
Bei den in der Tabelle angegebenen Zeiten handelt es sich um die Zeiten, bei denen die höchste radiochemische Ausbeute gemessen wurde. Nach dem Erreichen eines Maximums, gingen die RCA wieder zurück oder stagnierten. Zunächst wurden umfangreiche Radiomarkierungen mit dem Benzyl-4-((methylsulfonyloxy)methyl)-4-(tetrahydro-2H-pyran-2-yloxy)piperidin-1-carboxylat **38** durchgeführt. Es zeigte sich, dass mit einer Vorläufermenge von 3,6 μ mol, gelöst in 250 μ L DMSO in Gegenwart des Aktivators K222/K₂CO₃ bei einer Reaktionstemperatur von 140 $^{\circ}$ C, Reaktionszeit von 15 min RCA von 23 $\pm$ 3 % erhalten werden konnten. Variationen in Lösungsmittel, Temperatur und Vorläuferkonzentration führten zu einer Verminderung der Ausbeute. Unter gleichen Bedingungen wie für **38** konnten mit dem Benzyl-4-(tetrahydro-2H-pyran-2-yloxy)-4-(tosyloxymethyl)piperidin-1-carboxylat **47** radiochemische Ausbeuten von 17 $\pm$ 1 % erzielt werden. Mit dem Benzyl-4-((4-nitrophenylsulfonyloxy)methyl)-4-(tetrahydro-2H-pyran-2-yloxy)piperidin-1-carboxylat **44** ließen sich bereits nach 5 Minute RCAs von 17 $\pm$ 1 % erhalten. Hierbei zeigte eine Verringerung der Temperatur auf 120 $^{\circ}$ C eine Steigerung der RCA auf 22 $\pm$ 3 %. Die Verbindungen Benzyl-4-(2-chloracetoxy)-4-((methylsulfonyloxy)methyl)-piperidin-1-carboxylat **39** und Benzyl-4-acetoxy-

4-((4-nitrophenylsulfonyloxy)methyl)piperidin-1-carboxylat **43** lieferten nur geringe radiochemische Ausbeuten. Da in vielen Fällen die Ausbeute bis auf 0 % sank, wurde auf eine wiederholte Durchführung des Versuches verzichtet.

Bei der Radiofluorierung der verschiedenen Modellverbindungen lieferte die Kombination aus THP (SG) und der jeweiligen Abgangsgruppe Mesylat, Nosylat oder Tosylat mit RCA > 20 % gute Ergebnisse. Aus diesem Grund wurden im späteren Verlauf die entsprechenden Vorläuferverbindungen auf Aminobenzothiazolbasis hergestellt. Aus diesen Ergebnissen lassen sich vorläufige ideale Bedingungen für die Radiofluorierung auf 3,6 µmol Vorläufer in 250 µL DMSO mit dem Aktivatorsystem K222/CO₃ bei einer Reaktionstemperatur von 120 °C bzw. 140 °C für 5-15 min Reaktionszeit festlegen.

3.2.3.4 Cbz-geschützte Modell-Markierungsvorläufer auf Basis eines zyklischen Sulfats

Auch für die Cbz-geschützte Modell-Markierungsvorläufer wurde das zyklische Sulfat hergestellt [154]. Ausgehend vom Diol **36** wurde zunächst das Sulfit Benzyl-1,3-dioxa-2-thia-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat-2-oxid **50** synthetisiert, welches im Anschluss zum Sulfat Benzyl-1,3-dioxa-2-thia-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat-2,2-dioxid **51** oxidiert wurde (Schema 29).



Schema 29: Synthese des Cbz geschützten zyklischen Sulfats Benzyl-1,3-dioxa-2-thia-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat-2,2-dioxid **51** über die Zwischenstufe des zyklischen Sulfits Benzyl-1,3-dioxa-2-thia-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat-2-oxid **50**.

Die ¹⁸F-Markierung von 3,6 µmol des Cbz-geschützten, zyklischen Sulfats unter der Verwendung von TBAHCO₃ als Aktivator im Lösungsmittel DMSO wurde bei den Temperaturen 100, 120 und 140 °C durchgeführt. Es konnte jedoch kein Radiofluorierungsprodukt nachgewiesen werden.

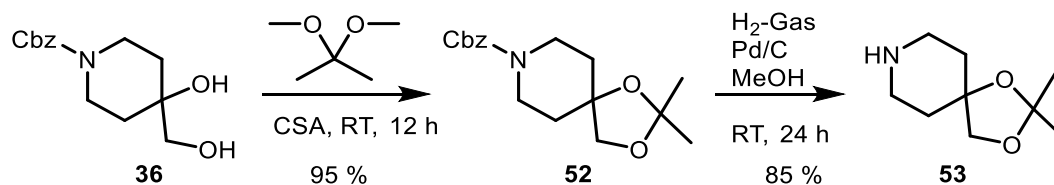
3.3 Synthese und Radiomarkierung der Markierungsvorläufer auf Aminobenzothiazol-Basis

Ausgehend von den Markierungsergebnissen für die Modellverbindung wurden entsprechende Vorläuferverbindungen auf Aminobenzothiazolbasis hergestellt. Hierfür wurde

das Phenylcarbamat **7** mit der zuvor hergestellten Piperidinkomponente, das 2,2-Dimethyl-1,3-dioxa-8-aza-spiro[4.5]decan **53** zur Reaktion gebracht und anschließend funktionalisiert.

3.3.1 Synthese von 2,2-Dimethyl-1,3-dioxa-8-azaspiro[4.5]decan **53**

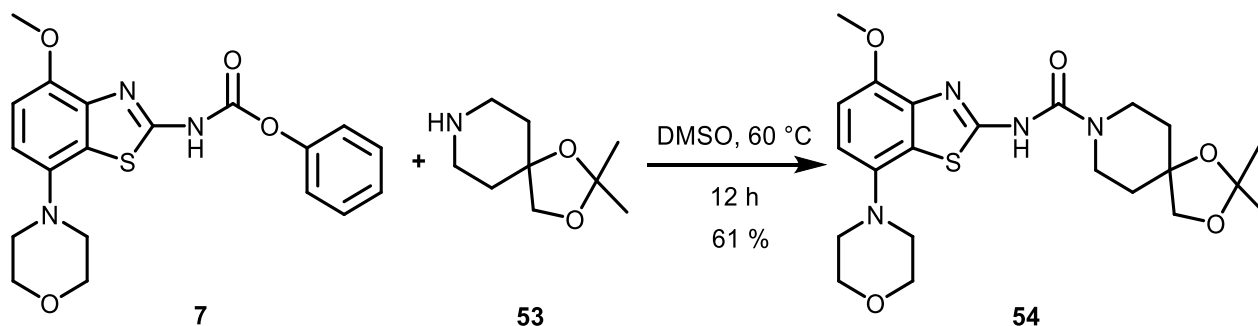
Die für die Reaktion notwendige 2,2-Dimethyl-1,3-dioxa-8-azaspiro[4.5]decan **53** lässt sich aus dem bereits synthetisierten Diol **36** der Modellverbindung herstellen. Dieses wurde zunächst in Gegenwart von Camphersulfonsäure (CSA) in 2,2-Dimethylpropan als Benzyl-2,2-dimethyl-1,3-dioxa-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat **52** geschützt, woraufhin die Cbz-SG durch Hydrogenierung entfernt wurde, um das 2,2-Dimethyl-1,3-dioxa-8-azaspiro[4.5]decan **53** zu erhalten (Schema 30).



Schema 30: Synthese der Piperidinkomponente, 2,2-Dimethyl-1,3-dioxa-8-azaspiro[4.5]decan **53** mit vorangehender Synthese des Acetals, Benzyl-2,2-dimethyl-1,3-dioxa-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat **52**.

3.3.2 Synthese von *N*-(4-Methoxy-7-morpholino-benzo-thiazol-2-yl)-2,2-dimethyl-1,3-dioxa-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxamid **54**

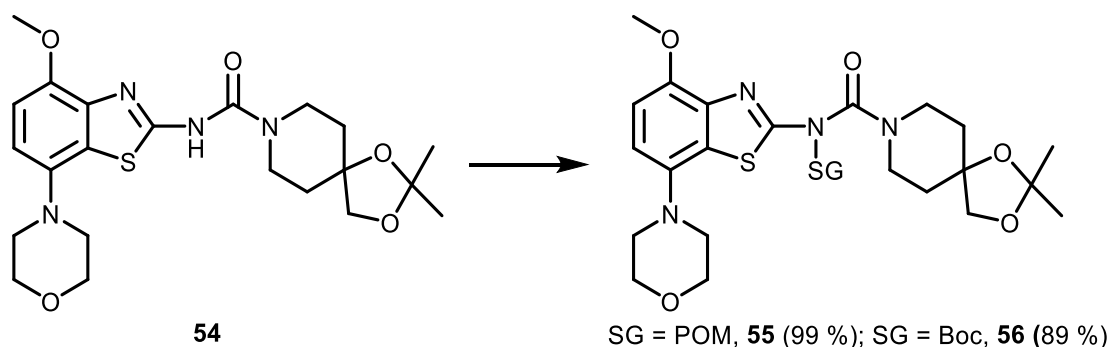
Für die Synthese des grundlegenden Vorläufermoleküls wurde das Phenylcarbamat **7** mit der zuvor hergestellten Piperidinkomponente **53** umgesetzt, wodurch das *N*-(4-Methoxy-7-morpholino-benzo-thiazol-2-yl)-2,2-dimethyl-1,3-dioxa-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxamid **54** erhalten wurde (Schema 31).



Schema 31: Synthese der acetalgeschützten *N*-(4-Methoxy-7-morpholino-benzo-thiazol-2-yl)-2,2-dimethyl-1,3-dioxa-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxamid **54**.

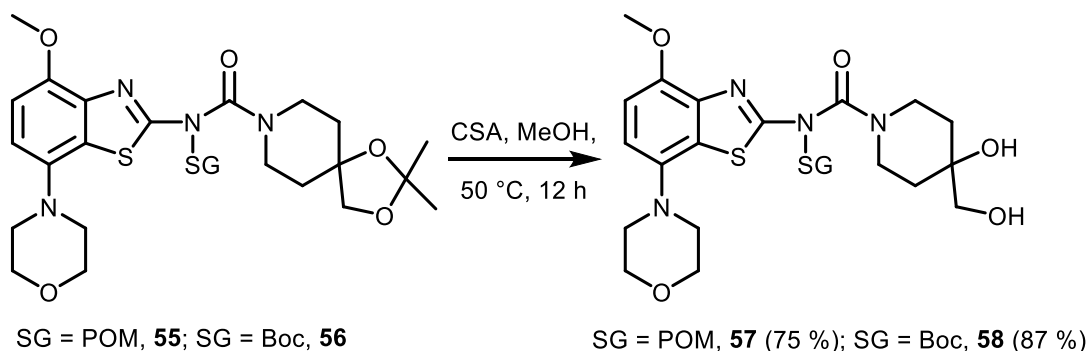
Um das bei der Markierung mit [¹⁸F]Fluorid potenziell störende Proton am amidischen Stickstoff zu schützen, wurde sowohl eine Pivaloyloximethyl- (POM) als auch eine Boc-

Schutzgruppe eingefügt. Die Verbindungen (*N*-(4-Methoxy-7-morpholinobenzo-thiazol-2-yl)-2,2-dimethyl-1,3-dioxa-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxamido)methylpivalat **55** und *tert*-Butyl-(2,2-dimethyl-1,3-dioxa-8-azaspiro[4.5]decane-8-carbonyl)(4-methoxy-7-morpholino-benzo-thiazol-2-yl)carbamate **56** konnten mit Ausbeuten von 99 % und 89% synthetisiert werden (Schema 32).



Schema 32: Synthese von (*N*-(4-Methoxy-7-morpholinobenzo-thiazol-2-yl)-2,2-dimethyl-1,3-dioxa-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxamido)methylpivalat **55** und *tert*-Butyl(2,2-dimethyl-1,3-dioxa-8-azaspiro[4.5]decane-8-carbonyl)(4-methoxy-7-morpholinobenzo-thiazol-2-yl)carbamate **56**.

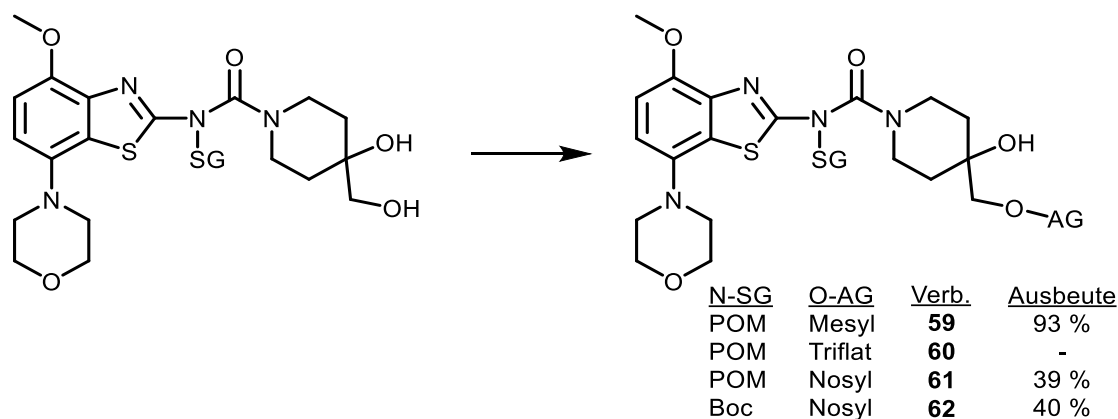
Anschließend erfolgte die Acetalspaltung zum entsprechenden Diolen 4-Hydroxy-4-(hydroxymethyl)-*N*-(4-methoxy-7-morpholinobenzo[*d*]thiazol-2-yl)-*N*-pivaloyloxymethylpiperidin-1-carboxamid **57** und *tert*-Butyl(4-hydroxy-4-(hydroxymethyl)piperidin-1-carbonyl)-(4-methoxy-7-morpholinobenzo-thiazol-2-yl)carbamate **58** (Schema 33). Analog zur Modellverbindung konnten diese nun mit den entsprechenden AG und SG funktionalisiert werden.



Schema 33: Acetalspaltung zu den jeweiligen amidisch geschützten Diolen 4-Hydroxy-4-(hydroxymethyl)-*N*-(4-methoxy-7-morpholinobenzo[*d*]thiazol-2-yl)-*N*-pivaloyloxymethylpiperidin-1-carboxamid **57** und *tert*-Butyl(4-hydroxy-4-(hydroxymethyl)piperidin-1-carbonyl)-(4-methoxy-7-morpholinobenzo-thiazol-2-yl)carbamate **58**.

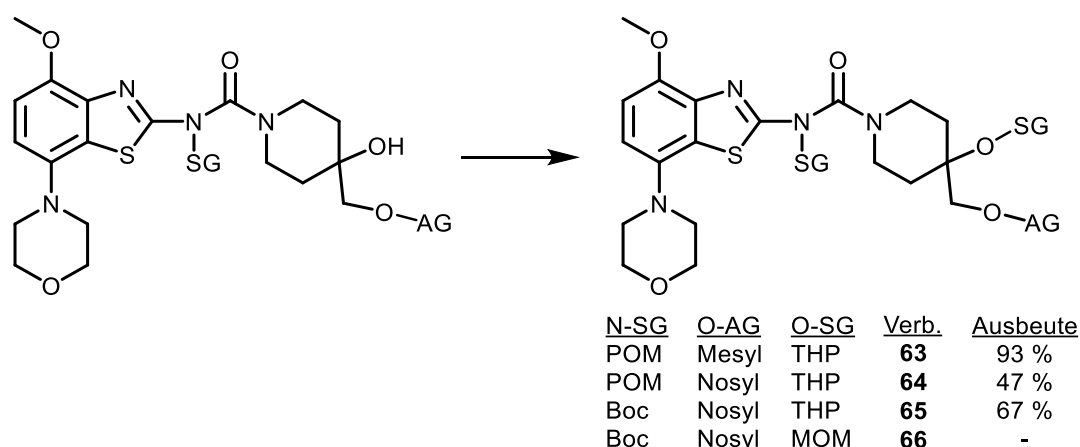
Ausgehend von den Ergebnissen der Modellverbindung wurde die Mesylatverbindung (4-Hydroxy-*N*-(4-methoxy-7-morpholinobenzo-thiazol-2-yl)-4-((methylsulfonyloxy)methyl)-piperidine-1-carboxamido)methylpivalat **59** und die Nosylatverbindungen (4-Hydroxy-*N*-(4-methoxy-7-morpholinobenzo-thiazol-2-yl)-4-((4-nitrophenylsulfonyloxy)methyl)piperidin-1-carboxamido)methylpivalat **61** und (1-(*tert*-Butoxycarbonyl(4-methoxy-7-morpholinobenzo-thiazol-2-

yl)carbamoyl)-4-hydroxypiperidin-4-yl)methyl-4-nitrobenzolsulfonat **62** hergestellt. Das Triflat konnte leider nicht als Abgangsgruppe eingefügt werden, weshalb das (4-Hydroxy-*N*-(4-methoxy-7-morpholinobenzothiazol-2-yl)-4-((trifluormethylsulfonyloxy)methyl)piperidin-1-carboxamido)methylpivalat **60** nicht erhalten wurde (Schema 34). Nach dem Einfügen der Abgangsgruppe erfolgte die Schützung der tertiären Hydroxyfunktion durch DHP.



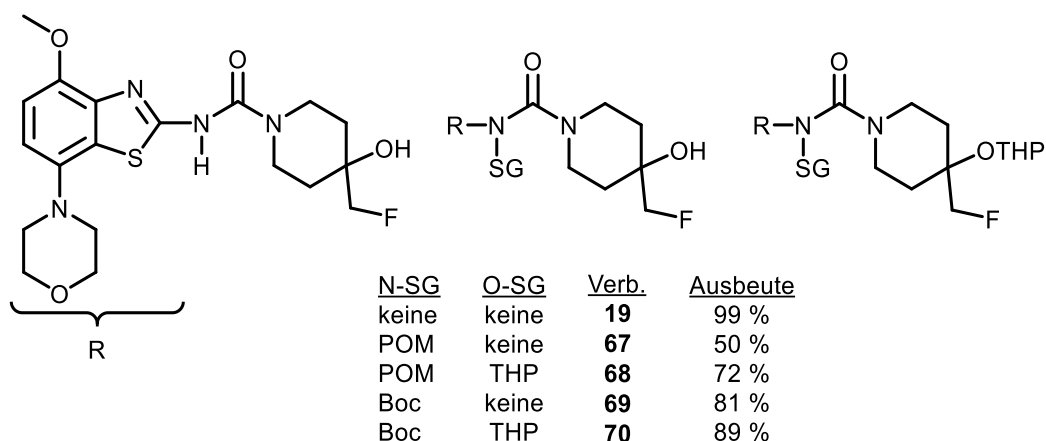
Schema 34: Übersicht der möglichen Abgangsgruppen der Vorläuferverbindungen ausgehend vom amidisch geschützten Diol.

Im Fall der Boc-geschützten Verbindungen **58** wurde auch versucht, diese zusätzlich mit einer MOM-Schutzgruppe zu versehen. Doch konnte das MOM geschützte (1-(*tert*-Butoxycarbonyl(4-methoxy-7-morpholinobenzothiazol-2-yl)carbamoyl)-4-(methoxy-methoxy)-piperidin-4-yl)methyl-4-methylbenzolsulfonat **66** nicht hergestellt werden. Die THP geschützten Vorläuferverbindungen (*N*-(4-methoxy-7-morpholinobenzothiazol-2-yl)-4-((methylsulfonyloxy)methyl)-4-(tetrahydro-2*H*-pyran-2-yloxy)piperidin-1-carboxamido)-methylpivalat **63**, (*N*-(4-Methoxy-7-morpholinobenzothiazol-2-yl)-4-((4-nitrophenylsulfonyl-oxy)-methyl)-4-(tetrahydro-2*H*-pyran-2-yloxy)piperidin-1-carboxamido)methylpivalat **64** und (1-(*tert*-Butoxycarbonyl(4-methoxy-7-morpholinobenzothiazol-2-yl)carbamoyl)-4-(tetrahydro-2*H*-pyran-2-yloxy)piperidin-4-yl)methyl-4-methylbenzolsulfonat **65** konnten mit Ausbeuten von 93 %, 47 % und 67 % erfolgreich synthetisiert werden (Schema 35).



Schema 35: Übersicht der potenziellen Schutzgruppen an der tertiären Hydroxyfunktion.

Neben der Synthese der Vorläuferverbindungen wurden auch hier wieder die notwendigen Referenzverbindungen, (4-(Fluormethyl)-4-hydroxy-*N*-(4-methoxy-7-morpholinobenzothiazol-2-yl)piperidin-1-carboxamido)methylpivalat **67**, (4-(Fluormethyl)-*N*-(4-methoxy-7-morpholino-benzothiazol-2-yl)-4-(tetrahydro-2*H*-pyran-2-yloxy)piperidin-1-carboxamido)methylpivalat **68**, *tert*-Butyl-(4-(fluormethyl)-4-hydroxypiperidin-1-carbonyl)(4-methoxy-7-morpholino-benzo[*d*]-thiazol-2-yl)carbamate **69** und *tert*-Butyl(4-(fluormethyl)-4-(tetrahydro-2*H*-pyran-2-yloxy)-piperidin-1-carbonyl)(4-methoxy-7-morpholinobenzo[*d*]thiazol-2-yl)carbamate **70** hergestellt (siehe Schema 36).



Schema 36: Übersicht der Referenzverbindungen **19**, **67**, **68**, **69** und **70** mit Ausbeuten.

3.3.3 ^{18}F -Markierung unter Verwendung der Vorläuferverbindungen **63**, **64** und **65**

Erste Markierungsversuche wurden mit dem Nosylat-Vorläufer **64** durchgeführt. Hierfür wurden zunächst die herausgefundenen Markierungsbedingungen (3,6 μmol , Aktivator K222/ K_2CO_3 , LM: DMSO $T = 120 - 140\text{ }^\circ\text{C}$) für die entsprechende Modellverbindung **44** aus Tabelle 6 angewandt. Dabei wurde die Reaktion über einen Zeitraum von 30 min auf die Entstehung des Markierungsproduktes [^{18}F]**19** hin untersucht. Bereits nach 5 Minuten konnten RCAs (DC) von 10 % erhalten werden. Danach zeigte sich, dass sich das gebildete Produkt [^{18}F]**68** zersetzt. Aus diesem Grund wurden weitere Radiomarkierungen zunächst bei einer Temperatur von $100\text{ }^\circ\text{C}$ durchgeführt. Unter diesen Bedingungen konnten RCAs (DC) von $> 50\text{ %}$ nach bereits 5 Minuten erhalten werden. Eine längere Reaktionszeit führte nicht zu höheren Ausbeuten. Durch entsprechende nachträglich radioaktiv versetzte UV-aktive Referenzen konnten die Produkte [^{18}F]**68**, [^{18}F]**67** und [^{18}F]**19**, mittels Radio-DC identifiziert werden.

Um Informationen über die optimalen Bedingungen zu erhalten, wurden jeweils nacheinander die Parameter Temperatur, Vorläufermenge, Aktivatorsystem und Lösungsmittel verändert (Tabelle 7). Es zeigte sich für Verbindung **64**, dass $100\text{ }^\circ\text{C}$, 3,6 μmol Vorläufer, in 250 μL

DMSO unter Verwendung von K222/K₂CO₃ als Aktivator die optimalen Bedingungen für die Radiofluorierung mit RCAs (DC) > 50 % waren.

Unter diesen Bedingungen wurden auch Mesyl-Vorläuferverbindung **63** markiert. Dabei konnten allerdings nur RCAs von < 4 % nach 10 min beobachtet werden. Durch die Veränderung der Temperatur sowie des Anionenaktivators ließen sich nur RCAs von < 10 % erhalten (Tabelle 7). Da diese Ausbeuten im Vergleich zur denen mit Verbindung **64** deutlich niedriger waren, wurde auf eine Wiederholung der Versuchsdurchführung verzichtet.

Tabelle 7: Übersicht der durchgeführten Markierungsreaktionen für die Verbindungen **63**, **64** (n ≥ 3 für **64**) ; * LM: 250 µL; K222 = 12 µmol, K₂CO₃ = 6 µmol; **Tetrabutylammoniumhydroxid (TBAH).

Verb.	LM*	Aktivatorsystem	c [µmol]	Temp [°C]	t [min]	RCA DC [%]
63	DMSO	K222/K ₂ CO ₃	3,6	100/140/160	10	< 4
63	DMSO	TBAH** (15 u. 5 µmol)	3,6	100	10	< 6
64	DMSO	K222/K ₂ CO ₃	3,6	80	5	42±5
64	DMSO	K222/K ₂ CO ₃	0,9	100	5	29±2
64	DMSO	K222/K ₂ CO ₃	1,8	100	5	46±2
64	DMSO	K222/K ₂ CO ₃	2,7	100	5	46±2
64	DMSO	K222/K ₂ CO ₃	3,6	100	5	52±4
64	DMSO	K222/K ₂ CO ₃	5,8	100	5	56
64	DMSO	K222/K ₂ CO ₃	7,2	100	5	45±4
64	DMSO	K222/K ₂ CO ₃	3,6	120	5	41±3
64	DMSO	K222/K ₂ CO ₃	3,6	140	5	10
64	DMSO	TBAH (15,4 µmol)	3,6	100	5	26
64	DMSO	TBAH (5 µmol)	3,6	100	5	16±16
64	DMSO	TBAH (2,5 µmol)	3,6	100	30	0
64	<i>t</i> -BuOH/ACN 4/1	TBAH (5 µmol)	3,6	100	30	0

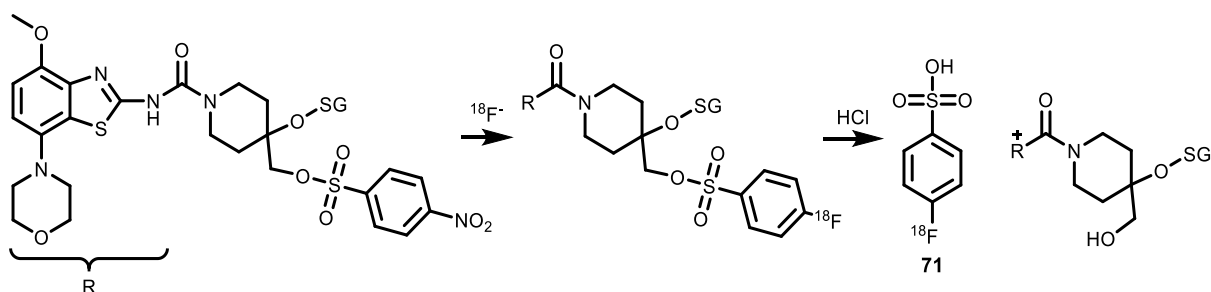
Somit ergaben sich die folgenden optimalen Markierungsbedingungen für den nosylichen Vorläufers **64**: 3,6 µmol Vorläufer **64** in 250 µL DMSO, Anionenaktivatorsystem K222/CO₃, 100 °C und 5 min Reaktionszeit. Unter diesen Bedingungen waren RCAs von > 50 % möglich. Im Anschluss an die ¹⁸F-Markierung folgte die Entfernung der Schutzgruppen. Die entstandenen Produkte [¹⁸F]**68**, [¹⁸F]**67** und [¹⁸F]**19** konnten mittels Radio-DC identifiziert werden.

Überschüssiges [^{18}F]Fluorid ließ sich durch Festphasenextraktion entfernen, bevor die weitere Reinigung des Produkts durch Radio-HPLC erfolgte.

Während der Durchführung der Radio-HPLC zeigte sich, dass die Hauptaktivität direkt mit dem Injektionspeak eluiert wurde. Der zu erwartende Peak, welcher der nicht-radioaktiven Referenz **19** entspricht, fehlte gänzlich.

Auch die Verwendung des Mesylat-Vorläufers **63** für die ^{18}F -Markierung führte zu den gleichen Ergebnissen. Da möglicherweise die Schutzgruppe am amidischen Stickstoff einen Einfluss auf die Radiofluorierung besitzt, wurde auch die Boc-geschützte Verbindungen **65** für Radiomarkierung verwendet. Nach der Entwicklung einer geeigneten Entschützungs-methode und Festphasenextraktion wurde versucht das Produkt [^{18}F]**19** via Radio-HPLC zu identifizieren. Allerdings zeigte sich auch hier wie zuvor, dass die Hauptradioaktivität bereits mit der Lösungsmittelfront eluiert wurde und nicht nach der zu erwartenden Elutionszeit der Referenzverbindung **19**.

Aus der Literatur ist bekannt [173], dass die Nitrofunktion der Nosylat-Abgangsgruppe bereits selbst als solche reagieren kann. Durch den sauren Aufarbeitungsschritt bei der Entschützung ist es möglich, dass das 4- ^{18}F -Fluorbenzolsulfonsäure [^{18}F]**71** abgespalten wird (siehe Schema 37). Diese Verbindung ist sehr lipophil, und könnte eine Ursache für das beobachtete Phänomen sein. Die mögliche Nebenreaktion ist in Schema 37 dargestellt.

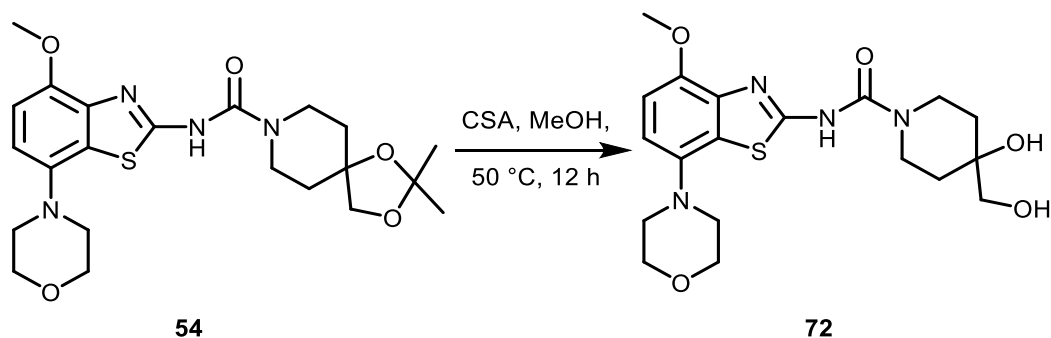


Schema 37: Bildung von 4- ^{18}F -Fluorbenzolsulfonsäure **71** als mögliche Nebenreaktion bei der Radiofluorierung.

Zur Überprüfung dieser Theorie wurde Nosylchlorid unter den Radiomarkierungsbedingungen umgesetzt. Es zeigte sich, dass keine ^{18}F -Markierungsreaktion stattfand, weshalb auch diese Annahme ausgeschlossen wurde.

Um weitere Informationen über das unbekannte Produkt zu erhalten, wurde die Markierungsreaktion in Gegenwart von KF geträgert durchgeführt. Der Produktpeak aus der HPLC-Reinigung wurde isoliert, eingengt und massenspektrometrisch untersucht. Die signifikant erhaltenen Signale lagen bei 581,11 (100 %), 519,21 (80 %) und 423,40 (65 %). Diese konnten keinem Produkt (**19**+ H^+ = 425,49) oder Fragment zugeordnet werden.

In einem Blindversuch wurde Verbindung **19** hinsichtlich der Stabilität während der Radiomarkierung untersucht. Es zeigte sich, dass das Produkt unter den gegebenen Reaktionsbedingungen stabil ist. Für die weitere Zuordnung der UV-Signale der HPLC wurde das 4-Hydroxy-4-(hydroxymethyl)-*N*-(4-methoxy-7-morpholinobenzo[*d*]thiazol-2-yl)piperidin-1-carboxamid **72** hergestellt.



Schema 38: Synthese von 4-Hydroxy-4-(hydroxymethyl)-*N*-(4-methoxy-7-morpholinobenzo[*d*]thiazol-2-yl)piperidin-1-carboxamid **72**.

Dabei konnte kein entsprechendes UV-Signal bei der entsprechenden Retentionszeit von Verbindung **72** gefunden werden.

Eine mögliche Erklärung ist, dass bereits zu Reaktionsbeginn eine thermische Abspaltung der THP-Gruppe stattfand. Dies konnte unter Verwendung der noch nicht am tertiären Kohlenstoff geschützten Verbindung **61** überprüft werden. Dabei stellte sich heraus, dass sich die ungeschützte Verbindung genauso wie die Geschützte verhielt. Weitere Untersuchungen mit den nicht-radioaktiven Referenzen zeigten bereits eine thermische Zersetzung nach 10 Sekunden bei 100 °C. Eine Vermutung bezüglich des entstehenden Produktes sind die in Abbildung 18 gezeigte Eliminierungsprodukte Pivaloyloxymethyl-(4-([¹⁸F]fluormethyl)-*N*-(4-methoxy-7-morpholinobenzo[*d*]thiazol-2-yl)-1,2,3,6-tetrahydropyridine-1-carboxamid) **73** und *tert*-Butyl(4-([¹⁸F]fluormethyl)-1,2,3,6-tetrahydropyridin)-1-carbonyl(4-methoxy-7-morpholinobenzo[*d*]thiazol-2-yl)carbamate **74**.

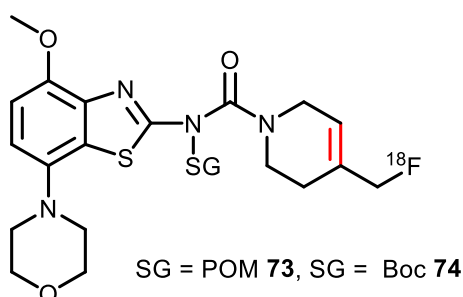


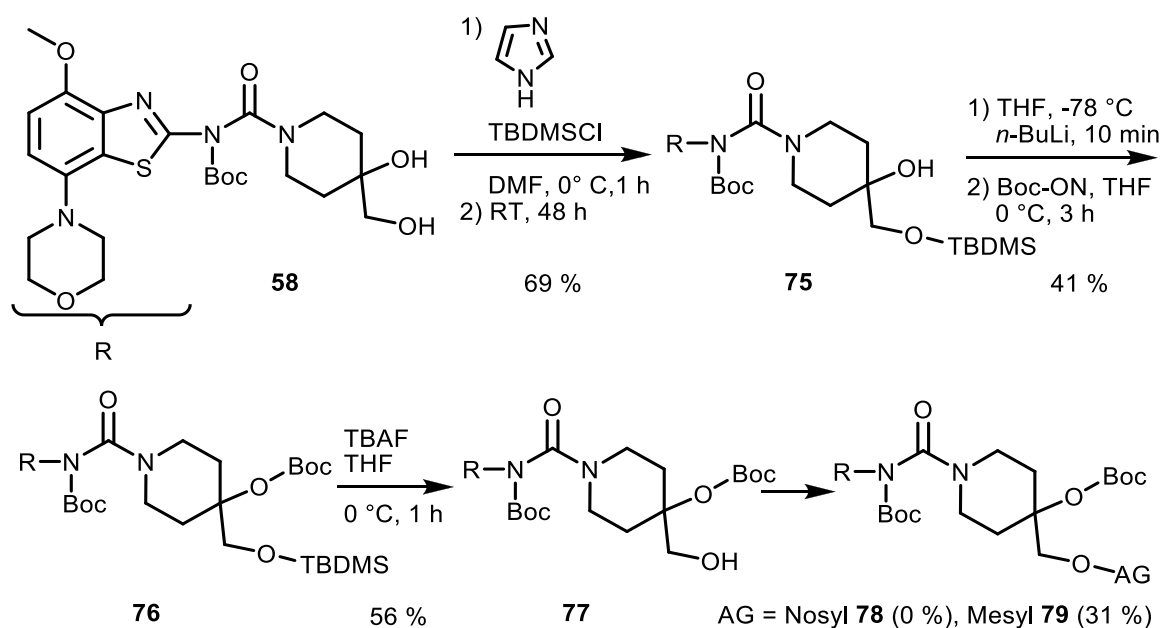
Abbildung 18: Möglicherweise entstandenes Eliminierungsprodukt Pivaloyloxymethyl-(4-([¹⁸F]fluormethyl)-*N*-(4-methoxy-7-morpholinobenzo[*d*]thiazol-2-yl)-1,2,3,6-tetrahydropyridine-1-carboxamid) **73** bzw. *tert*-Butyl(4-([¹⁸F]fluormethyl)-1,2,3,6-tetrahydropyridin)-1-carbonyl(4-methoxy-7-morpholinobenzo[*d*]thiazol-2-yl)carbamate **74**.

Um die thermische Abspaltung der THP-Gruppe beziehungsweise die Zersetzung der Vorläuferverbindung zu vermeiden, wurden basen- und temperaturstabile Schutzgruppen wie MOM oder ein Acetat untersucht. Allerdings schlug bereits die Synthese dieser Vorläuferverbindungen fehl.

Synthese der basenstabilen Markierungsvorläufer **78** und **79**

Da neben der Temperatur auch die basischen Reaktionsbedingungen einen Einfluss auf die Abspaltung von Schutzgruppen haben können, wurde ein Vorläufer mit basenstabilen SG am amidischen Stickstoff und am tertiären Alkohol hergestellt. Dabei fiel die Wahl auf die doppelt Boc-geschützte Verbindung (1-(*tert*-Butoxycarbonyl(4-methoxy-7-morpholinobenzo[d]thiazol-2-yl)carbamoyl)-4-(*tert*-butoxycarbonyloxy)piperidin-4-yl)methyl-4-nitrobenzolsulfonsäure **78** und ((1-*tert*-Butoxycarbonyl(4-methoxy-7-morpholinobenzo[d]thiazol-2-yl)carbamoyl)-4-(*tert*-butoxycarbonyloxy)piperidin-4-yl)methylmethansulfonat **79**.

Ausgehend vom amidisch Boc-geschützten Diol **58** wurde zunächst der 4-Methoxysubstituent der Piperidinkomponente in einen Silylether, (4-((*tert*-Butyldimethylsilyloxy)methyl)-1-(*boc*-(4-methoxy-7-morpholinobenzo[d]thiazol-2-yl)carbamoyl))piperidin-4-ol **75**, überführt. Darauf folgte die Einführung der Boc-SG am tertiären Alkohol zum *tert*-Buty-4-((*tert*-butyldimethylsilyloxy)methyl)-1-(*boc*-(4-methoxy-7-morpholinobenzo[d]thiazol-2-yl)carbamo-yl))piperidin-4-ylcarbonat **76**. Nach entsprechender Silyletherspaltung zum (*tert*-Butyl-4-(hydroxymethyl)-1-(*boc*-(4-methoxy-7-morpholinobenzo[d]thiazol-2-yl)carbamoyl))piperidin-4-ylcarbonat **77** konnte dieses mit einer entsprechenden Abgangsgruppe versehen werden. Die erste Wahl fiel dabei auf die Nosylat-Abgangsgruppe. Allerdings zeigte sich, dass diese gar nicht zum gewünschten Produkt (1-(*tert*-Butoxycarbonyl(4-methoxy-7-morpholinobenzo[d]thiazol-2-yl)carbamoyl)-4-(*tert*-butoxycarbonyloxy)piperidin-4-yl)methyl-4-nitrobenzolsulfonsäure **78** reagierte. Wegen der Größe des Nosyls und der Abschirmung durch den *tert*-Butylrest des Boc-Substituenten blieb vermutlich eine Reaktion aus sterischen Gründen aus. Durch die Verwendung des kleineren Mesylchlorids konnte die Mesylatabgangsgruppe unter Bildung von ((1-*tert*-Butoxycarbonyl(4-methoxy-7-morpholinobenzo[d]thiazol-2-yl)carbamoyl)-4-(*tert*-butoxycarbonyloxy)piperidin-4-yl)methylmethansulfonat **79** eingefügt werden. Schema 39 zeigt die einzelnen Synthesestufen für die Herstellung der basenstabilen Vorläuferverbindung **79**.



Schema 39: Synthese des basenstabilen Vorläufers ((1-*tert*-Butoxycarbonyl(4-methoxy-7-morpholinobenzo[d]thiazol-2-yl)carb-amoyl)-4-(*tert*-butoxycarbonyloxy)piperidin-4-yl)methyl-methansulfonat **79**.

¹⁸F-Fluorierung unter Verwendung des basenstabilen Markierungsvorläufers **79**

Die ¹⁸F-Fluorierung der basenstabilen Vorläuferverbindung **79** fand unter den optimalen Markierungsbedingungen des nosylischen Vorläufers **64** statt. Anstelle des Anionenaktivators K222/K₂CO₃ wurden noch das TBAH bei 100 °C und 130 °C eingesetzt.

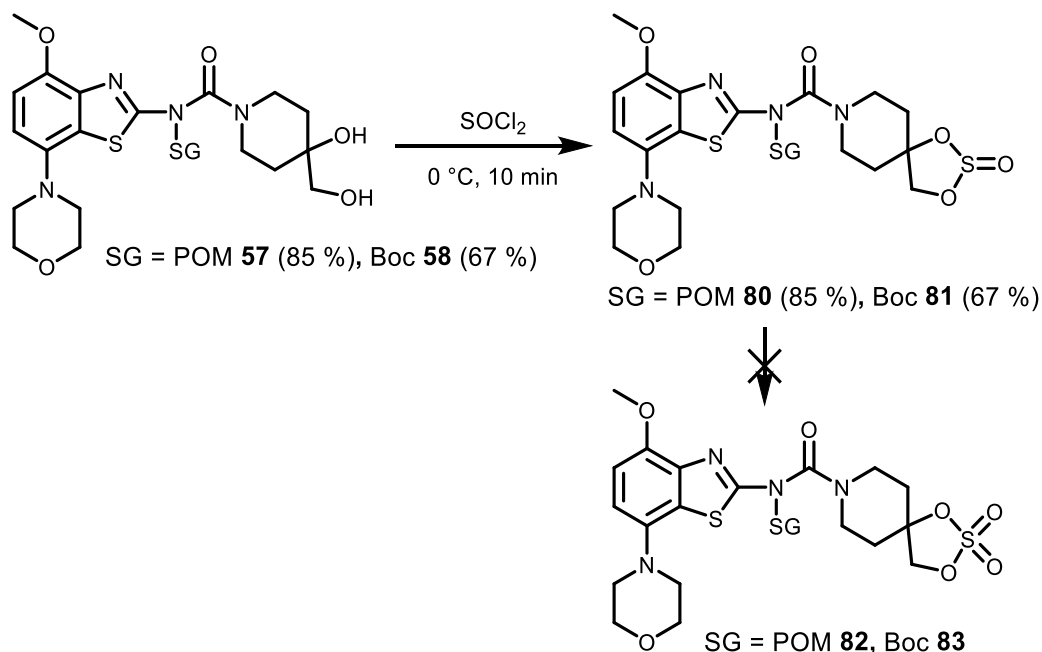
Es konnte keine radioaktives Produkt beobachtet werden weshalb auch die Entstehung des radiofluorierten Produktes [¹⁸F]**19** ausgeschlossen werden konnte.

Da eine ¹⁸F-Markierung durch nukleophile Substitution einer Abgangsgruppe in Gegenwart von Schutzgruppen nicht möglich ist, wurde erneut die Verwendung eines zyklischen Sulfats als gleichzeitige Schutz- und Abgangsgruppe der Vorläuferverbindung zur ¹⁸F-Fluorierung untersucht.

3.3.4 Syntheseversuch eines zyklischen Sulfats als ¹⁸F-Markierungsvorläufer

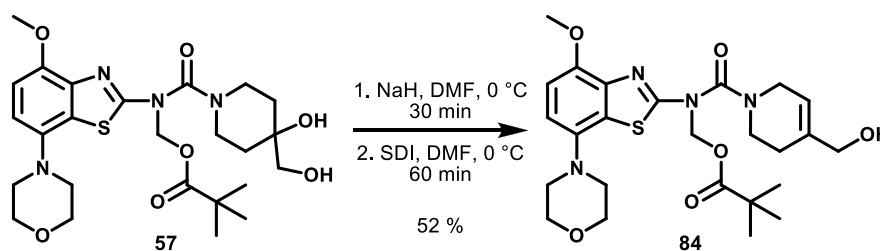
Das entsprechende Diol **57** oder **58** sollte über das jeweilige zyklische Sulfit in sein zyklisches Sulfat überführt werden [154], welches anschließend selektiv radiofluoriert werden sollte. Ausgehend von den zwei unterschiedlich am amidischen Stickstoff geschützten Diolen **57** und **58** wurde jeweils das entsprechende zyklische Sulfit, Pivaloxymethyl-(4-methoxy-7-morpholinobenzo[d]thiazol-2-yl)(1,3-dioxa-2-thia-8-azaspiro[4.5]decan-2-oxid)-8-carboxamid **80** und *tert*-Butoxycarbonyl-(4-methoxy-7-morpholinobenzo[d]thiazol-2-yl)-(1,3-dioxa-2-thia-8-

azaspiro[4.5]decan-2-oxid)-8-carboxamid **81**, hergestellt, welche anschließend zu den entsprechenden Sulfaten, Pivaloxymethyl-(4-methoxy-7-morpholinobenzo[d]thiazol-2-yl)(1,3-dioxa-2-thia-8-azaspiro[4.5]decan-2,2-dioxid)-8-carboxamid **82** und *tert*-Butoxycarbonyl-(4-methoxy-7-morpholinobenzo[d]thiazol-2-yl)(1,3-dioxa-2-thia-8-azaspiro[4.5]decan-2,2-dioxid)-8-carboxamid **83**, oxidiert werden sollten (siehe Schema 40).



Schema 40: Reaktion vom Diol **57** bzw. **58** über das Sulfit **80** bzw. **81** zum Sulfat **82** bzw. **83** [154].

Die Synthese der sulfidischen Verbindung **80** und **81** konnten in Ausbeuten von 85 % und 67 % hergestellt werden. Allerdings war es nicht möglich das Sulfit zu den entsprechenden Sulfaten **82** und **83** zu oxidieren. Auch der Versuch das jeweilige Diol **57** bzw. **58** direkt in Gegenwart von Natriumhydrid und Sulfonyldiimidazol (SDI) in das Sulfat zu überführen, schlugen fehl. In Gegenwart der Boc-geschützten Verbindung **58** konnte keinerlei Produkt erhalten werden, wohingegen aus der Reaktion mit dem Diol **57** die eliminierte Verbindung Pivaloxymethyl-4-(hydroxymethyl)-N-(4-methoxy-7-morpholinobenzo[d]thiazol-2-yl)-5,6-dihydropyridin-1(2*H*)-carboxamid **84** isoliert und charakterisiert wurde (Schema 41).

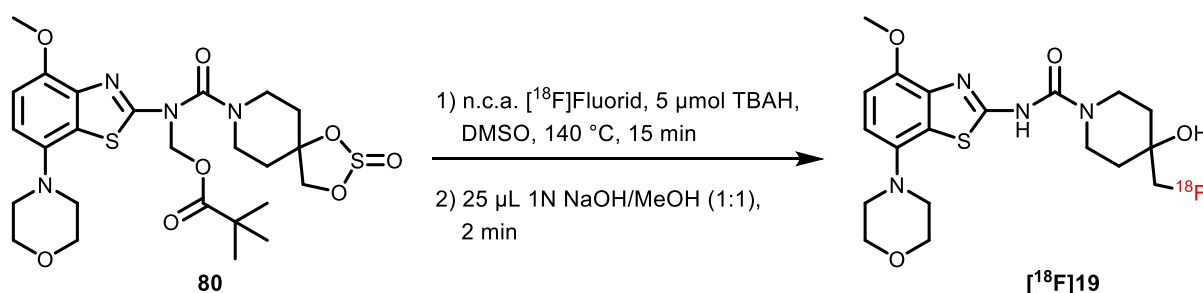


Schema 41: Entstandenes Eliminierungsprodukt Pivaloxymethyl-4-(hydroxymethyl)-N-(4-methoxy-7-morpholinobenzo[d]thiazol-2-yl)-5,6-dihydropyridin-1(2*H*)-carboxamid **84** aus der Reaktion von **57** mit NaH und SDI.

Möglicherweise ist das zyklische Sulfid auf Grund der Elektronenverteilung bereits ausreichend aktiviert, um als Vorläufer fungieren zu können.

3.3.5 ^{18}F -Fluorierung unter der Verwendung eines zyklischen Sulfids **80** als Markierungsvorläufer

Erste Radiofluorierungsversuche unter Verwendung von Verbindung **80** zeigten, dass eine selektive Radiomarkierung stattfand. Die bei der Synthese entstandenen ^{18}F -Produkte konnten via Radio-DC eindeutig identifiziert werden. Eine anschließende Radio-HPLC bestätigte das Ergebnis. Bei einer Temperatur von 120 °C, 3,6 μmol der Verbindung **80** in 250 μL DMSO und 5 μmol Tetrabutylammoniumhydroxid (TBAH) als Anionenaktivator konnten nach 15 Minuten RCA (DC) von bis zu 20 % erhalten werden.



Schema 42: Synthese von [^{18}F]19 unter Verwendung des Sulfids **80**.

Es konnte erstmalig erfolgreich gezeigt werden, dass sich ein zyklisches Sulfid als ^{18}F -Markierungsvorläufer eignet. Diese Methode ist zuvor noch nicht beschrieben worden. Aus diesem Grund sind Untersuchungen zur Optimierung der Reaktion von besonderem Interesse.

Optimierung der ^{18}F -Fluorierung unter Verwendung von Vorläufer **80**

Für die ^{18}F -Markierungsreaktion unter Verwendung des Sulfidvorläufers **80** wurden Reaktionsparameter wie Lösungsmittel, Temperatur, Vorläufermenge sowie Art und Stoffmengenanteile des Aktivatorsystems hinsichtlich ihrer Auswirkung auf die radiochemische Ausbeute überprüft. Dabei wurde die Reaktionskinetiken über 30 Minuten in Intervallen von 5 min aufgenommen.

Unter den bereits beschriebenen Bedingungen (120 °C, 3,6 μmol der Verbindung **80** in 250 μL DMSO, 5 μmol TBAH Anionenaktivator) wurde zunächst der Einfluss der Temperatur auf die RCA überprüft. In Abbildung 19 werden die relativen RCA (DC) in Abhängigkeit von Temperatur und Zeit dargestellt.

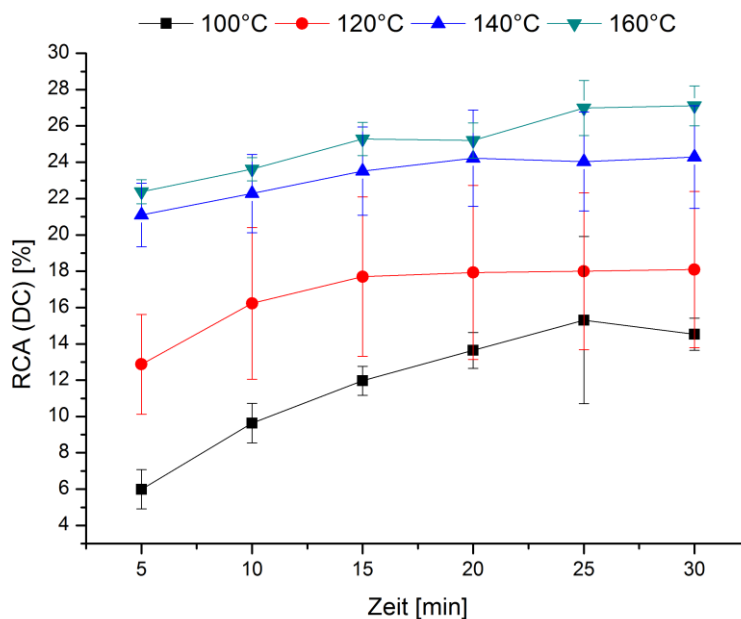


Abbildung 19: Einfluß der Temperatur auf die RCA (DC) von $[^{18}\text{F}]\mathbf{19}$; Reaktionsbedingungen: 3,6 μmol **80** in 250 μL DMSO, 5 μmol TBAH, $n \geq 3$.

Bei 140 °C lassen sich nach 15 Minuten RCAs (DC) von > 23 % erzielen. Auch ist zu erkennen, dass nach einer Zeit von 15 Minuten keine weitere nennenswerte Reaktion stattfand.

Auch der Einfluss verschiedener Lösungsmittel auf die RCA wurde untersucht. Als Reaktionsmedium wurden DMSO, DMF, *t*-BuOH, ACN, 2-Methyl-2-butanol und Dioxan verwendet. Lediglich in DMSO und DMF konnte eine ^{18}F -Markierungsreaktion beobachtet werden. Abbildung 20 zeigt den direkten Vergleich zwischen DMSO und DMF. Es ist zu erkennen, dass beim Einsatz von DMSO nahezu doppelt so hohe RCAs (DC) erzielt wurden, weshalb DMSO das Lösungsmittel der Wahl für die weitere Reaktionsoptimierung war.

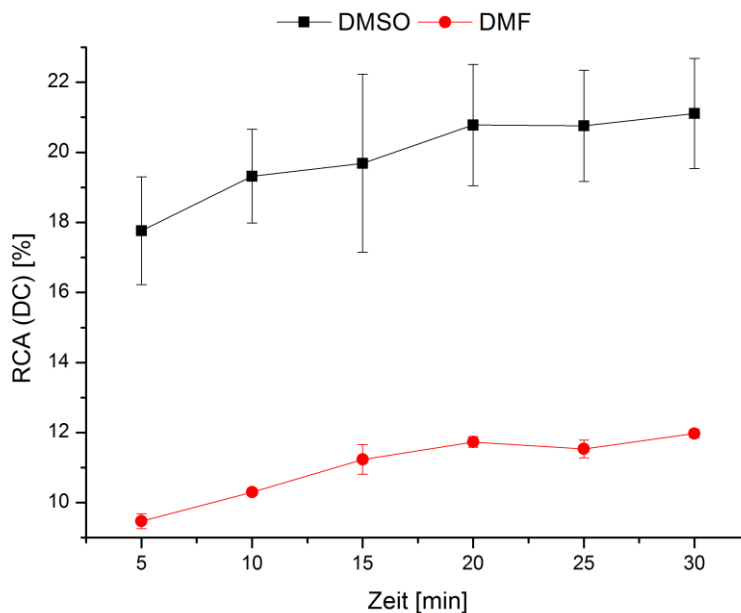


Abbildung 20: Einfluß des Lösungsmittels auf die RCA (DC) von $[^{18}\text{F}]\mathbf{19}$; Reaktionsbedingungen: 140 °C, 3,6 μmol **80** in 250 μL Lösungsmittel, 5 μmol TBAH, $n \geq 3$.

Der Einfluss der verwendeten Stoffmenge des Vorläufers **80** auf die RCA wurde ebenfalls untersucht. Dies ist in Abbildung 21 dargestellt.

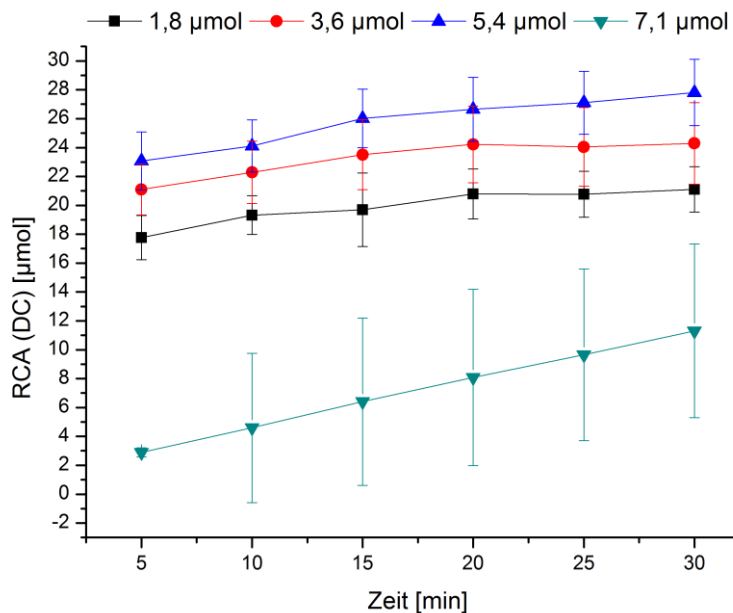


Abbildung 21: Einfluß der eingesetzten Stoffmenge von **80** in 250 μL DMSO auf die RCA (DC) von $[^{18}\text{F}]\mathbf{19}$. Reaktionsbedingungen: 140 °C, 250 μL DMSO, 5 μmol TBAH, $n \geq 3$.

Bei der Verwendung von 1,8 μmol Vorläufer konnten bereits nach 15 Minuten RCA (DC) von 20 % erzielt werden. Eine Erhöhung der Vorläufermenge auf 3,6 μmol erhöhte die RCA (DC) nur um 3 %. Gleichzeitig verdoppelte sich aber der Anteil an nicht abreagiertem Vorläufer. Daher erscheint es sinnvoll eine Vorläufermenge von 1,8 μmol zu verwenden.

Auch der Einfluss der verschiedenen Anionenaktivatorsysteme auf die RCA (DC) wurden untersucht. Dabei wurden die Anionenaktivatorsysteme TBAH, $K_2CO_3/K222$ und Tetrabutylammomiumhydrogencarbonat ($TBAHCO_3$) miteinander verglichen. Die Ergebnisse sind in Abbildung 22 dargestellt.

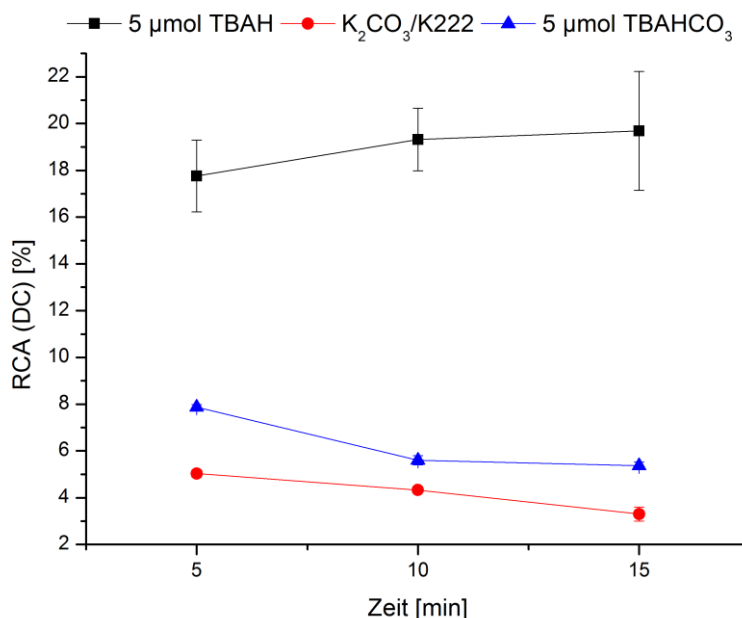


Abbildung 22: Einfluß des Anionenaktivators auf die RCA (DC) von $[^{18}F]19$. Reaktionsbedingungen: 140 °C 1,8 µmol **80** in 250 µL DMSO, 140 °C, $n \geq 3$.

Es zeigte sich, dass sich TBAH am besten als Anionenaktivatorsystem eignete. Die Abhängigkeit vom Stoffmengenanteil des Anionenaktivatorsystems auf die RCA Abbildung 23 gezeigt.

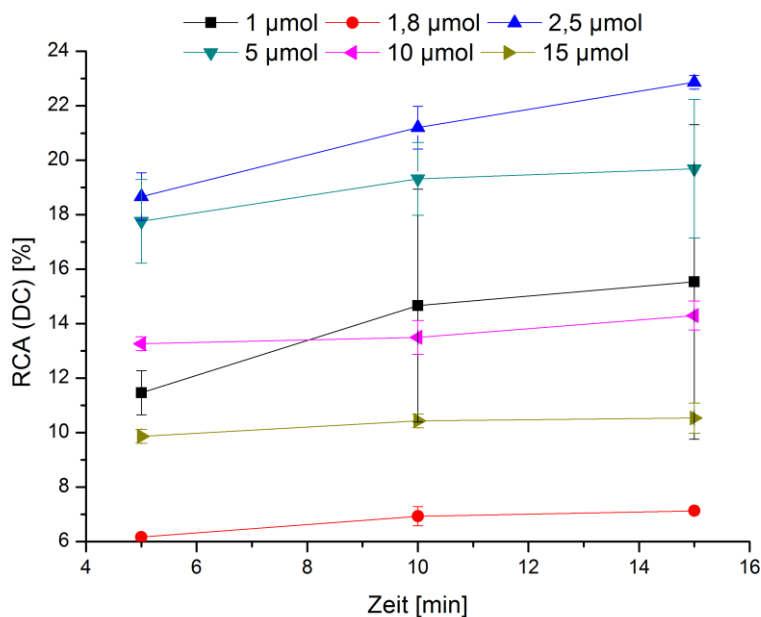


Abbildung 23: Einfluß der eingesetzten Stoffmenge des Anionenaktivators TBAH auf die RCA (DC) von $[^{18}\text{F}]\mathbf{19}$. Reaktionsbedingungen: 140 °C 1,8 µmol **80** in 250 µL DMSO, 140 °C, $n \geq 3$.

Es ist zu erkennen, dass die besten RCAs bei einem leichten Überschuss des Anionenaktivators im Vergleich zur eingesetzten Vorläufermenge erzielt wurden. Bei einer Stoffmenge von 2,5 µmol TBAH als Aktivatorsystem ließen sich RCA (DC) von bis zu 23 % erzielen.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass mit 1,8 µmol der Vorläuferverbindung **80** gelöst in 250 µL DMSO, bei einer Reaktionstemperatur von 140 °C unter Verwendung von 2,5 µmol TBAH als Anionenaktivator nach 15 Minuten RCA von > 20 % zu erzielen waren.

Entschützung und Reinigung von 4-(Fluormethyl)-4-hydroxy-*N*-(4-methoxy-7-morpholinobenzo[d]thiazol-2-yl)piperidin-1-carboxamid $[^{18}\text{F}]\mathbf{19}$

Im Anschluss an die nukleophile ^{18}F -Substitution war es notwendig die POM-Schutzgruppe zu entfernen. Hierfür wurde die Reaktionslösung mit dem ^{18}F -fluorierte Produkt $[^{18}\text{F}]\mathbf{67}$ im Wasserbad auf Raumtemperatur abgekühlt. Die eigentliche Hydrolyse erfolgte durch Zugabe von 25 µL einer Mischung aus 1 N NaOH:MeOH (1:1). Bereits nach 2 Minuten war die Hydrolyse abgeschlossen und das Produkt $[^{18}\text{F}]\mathbf{19}$ erhalten.

Da im weiteren Verlauf das ^{18}F -markierte Produkt $[^{18}\text{F}]\mathbf{19}$ mittels Radio-HPLC isoliert werden sollte, war es notwendig, das enthaltene DMSO und nicht umgesetztes $[^{18}\text{F}]\text{Fluorid}$ zu entfernen. Dies erfolgte mittels Festphasenextraktion. Durch Radio-HPLC konnte das mit ^{18}F -markierte Produkt $[^{18}\text{F}]\mathbf{19}$ mit einer RCA von 7 ± 3 % und einer radiochemischen Reinheit von 99 % mit einer molaren Aktivität von 14,37 GBq/µmol (0,39 Ci/µmol) isoliert werden.

3.4 Ergebnisse der autoradiographischen *in vitro* Studien von [¹⁸F]19 an Rattenhirnschnitten

Mit dem isolierten radiofluorierten Liganden [¹⁸F]19 wurden autoradiographische Untersuchungen an transversalen Rattenhirnschnitten (siehe Kapitel 6.1.2) durchgeführt. Diese gaben Aufschluss über die Gewebeverteilung sowie die spezifische Bindung. Die Totalbindung des Radioliganden [¹⁸F]19 zeigte eine selektive Anreicherung ausschließlich im *Corpus Striatum*. Ein solches Bindungsmuster wird nur von einem spezifischen Adenosin A_{2A}AR Liganden erwartet und ist identisch zu den Ergebnissen die aus autoradiographischen Studien mit tritiiertem ZM241385, dem „Goldstandard“, erhalten wurden.

Bei dem Radioliganden [¹⁸F]19 handelt es sich folglich um einen sehr affinen und selektiven A_{2A}AR Liganden mit einem sehr geringen unspezifischen Bindungspotenzial.

4 Experimenteller Teil

Alle eingesetzten Chemikalien und Lösungsmittel wurden von den Firmen Sigma-Aldrich (Taufkirchen, Deutschland), Merk (Darmstadt, Deutschland), VWR (Darmstadt, Deutschland), Braun (Melsungen, Deutschland), Fluka (Neu-Ulm, Deutschland), Activate Scientific (Prien, Deutschland), Tocris Bioscience (Bristol, England) und Alfa Aesar (Karlsruhe, Deutschland) bezogen und, sofern nicht anders angegeben, nicht weiter gereinigt.

Zur Flashchromatographie wurde ein Reveleris Säulenautomat der Firma Grace (Breda, Niederlande) verwendet.

Eluentenzusammensetzungen sind als Volumenverhältnisse angegeben.

Die Bestimmung der Schmelzpunkte wurde mit einem Gerät der Firma Büchi (Flawil, Schweiz) vom Typ Büchi Melting Point B-545 durchgeführt.

Dünnschichtchromatographische Analytik erfolgte auf mit Aluminiumoxid (Alox) oder mit Kieselgel (SiO_2) beschichteten Folien der Firma Macherey-Nagel, Düren, Deutschland (Polygram ALOX N/UV₂₅₄ oder Polygram SIL G/UV₂₅₄; beide in den Größen 40 x 80 mm und Polygram SIL G/UV₂₅₄ auch in der Größe 100 x 200 mm).

Die ^1H -, ^{13}C - und ^{19}F -NMR-Spektren wurden bei 200,13, 50,32 und 188,31 MHz mit einem Bruker DPX Avance 200 Spektrometer (Bruker Bio Spin GmbH, Rheinstetten, Deutschland) in ca. 5 % Lösung bei Raumtemperatur aufgenommen. Die chemischen Verschiebungen δ sind in ppm angegeben, wobei die Protonensignale des jeweiligen Lösungsmittels als interne Standards benutzt wurden: ^1H NMR: δ 7,30 (CDCl_3), δ 2,52 (DMSO-d_6); ^{13}C NMR: δ 77,0 (CDCl_3), δ 50,32 (DMSO-d_6). Kopplungen (J) sind in der Einheit Hz angegeben und Multiplizitäten mit den folgenden Abkürzungen beschrieben: s; Singulett, d; Dublett, t; Triplett, q; Quartett, qi; Quintett, m; Multiplett, br; breit.

Die Aufnahme der Massenspektren erfolgte mit einem Surveyor MSQ der Firma *Thermoquest* (Egelsbach, Deutschland). Die Massenspektren wurden mittels Elektronensprayionisation im positiven Ionenmodi (ESI+) erhalten.

Hochauflösende Massenspektroskopie (HRMS) wurde an einem FTICT „LTQ FT Ultra“ der Firma *Thermo Fischer Scientific* (Hennef, Deutschland) durchgeführt.

UV-Spektren wurden mit einem UV-Spektrometer der Firma Shimadzu (Duisburg, Deutschland) vom Typ UV-1601 aufgenommen. Dafür wurde 1 mg der Verbindung **19** in 1 mL

des HPLC-Laufmittels (ACN/H₂O/AcOH, 30/70/0,2) gelöst. Anschließend wurden 10 µL dieser Lösung auf 1 mL aufgefüllt und spektroskopiert.

Zur Kartuschenabtrennung der radioaktiven Produkte wurden „solid phase“-Kartuschen vom Typ Sep-Pack® Light C18 der Firma Waters (Eschborn, Deutschland) verwendet.

Sofern nicht anders vermerkt, fanden alle Reaktionen unter magnetischem Rühren und unter Argon-Schutzgasatmosphäre statt.

4.1 Organisch-präparative Synthesen

Alle Verbindungen wurden, sofern nicht weiter vermerkt, nach Standardmethoden synthetisiert [174] und mittels NMR-Spektroskopie, niederauflösender Massenspektrometrie und oder hochauflösender Massenspektrometrie sowie durch die Bestimmung ihrer Schmelzpunkte charakterisiert.

4-Methoxy-7-morpholin-4-yl-benzothiazol-2-ylamin **1**

2-Methoxy-5-morpholin-4-yl-phenylthioharnstoff **6** (6,05 g, 22,6 mmol) wird in Essigester (EE) (67 mL) gelöst und auf 80 °C erhitzt. Bei dieser Temperatur wird Bromwasserstoffsäure (33 % HBr in Eisessig, 8,18 mL, 45, mmol) über 12 min hinzugeetropt. Die dicke weiße Suspension wird auf 105 °C erhitzt und für 12 min unter Rückfluss gerührt bevor DMSO (1,93 mL, 27,12 mmol) in einer Portion hinzugegeben wird. Nach weiteren 4 h Rühren bei 105 °C wird auf Raumtemperatur abgekühlt, der Feststoff abfiltriert und mit EE (50 mL) gewaschen. Der noch feuchte Feststoff wird in EtOH (55 mL) gelöst und mit Wasser (75 mL) versetzt. Die rote Lösung wird auf 50 °C erwärmt und mit Ammoniumhydroxidlösung (28 %, 5,4 mL) versetzt. Der pH-Wert der Lösung/Suspension sollte 9-10 betragen. Nach Kühlen mit einem Eisbad wird über Nacht gerührt wobei RT erreicht wird. Der entstandene hellbraune Feststoff wird abfiltriert und mit 50 %igem Ethanol gewaschen. Der Feststoff wird mit kochendem THF (100 mL) extrahiert, gekühlt, abfiltriert und bei 100 °C im Ofen getrocknet. Das Aminobenzothiazol **1** in Form beiger Kristalle erhalten.

Ausbeute: 7,25 mg (27,3 mmol; 88 %)

Smp.: 320 °C unter Zersetzung, beiger Feststoff

DC: Hex/EE/AcOH, 60/40/0,2, R_f - Wert: 0,1; PE/EE/AcOH, 70/30/0,2, R_f - Wert: 0,3; EE/MeOH/AcOH, 98/2/0,2, R_f - Wert: 0,53.

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6): 7,43 (s, 2H), 6,79 (d, $J = 8,6$ Hz, 1H), 6,65 (d, $J = 8,5$ Hz, 1H), 3,93 - 3,60 (m, 7H), 3,06 - 2,79 (m, 4H). $^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6): 116,3, 147,3, 143,8, 140,78, 126,5, 11,1, 109,8, 67,4, 57, 52,1.

$\text{C}_{12}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{O}_2\text{S}$, MS (m/e) 266 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (100 %).

4-(4-Methoxyphenyl)morpholinnitrat **2**

In einem 1-L-Dreihalskolben werden p-Anisidin (20 g, 0,162 mol), 2-Chlorethylether (48 g, 0,336 mmol), Tetrabutylammoniumbromid (1,04 g, 0,003 mol) und eine 42 %ige Natriumhydroxidlösung (77 g, 0,8 mol) für 8 h bei 120 °C gerührt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wird die Mischung mit 80 mL *tert*-Butylmethylether (tBME) und mit 80 mL EE extrahiert. Anschließend werden die vereinten organischen Phasen mit 80 mL Wasser gewaschen. Bei einer Temperatur von 0-5 °C werden zu der dunkel gefärbten organischen Lösung 70 %ige Salpetersäure (14,6 g, 0,162 mol) hinzugegeben. Durch Kratzen mittels Glasstab am Kolben wird die Kristallisation des Nitratsalzes induziert. Nach Kühlen auf 5-12 °C für 12 h wird der braune Feststoff abfiltriert, mit 40 mL tBME gewaschen und im Vakuum bei 45 °C getrocknet.

Ausbeute: 34,39 g (135 mmol; 83 %)

Smp.: 112-113 °C unter Zersetzung, brauner Feststoff

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6): 10,1 (s_{br} , 1H), 7,52 (d, $J = 9,2$ Hz, 2H), 7,20 - 6,91 (m, 2H), 3,93 (dd, $J = 9,1, 4,2$ Hz, 4H), 3,80 (s, 3H), 3,61 - 3,36 (m, 4H). $^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6): 160, 136,4, 123,1, 115,96, 65, 56,4, 55,2.

$\text{C}_{11}\text{H}_{16}\text{NO}_2$, MS (m/e) 194 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (100 %).

4-(4-Methoxy-3-nitrophenyl)morpholin **3**

Ein mit 95 %iger Schwefelsäure (80 g, 815 mmol) befüllter 250-mL-Dreihalskolben wird auf 0 °C gekühlt. Eine Lösung aus 4-(4-Methoxyphenyl)morpholinnitrat **2** (20 g, 0,078 mol) in DCM (125 mL) wird mittels Tropftrichter langsam über einen Zeitraum von einer Stunde hinzugegossen. Dabei ist darauf zu achten, dass eine Temperatur von 0-5 °C eingehalten wird. Nach der Zugabe wird für weitere 30 min gerührt. Nach Beendigung des Rührvorgangs wird der Niederschlag abgetrennt und langsam unter Rühren auf Eiswasser (200 mL, 1 L Becherglas) gegossen, wobei 10 °C nicht überschritten werden dürfen. Bei der anschließenden Zugabe von 28 %iger wässriger Ammoniaklösung (190 mL) sollte 10 °C nicht überschritten werden (Zugabe von Eis). Nach der Zugabe sollte die Lösung einen pH-Wert von ≥ 10 besitzen. Nach einstündigem Kühlen auf 5 °C wird der Feststoff abfiltriert, mit 28 %iger

wässriger Ammoniaklösung (50 mL) und Wasser (50 mL) gewaschen und anschließend bei 45 °C im Vakuum über Nacht getrocknet.

Ausbeute: 1,61 g (6,76 mmol; 87 %)

Smp.: 93 °C unter Zersetzung, rotorange Kristalle

DC: Hex/EE/AcOH, 60/40/0,2, R_f - Wert: 0,33.

¹H-NMR (DMSO-d₆): 7,40 (dd, *J* = 24, 1,0 Hz, 3H), 7,29 (d, *J* = 2,3 Hz, 5H), 3,87 (s, 8H), 3,81 - 3,61 (m, 11H), 3,10 (dd, *J* = 5,8, 3,9 Hz, 10H). ¹³C-NMR (DMSO-d₆): 145,8, 140,6, 122,1, 116,2, 11,7, 66,8, 6,7, 49,6.

C₁₁H₁₄N₂O₄, MS (m/e) 239 [M+H]⁺ (100 %).

2-Methoxy-5-morpholinoanillin **4**

Bei 40-50 °C wird 4-(4-Methoxy-3-nitrophenyl)morpholin **3** (11,9 g, 50 mmol) in einer Mischung aus MeOH (500 mL) und DCM (100 mL) gelöst. Nach der Zugabe von Pd/C (10 %, 1 g) folgt das langsame Hinzutropfen von Hydrazinhydrat (25 mL, 500 mmol). Nach 0,25 h, 0,5 h, 0,75 h, 1 h und 1,25 h werden jeweils weitere Portionen Katalysator (jeweils 1 g) hinzugeben. Nach einer Reaktionszeit von 1,5 h ist die Reduktion beendet und die Farbe der überstehenden Lösung hat sich von braun nach gelb verfärbt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wird der Katalysator mittels Filtration durch Celite entfernt. Der Filterkuchen wird mit MeOH (2 x 75 mL) gewaschen. Die vereinten Filtrate werden bei 60 °C im Vakuum bis fast zur Trockne eingengt. Nach Zugabe von 150 mL Wasser wird das restliche MeOH bei 60 °C unter vermindertem Druck entfernt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wird der Feststoff abfiltriert, mit Wasser gewaschen und im Exsikkator über P₄O₁₀ getrocknet.

Ausbeute: 8,48 g (40,33 mmol; 80 %)

Smp.: 116 °C unter Zersetzung, cremefarbener Feststoff

DC: Hex/EE/AcOH, 60/40/0,2, R_f - Wert: 0,2.

¹H-NMR (DMSO-d₆): 6,68 (d, *J* = 8,6 Hz, 1H), 6,32 (d, *J* = 2,8 Hz, 1H), 6,11 (dd, *J* = 8,7, 2,9 Hz, 1H), 4,61 (s, 2H), 3,84 - 3,63 (m, 7H), 3,03 - 2,80 (m, 4H).

1-Benzoyl-3-(2-methoxy-5-morpholin-4-yl-phenyl)thioharnstoff **5**

Eine Lösung von 2-Methoxy-5-morpholinoanillin **4** (4,6 g, 22 mmol) in Aceton (140 mL) wird bei Raumtemperatur tropfenweise mit einer Lösung von Benzoylisothiocyanat (3,5 mL, 25 mmol) in Aceton (80 mL) versetzt. Nach 30-minütigem Nachrühren wird das Lösungsmittel bei gleichzeitiger Zugabe von Wasser (150 mL) abdestilliert. Nach Abkühlen auf RT wird über

Nacht auf 5 °C gekühlt, das Produkt abfiltriert, mit Wasser gewaschen, getrocknet und anschließend aus MeOH umkristallisiert.

Ausbeute: 8 g (21,5 mmol; 98 %)

Smp.: 139-140 °C unter Zersetzung, gelber Feststoff

DC: Hex/EE/AcOH, 60/40/0,2, R_f - Wert: 0,5.

¹H-NMR (DMSO-d₆): 13,13 (s, 1H), 11,58 (s, 1H), 8,52 (d, *J* = 2,9 Hz, 1H), 8,09 - 7,84 (m, 2H), 7,60 (dt, *J* = 14,6, 7,1 Hz, 3H), 7,06 (d, *J* = 9,0 Hz, 1H), 6,83 (dd, *J* = 9,0, 2,8 Hz, 1H), 3,86 (s, 3H), 3,81 - 3,61 (m, 4H), 3,14 - 2,90 (m, 4H). ¹³C-NMR (DMSO-d₆): 176,5, 166,9, 145,6, 145,1, 134, 132,3, 129,6, 128,2, 128, 114, 11,9, 111,7, 67,4, 57, 50,8.

C₁₉H₂₁N₃O₃S, MS (m/e) 372 [M+H]⁺ (100 %).

2-Methoxy-5-morpholin-4-yl-phenylthioharnstoff **6**

Bei RT wird Natriummethanolat (30 % in MeOH, 7,45 mL, 43 mmol) zu einer Lösung von 1-Benzoyl-3-(2-methoxy-5-morpholin-4-yl-phenyl)thioharnstoff **5** (10,9 g, 28 mmol) in MeOH (65 mL) gegeben. Die klare braune Lösung wird für 3 h gerührt wobei eine graue Suspension entsteht. Die Suspension wird auf 0-5 °C gekühlt und für eine weitere Stunde gerührt. Nach Filtration, Waschen mit eiskaltem MeOH (10 mL), Hexan (10 mL) und Trocknen an Luft wird das Produkt als cremefarbige Kristalle erhalten.

Ausbeute: 6,51 g (24,5 mmol; 87 %)

Smp.: 184-185 °C unter Zersetzung, cremefarbener Feststoff

¹H-NMR (DMSO-d₆): 9,03 (s, 1H), 7,66 (s, 1H), 7,51 (s_{br}, 2H), 6,94 (d, *J* = 8,9 Hz, 1H), 6,72 (dd, *J* = 9,0, 2,8 Hz, 1H), 3,73 (dd, *J* = 12,4, 7,6 Hz, 7H), 3,11 - 2,85 (m, 4H). ¹³C-NMR (DMSO-d₆): 182, 146,1, 145,6, 128,8, 114,3, 113,3, 113, 67,1, 56,9, 50,6.

C₁₂H₁₇N₃O₂S, MS (m/e) 268 [M+H]⁺ (100 %).

Phenyl-4-methoxy-7-morpholinobenzothiazol-2-ylcarbamate **7**

Zu einer Suspension von 4-Methoxy-7-morpholino-benzothiazol-2-amin **1** (2,65 g, 10 mmol) in THF (50 mL) wird Pyridin (2,43 mL, 30 mmol) gegeben und auf 0 °C gekühlt. Nach 5 min wird vorsichtig Phenylchlorformiat (1,45 mL, 11,5 mmol) hinzugegeben. Die Lösung wird über Nacht gerührt, wobei RT erreicht wird. Es wird mit EE (250 mL) verdünnt, mit Wasser (75 mL) gewaschen und die wässrige Phase mit EE extrahiert. Die vereinten organischen Phasen werden mit 1 M HCl-Lösung (3 x 50 mL) und anschließend mit ges. NaCl-Lösung gewaschen und über Na₂SO₄ getrocknet. Nach Entfernung des Lösungsmittels wird ein braunes Öl

erhalten. Durch Zugabe von wenig EtOH kann das Produkt im Ultraschallbad als beiger Feststoff kristallisiert werden. Die Suspension wird über Nacht bei 7 °C gekühlt, bevor der Feststoff abfiltriert wird.

Ausbeute: 2,22 mg (5,75 mmol; 71 %)

Smp.: 145,5 °C, unter Zersetzung, (EtOH), cremefarbener Feststoff

DC: EE/MeOH/AcOH, 98/2/0,2, Rf - Wert: 0,85; Hex/EE/AcOH, 60/40/0,2, Rf - Wert: 0,40.

¹H-NMR (DMSO-d₆): 12,71 (s, 1H), 7,66 - 7,42 (m, 2H), 7,42 - 7,21 (m, 3H), 6,93 (q, *J* = 8,6 Hz, 2H), 4,08 - 3,83 (m, 3H), 3,83 - 3,62 (m, 4H), 3,11 - 2,88 (m, 4H). ¹³C-NMR (DMSO-d₆): 153,2, 150,5, 148,5, 140,4, 130,3, 130,1, 127,3, 126,6, 122,3, 121,8, 113,4, 108,8, 67, 56,40, 51,9.

C₁₉H₁₉N₃O₃S, MS (m/e) 386 [M+H]⁺ (100 %).

2-Fluor-*N*-(4-methoxy-7-morpholinobenzothiazol-2-yl)isonicotinamid **8**

Zu einer Suspension aus 4-Methoxy-7-morpholin-4-yl-benzothiazol-2-ylamin **1** (420 mg, 1,58 mmol), Diisopropylethylamin (Hünig's Base oder DIPEA) (850 µL) und 4-(Dimethylamino)-pyridin (DMAP) (5 mg) wird das zuvor hergestellte und in THF gelöste 2-Fluorisonicotinsäurechlorid **14** vorsichtig hinzuge tropft und anschließend auf 90 °C erhitzt. DC-Kontrolle (EE/PE/AcOH, 70/30/0,2) zeigt das Ende der Reaktion nach 2,5 h. Anschließend wird mit Wasser gewaschen, die organische Phase über Na₂SO₄ getrocknet und das Lösungsmittel bei vermindertem Druck entfernt. Zur Aufreinigung wird aus EtOH umkristallisiert.

Ausbeute: 344 mg (0,89 mmol; 50 %)

Smp.: 231,1 °C unter Zersetzung, hellbrauner Feststoff

DC: EE/PE/AcOH, 70/30/0,2, Rf - Wert: 0,57.

¹H-NMR (CDCl₃/DMSO-d₆): 13,42 (s, 1H), 8,52 (*d*, *J* = 5,1 Hz, 1H), 8,09 - 7,94 (m, 1H), 7,86 (s, 1H), 7,00 (s, 2H), 3,93 (s, 3H), 3,89 - 3,60 (m, 4H), 3,13 - 2,91 (m, 4H). ¹³C-NMR (CDCl₃/DMSO-d₆): 149,1, 140,5, 121, 114, 109,4, 108,6, 67,1, 56,5, 55,4, 52, 41,3, 40,8, 40,4, 40, 39,6, 39,2, 38,7. ¹⁹F-NMR (CDCl₃/DMSO-d₆): -67,14.

C₁₈FH₁₇N₄O₃S, MS (m/e) 386 [M+H]⁺ (100 %). HRMS (ESI+) m/z: [M+H]⁺ ber. C₁₈FH₁₇N₄O₃SH 389,1083; gefunden 389,1079.

6-Fluor-*N*-(4-methoxy-7-morpholinobenzothiazol-2-yl)picolinamid **9**

Die Herstellung erfolgt analog der Synthese von **8** unter der Verwendung von 6-Fluorpicolinsäurechlorid **15** (200 mg, 1,25 mmol). Das Produkt fällt als cremefarbener Feststoff in DCM aus und ist nahezu unlöslich in DMSO. Daher war die Aufnahme eines ^{13}C -Spektrums nicht möglich.

Ausbeute: 444,3 mg (1,14 mmol; 65 %)

Smp.: 286 °C unter Zersetzung, cremefarbener Feststoff

DC: Hex/EE/AcOH, 60/40/0,2, Rf - Wert: 0,6,

^1H -NMR (CDCl_3): 12,52 (sbr, 1H), 8,40 - 8,20 (m, 1H), 8,20 - 8,10 (m, 1H), 7,60 - 7,50 (m, 1H), 7,00 (s, 2H), 3,93 (s, 3H), 3,88 - 3,75 (m, 4H), 3,13 - 3,00 (m, 9H). ^{19}F -NMR (CDCl_3): -67,18.

$\text{C}_{18}\text{H}_{17}\text{N}_4\text{O}_3\text{SF}$, MS (m/e) 389 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (100 %). HRMS (ESI+) m/z: $[\text{M}+\text{H}]^+$ ber. für $\text{C}_{18}\text{H}_{17}\text{N}_4\text{O}_3\text{SFH}$ 389,1083; gefunden 389,1079.

4-Fluor-*N*-(4-methoxy-7-morpholinobenzothiazol-2-yl)benzolsulfonamid **10**

Zu einer Suspension von 4-Methoxy-7-morpholino-benzothiazol-2-amin (374,6 mg, 1,5 mmol) in THF (20 mL), Hünig's Base (1,275 mL, 7,5 mmol) und DMAP (5 mg) wird bei Raumtemperatur eine Lösung von 4-Fluorbenzolsulfonylchlorid (437,87 mg) in THF (1 mL) getropft und anschließend über Nacht auf 90 °C erhitzt. Nach Abkühlen auf RT und Entfernen des Lösungsmittels wird der Rückstand in EE aufgenommen, zweimal mit 1M HCl (25 mL) und zweimal mit ges. NaCl-Lösung gewaschen bevor über Na_2SO_4 getrocknet wird. Nach Entfernen des Lösungsmittels lässt sich das Produkt aus DCM als cremefarbener Feststoff erhalten (nach [175,176]).

Ausbeute: 187 mg (0,44 mmol; 20 %)

Smp.: 272,3 °C, unter Zersetzung, cremefarbener Feststoff

DC: EE/MeOH/AcOH, 98/2/0,2, Rf - Wert: 0,86.

^1H -NMR (DMSO-d_6): 13,33 (sbr 1H), 8,05 - 7,83 (m, 2H), 7,41 (t, $J = 8,9$ Hz, 2H), 6,98 (dd, $J = 20,2, 8,7$ Hz, 2H), 3,86 (s, 3H), 3,84 - 3,63 (m, 4H), 3,10 - 2,76 (m, 4H). ^{13}C -NMR (DMSO-d_6): 167, 143,1, 140,4, 139,1, 129,3, 129,1, 120,3, 116,9, 116,5, 66,9, 56,8, 51,9.

^{19}F -NMR (DMSO-d_6): -107,01.

$\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{N}_3\text{O}_4\text{S}_2\text{F}$, MS (m/e) 424 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (100 %). HRMS (ESI+) m/z: $[\text{M}+\text{H}]^+$ ber. für $\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{N}_3\text{O}_4\text{S}_2\text{FH}$ 424,0800; gefunden 424,0798.

2-Fluor-*N*-(4-methoxy-7-morpholinobenzothiazol-2-yl)benzolsulfonamid **11**

Die Herstellung erfolgt analog der Synthese von **10** unter der Verwendung von 2-Fluorbenzolsulfonylchlorid (307 μ L, 2,25 mmol) und einer Reaktionstemperatur von 70 °C. Das Produkt ist ein beiger Feststoff.

Ausbeute: 80 mg (0,19 mmol; 8 %)

Smp.: 260,5 °C unter Zersetzung, beiger Feststoff

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6): 13,45 (s, 1H), 7,93 (td, $J = 7,7, 1,7$ Hz, 1H), 7,82 - 7,57 (m, 1H), 7,51 - 7,21 (m, 2H), 7,00 (dd, $J = 19,2, 8,8$ Hz, 2H), 3,87 (s, 3H), 3,83 - 3,69 (m, 4H), 3,06 - 2,89 (m, 4H). $^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6): 167,6, 152, 143,2, 141,5, 140,4, 136,3, 129,9, 129,4, 129,3, 129,2, 125,1, 123,8, 120,5, 119, 117,9, 115, 114,3, 112,2, 110,4, 86, 66,9, 59,5, 56,8, 56,3, 51,9, 19. $^{19}\text{F-NMR}$ (DMSO- d_6): -109,53.

$\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{N}_3\text{O}_4\text{S}_2\text{F}$, MS (m/e) 424 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (100 %). HRMS (ESI+) m/z: $[\text{M}+\text{H}]^+$ ber. für $\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{N}_3\text{O}_4\text{S}_2\text{FH}$ 424,0800; gefunden 424,0798.

4-(2-Fluorphenyl)-*N*-(4-methoxy-7-morpholinobenzo[d]thiazol-2-yl)piperazin-1-carboxamid **12**

Eine Lösung aus Phenyl-4-methoxy-7-morpholinobenzothiazol-2-ylcarbammat **7** (385 mg, 1 mmol), 2-Fluorphenylpiperazin (1 mmol, 180 mg) und DBU (153 μ L) in THF (15 mL) wird bei RT 2 h gerührt. Das Lösungsmittel wird entfernt und das Rückstand mittels Flash-Chromatographie (Hex/EE, 60/40) gereinigt und als farbloser Feststoff erhalten (nach [177,178]).

Ausbeute: 360 mg (0,76 mmol; 76 %)

Smp.: 198,3 °C unter Zersetzung, farbloser Feststoff

DC: Hex/EE/, 60/40, R_f - Wert: 0,38.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): 9,28 (sbr, 1H), 7,14 - 6,83 (m, 4H), 6,80 (s, 2H), 4,00 - 3,85 (m, 7H), 3,79 (s, 4H), 3,24 - 2,92 (m, 8H). $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3): 162,9, 158,2, 155,1, 153,3, 146,5, 140,5, 139,6, 139,4, 136, 126,3, 124,6, 124,5, 123,3, 123,1, 119,2, 119,1, 116,5, 116,1, 112,5, 107,4, 67,4, 55,9, 51,8, 50,4, 50,3, 44,2. $^{19}\text{F-NMR}$ (CDCl_3): -122,85.

$\text{C}_{23}\text{H}_{26}\text{N}_5\text{O}_3\text{SF}$, MS (m/e) 472 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (12 %). HRMS (ESI+) m/z: $[\text{M}+\text{H}]^+$ ber. für $\text{C}_{23}\text{H}_{26}\text{N}_5\text{O}_3\text{SFH}$ 472,1818; gefunden 472,1815.

4-(4-Fluorphenyl)-*N*-(4-methoxy-7-morpholinobenzo[d]thiazol-2-yl)piperazin-1-carboxamid **13**

Die Herstellung erfolgt analog der Synthese von **12** unter der Verwendung von 4-Fluorphenylpiperazin **16** (180 mg, 1 mmol). Das Produkt wird als cremefarbener Feststoff erhalten.

Ausbeute: 410 mg (0,87 mmol; 87 %)

Smp.: 190 °C unter Zersetzung, cremefarbener Feststoff

DC: Hex/EE/AcOH, 60/40/0,2, R_f - Wert: 0,23.

¹H-NMR (CDCl₃): 8,30 (s, 1H), 7,25 - 6,52 (m, 6H), 3,90 (s, 6H), 3,78 (s, 4H), 1,29 (s, 3H).

¹³C-NMR (CDCl₃): 160, 155,3, 147,5, 147,4, 140,6, 118,6, 118,5, 116, 115,5, 112,5, 107,4, 77,8, 77,1, 76,5, 67,4, 55,9, 51,8, 50,3, 44,1. ¹⁹F-NMR (CDCl₃): -123,15.

C₂₃H₂₆N₅O₃SF, MS (m/e) 472 [M+H]⁺ (100 %). HRMS (ESI+) m/z: [M+H]⁺ ber. für C₂₃H₂₆N₅O₃SFH 472,1818; gefunden 472,1817.

2-Fluorisonicotinsäurechlorid **14**

Zu einer Lösung bestehend aus 2-Fluorisonicotinsäure (250 mg, 1,77 mmol) in DCM (10 mL) und einigen Tropfen DMF wird bei RT Oxalylchlorid (468,1 µL, 5,31 mmol) hinzugegeben. Nach einer Reaktionszeit von 40 min wird das Lösungsmittel bei vermindertem Druck entfernt, und das Säurechlorid als orangefarbenes Öl erhalten. Dieses wird ohne weitere Aufreinigung direkt weiterverarbeitet.

Ausbeute: 150 mg (0,94 mmol; 53 %)

6-Fluorpicolinsäurechlorid **15**

Die Herstellung erfolgt analog der Synthese von **14** unter Verwendung von 6-Fluorpicolinsäure (250 mg, 1,77 mmol). Das gelborange Rohprodukt wird ohne weitere Aufreinigung direkt weiterverarbeitet.

Ausbeute: 200 mg (1,25 mmol; 71 %)

4-Fluorphenylpiperazin **16**

Zu einer Lösung aus Piperazin (22 g, 225 mmol) in *o*-Xylen (20 mL) werden der Reihenfolge nach 1-Brom-4-fluorbenzol (7,47 g, 43 mmol) in *o*-Xylen (20 mL), Natrium-*tert*-butanolat

(5,66 g, 58,9 mmol) in *o*-Xylen (20 mL) und Pd(II)-Acetat (0,2 mmol) als Katalysator gegeben. Nach 20 min Spülen mit Argon wird Tri-*tert*-butylphosphin (250 µL, 1 mmol) hinzugegeben. Das Reaktionsgemisch wird für 3 h auf 120 °C erhitzt. Nach der Zugabe von Wasser und Abkühlen auf Raumtemperatur werden die Phasen getrennt, die anorganische Phase mit *o*-Xylen (40 mL) extrahiert, die vereinten organischen Phasen über Na₂SO₄ getrocknet und das Lösungsmittel bei vermindertem Druck entfernt. Bei dem Produkt handelt es sich um ein braunes Öl (nach [148]).

Ausbeute: 7,75 g (43 mmol; 100 %)

¹³C-NMR (CDCl₃): 159,6, 154,8, 148,5, 148,5, 136,5, 129,6, 125,8, 118,1, 118, 117,9, 115,7, 115,3, 51,3, 46,1, 29,1, 19,7. ¹⁹F-NMR (CDCl₃): -124,52.

C₁₀H₁₃N₂F, MS (m/e) 181 [M+H]⁺ (100 %).

4-Hydroxy-*N*-(4-methoxy-7-morpholinobenzothiazol-2-yl)-4-methylpiperidin-1-carboxamid (Tozadenant) **17**

Eine Lösung von Phenyl-4-methoxy-7-morpholinobenzothiazol-2-ylcarbammat **7** (1,07 g, 2,8 mmol) und 4-Methylpiperidin-4-ol (650 mg, 5,6 mmol) in DCE (30 mL) wird bei 40 °C für 2,5 h gerührt. Nach Entfernen des Lösungsmittels lässt sich das Produkt als weiß-beiger Feststoff aus wenig MeOH durch die Zugabe von EE fällen.

Ausbeute: 680 mg (1,7 mmol; 61 %)

Smp.: 215,4 °C unter Zersetzung, weiß-beiger Feststoff

DC: EE/MeOH/AcOH, 98/2/0,2, Rf - Wert: 0,37; Hex/EE/AcOH 60/40/0,2, Rf - Wert: 0,67.

¹H-NMR (CDCl₃): 6,84 - 6,64 (m, 2H), 3,99 - 3,71 (m, 9H), 3,32 (t, *J* = 11,1 Hz, 2H), 3,01 (d, *J* = 4,7 Hz, 4H), 1,50 (d, *J* = 11,2 Hz, 4H), 1,17 (s, 3H). ¹³C-NMR (CDCl₃): 161,2, 154,2, 147,5, 140,1, 138,6, 126,7, 111,9, 107,5, 67,1, 66,6, 57,55,9, 51,8, 40,7, 38,5, 30,2, 18,7.

C₁₉H₂₆N₄O₄S, MS (m/e) 407 [M+H]⁺ (100 %). HRMS (ESI+) *m/z*: [M+H]⁺ ber. für C₁₉H₂₆N₄O₄SH 407,1743; gefunden 407,1744.

4-Fluor-4-(hydroxymethyl)-*N*-(4-methoxy-7-morpholinobenzothiazol-2-yl)piperidin-1-carboxamid **18**

Eine Lösung aus Phenyl-4-methoxy-7-morpholinobenzothiazol-2-ylcarbammat **7** (501 mg, 1,3 mmol) und (4-Fluorpiperidin-4-yl)-methanol (186,42 mg, 1,4 mmol) in DMSO (12 mL) wird für 2 h bei RT, 1,5 h bei 40 °C, 1 h bei 60 °C, 1 h bei 80 °C und 1 h bei 100 °C gerührt. Nach Abkühlen auf RT wird 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en (DBU) (153 µL, 1 mmol) hinzugegeben und für weitere 30 min gerührt. Nach Verdünnen mit EE (60 mL) wird mit

Wasser (2 x), mit 1 N HCl, erneut mit Wasser, 1 N NaOH und ges. NaCl-Lösung gewaschen bevor über Na₂SO₄ getrocknet wird. Nach Entfernen des Lösungsmittels unter vermindertem Druck lässt sich das Produkt als cremefarbener Feststoff aus EtOH umkristallisieren.

Ausbeute: 310 mg (0,56 mmol; 56 %)

Smp.: 226,6 °C unter Zersetzung, cremefarbener Feststoff

DC: EE/MeOH/AcOH, 98/2/0,2, Rf - Wert: 0,46.

¹H-NMR (CDCl₃): 11,50 (s, 1H), 6,95 - 6,70 (m, 2H), 5,04 (t, *J* = 5,9 Hz, 1H), 4,12 (d, *J* = 13,6 Hz, 2H), 4,00 - 3,61 (m, 7H), 3,62 - 3,28 (m, 3H), 3,28 - 2,80 (m, 6H), 1,56 (t, *J* = 11,8 Hz, 4H).

¹³C-NMR (CDCl₃): 157,8, 140,4, 129,8, 115,7, 112,3, 108,4, 9,8, 93,4, 67,01, 66,8, 66,3, 56,3, 51,9, 40,1, 31,7, 31,3. ¹⁹F-NMR (CDCl₃): -164,84.

C₁₉H₂₅N₄O₄SF, MS (m/e) 425[M+H]⁺ (100 %). HRMS (ESI+) m/z: [M+H]⁺ ber. für C₁₉H₂₅N₄O₄SFH 425,1659; gefunden 425,1650.

4-(Fluormethyl)-4-hydroxy-*N*-(4-methoxy-7-morpholinobenzo[d]thiazol-2-yl)piperidin-1-carboxamid **19**

Ein Gemisch aus (771 mg, 2 mmol) Phenyl-4-methoxy-7-morpholinobenzothiazol-2-ylcarbammat **7**, 4-Fluormethyl-4-hydroxypiperidin Hydrochlorid (475 mg, 2,8 mmol) und DBU (826 µL, 5,4 mmol) in DMSO (25 mL) wird für 4 h bei RT gerührt. Die Lösung wird mit EE (50 mL) verdünnt und mit gesättigter NaHCO₃-Lösung basisch gestellt, zweimal mit Wasser (2 x 40 mL) gewaschen und über Na₂SO₄ getrocknet. Die weitere Aufreinigung erfolgt via Flash-Chromatographie (Hex/EE, 30/70) um das Produkt als weißen Feststoff zu erhalten.

Ausbeute: 848 mg (1,9 mmol; 99 %)

Smp.: 211,4 °C unter Zersetzung, weißer Feststoff

DC: Hex/EE, 30/70, Rf - Wert: 0,19,

UV/Vis: λ_{max} = 257,60 nm und 273,60 nm

¹H-NMR (CDCl₃): 11,42 (s, 1H), 6,83 (dd, *J* = 17,8, 8,3 Hz, 2H), 4,91 (s, 1H), 4,32 (s, 1H), 4,08 (s, 3H), 3,82 (d, *J* = 15,6 Hz, 7H), 3,11 (d, *J* = 43,8 Hz, 7H), 1,51 (s, 4H). ¹³C-NMR (CDCl₃): 160,8, 154,3, 147,7, 140,4, 129,8, 126,5, 115,7, 112,2, 108,4, 91,4, 88, 68,3, 67,9, 67, 56,3, 51,9, 39,8, 32,5, 21,2, 14,5. ¹⁹F-NMR (CDCl₃): -227,60.

C₁₉H₂₅N₄O₄SF, MS (m/e) 425 [M+H]⁺ (100 %). HRMS (ESI+) m/z: [M+H]⁺ ber. für C₁₉H₂₅N₄O₄SFH 452,1659; gefunden 425,1650.

1-Benzyl-4-methylpiperidin-4-ol **20**

Zu einer 3 M etherischen Lösung von Methylmagnesiumbromid (66 mL, 158 mmol) wird langsam eine Lösung von 1-Benzyl-4-methylpiperidin-4-on (45 g, 79 mmol) in trockenem THF (150 mL) bei -15 °C zugetropft. Nach zweistündigem Rühren bei -15 °C wird über Nacht RT erreicht. Nun wird langsam mit ges. NH₄Cl-Lösung (100 mL) gequencht und das THF unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wird in 250 mL EE aufgenommen, mit ges. NaHCO₃ (250 mL), Wasser und ges. NaCl-Lösung gewaschen und anschließend über Na₂SO₄ getrocknet. Nach dem Entfernen des Lösungsmittel bei vermindertem Druck wird das Produkt als gelb-braunes Öl erhalten (nach [150]).

Ausbeute: 15,95 g (77,69 mmol; 98 %)

DC: Hex/EE/AcOH, 60/40/0,2, R_f - Wert: 0,28.

¹H-NMR (CDCl₃): 7,50 - 7,12 (m, 6H), 3,57 (s, 2H), 2,70 - 2,31 (m, 4H), 1,85 - 1,38 (m, 5H), 1,27 (s, 3H).

4-Methylpiperidin-4-ol **21**

1-Benzyl-4-methylpiperidin-4-ol **20** (2,24 g, 10,91 mmol) wird mit 1 g Pd(OH)₂/C in MeOH (20 mL) über Nacht unter einer Wasserstoffatmosphäre gerührt. Nach Filtration durch Celite und Waschen mit MeOH wird das Lösungsmittel bei vermindertem Druck entfernt und das Produkt als farbloses Öl erhalten.

Ausbeute: 1,2 g (10,42 mmol; 96 %)

¹H-NMR (CDCl₃): 5,34 (sbr, 1H), 2,79 (dd, *J* = 12,9, 2,4 Hz, 6H), 1,56 (dd, *J* = 6,5, 4,9 Hz, 4H), 1,23 (d, *J* = 2,8 Hz, 3H).

C₆H₁₃NO, MS (*m/e*) 116 [M+H]⁺ (100 %).

N-Boc-4-methylenpiperidin **22**

Eine Lösung aus Methyltriphenylphosphoniumbromid (13,5 g, 37,5 mmol) in THF (250 mL) wird zunächst auf eine Temperatur von -75 °C gekühlt bevor eine BuLi-Lösung (1,6 M in Hexan, 23,5 mL) vorsichtig hinzuge tropft wird. Nach 2 h bei -78 °C wird *N*-Boc-piperidon (5 g, 25 mmol) gelöst in THF (5-10 mL) hinzugegeben. Die Mischung wird über Nacht gerührt wobei sie RT erreicht. Nach dem Entfernen des Lösungsmittels wird der Rückstand in EE aufgenommen, mit Wasser und ges. NaCl-Lösung gewaschen und über Na₂SO₄ getrocknet, bevor das Lösungsmittel erneut bei vermindertem Druck entfernt wird. Das Rohprodukt wird

mittels Flash-Chromatographie (Hex/EE, 90/10) gereinigt und das Produkt als farbloses Öl erhalten (nach [151]).

Ausbeute: 4,5 g (25 mmol; 100 %)

DC: Hex/EE/AcOH, 90/10/0,2, Rf - Wert: 0,43; Hex/EE/AcOH, 60/40/0,2, Rf - Wert: 0,9.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): 4,77 (s, 2H), 3,53 - 3,36 (m, 4H), 2,29 - 2,09 (m, 4H), 1,50 (s, 10H). $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3): 154,7, 145,4, 109, 79,5, 45,5, 34,5, 28,5, $\text{C}_7\text{H}_{10}\text{N}$, MS (m/e) 198 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (100 %).

N-Boc-4-hydroxy-4-(hydroxymethyl)piperidin **23**

N-Boc-4-methylenpiperidin **22** (3,1 g, 15,7 mmol) wird in einer Lösung aus THF/ H_2O 1:1 (70 mL) gelöst und auf 0 °C gekühlt, bevor *N*-Methylmorpholin-*N*-oxid (NMO) (5,63 g, 48,1 mmol) und eine wässrige OsO_4 -Lösung (4 %ig, 1,57 mL) hinzugegeben werden. Nach 2,5 h bei 0 °C wird die Reaktion durch Zugabe von Na_2SO_3 beendet und mit EE verdünnt. Die organische Phase wird mit Wasser und ges. NaCl-Lösung gewaschen bevor sie über Na_2SO_4 getrocknet wird. Das Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck entfernt (nach [152]).

Ausbeute: 3,1 mg (13,5 mmol; 86 %)

Smp.: 84,5 °C unter Zersetzung, farbloser Feststoff

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): 3,77 (d, $J = 13,3$ Hz, 2H), 3,40 (s, 2H), 3,13 (dd, $J = 17,4, 7,0$ Hz, 2H), 1,64 - 1,50 (m, 2H), 1,43 (s, 9H). $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3): 155, 79,7, 79,66, 70,2, 70, 39,5, 33,3, 28,4.

$\text{C}_7\text{H}_{12}\text{O}_2\text{N}$, MS (m/e) 232 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (100 %).

1,1-Dimethylethyl-1,3-dioxa-2-thia-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat-2-oxid **24**

Zu einer auf 0 °C gekühlten Lösung von *N*-Boc-4-hydroxy-4-(hydroxymethyl)piperidin **23** (694 mg, 3 mmol) und TEA (1,68 mL, 12 mmol) in DCM (10 mL) tropft wird über 5 min eine Lösung von Thionylchlorid (330 μL , 4,5 mmol) in DCM (650 μL) hinzuge tropft. Nach 10 min wird die Lösung mit EtOEt (10 mL) verdünnt, mit 25 mL kaltem Wasser gewaschen, nochmals mit EtOEt (10 mL) verdünnt und zweimal mit kalter ges. NaCl-Lösung gewaschen. Nach dem Entfernen des Lösungsmittel wird das Produkt als oranger Feststoff erhalten (nach [154]).

Ausbeute: 800 mg (2,88 mmol; 96 %)

Smp.: 78,5 °C unter Zersetzung, oranger Feststoff

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): 4,36 (dd, $J = 47,9, 8,7$ Hz, 2H), 3,90 (s, 2H), 3,46 - 3,05 (m, 2H), 2,28 - 1,58 (m, 4H), 1,57 - 1,41 (m, 9H). $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3): 154,5, 88,4, 80,04, 80,04, 80,02, 80,01, 74,8, 40,7, 40,1, 35,4, 35,2, 28,4, 28,4, 8,6.

$\text{C}_{11}\text{H}_{19}\text{NO}_5\text{S}$, MS (m/e) 278 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (27 %).

1,1-Dimethylethyl-1,3-dioxa-2-thia-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat-2,2-dioxid **25**

1,1-Dimethylethyl-1,3-dioxa-2-thia-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat-2-oxid **24** (440 mg, 1,5 mmol) werden in einem Gemisch aus CCl_4 (10 mL) und ACN (10 mL) gelöst und auf 0°C gekühlt. Zusätzlich werden 7,5 mL kaltes Wasser zugegeben. Unter intensiven Rühren der Lösung werden $\text{RuCl}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (1,73 mg, 0,0075 mmol) und NaIO_4 (645 mg, 3 mmol) hinzugegeben und nach 45 min mit 20 mL EtOEt verdünnt. Die Phasen werden getrennt und die wässrige Phase wird zweimal mit EtOEt (2 x 20 mL) extrahiert. Die vereinten organischen Phasen werden zweimal mit 20 mL einer ges. NaCl-Lösung gewaschen und über Na_2SO_4 getrocknet. Nach dem Entfernen des Lösungsmittels wird das Produkt als farblose Plättchen erhalten (nach [154]).

Ausbeute: 426 mg (1,45 mmol; 97 %)

Smp.: $207,8^\circ\text{C}$ unter Zersetzung, farbloser Feststoff

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): 4,45 (s, 2H), 4,04 (d, $J = 14,0$ Hz, 2H), 3,30 - 3,05 (m, 2H), 2,30 - 2,12 (m, 2H), 1,90 - 1,63 (m, 2H), 1,48 (s, 9H). $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3): 154,3, 89,7, 80,4, 76,6, 39,7, 34,1, 28,4.

$\text{C}_{11}\text{H}_{19}\text{NO}_5\text{S}$, MS (m/e) 294 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (28 %).

1-Benzyl-4-methylenpiperidin **27**

Die Reaktion wird analog zur Synthese von *N*-Boc-4-methylenpiperidin **22** durchgeführt. Nach Reinigung mittels Flash-Chromatographie ließ sich das Produkt als braunes Öl erhalten (nach [151]).

Ausbeute: 4,24 g (22,64 mmol; 91 %)

DC: Hex/EE/AcOH, 60/40/0,2, R_f - Wert: 0,88.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): 7,45 - 7,24 (m, 5H), 4,76 - 4,63 (m, 2H), 3,58 (s, 2H), 2,60 - 2,43 (m, 4H), 2,30 (dd, $J = 8,1, 3,4$ Hz, 4H). $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3): 146,6, 138,4, 129,2, 128,2, 128,2, 127,1, 107,7, 62,9, 55, 34,6.

$\text{C}_{13}\text{H}_{17}\text{N}$, MS (m/e) 188 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (100 %).

1-Benzyl-4-hydroxymethylpiperidin-4-ol **28**

Eine Lösung aus AD-Mix- α (27,77 g, Aldrich 39275-8) in Wasser (70 mL) und *tert*-BuOH (42 mL) wird für 20 min bei RT gerührt. Nach Kühlen auf 0 °C werden Methansulfonsäureamid (1,9 g, 20 mmol) und 1-Benzyl-4-methylenpiperidin **27** (3,75 g, 20 mmol) zugegeben. Nach dem Entfernen des Kältebads wird für weitere 22 h bei RT gerührt. Es wird mit EE (280 mL) verdünnt, mit ges. NaHCO₃-Lösung (70 mL) gewaschen und die organische Phase wird über Na₂SO₄ getrocknet. Nach dem Entfernen des Lösungsmittels wird das Produkt in wenig EE (20 mL) aufgenommen, auf Aluminiumoxid (45 g) fixiert und mit MeOH eluiert. Nach Entfernen des Lösungsmittels wird das Produkt als braunes Harz erhalten (nach [157]).

Ausbeute: 4,46 mg (20,2 mmol; 100 %)

DC: DCM/MeOH, 80/20, Rf - Wert: 0,68; Alox: DCM/MeOH, 80/20, Rf - Wert: 0,92.

¹H-NMR (CDCl₃): 7,39 - 7,13 (m, 5H), 4,11 (sbr, 2H), 3,57 (s, 2H), 3,41 - 3,30 (m, 2H), 2,73 - 2,54 (d, *J* = 11,5 Hz, 2H), 2,54 - 2,30 (m, 2H), 1,86 - 1,46 (m, 4H). ¹³C-NMR (CDCl₃): 136,8, 129,7, 128,4, 127,5, 69,9, 69,6, 62,9, 50,2, 49, 43,3, 33,1.

C₁₃H₁₉O₂N, MS (m/e) 222 [M+H]⁺ (100 %).

Benzyl-1,3-dioxa-2-thia-8-azaspiro[4.5]decan-2-oxid **29**

Die Herstellung erfolgt analog zur Synthese von **24** unter der Verwendung von 1-Benzyl-4-hydroxymethylenpiperidin-4-ol (442,5 mg, 2 mmol). Das Produkt ist ein wachsartiger beiger Feststoff.

Ausbeute: 410 mg (1,53 mmol; 77 %)

¹H-NMR (CDCl₃): 7,47 - 7,18 (m, 5H), 4,35 (ddd, *J* = 44,1, 8,6, 0,7 Hz, 2H), 3,57 (s, 2H), 2,73 - 2,49 (m, 4H), 2,32 - 1,97 (m, 2H), 1,96 - 1,59 (m, 2H). ¹³C-NMR (CDCl₃): 138,2, 129,1, 129, 128,4, 128,3, 128,3, 127,2, 88,9, 74,5, 62,8, 50,3, 49,8, 35,8, 35,4.

C₁₃H₁₇O₃NS, MS (m/e) 268 [M+H]⁺ (100 %).

Benzyl-1,3-dioxa-2-thia-8-azaspiro[4.5]decan-2,2-dioxid **30**

Die Herstellung erfolgt analog zur Synthese von **25** unter der Verwendung von Benzyl-1,3-dioxa-2-thia-8-azaspiro[4.5]decan-2-oxid **29** (410 mg, 1,53 mmol). Das Produkt ist ein gelbes Öl.

Ausbeute: 66,5 mg (0,24 mmol; 16 %)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): 10,68 (s, 2H), 9,27 (s, 2H), 7,35 (d, $J = 8,0$ Hz, 2H), 6,89 (d, $J = 8,7$ Hz, 2H), 3,69 (s, 4H), 3,54 (s, 4H). $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3): 156,8, 151,7, 150,2, 144,4, 121,6, 119,2, 116,7, 116,1, 50,4, 46,8, 43,1.

$\text{C}_{13}\text{H}_{17}\text{NO}_4\text{S}$, MS (m/e) 284 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (11 %).

Benzyl 1-Oxa-6-azaspiro[2,5]octan-6-carboxylat **33**

NaH (60 % in Mineralöl, 1 g, 25 mmol) wird portionsweise zu einer auf 0 °C gekühlten Lösung von Trimethylsulfoniumiodid (3,3 g, 15 mmol) in DMSO (50 mL) gegeben. Das Eisbad wird entfernt und die Lösung für weitere 40 min bei RT gerührt. Nach Zugabe von 1-(Benzyloxycarbonyl)-4-Piperidon (2,33g, 10 mmol) wird das Gemisch für 2 h auf 55 °C erwärmt, auf RT abgekühlt und auf Eis gegossen. Das Produkt wird in EE extrahiert, mit Wasser gewaschen und über Na_2SO_4 getrocknet. Nach Entfernen des Lösungsmittels bei vermindertem Druck erfolgt die weitere Aufreinigung mittels Flash-Chromatographie (Hex/EE, 70/30). Das Produkt wird als farbloses Öl erhalten (nach [179]).

Ausbeute: 1,5 g (6,06 mmol; 61 %)

DC: Hex/EE, 70/30, Rf - Wert: 0,38.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): 7,48 - 7,27 (m, 5H), 5,18 (d, $J = 0,6$ Hz, 2H), 3,98 - 3,76 (m, 2H), 3,52 (ddd, $J = 13,3, 9,6, 3,7$ Hz, 2H), 2,64 (d, $J = 9,1$ Hz, 1H), 1,98 - 1,74 (m, 2H), 1,50 (dd, $J = 11,6, 6,7$ Hz, 2H). $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3): 155,2, 141,2, 138,1, 136,7, 128,5, 128,5, 128,5, 128,4, 128,4, 128,1, 128, 127,9, 127,9, 127,8, 127,8, 127,6, 127,5, 126,9, 73,2, 67,2, 65,2, 56,9, 53,7, 49,5, 42,7, 39,5, 32,9.

$\text{C}_{14}\text{H}_{17}\text{O}_3\text{N}$, MS (m/e) 270,00 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (100 %). HRMS (ESI+) m/z: $[\text{M}+\text{H}]^+$ ber. für $\text{C}_{14}\text{H}_{17}\text{O}_3\text{NH}$ 248,1286; gefunden 248,1280.

Benzyl-4-(fluormethyl)-4-hydroxypiperidin-1-carboxylat **34**

Kaliumhydrogenfluorid (640 mg, 8,2 mmol), Tetrabutylammoniumdihydrogenfluorid (122 mg) und Benzyl-1-oxa-6-azaspiro[2,5]octan-6-carboxylat **33** (1 g, 4,11 mmol) werden zusammen in einem druckfesten Gefäß für 7 h auf 120 °C erhitzt. Nach Abkühlen auf RT wird mit DCM verdünnt, über Celite filtriert und anschließend das Lösungsmittel bei vermindertem Druck entfernt. Weitere Aufreinigung erfolgt mittels Flash-Chromatographie (Hex/EE, 70/30) (nach [161]).

Ausbeute: 840 mg (3,14 mmol; 77 %)

Smp.: 70,4 °C, unter Zersetzung, farbloser Feststoff

DC: Hex/EE/AcOH, 60/40/0,2, Rf - Wert: 0,45.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): 7,49 - 7,26 (m, 5H), 5,16 (s, H), 4,35 (s, 1H), 4,23 - 3,85 (m, 3H), 3,38 - 3,07 (m, 2H), 2,38 (s, 1H), 1,73 - 1,41 (m, 4H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3): 171,3, 155,3, 136,7, 128,5, 128,1, 127,9, 91,5, 88, 69,3, 68,9, 67,2, 60,5, 39,3, 32,4, 32,3, 21,1, 14,2. $^{19}\text{F-NMR}$ (CDCl_3): -231,11.

$\text{C}_{14}\text{H}_{18}\text{NO}_3\text{F}$, MS (m/e) 268 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (100 %). HRMS (ESI+) m/z: $[\text{M}+\text{H}]^+$ ber. für $\text{C}_{14}\text{H}_{18}\text{NO}_3\text{FH}$ 268,1349; gefunden 268,1342.

Benzyl-4-(fluormethyl)-4-(tetrahydro-2H-pyran-2-yloxy)piperidin-1-carboxylat **35**

Die Herstellung erfolgt analog der Synthese von **38** unter der Verwendung von Benzyl-4-(fluormethyl)-4-hydroxypiperidin-1-carboxylat **34** (401 mg, 1,5 mmol). Das Produkt ist ein farbloses Öl.

Ausbeute: 400 mg (1,14 mmol; 76 %)

DC: Hex/EE/AcOH, 60/40/0,2, Rf - Wert: 0,82.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): 7,59 - 7,08 (m, 5H), 5,16 (s, 2H), 4,89 (dd, $J = 4,7, 2,7$ Hz, 1H), 4,50 (dd, $J = 20,6, 9,8$ Hz, 1H), 4,37 - 4,19 (m, 1H), 4,11 - 3,81 (m, 3H), 3,52 (dd, $J = 11,4, 5,4$ Hz, 1H), 3,23 (dt, $J = 25,2, 11,9$ Hz, 2H), 1,98 - 1,42 (m, 10H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3): 155,3, 155,2, 144,1, 136,8, 136,8, 128,5, 128,4, 128, 127,9, 127,8, 127,8, 100,7, 98,5, 94,6, 93,8, 91,5, 89,1, 88, 85,6, 74,3, 73,9, 69,2, 68,8, 67,1, 67, 65,7, 63,3, 62,9, 39,5, 39,4, 39,3, 32,3, 31,9, 31,6, 30,9, 30,7, 29,6, 25,5, 25,4, 25,3, 22,8, 21, 20,2, 19,8, 19,5, 19,1. $^{19}\text{F-NMR}$ (CDCl_3): -227,93.

$\text{C}_{19}\text{H}_{26}\text{NO}_4\text{F}$, MS (m/e) 352 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (76 %).

Benzyl-4-hydroxy-4-(hydroxymethyl)piperidin-1-carboxylat **36**

Benzyl-1-oxa-6-azaspiro[2,5]octan-6-carboxylat **33** (977 mg, 4 mmol) wird in 0,02 N HCl (18 mL) für 1 h. auf 50 °C erwärmt. Nach Abkühlung auf RT wird mit 2 N NaOH-Lösung der pH-Wert neutral eingestellt. Die wässrige Phase wird dreimal mit DCM extrahiert und die vereinten organischen Phasen werden zunächst mit ges. NaCl-Lösung gewaschen und anschließend über Na_2SO_4 getrocknet. Nach Entfernen des Lösungsmittels bei vermindertem Druck wird das Produkt als farbloses Öl erhalten.

Ausbeute: 900 mg (3,4 mmol; 85 %)

DC: Hex/EE, 60/40, Rf - Wert: 0,1; Hex/EE/AcOH, 30/70/0,2, Rf - Wert: 0,41.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): 7,53 - 7,08 (m, 5H), 5,15 (s, 2H), 4,16 - 3,74 (m, 2H), 3,45 (s, 2H), 3,28 (t, J = 10,8 Hz, 2H), 2,80 (s, 2H), 2,02 - 1,13 (m, 4H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3): 155,40, 136,72, 128,57, 128,54, 128,06, 127,90, 127,83, 70,30, 69,89, 67,18, 57,03, 53,48, 42,69, 39,80, 33,36.

$\text{C}_{14}\text{H}_{19}\text{NO}_4$, MS (m/e) 266 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (100 %). HRMS (ESI+) m/z: $[\text{M}+\text{H}]^+$ ber. für $\text{C}_{14}\text{H}_{19}\text{NO}_4\text{H}$ 266,1392; gefunden 266,1387.

Benzyl-4-hydroxy-4-((methylsulfonyloxy)methyl)piperidin-1-carboxylat **37**

Methansulfonylchlorid (185,76 μL , 2,4 mmol) wird langsam zu einer auf 0 °C gekühlten Lösung von Benzyl-4-hydroxy-4-(hydroxymethyl)piperidin-1-carboxylat **36** (530,6 g, 2 mmol) und Triethylamin (TEA) (418,2 μL , 3 mmol) in DCM (30 mL) getropft. Nach 10-minütigem Rühren wird die organische Phase mit ges. NH_4Cl -Lösung gewaschen und die wässrige Phase zweimal mit DCM reextrahiert. Die vereinten organischen Lösungen werden mit ges. NaHCO_3 - (30 mL) und ges. NaCl -Lösung (30 mL) gewaschen und über Na_2SO_4 getrocknet. Nach Entfernen des Lösungsmittels bei vermindertem Druck erfolgt die weitere Aufreinigung mittels Flash-Chromatographie (Hex/EE, 50/50). Das Produkt wird als farbloses Öl erhalten.

Ausbeute: 550 mg (1,6 mmol; 81 %)

DC: Hex/EE/AcOH, 30/70/0,2, Rf - Wert: 0,48.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): 7,53 - 7,08 (m, 5H), 5,13 (s, 2H), 4,05 (s, 3H), 3,36 - 3,07 (m, 3H), 3,16 (s, 3H), 3,04 (s, 1H), 1,79 - 1,38 (m, 4H). $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3): 155,3, 136,6, 128,5, 128,1, 127,8, 127, 68,5, 67,2, 39,3, 37,3, 32,9, 21,1.

$\text{C}_{15}\text{H}_{21}\text{NO}_6\text{S}$, MS (m/e) 344 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (97 %).

Benzyl-4-((methylsulfonyloxy)methyl)-4-(tetrahydro-2H-pyran-2-yloxy)piperidin-1-carboxylat **38**

Eine Lösung aus Benzyl-4-hydroxy-4-((methylsulfonyloxy)methyl)piperidin-1-carboxylat **37** (401 mg, 1,5 mmol), DHP (127 μL , 1,4 mmol) und Pyridin-3-sulfonsäure (PPTS) (23,25 mg, 0,093 mmol) in DCM (6,5 mL) wird für 24 h bei RT gerührt. Nach Verdünnen mit DCM wird die organische Phase mit halb.-ges. NaCl -Lösung gewaschen und über Na_2SO_4 getrocknet. Nach Entfernen des Lösungsmittels unter vermindertem Druck erfolgt die weitere Aufreinigung mittels Flash-Chromatographie (Hex/EE, 30/70) wird das Produkt als farbloses Öl erhalten.

Ausbeute: 160 mg (0,5 mmol; 53 %)

DC: Hex/EE, 30/70, Rf - Wert: 0,78.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): 7,49 - 7,22 (m, 5H), 5,14 (s, 2H), 4,90 (d, $J = 24,8$ Hz, 1H), 4,30 - 3,72 (m, 5H), 3,62 - 3,40 (m, 1H), 3,38 - 2,83 (m, 1H), 1,97 - 1,37 (m, 10H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3): 202,7, 155,2, 155,2, 144, 136,7, 128,5, 128,1, 127,9, 127,8, 100,8, 98,9, 98,5, 94,5, 93,8, 76,4, 73,6, 73,3, 68,6, 67,2, 67, 65,7, 63,5, 63,3, 62,8, 62,4, 43,6, 39,4, 39,3, 39,2, 37,4, 37,2, 32,9, 31,7, 30,9, 30,6, 29,1, 25,4, 25,3, 25,1, 22,7, 21, 20,2, 19,8, 19,7, 19.

$\text{C}_{20}\text{H}_{29}\text{NO}_7\text{S}$, MS (m/e) 428 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (8 %).

Benzyl-4-(2-chloroacetoxy)-4-((methylsulfonyloxy)methyl)piperidin-1-carboxylat **39**

Benzyl-4-hydroxy-4-((methylsulfonyloxy)methyl)piperidin-1-carboxylat **37** (610 mg, 1,8 mmol) wird in einem Pyridin/ CH_2Cl_2 Gemisch (1/1, 50 mL) gelöst und auf 0 °C gekühlt. Nach der Zugabe von Chloressigsäureanhydrid (389 mg, 2,16 mmol) wird bei 0 °C gerührt, bis durch die DC-Kontrolle das Reaktionsende angezeigt wird. Nach Verdünnen mit CH_2Cl_2 wird mit 1 N HCl, ges. NaHCO_3 - und ges. NaCl-Lösung gewaschen. Nach Trocknen über Na_2SO_4 und Entfernen des Lösungsmittels erfolgt die weitere Aufreinigung durch Flash-Chromatographie und das Produkt als gelbes Öl erhalten (nach [162]).

Ausbeute: 60 mg (0,14 mmol; 8 %)

DC: Hex/EE, 50/50, R_f - Wert: 0,55.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): 7,44 - 7,19 (m, 5H), 5,13 (s, 2H), 4,55 (s, 2H), 4,24 - 3,84 (m, 4H), 3,33 - 2,82 (m, 5H), 2,33 (d, $J = 13,3$ Hz, 2H), 1,79 - 1,48 (m, 2H). $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3): 167,3, 166,6, 155,1, 136,5, 128,6, 128,6, 128,2, 128,1, 127,9, 80,8, 72,9, 70,4, 69, 67,4, 53,5, 41,4, 40,7, 39,3, 39, 37,6, 33,5, 30,9.

$\text{C}_{16}\text{H}_{22}\text{ClNO}_7\text{S}$, MS (m/e) 344 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (100 %).

Benzyl-4-acetoxy-4-((methylsulfonyloxy)methyl)piperidin-1-carboxylat **41**

Benzyl-4-hydroxy-4-((methylsulfonyloxy)methyl)piperidin-1-carboxylat **37** (400 mg, 1,16 mmol), Acetanhydrid (332 μL , 3,5 mmol) und DMAP (122,17 mg, 1 mmol) werden in einer 1:1 Lösung bestehend aus Pyridin und CH_2Cl_2 (15 mL) bei RT 24 h gerührt. Nach Verdünnen mit DCM wird mit 1 N HCl (80 mL) und ges. NaCl-Lösung gewaschen. Nach Trocknen über Na_2SO_4 und Entfernen des Lösungsmittels erfolgt die weitere Aufreinigung durch Flash-Chromatographie (Hex/EE, 40/60). Das Produkt ist ein farbloses Öl.

Ausbeute: 310 mg (0,71 mmol; 70 %)

DC: Hex/EE, 40/60, R_f - Wert: 0,65.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): 7,54 - 7,07 (m, 5H), 5,12 (s, 2H), 4,54 (s, 2H), 4,24 - 3,74 (m, 2H), 3,23 - 2,77 (m, 5H), 2,28 (d, $J = 13,1$ Hz, 2H), 2,06 (d, $J = 10,0$ Hz, 3H), 1,76 - 1,34 (m, 2H). $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3): 170,6, 155,2, 136,6, 128,6, 128,2, 128, 70,9, 67,4, 60,45, 39,1, 37,4, 31, 21,9.
 $\text{C}_{17}\text{H}_{23}\text{NO}_7\text{S}$, MS (m/e) 386 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (100 %).

Benzyl-4-hydroxy-4-((4-nitrophenylsulfonyloxy)methyl)piperidin-1-carboxylat **42**

Zu einer auf 0-5 °C gekühlten Lösung von Benzyl-4-hydroxy-4-(hydroxymethyl)piperidin-1-carboxylat **36** (530 mg, 2 mmol) und TEA (418 μL , 3 mmol) in DCM (4 mL) werden 4-Nitrobenzolsulfonsäurechlorid (443,24 mg, 2 mmol) und 10 mol% DMAP (24,43 mg, 0,2 mmol) gegeben. Nach 30 min ist die Reaktion abgeschlossen, nach Verdünnen mit DCM, wird sukzessive mit ges. NaHCO_3 -Lösung und ges. NaCl-Lösung gewaschen und anschließend über Na_2SO_4 getrocknet. Nach Entfernen des Lösungsmittels wird der Rückstand in EE aufgenommen und das Produkt mit Hexan gefällt. Nach Abfiltrieren und Trocknen wird ein farbloser Feststoff erhalten (nach [169]).

Ausbeute: 882 mg (1,96 mmol; 98 %)

Smp.: 137,9 °C unter Zersetzung, farbloser Feststoff

DC: Hex/EE, 50/50, R_f - Wert: 0,58; Hex/EE, 70/30, R_f - Wert: 0,11.

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO-d_6): 8,30 (dd, $J = 54,4, 9,0$ Hz, 4H), 7,46 - 7,14 (m, 5H), 5,02 (s, 3H), 3,90 (s, 2H), 3,73 (d, $J = 13,2$ Hz, 2H), 3,04 (s, 2H), 1,52 - 1,19 (m, 4H). $^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO-d_6): 154,77, 151,14, 140,90, 137,45, 129,96, 128,88, 128,27, 127,99, 125,39, 78,29, 67,74, 66,59, 39,45, 32,68.

$\text{C}_{20}\text{N}_{22}\text{O}_8\text{S}$, MS (m/e) 451 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (43 %).

Benzyl-4-((4-nitrophenylsulfonyloxy)methyl)-4-(tetrahydro-2H-pyran-2-yloxy)piperidin-1-carboxylat **44**

Die Herstellung erfolgt analog der Synthese von **38** unter der Verwendung von Benzyl-4-acetoxy-4-((4-nitrophenylsulfonyloxy)methyl)piperidin-1-carboxylat **42** (450 mg, 1 mmol). Das Produkt ist ein farbloses Öl erhalten. Da dieses säurelabil ist, wird DEA zur Stabilisierung hinzugegeben.

Ausbeute: 300 mg (0,56 mmol; 56 %)

DC: Hex/EE, 50/50, R_f - Wert: 0,85; Hex/EE, 70/30, R_f - Wert: 0,32.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): 8,19 (dd, $J = 57,7, 9,1$ Hz, 4H), 7,45 - 6,93 (m, 5H), 5,05 (s, 2H), 4,70 (s, 1H), 4,16 - 3,63 (m, 7H), 3,49 - 2,86 (m, 4H), 1,87 - 1,28 (m, 12H). $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3): 155, 154,9, 150,6, 143,8, 141,2, 141,1, 136,6, 136,5, 129,2, 128,3, 127,9, 127,8, 127,7, 127,6,

124,4, 124,3, 100,6, 98,3, 94,3, 93,6, 77,6, 74,6, 73,3, 68,2, 66,9, 65,5, 63,3, 63,2, 62,6, 62,1, 56,8, 53,6, 43,4, 42,5, 39,1, 39, 39, 32,7, 32,2, 31,5, 30,8, 30,5, 29,5, 25,3, 25,2, 25, 22,6, 19,9, 19,6, 19,5, 19,4, 19,3, 18,9.

C₂₅H₃₀N₂O₉S, MS (m/e) 535 [M+H]⁺ (65 %).

Benzyl-4-(tetrahydro-2*H*-pyran-2-yloxy)-4-(tosyloxymethyl)piperidin-1-carboxylat **46**

Tosylimidazol (267 mg, 1,2 mmol) und Methyltriflat (138,6 µL, 1,2 mmol) werden in THF (10 mL) 30 min bei 0 °C gerührt. Eine zweite Lösung, bestehend aus Benzyl-4-hydroxy-4-(hydroxy-methyl)piperidin-1-carboxylat (1 mmol) und Methylimidazol (1 mmol) in THF (5 mL), wird langsam bei 0 °C zugetropft. Nach dem Entfernen des Eisbads wird weitere 24 h bei RT gerührt. Nach Verdünnen mit Wasser (30 mL) wird mit EE extrahiert (3x30 mL). Die vereinten organischen Phasen werden mit ges. NaHCO₃-Lösung und ges. NaCl-Lösung gewaschen und anschließend über Na₂SO₄ getrocknet. Das Rohprodukt wird direkt weiterverarbeitet (nach [172]).

Rohausbeute: 450 mg

Benzyl-4-(tetrahydro-2*H*-pyran-2-yloxy)-4-(tosyloxymethyl)piperidin-1-carboxylat **47**

Die Herstellung erfolgt analog der Synthese von **38** unter Verwendung von Benzyl-4-(tetrahydro-2*H*-pyran-2-yloxy)-4-(tosyloxymethyl)piperidin-1-carboxylat (Rohprodukt, 450 mg). Alternativ zur PPTS werden mit 20 mol% Camphersulfonsäure (CSA) (55,7 mg, 0,24 mmol) verwendet. Nach 24 h bei RT wird sukzessiv mit ges. NaHCO₃-Lösung, ges. NaCl-Lösung und mit Wasser gewaschen, das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt wird. Das Produkt wird nach Flash-Chromatographie (Hex/EE, 80/20) als gelbes Öl erhalten.

Ausbeute: 180 mg (0,36 mmol; 36 %)

DC: Hex/EE, 80/20, R_f - Wert: 0,57.

¹H-NMR (CDCl₃): 7,74 (d, *J* = 8,2 Hz, 2H), 7,31 (s, 7H), 5,08 (s, 2H), 4,70 (s, 1H), 4,14 - 3,59 (m, 5H), 3,50 - 2,85 (m, 3H), 2,41 (s, 3H), 1,89 - 1,29 (m, 10H). ¹³C-NMR (CDCl₃): 155,2, 145,1, 136,8, 132,6, 129,9, 128,5, 128, 127,9, 127,8, 93,8, 73,6, 67,1, 63,4, 39,3, 32,1, 31,7, 25,2, 21,7, 20,1.

C₂₆H₃₃NO₇S, MS (m/e) 420 [M+H]⁺ (100 %) Fragment minus THP (85).

Benzyl-1,3-dioxa-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat **48**

Eine Mischung aus Benzyl-4-hydroxy-4-(hydroxymethyl)piperidin-1-carboxylat **36** (530 mg, 2 mmol), Paraformaldehyd (66 mg, 2,2 mmol), *p*-Toluolsulfonsäure (456 mg, 2,4 mmol) und Molekularsieb 4 Å (160 mg) in Benzol (20 mL) wird für 2 bis 3 Stunden zum Rückfluss erhitzt. Nach Abkühlen auf RT wird das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt, der Rückstand in EE aufgenommen und mit Wasser gewaschen. Nach Trocknen über Na₂SO₄ und Entfernen des Lösungsmittels bei vermindertem Druck erfolgt die weitere Aufreinigung mittels Flash-Chromatographie (Hex/EE, 70/30). Das Produkt wird als farbloses Öl erhalten.

Ausbeute: 500 mg (1,8 mmol; 90 %)

¹H-NMR (CDCl₃): 7,52 – 7,19 (m, 5H), 5,13 (s, 2H), 5,00 (s, 2H), 3,96 – 3,74 (m, 2H), 3,62 (s, 2H), 3,48 – 3,15 (m, 2H), 1,84 – 1,45 (m, 4H). ¹³C-NMR (CDCl₃): 155,3, 136,8, 128,6, 128,1, 127,9, 94,4, 74,7, 67,2, 41,1, 33,9.

C₁₅H₁₉NO₄, MS (m/e) 278 [M+H]⁺ (100 %). HRMS (ESI⁺) m/z: [M+H]⁺ ber. für C₁₅H₁₉NO₄H 278,1392; gefunden 278,1387.

Benzyl-1,3-dioxa-2-thia-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat-2-oxid **50**

Die Herstellung erfolgt analog der Synthese von **24** unter der Verwendung von Benzyl-4-hydroxy-4-(hydroxymethyl)piperidin-1-carboxylat **36** (376 mg, 1,45 mmol). Das Produkt ist ein oranges Öl.

Ausbeute: 430 mg (1,38 mmol; 97 %)

¹H-NMR (CDCl₃): 7,72 – 6,99 (m, 5H), 5,07 (s, 2H), 4,36 (dd, *J* = 49,6, 8,7 Hz, 2H), 4,15 – 3,88 (m, 2H), 3,71 – 3,01 (m, 2H), 2,34 – 0,70 (m, 5H). ¹³C-NMR (CDCl₃): 155,1, 136,5, 128,6, 128,5, 128,2, 128, 127,9, 88,1, 74,9, 69,1, 67,3, 40,9, 40,3, 39,7, 35,3, 35,1, 34,3, 1,1.

C₁₄H₁₇NO₅S, MS (m/e) 312 [M+H]⁺ (100 %).

Benzyl-1,3-dioxa-2-thia-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat-2,2-dioxid **51**

Die Herstellung erfolgt analog zur Synthese von **29** unter der Verwendung von Benzyl-1,3-dioxa-2-thia-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat-2-oxid **50** (430 mg, 1,38 mmol). Das Produkt ist ein leicht gelbes Öl.

Ausbeute: 290 mg (0,89 mmol; 63 %)

DC: Hex/EE/AcOH, 60/40/0,2, R_f - Wert: 0,6.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): 7,59 - 7,32 (m, 5H), 5,17 (s, 2H), 4,44 (s, 2H), 4,15 (dd, $J = 14,2, 7,0$ Hz, 2H), 3,25 (t, $J = 11,6$ Hz, 2H), 2,24 (d, $J = 13,0$ Hz, 2H), 1,92 - 1,63 (m, 2H). $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3): 154,9, 136,3, 128,6, 128,5, 128,3, 128,1, 127,9, 89,3, 76,6, 69,1, 67,6, 39,91, 34.
 $\text{C}_{14}\text{H}_{17}\text{NO}_6\text{S}$, MS (m/e) 328 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (100 %).

Benzyl-2,2-dimethyl-1,3-dioxa-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat **52**

Benzyl-4-hydroxy-4-(hydroxymethyl)piperidin-1-carboxylat **36** (265,31 mg, 1 mmol) und CSA (2,67 mg, 0,011 mmol) werden in 2,2-Dimethoxypropan (10 mL) gelöst und für 24 h bei RT gerührt. Die Reaktion durch Zugabe von TEA (250 μL) beendet, das Lösungsmittel wird entfernt und der Rückstand in Wasser aufgenommen und dreimal mit DCM (3 x 15 mL) extrahiert. Die vereinten organischen Phasen werden mit ges. NaHCO_3 -Lösung, Wasser, ges. NaCl -Lösung und mit Wasser gewaschen und über Na_2SO_4 getrocknet. Das Lösungsmittel wird bei vermindertem Druck entfernt und das Produkt wird als farbloses Öl erhalten(nach [180]).

Ausbeute: 280 mg (0,92 mmol; 92 %)

DC: Hex/EE/AcOH, 60/40/0,2, Rf - Wert: 0,72.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): 7,45 - 7,18 (m, 5H), 5,12 (s, 2H), 3,82 - 3,61 (m, 4H), 3,51 - 3,14 (m, 2H), 1,81 - 1,45 (m, 4H), 1,38 (s, 6H). $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3): 155,3, 136,8, 128,5, 128, 127,8, 126,9, 109,5, 78,4, 73,6, 67,1, 41,2, 35,6, 27,3.

$\text{C}_{17}\text{H}_{23}\text{NO}_4$, MS (m/e) 306 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (46 %). HRMS (ESI+) m/z: $[\text{M}+\text{H}]^+$ ber. für $\text{C}_{17}\text{H}_{23}\text{NO}_4\text{H}$ 306,1705; gefunden 306,1698.

2,2-Dimethyl-1,3-dioxa-8-azaspiro[4.5]decan **53**

Eine Suspension von Benzyl-2,2-dimethyl-1,3-dioxa-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat **52** (2,81 g, 9,2 mmol) und Pd/C (10 %, 333 mg, 1 mmol) in MeOH (40 mL) wird über Nacht in einer Wasserstoffatmosphäre gerührt. Nach Filtrieren durch Celite und Waschen des Filterkuchens mit MeOH werden die vereinten Filtrate über Na_2SO_4 getrocknet, das Lösungsmittel entfernt und das Produkt als wachsartiger grauer Feststoff erhalten.

Ausbeute: 1,34 mg (7,83 mmol; 85 %)

DC: Hex/EE/AcOH, 60/40/0,2, Rf - Wert: 0,38.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): 4,30 (s_{br} , 1H), 3,75 (d, $J = 4,6$ Hz, 2H), 3,17 - 2,68 (m, 3H), 2,67 - 2,17 (m, 1H), 1,88 - 1,49 (m, 4H), 1,36 (s, 6H). $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3): 109,2, 108,8, 80,8, 79,5, 78,4, 73,6, 73,21, 49,3, 43,1, 36, 27,3.

C₉H₁₇NO₂, MS 172 (m/e) [M+H]⁺ (100 %). HRMS (ESI⁺) m/z: [M+H]⁺ ber. für C₉H₁₇NO₂H 172,1337; gefunden 172,1332.

N-(4-Methoxy-7-morpholinobenzothiazol-2-yl)-2,2-dimethyl-1,3-dioxo-8-azaspiro[4.5]-decan-8-carboxamid **54**

Eine Lösung von Phenyl-4-methoxy-7-morpholinobenzothiazol-2-ylcarbammat **7** (385,44 mg, 1 mmol) und 2,2-Dimethyl-1,3-dioxo-8-azaspiro[4.5]decan **53** (205 mg, 1,2 mmol) in DMSO (5 mL) wird 24 h bei 60 °C gerührt. Nach Abkühlen auf RT wird mit EE (30 mL) verdünnt, mit 10 mL Wasser, ges. NaHCO₃-Lösung und ges. NaCl-Lösung gewaschen und über Na₂SO₄ getrocknet. Das Lösungsmittel wird bei vermindertem Druck entfernt. Es wird ein braunes Harz erhalten, welches mittels Flash-Chromatographie (Hex/EE, 50/50) gereinigt wird. Das Produkt ist ein farbloser Feststoff (nach [177]).

Ausbeute: 282 mg (0,61 mmol; 61 %)

Smp.: 198,6 °C unter Zersetzung, farbloser Feststoff

DC: Hex/EE, 30/70, R_f - Wert: 0,46.

¹H-NMR (CDCl₃): 7,69 (s_{br}, 1H), 6,76 (s, 2H), 4,09 - 3,58 (m, 11H), 3,44 (t, *J* = 9,8 Hz, 2H), 3,19 - 2,89 (m, 4H), 1,88 - 1,47 (m, 4H), 1,37 (s, 6H).

¹³C-NMR (CDCl₃): 154,09, 146,85, 140,48, 112,39, 109,67, 107,28, 78,13, 73,66, 67,36, 55,93, 51,77, 41,55, 35,50, 27,23.

C₂₂H₃₀N₄O₅S, MS (m/e) 463 [M+H]⁺ (100 %). HRMS (ESI⁺) m/z: [M+H]⁺ ber. für C₂₂H₃₀N₄O₅SH 463,2015; gefunden 463,2007.

(*N*-(4-Methoxy-7-morpholinobenzothiazol-2-yl)-2,2-dimethyl-1,3-dioxo-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxamido)methylpivalat **55**

Zu einer Lösung von *N*-(4-Methoxy-7-morpholinobenzothiazol-2-yl)-2,2-dimethyl-1,3-dioxo-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxamid **54** (463 mg, 1 mmol) in DMF (20 mL) wird K₂CO₃ (207 mg, 1,5 mmol) gegeben, auf 60 °C erhitzt und für 30 min gerührt. Nun wird eine Lösung von (290 µL, 1,5 mmol) POM-Cl in DMF (500 µL) zugetropft. Nach 2 h bei 60 °C wird auf RT abgekühlt. Das Produkt wird durch Zugabe von Eis gefällt und wird in EE extrahiert. Die organische Phase wird mit 10 %iger Zitronensäure und zweimal mit Wasser gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet und das Lösungsmittel bei vermindertem Druck entfernt. Durch Umkristallisieren aus MeOH lässt sich das Produkt als farbloser Feststoff erhalten.

Ausbeute: 576,71 mg (1 mmol; 100 %)

Smp.: 207,1 °C unter Zersetzung, farbloser Feststoff

DC: Hex/EE/, 30/70, R_f - Wert: 0,69.

¹H-NMR (CDCl₃): 6,81 (s, 2H), 6,52 (s, 2H), 4,27 - 3,35 (m, 13H), 3,19 - 2,81 (m, 4H), 1,86 - 1,51 (m, 2H), 1,40 (s, 6H), 1,16 (s, 9H).

¹³C-NMR (CDCl₃): 177,8, 167,3, 160,9, 143,37, 140,8, 125,6, 123,1, 113,3, 110, 109,4, 78,9, 73,6, 69,8, 67,3, 56,4, 51,9, 39, 27,3, 27,1.

C₂₈H₄₀N₄O₇S, MS (m/e) 577 [M+H]⁺ (100 %). HRMS (ESI+) m/z: [M+H]⁺ ber. für C₂₈H₄₀N₄O₇SH 577,2696; gefunden 577,2688.

tert*-Butyl-(2,2-dimethyl-1,3-dioxa-8-azaspiro[4.5]decane-8-carbonyl)(4-methoxy-7-morpholinobenzothiazol-2-yl)carbamate **56*

Eine Lösung aus *N*-(4-Methoxy-7-morpholinobenzothiazol-2-yl)-2,2-dimethyl-1,3-dioxa-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxamid **54** (740 mg, 1,6 mmol) und DMAP (97,6 mg, 0,8 mmol) in trockenem THF (10 mL) wird auf 0-5 °C gekühlt. Nach Zugabe von TEA (443 µL, 3,2 mmol) wird 30 min bei 0-5 °C gerührt bevor eine Lösung von Di-*tert*-Butyldicarbonat (397,6 mg, 3,2 mmol) in THF (1 mL) zugetropft wird. Nach der Zugabe wird das Reaktionsgemisch langsam auf RT erwärmt, und anschließend für 24 h bei 80 °C gerührt. Nach Abkühlen auf RT wird mit Wasser (50 mL) versetzt und mit EE (3 x 50 mL) extrahiert. Die vereinten organischen Phasen werden mit ges. NaCl-Lösung gewaschen und über Na₂SO₄ getrocknet. Nach Entfernen des Lösungsmittels bei vermindertem Druck erfolgt die weitere Aufreinigung mittels Flash-Chromatographie (Hex/EE, 60/40). Das Produkt wird als farbloser Feststoff erhalten.

Ausbeute: 800 mg (1,42 mmol; 89 %)

Smp.: 90,9 °C unter Zersetzung, farbloser Feststoff

DC: Hex/EE, 50/50, R_f - Wert: 0,37.

¹H-NMR (CDCl₃): 6,91 - 6,69 (m, 2H), 4,00 - 3,68 (m, 9H), 3,56 - 3,36 (m, 3H), 3,15 - 2,96 (m, 4H), 1,89 (s, 4H), 1,69 - 1,46 (m, 10H), 1,38 (s, 6H). ¹³C-NMR (CDCl₃): 156,6, 150,5, 149,8, 148,9, 140,3, 139,9, 129, 113,3, 109,8, 108,5, 84,9, 78,2, 73,8, 67,4, 56,6, 51,9, 49,5, 28,1, 27,3, 27.

HRMS (ESI+) m/z: [M+H]⁺ ber. für C₂₇H₃₈N₄O₇SH 563,2539; gefunden 563,2530.

4-Hydroxy-4-(hydroxymethyl)-*N*-(4-methoxy-7-morpholinobenzo[d]thiazol-2-yl)-*N*-pivaloyloxymethylpiperidin-1-carboxamid **57**

2,8 mmol (1,62 g) (*N*-(4-Methoxy-7-morpholinobenzothiazol-2-yl)-2,2-dimethyl-1,3-dioxa-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxamido)methylpivalat werden zusammen mit 15 mol% CSA (0,42 mmol, 98 mg) in 10 ml MeOH gelöst und über Nacht auf 50 °C erwärmt. Nach Abkühlen auf RT wird mit 700 µL TEA gequench und das Lösungsmittel bei vermindertem Druck

entfernt. Weitere Aufreinigung erfolgt durch Flash-Chromatographie (EE/MeOH, 98/2). Das Produkt wird als farbloser Feststoff erhalten.

Ausbeute: 967 mg (1,8 mmol; 75 %)

Smp.: 107,9 °C unter Zersetzung, farbloser Feststoff

DC: EE/MeOH/AcOH, 98/2/0,2, R_f - Wert: 0,21.

¹H-NMR (CDCl₃): 6,76 (s, 2H), 6,45 (s, 2H), 4,25 (dd, *J* = 34,0, 11,8 Hz, 2H), 3,80 (s, 7H), 3,59 - 2,75 (m, 11H), 1,76 - 1,28 (m, 2H), 1,10 (s, 9H). ¹³C-NMR (CDCl₃): 177,8, 167,2, 160,9, 143,2, 140,8, 125,6, 122,9, 113,3, 110, 70,2, 69,8, 67,3, 56,3, 51,8, 40,5, 39, 33,9, 27.

C₂₅H₃₆N₄O₇S, MS (m/e) 538 [M+H]⁺ (100 %). HRMS (ESI+) m/z: [M+H]⁺ ber. für C₂₅H₃₆N₄O₇SH 537,2383; gefunden 537,2376.

tert-Butyl-(4-hydroxy-4-(hydroxymethyl)piperidin-1-carbonyl)(4-methoxy-7-morpholinobenzothiazol-2-yl)carbamat **58**

N-(4-Methoxy-7-morpholinobenzothiazol-2-yl)-4-(tetrahydro-2*H*-pyran-2-yloxy)-4-((trifluoromethylsulfonyloxy)methyl)piperidin-1-carboxamido)methylpivalat (690 mg, 1,23 mmol) wird mit 20 mol% Camphersulfonsäure (65,6 mg, 0,246 mmol) in MeOH gelöst und vier Tage bei RT gerührt. Nach Zugabe von TEA (290 µL) wird das Lösungsmittel bei vermindertem Druck entfernt und das Produkt mittels Flash-Chromatographie (EE/MeOH, 98/2) als farbloser Feststoff isoliert.

Ausbeute: 560 mg (1,07 mmol; 87 %)

Smp.: 90,2 °C unter Zersetzung, farbloser Feststoff

DC: Hex/EE, 10/90, R_f - Wert: 0,15.

¹H-NMR (CDCl₃): 6,91 - 6,71 (m, 2H), 3,95 - 3,77 (m, 7H), 3,54 - 3,32 (m, 5H), 3,20 - 2,94 (m, 4H), 2,60 (s, 2H), 1,83 - 1,61 (m, 3H), 1,59 (s, 10H). ¹³C-NMR (CDCl₃): 156,7, 150,4, 149,9, 148,8, 140,4, 139,9, 128,9, 113,4, 108,6, 85, 70,3, 69,8, 67,4, 56,6, 51,9, 28,1.

C₂₄H₃₄N₄O₇S, MS (m/e) 523 [M+H]⁺ (100 %). HRMS (ESI+) m/z: [M+H]⁺ ber. für C₂₄H₃₄N₄O₇SH 523,2226; gefunden 523,2219.

(4-Hydroxy-*N*-(4-methoxy-7-morpholinobenzothiazol-2-yl)-4-((methylsulfonyloxy)methyl)-piperidine-1-carboxamido)methylpivalat **59**

Mesylchlorid (32,5 µL, 0,42 mmol) wird langsam zu einer auf 0 °C gekühlten Lösung von 4-Hydroxy-4-(hydroxymethyl)-*N*-(4-methoxy-7-morpholinobenzo[d]thiazol-2-yl)-*N*-pivaloyloxymethylpiperidin-1-carboxamid **57** (190 mg, 0,35 mmol) und TEA (48,8 µL, 0,525 mmol) in DCM (6 mL) getropft. Nach 30 min ist die Reaktion beendet. Die organische

Phase wird mit ges. NaHCO₃-Lösung und ges. NaCl-Lösung gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet das Lösungsmittel bei vermindertem Druck entfernt. Die Reinigung erfolgt mittels Flash-Chromatographie (EE/MeOH, 98/2) und liefert das Produkt als hellbeigen Feststoff.

Ausbeute: 120 mg (0,2 mmol; 56 %)

Smp.: 158,3 °C unter Zersetzung, hellbeiger Feststoff

DC: EE/MeOH/AcOH, 98/2/0,2, R_f - Wert: 0,48.

¹H-NMR (CDCl₃): 6,90 - 6,66 (m, 2H), 6,47 (s, 2H), 4,35 (dd, *J* = 34,8, 12,9 Hz, 2H), 4,05 (s, 2H), 3,80 (d, *J* = 7,1 Hz, 7H), 3,46 - 3,12 (m, 2H), 3,15 - 2,81 (m, 7H), 1,84 - 1,35 (m, 4H), 1,11 (s, 9H). ¹³C-NMR (CDCl₃): 177,8, 167,4, 160,9, 143,3, 140,8, 125,6, 122,9, 113,4, 110,1, 69,7, 69, 67,3, 56,4, 53,5, 51,9, 39,9, 39, 38,3, 37,5, 33,6, 33,2, 27,1.

C₂₆H₃₈N₄O₉S₂, MS (m/e) 615 [M+H]⁺ (100 %).

(4-Hydroxy-*N*-(4-methoxy-7-morpholinobenzothiazol-2-yl)-4-((4-nitrophenylsulfonyloxy)methyl)piperidin-1-carboxamido)methylpivalat **61**

Die Herstellung erfolgt analog der Synthese von **42** unter der Verwendung von 4-Hydroxy-4-(hydroxymethyl)-*N*-(4-methoxy-7-morpholinobenzo[d]thiazol-2-yl)-*N*-pivaloyloxymethylpiperidin-1-carboxamid **57** (536 mg, 1 mmol). Das Produkt ist ein farbloser Feststoff.

Ausbeute: 280 mg (0,39 mmol; 39 %)

Smp.: 145,8 °C unter Zersetzung, farbloser Feststoff

DC: Hex/EE, 30/70, R_f - Wert: 0,73.

¹H-NMR (CDCl₃): 8,26 (dd, *J* = 57,9, 9,1 Hz, 4H), 6,84 (s, 2H), 6,51 (s, 2H), 4,37 (dd, *J* = 31,9, 11,1 Hz, 2H), 3,98 (s, 2H), 3,84 (d, *J* = 7,5 Hz, 7H), 3,20 (s, 2H), 3,10 - 2,89 (m, 4H), 2,17 (s, 1H), 1,70 - 1,39 (m, 4H), 1,22 - 1,04 (m, 9H). ¹³C-NMR (CDCl₃): 177,8, 167,6, 161, 150,9, 143,3, 141,4, 140,8, 129,3, 125,6, 124,6, 123, 113,5, 110,1, 69,7, 69,1, 67,3, 57,5, 56,4, 51,9, 39,8, 39, 38,1, 33,6, 33,2, 27,1.

C₃₁H₃₉N₅O₁₁S₂, MS (m/e) 723 [M+H]⁺ (74 %). HRMS (ESI+) m/z: [M+H]⁺ ber. für C₃₁H₃₉N₅O₁₁S₂H 722,2165; gefunden 722,2167.

(1-(*tert*-Butoxycarbonyl(4-methoxy-7-morpholinobenzothiazol-2-yl)carbamoyl)-4-hydroxypiperidin-4-yl)methyl-4-nitrobenzolsulfonat **62**

Die Herstellung erfolgt analog der Synthese von **42** unter der Verwendung von *tert*-Butyl-4-hydroxy-4-(hydroxymethyl)piperidin-1-carbonyl(4-methoxy-7-morpholinobenzo-thiazol-2-yl)-carbammat **58** (523 mg, 1 mmol). Das Produkt ist ein farbloser Feststoff.

Ausbeute: 210 mg (0,4 mmol; 40 %)

Smp.: 118,4 °C, farbloser Feststoff

DC: Hex/EE, 10/90, R_f - Wert: 0,74.

¹H-NMR (CDCl₃): 8,33 (d, *J* = 9 Hz, 7H), 8,06 (d, *J* = 9 Hz, 2H), 6,98 - 6,73 (m, 2H), 4,39 (s_{br}, 1H), 4,01 (s, 2H), 3,95 – 3,74 (m, 7H), 3,72 - 3,25 (m, 3H), 3,11 (s, 4H), 2,25 (s, 1H), 1,99 - 1,64 (m, 4H), 1,58 (s, 10H). ¹³C-NMR (CDCl₃): 156,8, 150,3, 141,3, 129,3, 124,6, 113,4, 108,5, 85,1, 68,9, 67,4, 56,8, 56,7, 56,5, 51,9, 49,5, 28,1.

C₃₀H₃₇N₅O₁₁S₂, MS (m/e) 708 [M+H]⁺ (100 %). HRMS (ESI+) m/z: [M+H]⁺ ber. für C₃₀H₃₇N₅O₁₁S₂H 708,2009; gefunden Fragment bei 505,2115 minus Nosylat (202,9888).

(*N*-(4-methoxy-7-morpholinobenzothiazol-2-yl)-4-((methylsulfonyloxy)methyl)-4-(tetrahydro-2*H*-pyran-2-yloxy)piperidine-1-carboxamido)methylpivalat **63**

Die Herstellung erfolgt analog der Synthese von **47** unter der Verwendung von (4-Hydroxy-*N*-(4-methoxy-7-morpholinobenzothiazol-2-yl)-4-((4-nitrophenylsulfonyloxy)methyl)piperidin-1-carboxamido)methylpivalat **61**. Das Produkt ist ein cremefarbener Feststoff.

Ausbeute: 130 mg (0,19 mmol; 93 %)

Smp.: 70,9 °C unter Zersetzung, cremefarbener Feststoff

DC: Hex/EE, 20/80, R_f - Wert: 0,35.

¹H-NMR (CDCl₃): 6,79 (s, 2H), 6,48 (s, 2H), 4,83 (s, 1H), 4,58 - 3,62 (m, 15H), 3,60 - 3,08 (m, 4H), 2,99 (s, 7H), 2,09 - 1,30 (m, 16H), 1,13 (s, 11H).

¹³C-NMR (CDCl₃): 177,7, 167,4, 161, 160,9, 143,3, 140,9, 125,6, 123, 113,3, 110, 99, 93,9, 74,1, 73,4, 69,8, 67,3, 63,5, 62,5, 56,4, 51,9, 40, 39, 38,3, 37,2, 33, 32,6, 31,8, 30,7, 30,3, 29,9, 27,1, 25,5, 25,2, 20,3, 19,7.

C₃₁H₄₆N₄O₁₀S₂, MS (m/e) 699 [M+H]⁺ (100 %).

(*N*-(4-Methoxy-7-morpholinobenzothiazol-2-yl)-4-((4-nitrophenylsulfonyloxy)methyl)-4-(tetrahydro-2*H*-pyran-2-yloxy)piperidine-1-carboxamido)methylpivalat **64**

Die Herstellung erfolgt zunächst analog der Synthese von **47** unter der Verwendung von (4-Hydroxy-*N*-(4-methoxy-7-morpholinobenzothiazol-2-yl)-4-((4-nitrophenylsulfonyloxy)methyl)piperidin-1-carboxamido)methylpivalat **61** (280 mg, 0,39 mmol). Nach vierstündigem Rühren bei RT, wird sukzessiv mit einer Lösung aus ges. NaHCO₃/ges. NaCl/Wasser im Verhältnis 1/1/2, ges. NaHCO₃-Lösung und ges. NaCl-Lösung gewaschen, bevor über Na₂SO₄ getrocknet wird. Nach Entfernen des Lösungsmittels unter vermindertem Druck, lässt sich das Produkt durch Verreiben mit einigen Tropfen DCM als beiger Feststoff auskristallisieren.

Ausbeute: 146,5 mg (0,18 mmol; 47 %)

Smp.: 109,7 °C unter Zersetzung, beiger Feststoff

DC: Hex/EE, 50/50, R_f - Wert: 0,35.

¹H-NMR (CDCl₃): 8,25 (dd, *J* = 58,3, 8,1 Hz, 4H), 6,84 (s, 2H), 6,51 (s, 2H), 4,78 (s, 1H), 4,54 - 3,93 (m, 4H), 3,86 (s, 7H), 3,56 - 2,81 (m, 7H), 2,01 - 1,30 (m, 11H), 1,16 (s, 9H).

¹³C-NMR (CDCl₃): 177,8, 167,5, 160,9, 150,9, 143,5, 141,4, 129,3, 125,7, 124,6, 122,9, 113,7, 110,1, 94,7, 93,8, 69,8, 69,2, 67,2, 63, 56,4, 52, 39, 30,7, 27,1, 25,5, 20,2, 19,8.

C₃₆H₄₇N₅O₁₂S₂, MS (m/e) 807 [M+H]⁺ (100 %). HRMS (ESI+) m/z: [M+H]⁺ ber. für C₃₆H₄₇N₅O₁₂S₂H 806,2741; gefunden 806,2743.

(1-(*tert*-Butoxycarbonyl(4-methoxy-7-morpholinobenzothiazol-2-yl)carbamoyl)-4-(tetrahydro-2*H*-pyran-2-yloxy)piperidin-4-yl)methyl 4-methylbenzolsulfonat **65**

Die Herstellung erfolgt analog der Synthese von **64** unter der Verwendung von (1-(*tert*-Butoxycarbonyl(4-methoxy-7-morpholinobenzothiazol-2-yl)carbamoyl)-4-hydroxypiperidin-4-yl)methyl-4-methylbenzolsulfonsäure **62** (240 mg, 0,34 mmol). Das Produkt ist ein gelber Feststoff.

Ausbeute: 180 mg (0,227 mmol; 67 %)

Smp.: 68 °C unter Zersetzung, gelber Feststoff

DC: Hex/EE, 50/50, R_f - Wert: 0,43.

¹H-NMR (CDCl₃): 8,44 - 8,19 (m, 2H), 8,12 - 7,95 (m, 2H), 6,95 - 6,71 (m, 2H), 4,71 (s, 1H), 3,99 - 3,68 (m, 9H), 3,65 - 3,23 (m, 4H), 3,17 - 2,99 (m, 4H), 2,17 - 1,68 (m, 6H), 1,67 - 1,32 (m, 16H). ¹³C-NMR (CDCl₃): 150,4, 149,8, 141,3, 129,3, 129,2, 124,6, 124,4, 113,6, 108,5, 98,5, 94,2, 85,1, 73,6, 68,9, 67,3, 56,5, 51,9, 28,1, 20,3, 19,8.

C₃₅H₄₅N₅O₁₂S₂, MS (m/e) 708 [M+H]⁺ (100 %) Fragment minus THP (85). C₃₅H₄₅N₅O₁₂S₂, MS (m/e) 589 [M+H]⁺ (50 %) Fragment minus Nosyl (203). HRMS (ESI+) m/z: [M+H]⁺ ber. für C₃₅H₄₅N₅O₁₂S₂H 792,2584; gefunden 792,2573.

(4-(Fluormethyl)-4-hydroxy-*N*-(4-methoxy-7-morpholinobenzothiazol-2-yl)piperidin-1-carboxamido)methylpivalat **67**

Eine Suspension von 4-(Fluormethyl)-4-hydroxy-*N*-(4-methoxy-7-morpholinobenzo[d]thiazol-2-yl)piperidin-1-carboxamid **19** (870 mg, 2 mmol) und K₂CO₃ (207 mg, 3 mmol) in DMF (20 mL) wird für auf 60 °C erhitzt und 30 min gerührt. Nach dem langsamen Zutropfen von POM-Cl (290 µL, 1,5 mmol) wird für 2 h bei 60 °C gerührt, bevor auf RT abgekühlt wird. Das Produkt wird durch Zugabe von Eis gefällt, in EE extrahiert und die organische Phase wird mit 10 %iger Zitronensäure-Lösung und Wasser gewaschen. Nach Trocknen über Na₂SO₄ wird

das Lösungsmittel bei vermindertem Druck entfernt und das Produkt als farbloser Feststoff mittels Flash-Chromatographie (Hex/EE, 40/60) isoliert.

Ausbeute: 540 mg (1 mmol; 50 %)

Smp.: 191,7 °C unter Zersetzung, farbloser Feststoff

DC: Hex/EE/, 40/60, R_f - Wert: 0,24.

¹H-NMR (CDCl₃): 6,96 - 6,66 (m, 2H), 6,52 (s, 2H), 4,60 - 4,19 (m, 3H), 4,10 (qi, *J* = 7,1 Hz, 2H), 3,84 (d, *J* = 6,4 Hz, 7H), 3,53 - 3,07 (m, 2H), 3,11 - 2,84 (m, 4H), 2,14 (s, 1H), 1,74 - 1,40 (m, 4H), 1,16 (s, 9H). ¹³C-NMR (CDCl₃): 177,9, 167,4, 161, 143,3, 140,8, 125,7, 123,1, 113,4, 110, 91,6, 88,1, 69,8, 69,7, 69,4, 67,3, 56,4, 51,9, 39,9, 39, 38,3, 32,9, 32,6, 27,1. ¹⁹F-NMR (CDCl₃): -231,38.

C₂₅H₃₅N₄O₆SF, MS (m/e) 539 [M+H]⁺ (100 %). HRMS (ESI+) m/z: [M+H]⁺ ber. für C₂₅H₃₅N₄O₆SFH 539,6389; gefunden 539,2333.

(4-(Fluormethyl)-*N*-(4-methoxy-7-morpholinobenzothiazol-2-yl)-4-(tetrahydro-2*H*-pyran-2-yloxy)piperidine-1-carboxamido)methylpivalat **68**

Die Herstellung erfolgt analog der Synthese von **64** unter der Verwendung von (4-(Fluormethyl)-4-hydroxy-*N*-(4-methoxy-7-morpholinobenzothiazol-2-yl)piperidin-1-carboxamido)methylpivalat **67** (120 mg, 1 mmol). Das Produkt ist ein farbloser Feststoff. Zur Stabilisierung wird etwas DEA hinzugegeben.

Ausbeute: 450 mg (0,72 mmol; 72 %)

Smp.: 190,8 °C unter Zersetzung, farbloser Feststoff

DC: Hex/EE, 60/40, R_f - Wert: 0,2.

¹H-NMR (CDCl₃): 6,81 (s, 2H), 6,50 (s, 2H), 4,88 (s, 1H), 4,60 - 3,59 (m, 12H), 3,62 - 2,84 (m, 7H), 1,98 - 1,33 (m, 10H), 1,15 (s, 9H). ¹³C-NMR (CDCl₃): 178, 167,3, 161, 143,4, 140,5, 125,5, 122,8, 113,5, 110, 99,8, 91,4, 87,9, 69,7, 69,1, 68,7, 67,2, 62,1, 56,3, 51,8, 39,9, 38,9, 38,2, 32,6, 32,3, 30,4, 26,9, 25,3, 19,2. ¹⁹F-NMR (CDCl₃): -227,81.

C₃₀H₄₃N₄O₇SF, MS (m/e) 624 [M+H]⁺ (100 %). HRMS (ESI+) m/z: [M+H]⁺ ber. für C₃₀H₄₃N₄O₇SH 623,2914; gefunden 623,2915.

tert-Butyl-(4-(fluormethyl)-4-hydroxypiperidin-1-carbonyl)(4-methoxy-7-morpholinobenzo[*d*]thiazol-2-yl)carbammat **69**

Zu einer auf 0-5 °C gekühlten Lösung aus 4-(Fluormethyl)-4-hydroxy-*N*-(4-methoxy-7-morpholinobenzo[*d*]thiazol-2-yl)piperidin-1-carboxamid **19** (740 mg, 1,74 mmol) und DMAP

(106 mg, 0,87 mmol) in trockenem THF (20 mL) wird TEA (482 μ L, 3,5 mmol) zugegeben und für 30 min bei 0 °C gerührt. Nun wird eine Lösung aus Di-*tert*-butyldicarbonat (763 mg, 3,5 mmol) in THF (17 mL) langsam zur Reaktionsmischung zugetropft. Nach Erreichen von RT wird für 24 h bei 80 °C gerührt. Nach Abkühlen auf RT wird mit Wasser (50 mL) versetzt und mit EE (3 x 50 mL) extrahiert. Die vereinten organischen Phasen werden mit ges. NaCl-Lösung gewaschen und über Na₂SO₄ getrocknet. Nach Entfernen des Lösungsmittels bei vermindertem Druck erfolgt die weitere Aufreinigung mittels Flash-Chromatographie (Hex /EE, 40/60). Das Produkt ist ein farbloser Feststoff.

Ausbeute: 1,1 g (1,41 mmol; 81 %)

Smp.: 102,6 °C unter Zersetzung, farbloser Feststoff

DC: Hex/EE, 40/60, R_f - Wert: 0,26.

¹H-NMR (CDCl₃): 6,93 – 6,71 (m, 2H), 4,35 (s, 2H), 4,21 – 4,02 (m, 2H), 3,99 – 3,79 (m, 7H), 3,78 – 3,26 (m, 3H), 3,23 – 2,98 (m, 4H), 2,24 (s_{br}, 1H), 2,00 – 1,68 (m, 4H), 1,57 (s, 9H). ¹³C-NMR (CDCl₃): 156,7, 150,5, 149,8, 149,2, 140, 128,8, 113,7, 108,4, 91,4, 88, 85,1, 69,4, 69,1, 67,2, 56,5, 51,9, 32,3, 28,1. ¹⁹F-NMR (CDCl₃): -231,49.

C₂₄H₃₃N₄O₆SF, MS (m/e) 525 [M+H]⁺ (100 %).

Synthese von *tert*-Butyl-(4-(fluormethyl)-4-(tetrahydro-2H-pyran-2-yloxy)piperidin-1-carbonyl)(4-methoxy-7-morpholinobenzo[d]thiazol-2-yl)carbamate **70**

Die Herstellung erfolgt analog der Synthese von **64** unter der Verwendung von *tert*-Butyl-(4-(fluormethyl)-4-hydroxypiperidin-1-carbonyl)(4-methoxy-7-morpholinobenzo[d]thiazol-2-yl)carbamate **69** (370 mg, 0,7 mmol). Das Produkt ist ein weißer Feststoff.

Ausbeute: 380 mg (0,62 mmol; 89 %)

Smp.: 76,4 °C, Zersetzung, weißer Feststoff

DC: Hex/EE, 40/60, R_f - Wert: 0,64.

¹H-NMR (CDCl₃): 6,93 – 6,69 (m, 2H), 4,85 (s, 1H), 4,66 – 4,08 (m, 3H), 4,07 – 3,74 (m, 8H), 3,64 – 3,24 (m, 4H), 3,13 – 2,94 (m, 4H), 2,09 – 1,64 (m, 6H), 1,58 (s, 13H). ¹³C-NMR (CDCl₃): 150,6, 149, 144,5, 139,9, 113,4, 108,4, 94,4, 89,2, 85,7, 85, 74,1, 67,4, 63,7, 56,5, 51,9, 42,6, 32,1, 28,1, 27, 25,2, 20,5, 12. ¹⁹F-NMR (CDCl₃): -229,08.

C₂₉H₄₁N₄O₇SF, MS (m/e) 609 [M+H]⁺ (100 %). HRMS (ESI+) m/z: [M+H]⁺ ber. für C₂₉H₄₁N₄O₇SFH 609,2758; gefunden 609,2747.

4-Hydroxy-4-(hydroxymethyl)-*N*-(4-methoxy-7-morpholinobenzo[d]thiazol-2-yl)piperidin-1-carboxamid **72**

N-(4-Methoxy-7-morpholinobenzo[d]thiazol-2-yl)-2,2-dimethyl-1,3-dioxo-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxamid **54** (70 mg, 0,15 mmol) wird mit 20 mol% CSA (7 mg, 0,03 mmol,) in MeOH (2 mL) gelöst und zwei Tage bei RT gerührt. Nach Zugabe von TEA wird das Lösungsmittel bei vermindertem Druck entfernt. Auf weitere Aufreinigung wird wegen der geringen Menge verzichtet und das Produkt roh weiterverwendet. Dabei handelt es sich um einen orange-braunen Feststoff.

Ausbeute: 31,6 mg (0,075 mmol; 50 %)

DC: Hex/EE, 50/50, R_f - Wert: 0,1.

$C_{19}H_{26}N_4O_5S$, MS (m/e) 423 $[M+H]^+$ (100 %). HRMS (ESI+) m/z: $[M+H]^+$ ber. für $C_{19}H_{26}N_4O_5SH$ 423,1702; gefunden 423,1695.

4-((*tert*-Butyldimethylsilyloxy)methyl)-1-(*boc*-(4-methoxy-7-morpholinobenzo[d]thiazol-2-yl)carbamoyl)piperidin-4-ol **75**

Zu einer auf 0 °C gekühlten Lösung aus Imidazol (0,18 mg, 2,6 mmol) und *t*-Butyldimethylsilylchlorid (364 mg, 2,4 mmol) in DMF (2 mL) wird eine Lösung von *tert*-Butyl-4-hydroxy-4-(hydroxymethyl)piperidin-1-carbonyl(4-methoxy-7-morpholinobenzo[d]thiazol-2-yl)carbamoyl (1,05 g, 2 mmol) in DMF (1 mL) zugetropft. Die Mischung wird 1 h bei 0 °C und 24 - 48 h bei RT gerührt. Nach Reaktionsende wird die Mischung in ges. NaCl-Lösung gegossen und mit EtOEt (2 x 30 mL) extrahiert. Die vereinten organischen Phasen werden mit Wasser (50 mL), ges. NH_4Cl -Lösung (50 mL) und ges. NaCl-Lösung gewaschen, bevor sie über Na_2SO_4 getrocknet und das Lösungsmittel bei vermindertem Druck entfernt wird. Das Produkt wird als farbloser Feststoff erhalten.

Ausbeute: 870 mg (1,37 mmol; 69 %)

Smp.: 89,6 °C unter Zersetzung, farbloser Feststoff

DC: Hex/EE, 30/70, R_f - Wert: 0,75; Hex/EE, 50/50, R_f - Wert: 0,38.

1H -NMR ($CDCl_3$): 6,93 – 6,70 (m, 2H), 4,39 (s_{br} , 1H), 3,99 – 3,76 (m, 7H), 3,42 (s, 5H), 3,18 – 2,93 (m, 4H), 2,40 (s, 1H), 1,92 - 1,62 (m, 4H), 1,58 (s, 9H) 0,89 (s, 9H), 0,06 (s, 6H). ^{13}C -NMR ($CDCl_3$): 150,5, 149,7, 149, 113,3, 108,5, 84,8, 70,9, 69,5, 67,4, 56,6, 51,9, 28,2, 25,9, 18,4, - 5,5.

$C_{30}H_{48}N_4O_7SSi$, MS (m/e) 637 $[M+H]^+$ (100 %). HRMS (ESI+) m/z: $[M+H]^+$ ber. für $C_{30}H_{48}N_4O_7SSiH$ 637,3091; gefunden 637,3086.

tert*-Butyl-4-((*tert*-butyldimethylsilyloxy)methyl)-1-(boc-(4-methoxy-7-morpholino-benzo[*d*]thiazol-2-ylcarbamoyl))piperidin-4-yl-carbonat **76*

Zu einer auf -78 °C gekühlten Lösung von 4-((*tert*-Butyldimethylsilyloxy)methyl)-1-(boc-(4-methoxy-7-morpholinobenzo[*d*]thiazol-2-ylcarbamoyl))piperidin-4-ol **75** (522 mg, 1 mmol) in THF (5 mL) wird *n*-BuLi (1,6 M in Hexan, 687,5 µL, 1,1 mmol, 1,1 äq) zugetropft. Nach 10-minütigem Rühren bei -78 °C wird eine Lösung von Boc-ON (271 mg, 1,1 mmol, 1,1 äq) in THF (1 mL) zugetropft und für weitere 10 Minuten bei -78 °C gerührt. Nach Erwärmen auf 0 °C (Eisbad) und 4 h Reaktionszeit wird mit 50 mL NH₄Cl-Lösung gewaschen, zweimal mit Ether (2 x 50 mL) extrahiert und die vereinten organischen Phasen mit 1 N NaOH-Lösung (30 mL) und ges. NaCl-Lösung (30 mL) gewaschen. Nach Trocknen über Na₂SO₄ und Entfernen des Lösungsmittels bei vermindertem Druck erfolgt die weitere Aufreinigung via Flash-Chromatographie (Hexan/EE, 70/30). Das Produkt ist ein farbloser Feststoff.

Ausbeute: 300 mg (0,41 mmol; 41 %)

Smp.: 77,9 °C unter Zersetzung, farbloser Feststoff

DC: Hex/EE, 50/50, R_f - Wert: 0,79.

¹H-NMR (CDCl₃): 6,96 – 6,71 (m, 2H), 3,99 – 3,72 (m, 9H), 3,66 – 3,24 (m, 3H), 3,16 – 2,93 (m, 4H), 2,50 – 2,01 (m, 2H), 1,93 – 1,64 (m, 3H), 1,58 (s, 9H), 1,46 (s, 9H), 0,87 (s, 9H), 0,03 (s, 6H). ¹³C-NMR (CDCl₃): 156,6, 151,8, 150,5, 149,9, 149,1, 140, 129, 113,4, 108,3, 84,9, 81,8, 81,3, 67,4, 65,7, 56,5, 51,9, 49,5, 28,2, 27,9, 27, 25,9, 18,3, -5,5.

C₃₅H₅₆N₄O₉SSi, MS (m/e) 738 [M+H]⁺ (100 %). HRMS (ESI⁺) m/z: [M+H]⁺ ber. für C₃₅H₅₆N₄O₉SSiH 737,3615; gefunden 737,3609.

tert*-Butyl-4-(hydroxymethyl)-1-(boc-(4-methoxy-7-morpholinobenzo[*d*]thiazol-2-ylcarbamoyl))piperidin-4-yl-carbonat **77*

TBAF (1 M in THF, 1,05 mL, 1,05 mmol) wird zu einer auf 0 °C gekühlten Lösung von *tert*-Butyl-4-((*tert*-butyldimethylsilyloxy)methyl)-1-(boc-(4-methoxy-7-morpholinobenzo[*d*]thiazol-2-ylcarbamoyl))piperidin-4-yl-carbonat **76** (260 mg, 0,35 mmol) in THF (10 mL) getropft. Nach 30 Minuten wird zunächst mit ges. NH₄Cl-Lösung gewaschen und mehrmals mit EE extrahiert. Die vereinten organischen Phasen werden mit ges. NaCl-Lösung gewaschen bevor über Na₂SO₄ getrocknet und anschließend das Lösungsmittel entfernt wird. Die weitere Aufreinigung erfolgt via Flash-Chromatographie (Hexan/EE, 50/50) und das Produkt wird als farblosen Feststoff erhalten.

Ausbeute: 140 mg (0,23 mmol; 56 %)

Smp.: 104,5 °C unter Zersetzung, farbloser Feststoff

DC: Hex/EE, 50/50, R_f - Wert: 0,26.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): 6,91 – 6,68 (m, 2H), 4,06 – 3,74 (m, 9H), 3,63 – 3,27 (m, 3H), 3,14 – 2,96 (m, 4H), 2,02 – 1,64 (m, 4H), 1,58 (s, 10H), 1,48 (s, 10H). $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3): 153,6, 149, 140,3, 129, 113,3, 108,3, 84,9, 82,8, 73,9, 69, 67,5, 56,5, 51,9, 49,5, 28,2, 27,7, 27.

$\text{C}_{29}\text{H}_{42}\text{N}_4\text{O}_9\text{S}$, MS (m/e) 623 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (100 %). HRMS (ESI+) m/z: $[\text{M}+\text{H}]^+$ ber. für $\text{C}_{29}\text{H}_{42}\text{N}_4\text{O}_9\text{SH}$ 623,2750; gefunden 623,2748.

(1-*tert*-Butoxycarbonyl(4-methoxy-7-morpholinobenzo[d]thiazol-2-yl)carbamoyl)-4-(*tert*-butoxycarbonyloxy)piperidin-4-yl)methylmethansulfonsäure **79**

Zu einer auf 0 °C gekühlten Lösung von *tert*-Butyl-4-(hydroxymethyl)-1-(*boc*-(4-methoxy-7-morpholinobenzo[d]thiazol-2-ylcarbamoyl))piperidin-4-yl-carbonat **77** (100 mg, 0,16 mmol) und TEA (33,4 μL , 0,24 mmol) in DCM (1 mL) wird Mesylchlorid (16,2 μL , 0,21 mmol) zugegeben. Nach 1,5 h werden erneut 1,5 äq TEA und 1,3 äq Mesylchlorid hinzugegeben. Nach weiteren 1,5 h wird mit DCM verdünnt und mit ges. NH_4Cl -Lösung, ges. NaHCO_3 -Lösung und schließlich mit ges. NaCl -Lösung gewaschen, bevor über Na_2SO_4 getrocknet und das Lösungsmittel bei vermindertem Druck entfernt wird. Das Produkt lässt sich nach Flash-Chromatographie (Hexan/EE, 60/40) als grauer Feststoff erhalten.

Ausbeute: 32 mg (0,05 mmol; 31 %)

DC: Hex/EE, 50/50, R_f - Wert: 0,52.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): 7,06 – 6,65 (m, 2H), 4,60 – 4,34 (m, 2H), 4,14 – 3,74 (m, 7H), 3,72 – 3,28 (m, 3H), 3,29 – 2,98 (m, 7H), 2,60 – 1,77 (m, 5H), 1,57 (s, 9H), 1,48 (s, 9H). $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3): 152,9, 150,5, 149,9, 108,6, 107,9, 85,3, 85,1, 83, 82,5, 69, 67,1, 56,6, 56,23, 52, 49,5, 40,6, 32,4, 29,7, 28,1, 27,7, 27.

HRMS (ESI+) m/z: $[\text{M}+\text{H}]^+$ ber. für $\text{C}_{30}\text{H}_{44}\text{N}_4\text{O}_{11}\text{S}_2\text{H}$ 701,2526; gefunden 701,2522.

Pivaloxymethyl-(4-methoxy-7-morpholinobenzo[d]thiazol-2-yl)(1,3-dioxa-2-thia-8-azaspiro[4.5]decan-2-oxid)-8-carboxamid **80**

Die Herstellung erfolgt analog der Synthese von **24** unter der Verwendung von 4-Hydroxy-4-(hydroxymethyl)-*N*-(4-methoxy-7-morpholinobenzo[d]thiazol-2-yl)-*N*-pivaloyloxymethylpiperidin-1-carboxamid **57** (1,07 g, 2 mmol). Das Produkt ist ein hellgrauer Feststoff.

Ausbeute: 1 g (1,71 mmol; 85 %)

Smp.: 213,4 °C, unter Zersetzung, hellgrauer Feststoff

DC: Hex/EE, 50/50, R_f - Wert: 0,25.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): 6,97 – 6,72 (m, 2H), 6,52 (s, 2H), 4,61 – 4,12 (m, 4H), 4,01 – 3,72 (m, 7H), 3,65 – 3,21 (m, 2H), 3,21 – 2,81 (m, 4H), 2,35 – 1,31 (m, 4H), 1,16 (s, 9H). $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3): 167,8, 161, 143,4, 140,8, 125,6, 123, 113,6, 110,1, 88,8, 74,8, 69,7, 67,3, 56,4, 51,9, 41,6, 40,9, 39,9, 39,3, 39, 39, 35,9, 35,7, 35,6, 35,5, 35,3, 29,7, 27,1.

$\text{C}_{25}\text{H}_{34}\text{N}_4\text{O}_8\text{S}_2\text{H}$, MS (m/e) 583 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (100 %). HRMS (ESI+) m/z: $[\text{M}+\text{H}]^+$ ber. für $\text{C}_{25}\text{H}_{34}\text{N}_4\text{O}_8\text{S}_2\text{H}$ 583,1896; gefunden 583,1892.

tert*-Butoxycarbonyl-(4-methoxy-7-morpholinobenzo[d]thiazol-2-yl)(1,3-dioxa-2-thia-8-azaspiro[4.5]decan-2-oxid)-8-carboxamid **81*

Die Herstellung erfolgt analog der Synthese von **24** unter der Verwendung von *tert*-Butyl-(4-hydroxy-4-(hydroxymethyl)piperidin-1-carbonyl)(4-methoxy-7-morpholinobenzothiazol-2-yl)carbammat **58** (1,1 g, 2,1 mmol). Das Produkt ist ein hellgelber Feststoff.

Ausbeute: 0,8 g (1,41 mmol; 67 %)

Smp.: 147,3 °C unter Zersetzung, hellgelber Feststoff

DC: Hex/EE/, 50/50, R_f - Wert: 0,33.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): 6,96 – 6,68 (m, 2H), 4,49 (s, 2H), 4,32 – 4,10 (m, 1H), 4,04 – 3,76 (m, 7H), 3,75 – 3,25 (m, 3H), 3,19 – 2,90 (m, 4H), 2,49 – 2,16 (m, 2H), 2,17 – 1,82 (m, 2H), 1,58 (s, 9H). $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3): 156,8, 150,4, 150, 148,9, 140,3, 139,7, 128,9, 113,5, 108,2, 88, 85,2, 75, 67,4, 56,4, 51,9, 34,9, 28,2, 27.

$\text{C}_{24}\text{H}_{32}\text{N}_4\text{O}_8\text{S}_2$, MS (m/e) 569 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (100 %). HRMS (ESI+) m/z: $[\text{M}+\text{K}]^+$ ber. für $\text{C}_{24}\text{H}_{32}\text{N}_4\text{O}_8\text{S}_2\text{K}$ 607,2645; gefunden 607,1292.

Pivaloxymethyl-4-(hydroxymethyl)-*N*-(4-methoxy-7-morpholinobenzo[d]thiazol-2-yl)-5,6-dihydropyridin-1(2*H*)-carboxamid **84**

Zu einer Lösung bestehend aus *tert*-Butyl-(4-hydroxy-4-(hydroxymethyl)piperidin-1-carbonyl)(4-methoxy-7-morpholinobenzothiazol-2-yl)carbammat **58** (259 mg, 0,5 mmol) in 2,5 mL DMF wird NaH (60%, 60 mg, 1,5 mmol) bei 0 °C hinzugegeben. Nach 15 min wird eine Lösung aus Sulfonyldiimidazol (149 mg, 0,75 mmol) in 1 mL DMF hinzugegeben. Nach Erreichen von Raumtemperatur nach einer Stunde wird die Lösung auf Eiswasser gekippt und mit EtOEt extrahiert. Nach dem Waschen der organischen Phase mit Wasser und ges. NaCl-Lösung wird über Na_2SO_4 getrocknet, bevor die weitere Aufreinigung mittels Flash-Chromatographie (Hex/EE, 50/50) und das Produkt als farbloses Öl erhalten wird.

Ausbeute: 135 mg (0,26 mmol, 52 %)

DC: Hex/EE/, 50/50, R_f - Wert: 0,45.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): 6,83 (2, 2H), 6,53 (s, 2H), 4,31 – 3,93 (m, $J = 16,4, 9,5$ Hz, 2H), 3,93 – 3,48 (m, 9H), 3,20 (s, 1H), 3,09 – 2,84 (m, 4H), 2,71 (s, 2H), 2,00 – 1,62 (m, 2H), 1,62 – 1,37 (m, 2H), 1,25 – 1,04 (m, 11H). $^{13}\text{C NMR}$ (50 MHz, CDCl_3) δ 177,83, 167,59, 161,12, 143,32, 140,96, 125,66, 113,39, 110,03, 69,80, 67,34, 57,49, 56,41, 53,88, 51,94, 43,28, 41,65, 39,01, 33,46, 33,06, 27,07, 27,01, 12,00.

$\text{C}_{25}\text{H}_{34}\text{N}_4\text{O}_6\text{S}$, MS (m/e) 519 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (100 %). HRMS (ESI+) m/z : $[\text{M}+\text{K}]^+$ ber. für $\text{C}_{25}\text{H}_{35}\text{N}_4\text{O}_6\text{S}$ 519,2277; gefunden 519,2271.

4.2 Radiosynthesen

4.2.1 Produktion des verwendeten Radiofluorids

Das für die Markierungen eingesetzte n.c.a. ^{18}F Fluorid stammt aus routinemäßiger Produktion am Babyzyklotron JSW 1710 des Institutes für Neurowissenschaften und Medizin (INM-5) der Forschungszentrum Jülich GmbH. Dort wird es über die $^{18}\text{O}(\text{p},\text{n})^{18}\text{F}$ Kernreaktion an ^{18}O angereichertem Wasser hergestellt [181].

4.2.2 Markierung mit Fluor-18

Zunächst werden 50 - 100 MBq (1,35 – 2,70 mCi) einer wässrigen n.c.a. ^{18}F Fluorid-Lösung zusammen mit 3 μL (5 μmol) einer Tetrabutylammoniumhydroxidlösung (TBAH; 40 % in Wasser) und 600 μL ACN in einen 5-mL-Spitzkolben gegeben. Anschließend wird die Lösung bei 50 °C am Rotationsverdampfer im Hochvakuum azeotrop getrocknet. Nach Zugabe von je 600 μL Acetonitril wird der Trocknungsprozess noch zweimal wiederholt. Nach der azeotropen Trocknung werden 250 μL einer Stammlösung des jeweiligen Vorläufers (2 μmol Vorläufer in 280 μL DMSO) in den Spitzkolben gegeben. Der Kolben wird mit einem Schliffstopfen verschlossen und in einem temperierten Ölbad auf 140 °C erhitzt. Reaktionsparameter wie Zeit, Temperatur, Vorläufermenge sowie Art und Stoffmenge des Aktivatorsystems werden in Bezug auf ihren Einfluss auf die radiochemische Ausbeute unter konstanten Bedingungen nacheinander variiert. Zur Bestimmung der Reaktionsgeschwindigkeit, werden alle 5 min Aliquots von 5- μL entnommen und in 20 μL EtOH gegeben. 1 μL dieser Lösung wird anschließend radiodünnschichtchromatographisch ausgewertet.

4.2.3 Entschützung des ^{18}F -markierten Produkts

Nach Reaktionsende wird zunächst im Wasserbad abgekühlt und anschließend die POM-Schutzgruppe durch Zugabe von 25 μL einer Lösung bestehend aus 1N NaOH:MeOH 1:1 hydrolysiert. Nach einer Reaktionszeit von 2 min ist die Hydrolyse beendet.

4.2.4 Festphasenextraktion und HPLC-Trennung

Zur Abtrennung des Lösungsmittels DMSO und nicht umgesetzten ^{18}F Fluorid wird im Anschluss an die Entschützung eine Kartuschenabtrennung durchgeführt. Hierfür wurde eine Festphasenkartusche vom Typ Sep-Pack[®] Light C18 verwendet. Vor der Verwendung der Kartusche wurde diese zunächst mit 10 ml Methanol und 10 mL Wasser konditioniert. Das hydrolysierte Produkt wurde dann in 3 mL Wasser aufgenommen und auf die Kartusche gegeben. DMSO und nicht reagiertes ^{18}F Fluorid ließen sich durch Spülen mit 5 mL Wasser entfernen. Das Radioprodukt wurde dann mit Ethanol eluiert. Dafür wurden zunächst in 50 μL Fraktionen eluiert. Die einzelnen Fraktionen wurden im Curimeter (CRC[®]-25R, der Firma Carpintec, USA) gemessen und via Radio-DC auf ihre Zusammensetzung hin analysiert. Es zeigte sich, dass die ersten 150 μL verworfen werden können. Die folgenden 450 μL beinhalten das Produkt **[^{18}F]19**. Für die Reinigung mittels Radio-HPLC wird zunächst das Ethanol bei vermindertem Druck entfernt und der Rückstand in 300 μL des Eluenten für die HPLC aufgenommen. Anschließend wird das markierte Produkt mittels HPLC gereinigt und die Produktfraktion aufgefangen.

4.2.5 Radioanalytik

Radiodünnschichtchromatographie

Die Bestimmung der radiochemischen Ausbeuten von ^{18}F -markierten Produkten erfolgte mittels Radiodünnschichtchromatographie. Aus mit EtOH verdünnten Aliquots der Reaktionslösung (5 μL Reaktionslösung in 20 μL EtOH) werden jeweils 1 μL zur dünnschichtchromatographischen Analyse auf eine mit Kieselgel beschichtete Folie gegeben und mit Hex/EE (40/60, 50/50, 10/90) entwickelt. Um das Auftreten flüchtiger Stoffe ausschließen zu können, wird nach dem Entwickeln ein Referenzspot von 1 μL aus dem Aliquot der Reaktionslösung am oberen Ende der DC-Platte aufgebracht. Die Aktivitätsbestimmung der Dünnschichtchromatogramme wird am InstantIMAGER der Firma Packard (Dreieich, Deutschland) durchgeführt.

Radio-HPLC

Für die Bestimmung der radiochemischen Ausbeuten, der molaren Aktivität und der Reinigung der ^{18}F -Markierungsprodukte wird außerdem die Radio-Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (Radio-HPLC) eingesetzt. Das verwendete System besteht aus einem UV-Detektor (K-2500, Knauer, Berlin, Germany) mit variabler Wellenlänge, einer Pumpe (MaxiStar K-1000, Knauer, Berlin, Germany) und einem NaI(Tl)-Bohrlochkristalldetektor mit Photomultiplier (EG&Ortec, Oak Ridge, USA) sowie einer entsprechenden Verstärkereinheit (925-SCINT AceMate, EG&Ortec, Oak Ridge, USA). Durch ein 24-bit-Analog/Digital-Wandler-Modul ist der UV-Detektor mit dem Messrechner verbunden. Das eingesetzte Interface verfügt über einen 24-bit breiten TTL-kompatiblen Eingang, an dem die Radiodetektionseinheit direkt angeschlossen ist. Die zu analysierenden Lösungen werden über ein Injektionsventil vom Typ 7125 der Firma Rheodyne® (Bensheim, Germany) über ein 200- μL -Probenschleife, aufgegeben. Die analytische HPLC-Trennung erfolgt unter isokratischen Bedingungen (Eluent: ACN/H₂O/AcOH, 72,5/27,5/0,2) an einer Chromatographiesäule vom Typ Kromasil 100-5 C18 (250 x 4,6 mm) (CS-Chromatographie Service GmbH, Langerwehe, Deutschland) bei einer Flussrate von 1 ml/min.

Die Wellenlänge des UV-Detektors wurde bei allen Messungen auf 275 nm eingestellt (ermitteltes Absorptionsmaximum liegt bei 273,6 nm).

Das richtige Eluentenverhältnis für die Trennung auf der HPLC wurde in Vorversuchen mit der nicht radioaktiven Referenzverbindung **19** entwickelt. Für die später verwendete radioaktive Verbindung [^{18}F]**19** ist eine kurze Retentionszeit von großem Interesse. Es wurden die in Tabelle 8 angegebenen, verschiedenen Volumenverhältnisse untersucht. Zu Beginn wurde mit einer Mischung Methanol/Wasser/Eisessig gearbeitet. Allerdings eignet sich ein System aus Acetonitril/Wasser/Eisessig besser, da der Peak schärfer wurde und eine selektivere Trennung möglich war.

Tabelle 8: Bestimmung der HPLC-Retentionszeit der Referenzverbindung **19** in Abhängigkeit des Eluenten (in V/V/V) bei einer Wellenlänge von $\lambda = 275$ nm.

Eluentengemisch	Volumenanteil	Retentionszeit des Standards 19
		[min]
MeOH/H ₂ O/AcOH	75/25/0,2	4,40
MeOH/H ₂ O/AcOH	70/30/0,2	5,17
MeOH/H ₂ O/AcOH	65/35/0,2	6,76
MeOH/H ₂ O/AcOH	60/40/0,2	11,87
MeOH/H ₂ O/AcOH	55/45/0,2	14,33
MeOH/H ₂ O/AcOH	50/50/0,2	25,83
ACN/H ₂ O/AcOH	55/45/0,2	3,61
ACN/H ₂ O/AcOH	30/70/0,2	14,40
ACN/H ₂ O/AcOH	27,5/72,5/0,2	20,60
ACN/H ₂ O/AcOH	25/75/0,2	29,31

Für die ideale Trennung wurde ein Gemisch aus ACN/H₂O/AcOH im Volumenverhältnis 27,5/72,5/0,2 eingesetzt. So konnte das Produkt [¹⁸F]**19** nach 20 Minuten isoliert werden.

Bestimmung der molaren Aktivität

Aus der HPLC-Trennung des radioaktiven Produkts lässt sich darüber hinaus noch die molare Aktivität bestimmen. Hierfür wurden Messungen verschiedener Konzentrationen des Standards **19** durchgeführt. Die Konzentration korreliert mit dem Integral des Signals im UV-Kanal. Wird dieser Zusammenhang graphisch dargestellt (Abbildung 24), lässt sich mit Hilfe der erhaltenen mathematischen Funktion die Konzentration des UV-aktiven Produkts (Träger) bestimmen. Im Idealfall lässt sich kein UV-Signal beobachten.

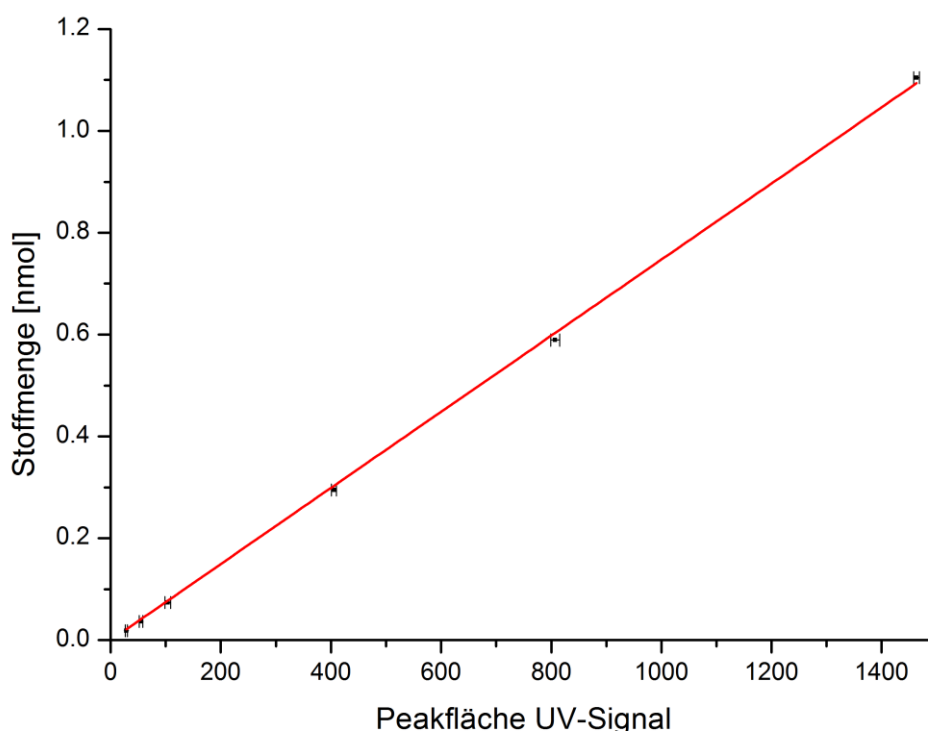


Abbildung 24: Stoffmenge der Verbindung **19** in Abhängigkeit von dem Signal (UV-Kanal; ($r > 0,99$)).

Nach der Isolation des radioaktiven Produktpeaks wird ein Aliquot dieses Peaks auf die HPLC reinjeziert, damit die molare Aktivität und die eingesetzte Konzentration an $[^{18}\text{F}]\mathbf{19}$ bestimmt werden kann. Für die durchgeführten autoradiographischen Untersuchungen ließen sich die in Tabelle 9 enthaltenen molare Aktivitäten und die eingesetzten Konzentrationen an $[^{18}\text{F}]\mathbf{19}$ bestimmen. Die eingesetzten Konzentrationen liegen unterhalb des bestimmten K_i -Wertes ($K_i = 1,4 \pm 0,7$) und somit unterhalb der halben Sättigungskonzentration des Liganden zum $A_2A\text{AR}$.

Tabelle 9: Übersicht der molaren Aktivitäten und der eingesetzten Stoffmengen der durchgeführten Autoradiographien.

Autoradiographie	molare Aktivität [GBq/ μmol]	molare Aktivität [Ci/ μmol]	c($[^{18}\text{F}]\mathbf{19}$) [nmol]
1	14,37	0,388	0,16
2	5,77	0,156	0,40
3	8,53	0,230	0,27
4	13,37	0,361	0,17

4.3 Rezeptorbindungsstudien

Die Rezeptorbindungsstudien und die im darauffolgenden Abschnitt beschriebenen Autoradiographien wurden von der Radiopharmakologie des INM-5 durchgeführt und werden hier zur Vollständigkeit aufgeführt.

4.3.1 Untersuchung der Bindungseigenschaften mittels Kompetitionsassays

Die Durchführung der Assays erfolgt mit Hilfe eines im Hause entwickelten Assaysystems mit Homogenaten von CHO-Zellen (Chinese Hamster Ovary). Eine Zelllinie exprimiert den humanen Adenosin-A₁-Rezeptor, die andere den humanen Adenosin-A_{2A}-Rezeptor. Die verwendeten Membrankonzentrationen betrugen 8 mg/ml in einem Volumen 5 µL pro Messung. Die aufgearbeiteten Zellmembransuspensionen liegen nach der Präparation der Streifen immobilisiert auf Kunststoffstreifen vor. Der zu testende Ligand wird in 14 unterschiedlichen Konzentrationen (500 - 0,06 nM) gemeinsam mit einem tritiierten Referenzliganden konstanter Konzentration von 0,5 nM gegeben. Für die A_{2A}-Kompetitionsstudien wird [³H]ZM241385 ([2-³H]-4-(2-(7-Amino-2-(furan-2-yl)-[1,2,4]triazol[1,5-a][1,3,5]triazin-5-ylamino)ethyl)-phenol) als markierter Ligand eingesetzt; und zur Affinitätsbestimmungen an A₁-Rezeptoren wird [³H]DPCPX ([1,3-³H]-Dipropyl-8-cyclopentanylxanthin verwendet. Die Inkubationszeit betrug eine Stunde. Anschließend werden die Streifen 60 Sekunden im Wasserbad gewaschen und die enthaltene Radioaktivität mit einem Beta-Counter gemessen (Szintillationscocktail: Ultima Gold, Firma Perkin Elmer, Tri-Carb 2300TR, Packard, Dreieich, Deutschland). Aus den erhaltenen Daten werden die K_i – Werte mittels nichtlinearer Regression durch das Computerprogramm GraphPad Prism 3.0 bestimmt.

4.3.2 Autoradiographische Untersuchungen

Für autoradiographische Untersuchungen werden jeweils 12 horizontal geschnittene Hirnschnitte aus Ratten verwendet. Diese werden durch Schneiden eines tiefgefrorenen Gehirns mit einem Gefriermikrotom gewonnen, direkt auf speziell beschichtete Objektträger aufgebracht und bei -80 °C aufbewahrt. Nachdem diese wieder aufgetaut und getrocknet sind, werden alle Hirnschnitte zunächst für 5 min bei Raumtemperatur in einer Tris-HCl-Pufferlösung (50 mM, pH 7,4) vorinkubiert. Die Hauptinkubation erfolgt im Anschluss für eine Stunde in Pufferlösungen. Die erste Pufferlösung enthält Tris-HCl-Puffer und den n.c.a. radioaktiv markierten Liganden [¹⁸F]**19**. In der zweiten Pufferlösung ist zusätzlich ZM241385 (4-(2-(7-Amino-2-(furan-2-yl)-[1,2,4]triazol[1,5-a][1,3,5]triazin-5-ylamino)ethyl)-phenol), ein

hochaffiner und selektiver Adenosin-A_{2A}-Ligand, in einer Konzentration von 1 µM enthalten. Der dritten Lösung wird DPCPX (1,3-Dipropyl-8-phenylxanthin), ein Adenosin-A₁-Antagonist, in der Konzentration von 1 µM zugefügt. Der vierte Ansatz enthält den n.c.a. radioaktiv markierten [¹⁸F]**19** und die nicht radioaktive Verbindung **19** in einer Konzentration von 1 µM. Nach der Inkubation werden die Präparate zweimal mit reiner Tris-Pufferlösung gewaschen, kurz in Wasser getaucht und für ca. 30 min bei 37 °C getrocknet. Zur Aktivitätsbestimmung werden die Präparate auf einem Träger fixiert. Anschließend wird eine „Phosphorimage plate“ (Fujifilm) für bis zu 4 Stunden exponiert. Der Film wird mit einem Laser Scanner (Phosphor Imager BAS 500, Fujifilm) gescannt und die erhaltene Abbildung mit der dazugehörigen Imager-Software ausgewertet.

5 Zusammenfassung

Ziel dieser Arbeit war die Entwicklung und Synthese eines affinen, trägerarmen mit ^{18}F -markierten Rezeptorliganden, der selektiv an entsprechende $\text{A}_{2\text{A}}$ -Adenosin-Rezeptoren ($\text{A}_{2\text{A}}\text{ARs}$) im Gehirn bindet und für Studien mittels der Positronen-Emissions-Tomographie (PET) geeignet ist.

Durch die Verfügbarkeit eines trägerarmen, ^{18}F -markierten $\text{A}_{2\text{A}}$ -Radioliganden könnten dadurch wertvolle Erkenntnisse für die Diagnose und Therapie neurodegenerativer Krankheiten wie der Parkinson'schen Krankheit und anderer Hirnkrankheiten mit motorischer Störung gewonnen werden. Auch wird davon ausgegangen, dass die $\text{A}_{2\text{A}}\text{AR}$ am Krankheitsverlauf der Schizophrenie beteiligt sind. Mit Hilfe eines mit hoher molarer Aktivität ^{18}F -radiofluorierten $\text{A}_{2\text{A}}$ -Rezeptorliganden in Kombination mit der PET könnten aussagekräftige Diagnosen ermöglicht werden.

Die vorliegende Arbeit baut auf die vielversprechenden Ergebnisse vorangegangener Synthesen eines Adenosin- $\text{A}_{2\text{A}}$ -Rezeptorliganden auf Basis einer 4-Methoxy-7-morpholinobenzothiazol-2-amin-Leitstruktur auf. Das bereits beschriebene 4- ^{18}F Fluor-*N*-(methoxy-7-morpholinobenzothiazol-2-yl)benzamid ließ sich als selektiver und affiner Ligand für den $\text{A}_{2\text{A}}\text{AR}$ herstellen. Autoradiographische Untersuchungen zeigten jedoch, dass der unspezifische Bindungsanteil überwog, deren Ursache vermutlich in der zu hohen Lipophilie liegt. Dennoch konnte eine generelle Verdrängung mit dem hochaffinen und selektiven $\text{A}_{2\text{A}}$ -Liganden ZM241385 beobachtet werden.

Zunächst wurde in dieser Arbeit der bereits beschriebene Leit-Heterobizyklus, 4-Methoxy-7-morpholinobenzothiazol-2-amin **1**, hergestellt. Ausgehend von **1** konnten zwei Pyridinderivate, das 2-Fluor-*N*-(4-methoxy-7-morpholinobenzothiazol-2-yl)isonicotinamid **8** und das 6-Fluor-*N*-(4-methoxy-7-morpholinobenzothiazol-2-yl)picolinamid **9**, zwei Sulfonylderivate, 4-Fluor-*N*-(4-methoxy-7-morpholinobenzothiazol-2-yl)benzolsulfonamide **10**, und 2-Fluor-*N*-(4-methoxy-7-morpholinobenzothiazol-2-yl)benzolsulfonamid **11**, erfolgreich dargestellt werden.

Über das Phenyl-4-methoxy-7-morpholinobenzothiazol-2-ylcarbamate **7** konnten die Piperazinderivate, 4-(2-Fluorphenyl)-*N*-(4-methoxy-7-morpholino-benzothiazol-2-yl)piperazin-1-carboxamid **12** und 4-(4-Fluorphenyl)-*N*-(4-methoxy-7-morpholinobenzothiazol-2-yl)piperazin-1-carboxamid **13**, ebenfalls erfolgreich synthetisiert werden.

Die biologische *in vitro* Evaluierung der Verbindungen **8**, **9**, **10**, **11**, **12** und **13** bezüglich ihrer Affinität und Selektivität zum $\text{A}_{2\text{A}}\text{AR}$ und A_1AR zeigte, dass sie sich nicht als Liganden für den $\text{A}_{2\text{A}}\text{AR}$ eignen und somit als Radioliganden nicht in Frage kamen.

Im weiteren Verlauf konnten zwei Aminobenzothiazolderivate, das 4-Fluor-4-(hydroxymethyl)-*N*-(4-methoxy-7-morpholinobenzothiazol-2-yl)piperidin-1-carboxamid **18** und das 4-(Fluor-methyl)-4-hydroxy-*N*-(4-methoxy-7-morpholinobenzothiazol-2-yl)piperidin-1-carboxamid **19**, als neue Zielverbindungen synthetisiert werden. Diese Verbindungen sind dem in der Literatur als hochaffinen A_{2A}-Liganden bekannten 4-Hydroxy-*N*-(4-methoxy-7-morpholinobenzothiazol-2-yl)-4-methylpiperidin-1-carboxamid (Tozadenant) **17** ähnlich, weshalb auch dieses hergestellt wurde, um die Bindungseigenschaften vergleichen zu können.

Die biologische *in vitro* Evaluierung dieser Aminobenzothiazolderivate zeigte, dass **19** ähnlich gute, wenn nicht sogar besser Bindungseigenschaften zum A_{2A}-Rezeptor als Tozadenant **17** besitzt, weshalb Verbindung **19** als Zielverbindung ausgewählt wurde.

Da die Synthese eines entsprechenden Markierungsvorläufers auf Aminobenzothiazol-Basis synthetisch aufwendig ist, wurden zunächst strukturell ähnliche Modellverbindungen synthetisiert, um die Möglichkeit einer ¹⁸F-Fluorierung zu studieren.

Hierfür wurden unterschiedlich geschützte Modellvorläuferverbindungen synthetisiert. Bei der Modellverbindung handelt es sich um ein 4-Hydroxymethylpiperidin-4-ol, dessen Stickstoffatom durch eine Schutzgruppe geschützt ist. Es wurden Modellverbindungen mit *tert*-Butyloxycarbonyl(Boc)-, Benzyl- und Benzyloxycarbonyl(Cbz)-Schutzgruppen hergestellt. Für die Entwicklung der Modellvorläufer wurden zwei Strategien verfolgt. Zum einen wurde versucht ein zyklisches Sulfat als ¹⁸F-Markierungsvorläufer herzustellen, wobei das zyklische Sulfat sowohl als Abgangs- und Schutzgruppe dienen sollte. Zum anderen wurde eine Strategie aus verschiedenen Abgangs- und Schutzgruppen entwickelt.

Für die Boc- und Cbz-geschützte Modellvorläufer konnten die zyklischen Sulfate 1,1-Dimethylethyl-1,3-dioxa-2-thia-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat-2,2-dioxid **25** und Benzyl-1,3-dioxa-2-thia-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat-2,2-dioxid **51** hergestellt werden. Es zeigte sich, dass eine ¹⁸F-Markierung dieser Verbindungen nicht stattfand.

Mit dem Cbz-geschützte Modellvorläufer konnten verschiedene Verbindungen mit Abgangs- und Schutzgruppe hergestellt werden. Schlüsselverbindung, hierbei war das Benzyl-4-hydroxy-4-(hydroxymethyl)piperidin-1-carboxylat **36**. Dies wurde Ausgehend vom Cbz-Piperidon, welches zunächst das Epoxid Benzyl-1-oxa-6-azaspiro[2,5]octan-6-carboxylat **33** überführt und anschließend hydrolysiert wurde, erhalten werden. Es ist bekannt, dass Epoxide für die ¹⁸F-Markierung verwendet werden können, weshalb Markierungsversuche durch direkt ¹⁸F-Fluorierung mit **33** durchgeführt wurden, die jedoch nicht erfolgreich waren.

Ausgehend von Verbindung **33** war es möglich, verschiedene Vorläufer mit unterschiedlichen Abgangs- und Schutzgruppen herzustellen. Mit den Modellverbindungen Benzyl-4-((methylsulfonyloxy)methyl)-4-(tetra-hydro-2*H*-pyran-2-yloxy)piperidin-1-carboxylat **38** und

Benzyl-4-(tetrahydro-2*H*-pyran-2-yloxy)-4-(tosyloxymethyl)piperidin-1-carboxylat **47** konnte gezeigt werden, dass sich die Kombination aus Mesylat bzw. Nosylat als Abgangsgruppe und Tetrahydropyran (THP) als Schutzgruppe für eine Radiofluorierung eignen. Es konnten radiochemische Ausbeuten (RCA) von über 20 % erzielt werden.

Diese Ergebnisse dienten dann als Grundlage für die Synthese eines Markierungsvorläufers auf Aminobenzothiazol-Basis. Dazu musste zunächst die entsprechende Piperidin-komponente synthetisiert werden. Hierfür wurde das Diol **36** als Acetal, dem Benzyl-2,2-dimethyl-1,3-dioxa-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat **52**, geschützt, bevor die Cbz-Schutzgruppe abgespalten wurde. Das erhaltene 2,2-Dimethyl-1,3-dioxa-8-azaspiro[4.5]decan **53** konnte dann mit dem Phenylcarbamat **7** erfolgreich zum *N*-(4-Methoxy-7-morpholinobenzo-thiazol-2-yl)-2,2-dimethyl-1,3-dioxa-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxamid **54** umgesetzt werden.

Vor der Öffnung des Acetals von Verbindung **54** musste noch das amidische Proton des Stickstoffatoms durch eine Schutzgruppe ersetzt werden. Hierfür wurde Pivaloyloxymethyl (POM)- und Boc- als Schutzgruppe ausgewählt, um die jeweilig geschützten Verbindungen (*N*-(4-Methoxy-7-morpholinobenzo-thiazol-2-yl)-2,2-dimethyl-1,3-dioxa-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxamido)methylpivalat **55** und *tert*-Butyl-(2,2-dimethyl-1,3-dioxa-8-azaspiro[4.5]decan-8-carbonyl)(4-methoxy-7-morpholinobenzo-thiazol-2-yl)carbamate **56** zu erhalten. Nach der erfolgreichen Acetalspaltung konnten die Verbindungen 4-Hydroxy-4-(hydroxymethyl)-*N*-(4-methoxy-7-morpholinobenzo[*d*]thiazol-2-yl)-*N*-pivaloyloxymethylpiperidin-1-carboxamid **57** und *tert*-Butyl-(4-hydroxy-4-(hydroxymethyl)piperidin-1-carbonyl)(4-methoxy-7-morpholino-benzothiazol-2-yl)carbamate **58** erhalten werden.

Ausgehend von Verbindung **57** wurden die THP-geschützten ¹⁸F-Markierungsvorläufer, (*N*-(4-methoxy-7-morpholinobenzo-thiazol-2-yl)-4-((methylsulfonyloxy)methyl)-4-(tetrahydro-2*H*-pyran-2-yloxy)-piperidin-1-carboxamido)methylpivalat **63** und (*N*-(4-Methoxy-7-morpholino-benzothiazol-2-yl)-4-((4-nitrophenylsulfonyloxy)methyl)-4-(tetrahydro-2*H*-pyran-2-yloxy)piperidin-1-carbox-amido)methylpivalat **64**, hergestellt. Ausgehend von **58** wurden mit demselben Synthesekonzept noch die analogen ¹⁸F-Markierungsvorläufer (1-(*tert*-Butoxycarbonyl(4-methoxy-7-morpholinobenzo-thiazol-2-yl)carbamoyl)-4-(tetrahydro-2*H*-pyran-2-yloxy)piperidin-4-yl)methyl 4-methylbenzolsulfonat **65** und ihre Referenzen *tert*-Butyl(4-(fluormethyl)-4-hydroxypiperidin-1-carbonyl)(4-methoxy-7-morpholino-benzo[*d*]thiazol-2-yl)carbamate **69** und Synthese von *tert*-Butyl-(4-(fluormethyl)-4-(tetrahydro-2*H*-pyran-2-yloxy)piperidin-1-carbonyl)(4-methoxy-7-morpholinobenzo[*d*]thiazol-2-yl)carbamate **70** synthetisiert.

Die benötigten Referenzverbindungen (4-(Fluormethyl)-4-hydroxy-*N*-(4-methoxy-7-morpholinobenzo-thiazol-2-yl)piperidin-1-carboxamido)methylpivalat **67** und (4-(Fluormethyl)-*N*-(4-methoxy-7-morpholinobenzo-thiazol-2-yl)-4-(tetrahydro-2*H*-pyran-2-yloxy)piperidin-1-

carboxamido)-methylpivalat **68** für die Identifizierung der Radiomarkierungsprodukte konnten ebenfalls dargestellt werden.

Die erfolgreiche Entwicklung geeigneter Eluentensysteme für die Radio-Dünnschichtchromatographie sowie für die Radio-HPLC trägerarmer Markierungsprodukte stellte die Grundlage für die Untersuchungen der radioaktiven Analyse zur Ausbeutenbestimmung dar.

Die durchgeführten ^{18}F -Markierungsreaktionen zeigten relativ schlechte Ausbeuten für die Mesyl-Verbindung **63** von $< 5\%$, wohingegen die ^{18}F -Fluorierung unter der Verwendung des Nosyl-Vorläufers **64** mit RCA $> 20\%$ nach einer Reaktionszeit von 5 Minuten verlief.

Bei der Synthese einer Vorläuferverbindung auf Basis eines zyklischen Sulfats zeigte sich, dass bereits das zyklische Sulfat, Pivaloxymethyl-(4-methoxy-7-morpholinobenzo[d]thiazol-2-yl)(1,3-dioxa-2-thia-8-azaspiro[4.5]decan-2-oxid)-8-carboxamid **80**, ausreichend für eine nukleophile Substitutionsreaktion aktiviert ist und daher prinzipiell für die nukleophile Markierung mit trägerarmen ^{18}F Fluorid in Frage kommt. Es konnte somit erstmalig gezeigt werden, dass die Einführung von ^{18}F Fluorid über zyklische Sulfite möglich ist.

Für diese neue Methode der selektiven Markierung mit n.c.a. ^{18}F Fluorid durch nukleophile Substitution wurden verschiedene Reaktionsparameter optimiert. Es stellte sich heraus, dass bei einer Reaktionstemperatur von $140\text{ }^{\circ}\text{C}$ und $1,8\text{ }\mu\text{mol}$ Vorläufer nach 15 Minuten, in $250\text{ }\mu\text{L}$ DMSO mit $2,5\text{ }\mu\text{mol}$ Tetrabutylammoniumhydroxid als Anionenaktivator radiochemische Ausbeuten von $> 23\%$ erzielen lassen.

Im Anschluss an die Radiomarkierung konnte die Schutzgruppe quantitativ hydrolysiert werden, um die gewünschte Zielverbindung ^{18}F **19** zu erhalten. Nach HPLC-Reinigung konnte das Produkt ^{18}F **19** in einer RCA von $7\pm 3\%$, einer radiochemischen Reinheit von 99% und mit einer molaren Aktivität von $14,37\text{ GBq}/\mu\text{mol}$ ($0,39\text{ Ci}/\mu\text{mol}$) isoliert werden.

Bei den erfolgreich durchgeführten Autoradiographien zeigte sich, dass es gelungen war mit Verbindung ^{18}F **19** einen selektiven und affinen Radioliganden herzustellen. Neben der Totalbindung des neuen Radioliganden ^{18}F **19** wurde in Konkurrenzexperimenten mit den bekannten Liganden ZM241385 und DPCPX auf Selektivität bezüglich $\text{A}_{2\text{A}}\text{AR}$ bzw. A_1AR getestet. Auch eine Verdrängung mit seinem nicht-radioaktiven Derivat wurde durchgeführt. Es lässt sich ausschließlich eine Anreicherung des Liganden im *Corpus Striatum* beobachten, die durch keine unspezifische Bindung beeinträchtigt wurde. Weitere *in vivo* Untersuchungen sind erforderlich, um die Darstellbarkeit der $\text{A}_{2\text{A}}\text{AR}$ mittels ^{18}F **19** zu verifizieren.

6 Anhang

6.1 Rezeptorbindungsstudien

6.1.1 Untersuchung der Bindungseigenschaften mittels Kompetitionsassays

Für *in vitro* Evaluierungen der dargestellten Verbindungen **17**, **18** und **19**, bezüglich ihrer Affinitäten und Selektivitäten, wurden Verdrängungsstudien der jeweiligen Verbindung an humanen Adenosin- A_{2A} - bzw. A_1 -Rezeptor-exprimierenden CHO-Zelllinien mit [3 H]ZM241385 ([2- 3 H]-4-(2-(7-Amino-2-(furan-2-yl)-[1,2,4]triazol[1,5-a][1,3,5]triazin-5-ylamino)ethyl)-phenol; $K_D = 0,45$; hausintern bestimmter K_D -Wert) für A_{2A} AR bzw. mit [3 H]DPCPX ([1,3- 3 H]-Dipropyl-8-cyclopentanylxanthin; $K_D = 2,99$; hausintern bestimmter K_D -Wert) für A_1 AR durchgeführt. Abbildung 25 und Abbildung 26 zeigen den jeweiligen Verlauf der Verdrängung der radiomarkierten Liganden durch die jeweilige Verbindung **17** bzw. **19** in Abhängigkeit ihrer eingesetzten Konzentrationen. Die Bestimmung der K_i - Werte erfolgte mittels nichtlinearer Regression durch das Computerprogramm GraphPad Prism 3.0. Die jeweils linke Graph repräsentiert die Verdrängung des [3 H]ZM241385 an einer mit A_{2A} -exprimierenden CHO-Zelllinie und die rechte Abbildung die des [3 H]DPCPX an einer A_1 -exprimierenden CHO-Zelllinie. Für die Verdrängungsstudien am A_{2A} -Rezeptor lassen sich für Verbindungen **19** und das Tozadenant ideale sigmoidale Kurvenverläufe beobachten. Aus den Daten für die Verdrängungsstudien am A_1 -Rezeptor ergibt sich kein sigmoidaler Verlauf. Eine Bindung zu dem Adenosin- A_1 -Rezeptor ist bis zu den höchsten eingesetzten Konzentrationen (1 μ M) nicht zu beobachten.

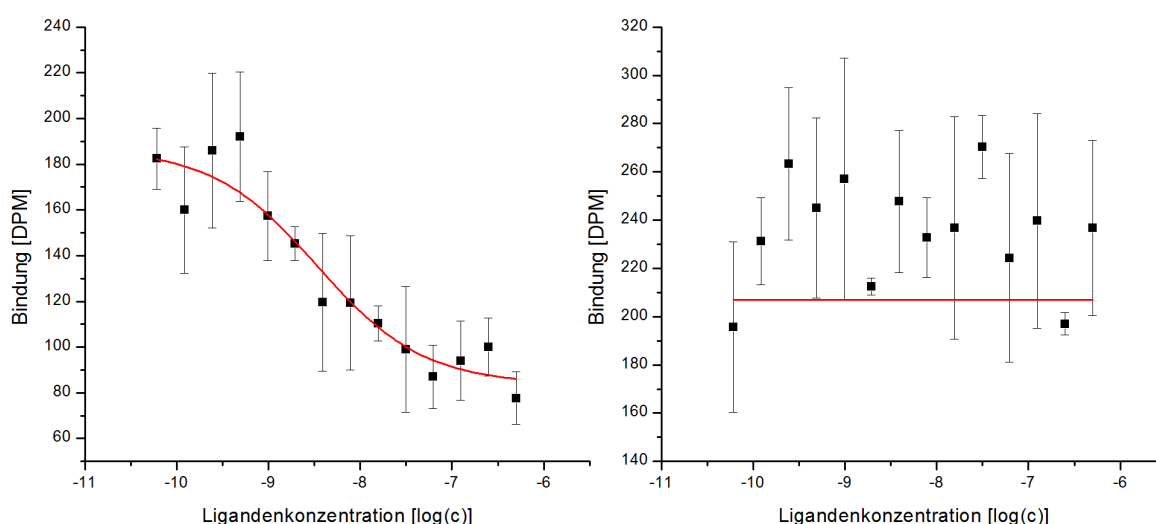


Abbildung 25: Verdrängungsstudie von [3 H]ZM241385 mit Tozadenant **17** (in einer A_{2A} -exprimierenden CHO-Zelllinie, links) und [3 H]DPCPX (in einer A_1 -exprimierenden CHO-Zelllinie, rechts), $n \geq 3$.

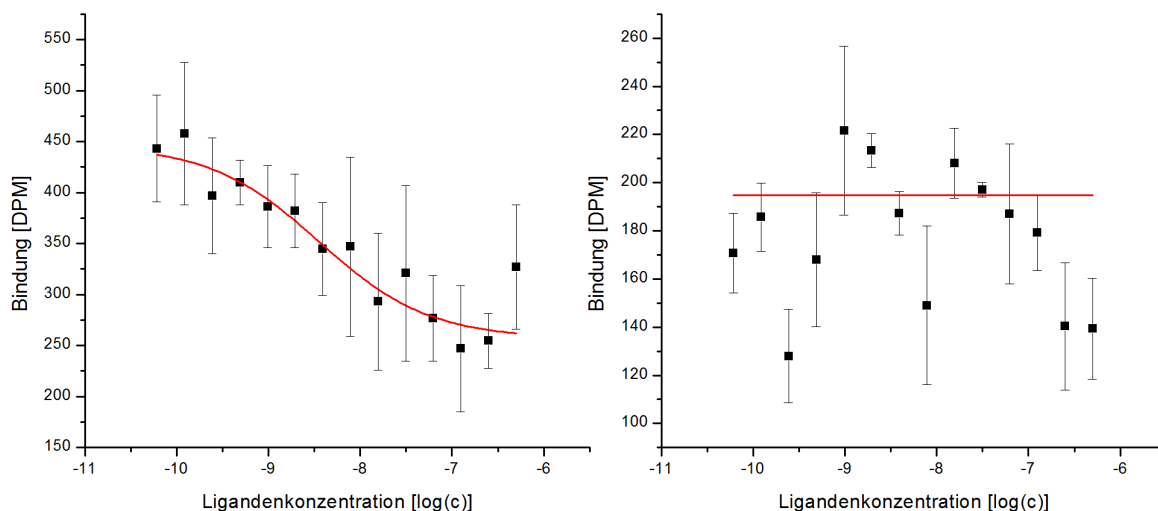


Abbildung 26: Verdrängungsstudie von $[^3\text{H}]\text{ZM241385}$ mit der Zielverbindung **19** (in einer $\text{A}_{2\text{A}}$ -exprimierenden CHO-Zelllinie, links) und $[^3\text{H}]\text{DPCPX}$ (in einer A_1 -exprimierenden CHO-Zelllinie, rechts), $n \geq 3$.

Für die Verbindungen **8**, **9**, **10**, **11**, **12**, **13**, und **18** wurden ebenfalls bezüglich ihres Bindungspotentials untersucht. Die ermittelten K_i -Werte aller getesteten Verbindungen sind in Tabelle 10 zusammengefasst.

Tabelle 10: Übersicht aller Bestimmten K_i -Werte dieser Arbeit.

Verbindung	K_i ($\text{A}_{2\text{A}}$)	K_i (A_1)	Clog P *
8	96 nM	$> 1 \mu\text{M}$	2,8 – 2,9
9	$> 1 \mu\text{M}$	$> 1 \mu\text{M}$	2,8 – 2,9
10	$> 1 \mu\text{M}$	$> 1 \mu\text{M}$	3,2
11	$> 1 \mu\text{M}$	$> 1 \mu\text{M}$	3,2
12	$> 1 \mu\text{M}$	$> 1 \mu\text{M}$	3,8 – 4,1
13	60 nM	$> 1 \mu\text{M}$	3,8 – 4,1
17	$2,7 \pm 0,9$ nM	$> 1 \mu\text{M}$	1,3 – 1,5
18	4,2 nM	$> 1 \mu\text{M}$	1,2 – 1,3
19	$1,4 \pm 0,7$ nM	$> 1 \mu\text{M}$	1,2 – 1,3

* ber. mit Marvin Sketch 17.1.2.0.

Der Vergleich der erhaltenen Daten zeigt, dass sich Verbindung **19** ähnlich affin und selektiv bezüglich des Adenosin- $\text{A}_{2\text{A}}$ -Rezeptors verhält wie Tozadenant.

6.1.2 Autoradiographische *in vitro* Studien von [^{18}F]**19** an Rattenhirnschnitten

Die Bindungsstudien haben gezeigt, dass es sich bei der Verbindung **19** um einen sehr affinen und selektiven A_{2A} -Liganden handelt. Aus diesem Grund wurden autoradiographische Untersuchungen an transversalen Rattenhirnschnitten mit dem zuvor radiofluorierten Liganden [^{18}F]**19** durchgeführt. Diese sollten Aufschluss über die Gewebeverteilung sowie die spezifische Bindung geben. Hierfür wurden jeweils drei transversale Rattenhirnschnitte mit vier Lösungen unterschiedlicher Zusammensetzung inkubiert. Die erste Lösung enthielt nur den Radioliganden [^{18}F]**19**, um die Totalbindung abzubilden. Die zweite Lösung enthielt zusätzlich einen Überschuss des A_{2A} -affinen Antagonisten ZM241385, um die unspezifische Bindung darzustellen. Die dritte Lösung enthielt zur Überprüfung der A_1 -Selektivität einen Überschuss des A_1 -spezifischen Liganden DPCPX. Die vierte Lösung enthielt den nicht-radioaktiven Liganden **19**, um zu überprüfen, in welchem Ausmaß dieser mit sich selbst verdrängt werden kann und in wie weit dieses Ergebnis mit der Abbildung der unspezifischen Bindung in Gegenwart von ZM241385 (Lösung zwei) korreliert.

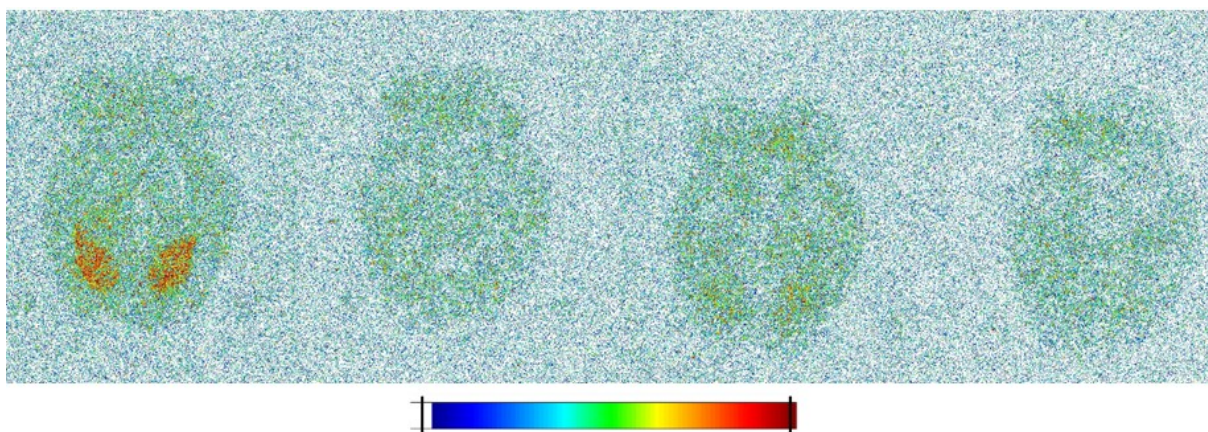


Abbildung 27: Autoradiographie von [^{18}F]**19** an transversale Rattenhirnschnitten. Von links nach rechts: Totalbindung von n.c.a [^{18}F]**19**, Verdrängung durch ZM241385, DPCPX und der Verbindung **19**.

Abbildung 27 zeigt das Ergebnis der autoradiographischen Untersuchung. Die Totalbindung des Radioliganden zeigte eine selektive Anreicherung nur im *Corpus Striatum*. Durch die Konkurrenz mit ZM241385, DPCPX und der nicht-radioaktiv markierten Verbindung **19** ist es möglich den Liganden [^{18}F]**19** zu verdrängen.

Bei genauerer Betrachtung der Hirnschnitte, bei denen mit DPCPX verdrängt wurde lässt sich erkennen, dass Radioaktivität in einem erheblichen Ausmaß verdrängt wurde, aber mehr Radioaktivität auf dem Schnitt, insbesondere im *Corpus Striatum*, verblieb als bei dem Einsatz von ZM241385. Es wäre bei dem Einsatz eines idealen Adenosin- A_1 -Liganden zu erwarten gewesen, dass hier gar keine Verdrängung zu beobachten gewesen wäre. Die Gegebenheit, dass DPCPX in einem sehr großen Überschuss (ca. 5000-fache Tracerkonzentration)

verwendet wurde und auch DPCPX eine, wenn auch nur sehr geringe, Affinität zu Adenosin- A_{2A} -Rezeptoren besitzt, könnte eine Erklärung dafür darstellen, warum hier bei diesem Experiment DPCPX den Tracer aus den spezifischen Arealen verdrängen konnte.

Die wiederholte Durchführung ($n = 4$) der Autoradiographie bestätigte die bereits erhaltenen Ergebnisse. Nach einer Inkubation mit [^{18}F]**19** mit einer Konzentration von 170 pM konnte die Radioaktivität ausschließlich im *Corpus Striatum* lokalisiert werden (Abbildung 28 **A**). Ein solches Bindungsmuster wird von einem spezifischen A_{2A} AR-Liganden erwartet und ist identisch zu den Ergebnissen die aus autoradiographischen Studien mit tritiiertem ZM241385, dem „Goldstandard“, erhalten wurden. Bei Verdrängungsexperimenten mit nichtmarkiertem ZM241385 bei einer Konzentration von 1 μM wurde der n.c.a. markierte Ligand [^{18}F]**19** quantitativ von der Bindung verdrängt, was in Abbildung 28 **B** zu sehen ist. Die verbleibende Radioaktivität im *Corpus Striatum* beträgt nur etwa 10 % der Gesamtbindung. Diese niedrige unspezifische Bindung ist homogen und diffus über die gesamte Oberfläche des Gehirns verteilt.

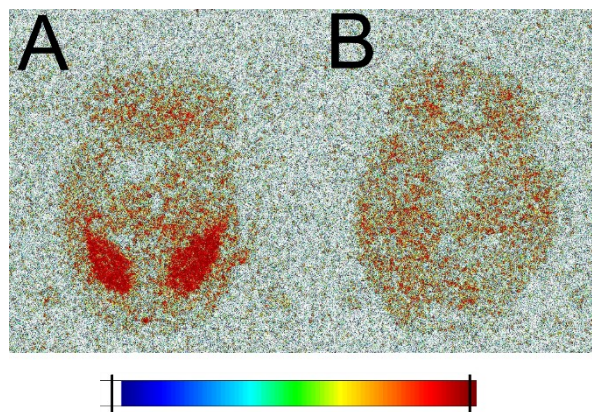


Abbildung 28: Autoradiographie [^{18}F]**19** an transversalen Rattenhirnschnitten. **A** zeigt die Totalbindung des n.c.a. [^{18}F]**19**, **B** zeigt die Verdrängung von n.c.a. [^{18}F]**19** durch 1 μM ZM241385,

Zusammenfassend zeigten die Ergebnisse der *in vivo* Untersuchungen, dass es sich bei [^{18}F]**19** um einen sehr affinen und selektiven A_{2A} AR Liganden mit einem sehr geringen unspezifischen Bindungspotenzial zu handeln scheint.

In weiteren Experimenten kann nun geklärt werden, ob bzw. in welchem Umfang die Blut-Hirn-Schranke überwunden wird und eine spezifische Anreicherung in den Zielarealen unter *in vivo* Bedingungen beobachtbar ist, um weitere Erkenntnisse über die Eignung von [^{18}F]**19** als einsetzbaren A_{2A} AR-Liganden für die molekulare Bildgebung zu erhalten.

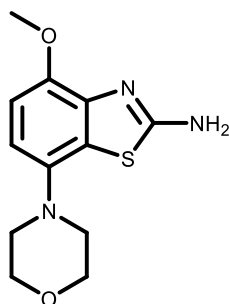
6.2 Abkürzungsverzeichnis

[¹⁸ F]FDG	2-[¹⁸ F]Fluor-2-desoxy-D-glukose
Å	Angström
AC	Adenylatcyclase
ACN	Acetonitril
AcOH	Essigsäure
AR	Adenosinrezeptor
Bdg.	Bindung
BHS	Blut-Hirn-Schranke
Boc	<i>tert</i> -Butoxycarbonyl
Bq	Einheit Bequerel (s ⁻¹)
<i>n</i> -BuLi	<i>n</i> -Butyllithium
bzw.	beziehungsweise
c	Konzentration
c.a.	geträgert (engl.: carrier-added)
c.f.	trägerfrei (engl.: carrier-free)
cAMP	Adenosinmonophosphat
cAMP	Zyklisches Adenosinmonophosphat
CBZ	Benzyloxycarbonyl
CSA	Camphersulfonsäure
CT	Computertomographie
d	Deuteron
DAG	Diacylglycerin
DAST	Diethyaminoschwefeltrifluorid
DBU	1,8-Diazabicyclo[5,4,0]undec-7-en
DC	Dünnschichtchromatographie
DCE	Dichlorethan
DCM	Dichlormethan
DEA	Diethylamin
DHP	Dihydropyran
DIPEA	Diisopropylethylamin (Hünig's Base)
Dis.	Dissoziation
DMAc	Dimethylacetamid
DMAP	4- <i>N,N</i> -Dimethylaminopyridin, 4-(Dimethylamino)-pyridin
DMF	<i>N,N</i> -Dimethylformamid
DMSO	Dimethylsulfoxid
e ⁻	Elektron
EC	Elektroneneinfang (engl.: electron capture)
EE	Essigsäureethylester
EtOAc	Essigsäureethylester
EtOEt	Diethylether
EtOH	Ethanol
eV	Elektronenvolt
fmol	Femtomol
g	Gramm
ges.	gesättigt
Gi	inhibitorische G-Proteine

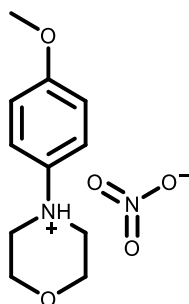
GPCR	G-Protein gekoppelter Rezeptor
GPCRs	G-Protein-gekoppelte Rezeptoren
Gs	cAMP abhängige Reaktionen
h	Stunde
Hex	Hexan
HPLC	Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (engl.: high performance liquid chromatography)
HRMS	Hochauflösende Massenspektrometrie (engl.: high resolution mass spectrometry)
HWZ	Halbwertszeit
IC ₅₀	Inhibitorische Konzentration 50 %
IP ₃	Inositoltriphosphat
K222	Kryptopfix®2,2,2 Kronenether
keV	Kiloelektronenvolt
kg	Kilogramm
Lsg.	Lösung
MA	molare Aktivität
max.	Maximal
MeOH	Methanol
MeV	Megaelektronenvolt
mg	Milligramm
min	Minute
mm	Millimeter
MRT	Magnetresonanztomographie
MS	Massenspektroskopie
mSv	Millisievert
n	Neutron
n.c.a.	trägerarm (ohne bewusste Zugabe) (engl.: no-carrier-added)
NMR	Kernspinresonanzspektroskopie (engl.: nuclear magnetic resonance)
NMO	<i>N</i> -Methylmorpholin- <i>N</i> -oxid
p	Proton
PE	Petrolether
PET	<i>Positronen-Emissions-Tomographie</i>
POM	Pivaloyloxymethyl
PPTS	Pyridinium- <i>p</i> -toluolsulfonat, Pyridin-3-sulfonsäure
PTSA	<i>p</i> -Toluolsulfonsäure
RCA	radiochemische Ausbeute
RT	Raumtemperatur (20 – 22 °C)
SA	Spezifische Aktivität
SDI	Sulfonyldiimidazol
Smp	Schmelzpunkt
SPECT	Einzel-Photonen-Emissions-Tomographie (enl.: single photon emission computed tomography)
β ⁺	Positron
subst.	substituiert
T	Tritium
T _½	Halbwertszeit

TBAB	Tetrabutylammoniumbromid
TBAF	Tetrabutylammoniumfluorid
TBAH	Tetrabutylammoniumhydroxid
TBAHCO ₃	Tetrabutylammoniumhydrogencarbonat
tBME	<i>tert</i> -Butylmethylether
TBDMSCI	<i>tert</i> -Butyldimethylsilylchlorid
TEA	Triethylamin
theo.	theoretisch
THF	Tetrahydrofuran
TLC	Dünnschichtchromatographie (engl.: thin layer chromatography)
ZNS	zentrales Nervensystem
α	Helium-Teilchen
λ	Zerfallskonstante
ν	Neutrino

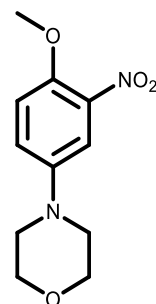
6.3 Übersicht der synthetisierten Verbindungen



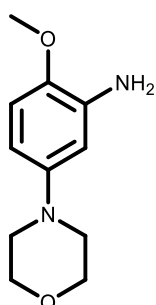
Verb. 1: 4-Methoxy-7-morpholin-4-yl-benzothiazol-2-ylamin **1**



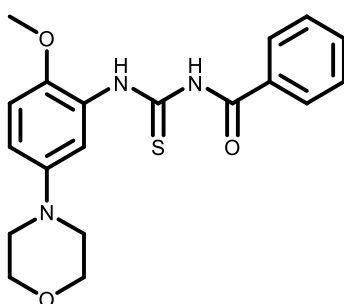
Verb. 2: 4-(4-Methoxyphenyl)-morpholinnitrat **2**



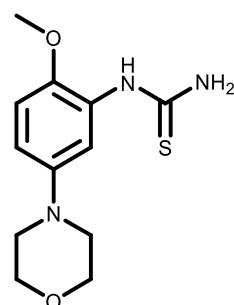
Verb. 3: 4-(4-Methoxy-3-nitro-phenyl)morpholin **3**



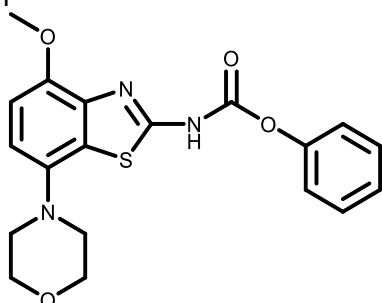
Verb. 4: 2-Methoxy-5-morpholinoanillin **4**



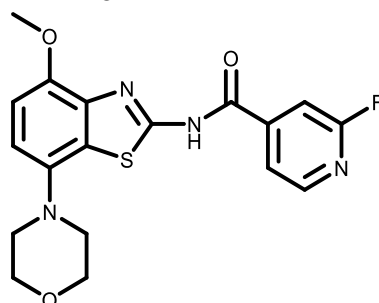
Verb. 5: 1-Benzoyl-3-(2-methoxy-5-morpholin-4-yl-phenyl)thioharnstoff **5**



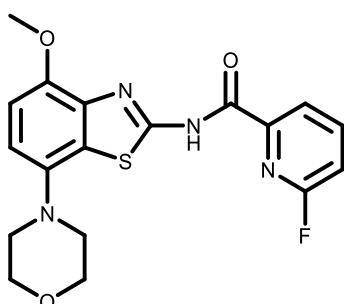
Verb. 6: 2-Methoxy-5-morpholin-4-yl-phenylthioharnstoff **6**



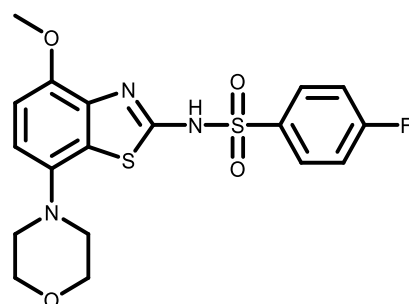
Verb. 7: Phenyl-4-methoxy-7-morpholinobenzothiazol-2-ylcarbamate **7**



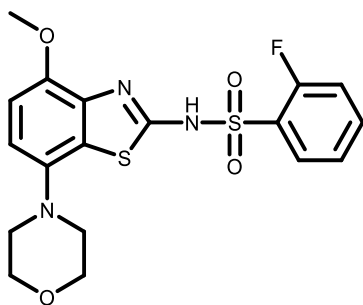
Verb. 8: 2-Fluor-N-(4-methoxy-7-morpholinobenzothiazol-2-yl)isonicotinamid **8**



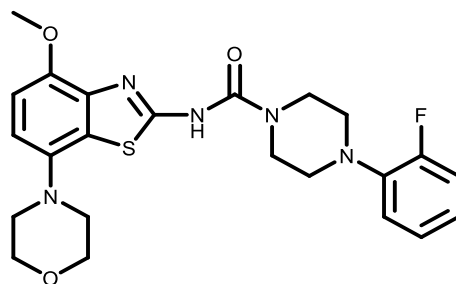
Verb. 9: 6-Fluor-N-(4-methoxy-7-morpholinobenzothiazol-2-yl)picolinamid **9**



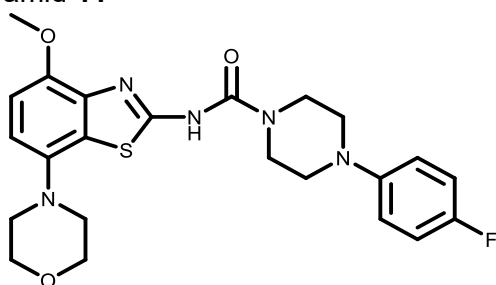
Verb. 10: 4-Fluor-N-(4-methoxy-7-morpholinobenzothiazol-2-yl)benzolsulfonamid **10**



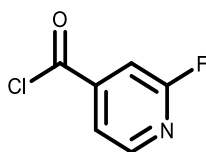
Verb. 11: 2-Fluor-*N*-(4-methoxy-7-morpholinobenzothiazol-2-yl)benzolsulfonamid **11**



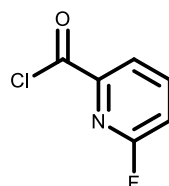
Verb. 12: 4-(2-Fluorphenyl)-*N*-(4-methoxy-7-morpholinobenzothiazol-2-yl)piperazin-1-carboxamid **12**



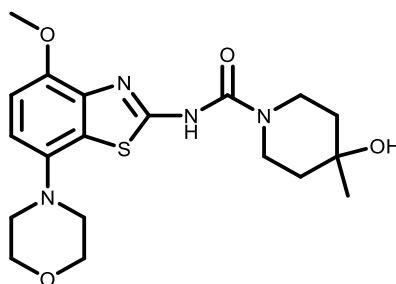
Verb. 13: 4-(4-Fluorphenyl)-*N*-(4-methoxy-7-morpholinobenzothiazol-2-yl)piperazin-1-carboxamid **13**



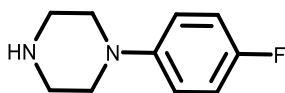
Verb. 14: 2-Fluorisonicotinsäurechlorid **14**



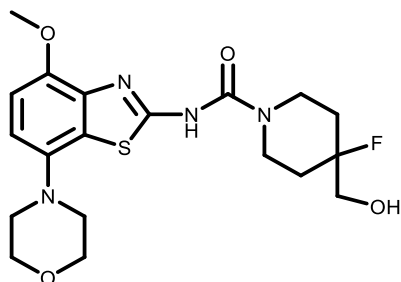
Verb. 15: 6-Fluoripicolinsäurechlorid **15**



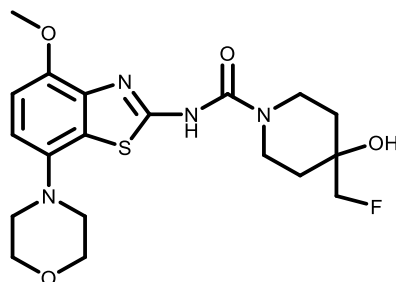
Verb. 17: 4-Hydroxy-*N*-(4-methoxy-7-morpholinobenzothiazol-2-yl)-4-methylpiperidin-1-carboxamid (Tozadenant) **17**



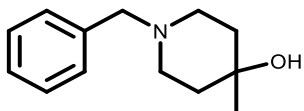
Verb. 16: 4-Fluorphenylpiperazin **16**



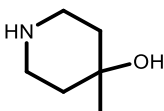
Verb. 18: 4-Fluor-4-(hydroxymethyl)-*N*-(4-methoxy-7-morpholinobenzothiazol-2-yl)piperidin-1-carboxamid **18**



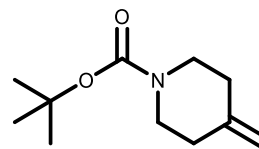
Verb. 19: 4-(Fluormethyl)-4-hydroxy-*N*-(4-methoxy-7-morpholinobenzothiazol-2-yl)piperidin-1-carboxamid **19**



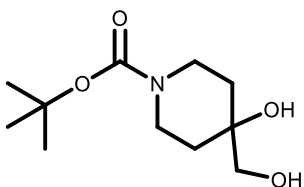
Verb. 20: 1-Benzyl-4-methylpiperidin-4-ol **20**



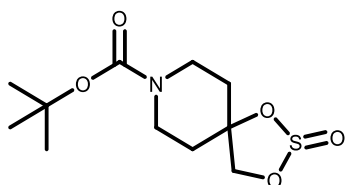
Verb. 21: 4-Methylpiperidin-4-ol **21**



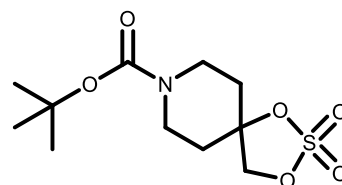
Verb. 22: *N*-Boc-4-methylenpiperidin **22**



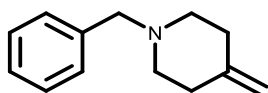
Verb. 23: *N*-Boc-4-hydroxy-4-(hydroxymethyl)piperidin **23**



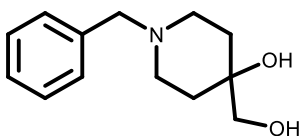
Verb. 24: 1,1-Dimethylethyl-1,3-dioxo-2-thia-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat-2-oxid **24**



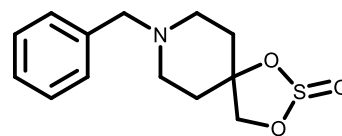
Verb. 25: 1,1-Dimethylethyl-1,3-dioxo-2-thia-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat-2,2-dioxid **25**



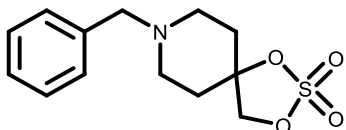
Verb. 26: 1-Benzyl-4-methylenpiperidin **27**



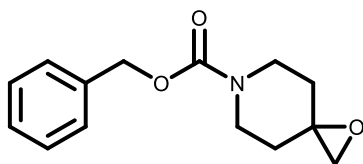
Verb. 27: 1-Benzyl-4-hydroxymethylpiperidin-4-ol **28**



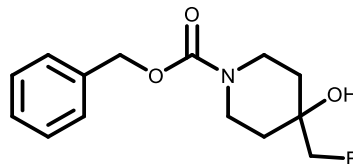
Verb. 28: Benzyl-1,3-dioxo-2-thia-8-azaspiro[4.5]decan-2-oxid **29**



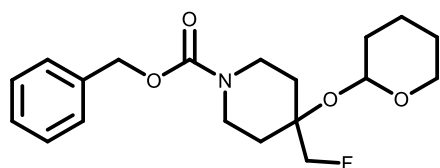
Verb. 29: Benzyl-1,3-dioxo-2-thia-8-azaspiro[4.5]decan-2,2-dioxid **30**



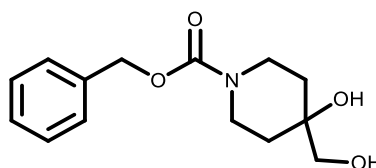
Verb. 30: Benzyl-1-oxa-6-azaspiro[2,5]octan-6-carboxylat **33**



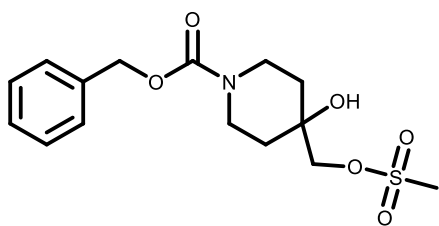
Verb. 31: Benzyl-4-(fluormethyl)-4-hydroxy-piperidin-1-carboxylat **34**



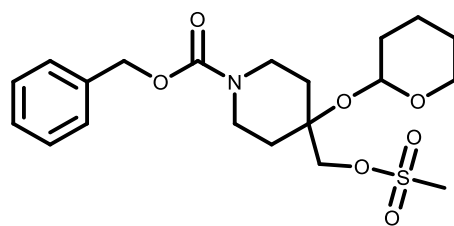
Verb. 32: Benzyl-4-(fluormethyl)-4-(tetrahydro-2*H*-pyran-2-yloxy)piperidin-1-carboxylat **35**



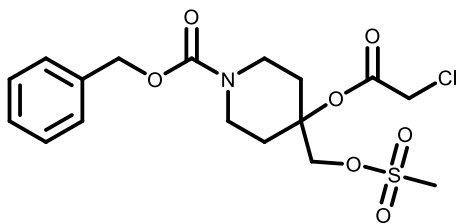
Verb. 33: Benzyl-4-hydroxy-4-(hydroxymethyl)piperidin-1-carboxylat **36**



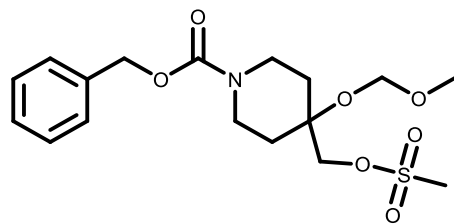
Verb. 34: Benzyl-4-hydroxy-4-((methylsulfonyl-oxy)methyl)piperidin-1-carboxylat **37**



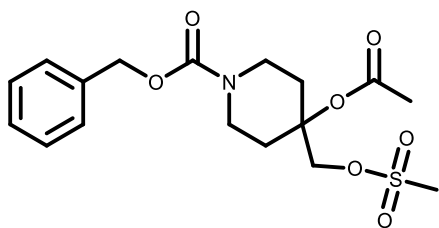
Verb. 35: Benzyl-4-((methylsulfonyloxy)-methyl)-4-(tetrahydro-2*H*-pyran-2-yloxy)-piperidin-1-carboxylat **38**



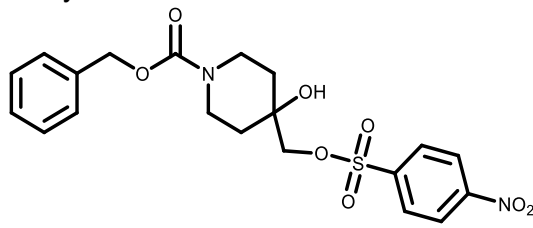
Verb. 36: Benzyl-4-(2-chloroacetoxy)-4-((methylsulfonyloxy)methyl)piperidin-1-carboxylat **39**



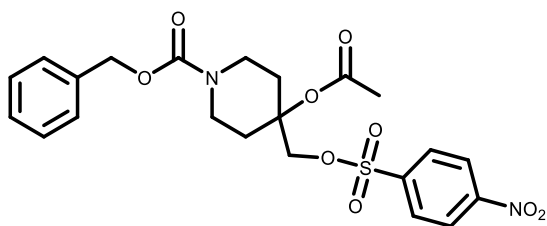
Verb. 37: Benzyl-4-(methoxymethoxy)-4-((methylsulfonyloxy)methyl)piperidin-1-carboxylat **40**



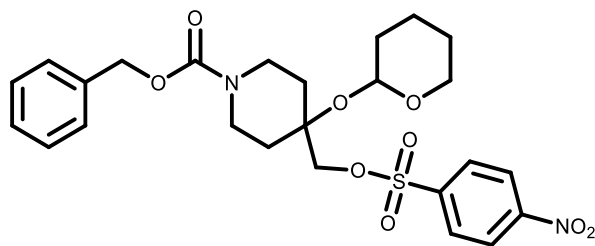
Verb. 38: Benzyl-4-acetoxy-4-((methylsulfonyloxy)methyl)piperidin-1-carboxylat **41**



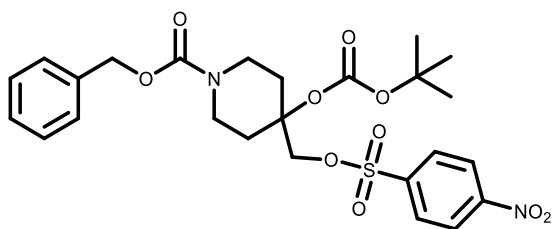
Verb. 39: Benzyl-4-hydroxy-4-((4-nitrophenylsulfonyloxy)methyl)piperidin-1-carboxylat **42**



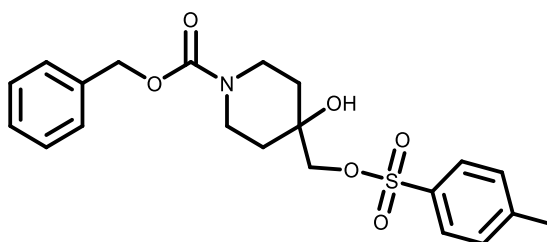
Verb. 40: Benzyl-4-acetoxy-4-((4-nitrophenylsulfonyloxy)methyl)piperidin-1-carboxylat **43**



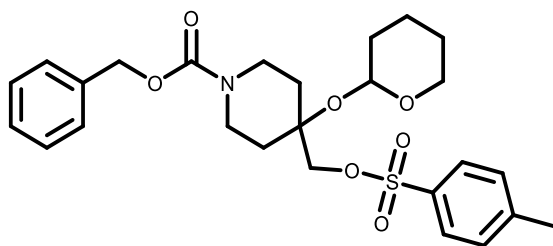
Verb. 41: Benzyl-4-((4-nitrophenylsulfonyloxy)-methyl)-4-(tetrahydro-2*H*-pyran-2-yloxy)piperidin-1-carboxylat **44**



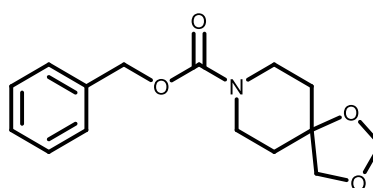
Verb. 42: Benzyl-4-(*tert*-butoxycarbonyloxy)-4-((4-nitrophenylsulfonyloxy)methyl)-piperidin-1-carboxylat **45**



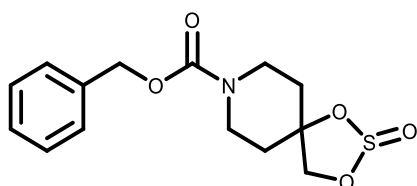
Verb. 43: Benzyl-4-(tetrahydro-2*H*-pyran-2-yl-oxy)-4-(tosyloxymethyl)piperidin-1-carboxylat **46**



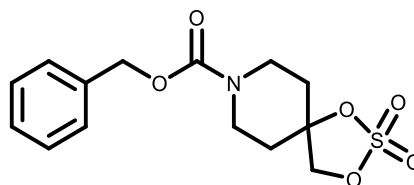
Verb. 44: Benzyl-4-(tetrahydro-2*H*-pyran-2-yloxy)-4-(tosyloxymethyl)piperidin-1-carboxylat **47**



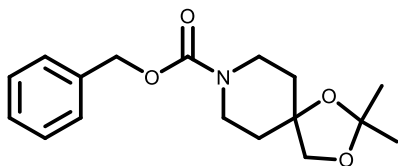
Verb. 45: Benzyl-1,3-dioxo-8-azaspiro[4.5]-decan-8-carboxylat **48**



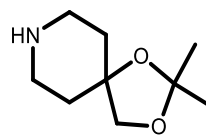
Verb. 46: Benzyl-1,3-dioxo-2-thia-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat-2-oxid **50**



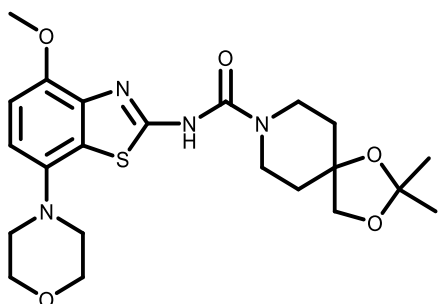
Verb. 47: Benzyl-1,3-dioxo-2-thia-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat-2,2-dioxid **51**



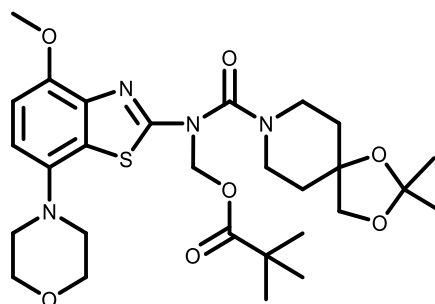
Verb. 48: Benzyl-2,2-dimethyl-1,3-dioxaspiro[4.5]decan-8-carboxylat **52**



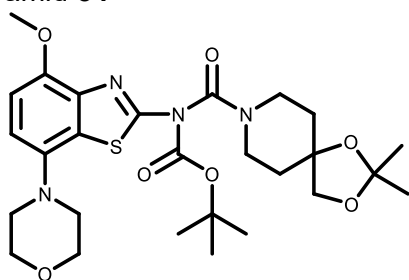
Verb. 49: 2,2-Dimethyl-1,3-dioxaspiro[4.5]decan-8-aza-spiro[4.5]decan **53**



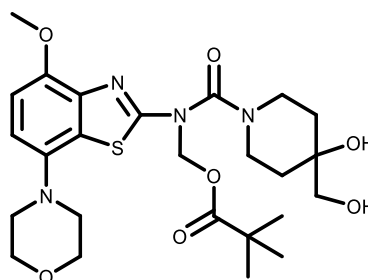
Verb. 50: *N*-(4-Methoxy-7-morpholino-benzo-thiazol-2-yl)-2,2-dimethyl-1,3-dioxaspiro[4.5]decan-8-carboxamid **54**



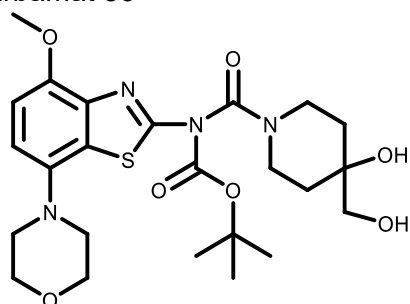
Verb. 51: (*N*-(4-Methoxy-7-morpholinobenzo-thiazol-2-yl)-2,2-dimethyl-1,3-dioxaspiro[4.5]decan-8-carboxamido)methylpivalat **55**



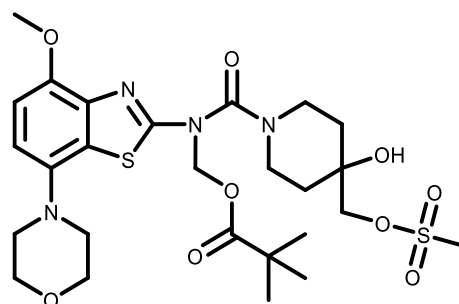
Verb. 52: *tert*-Butyl-(2,2-dimethyl-1,3-dioxaspiro[4.5]decane-8-carbonyl)-(4-methoxy-7-morpholinobenzo-thiazol-2-yl)carbamate **56**



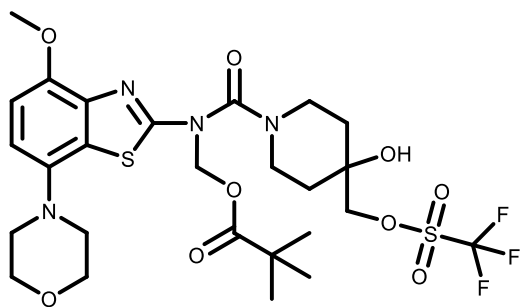
Verb. 53: 4-Hydroxy-4-(hydroxymethyl)-*N*-(4-methoxy-7-morpholinobenzo[d]thiazol-2-yl)-*N*-pivaloyloxymethylpiperidin-1-carboxamid **57**



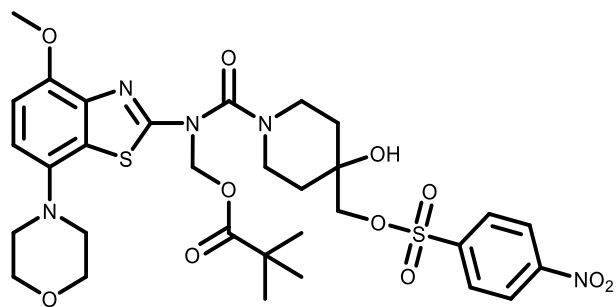
Verb. 54: *tert*-Butyl-(4-hydroxy-4-(hydroxymethyl)piperidin-1-carbonyl)-(4-methoxy-7-morpholinobenzo-thiazol-2-yl)carbamate **58**



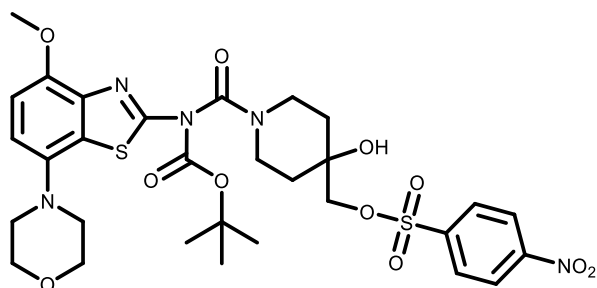
Verb. 55: (4-Hydroxy-*N*-(4-methoxy-7-morpholinobenzo-thiazol-2-yl)-4-((methylsulfonyloxy)-methyl)piperidin-1-carboxamido)methylpivalat **59**



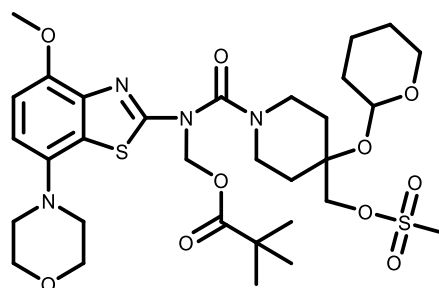
Verb. 56: (4-Hydroxy-*N*-(4-methoxy-7-morpholinobenzothiazol-2-yl)-4-((trifluormethylsulfonyloxy)methyl)piperidin-1-carboxamido)-methylpivalat **60**



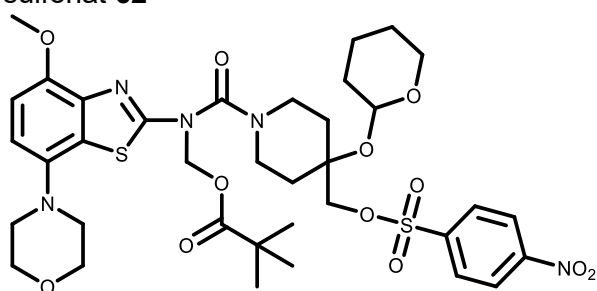
Verb. 57: (4-Hydroxy-*N*-(4-methoxy-7-morpholinobenzothiazol-2-yl)-4-((4-nitrophenylsulfonyloxy)methyl)piperidin-1-carboxamido)-methylpivalat **61**



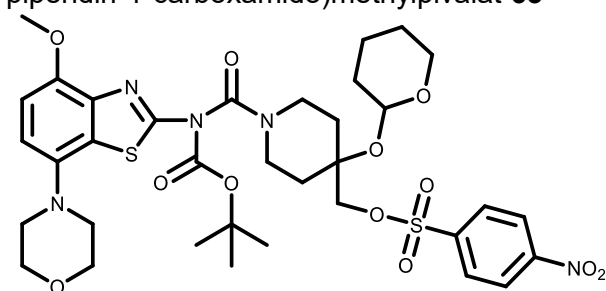
Verb. 58: (1-(*tert*-Butoxycarbonyl(4-methoxy-7-morpholinobenzothiazol-2-yl)carbamoyl)-4-hydroxypiperidin-4-yl)methyl-4-nitrobenzolsulfonat **62**



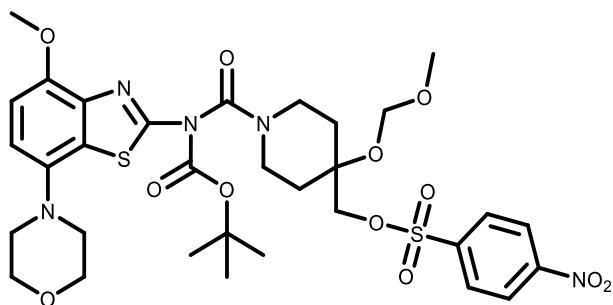
Verb. 59: (*N*-(4-methoxy-7-morpholinobenzothiazol-2-yl)-4-((methylsulfonyloxy)methyl)-4-(tetrahydro-2*H*-pyran-2-yloxy)piperidin-1-carboxamido)methylpivalat **63**



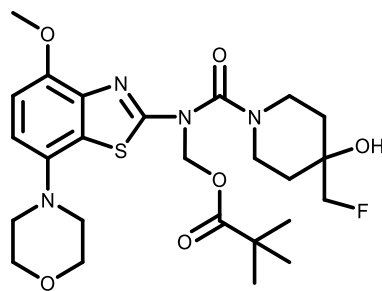
Verb. 60: (*N*-(4-Methoxy-7-morpholinobenzothiazol-2-yl)-4-((4-nitrophenylsulfonyloxy)methyl)-4-(tetrahydro-2*H*-pyran-2-yloxy)piperidin-1-carboxamido)methylpivalat **64**



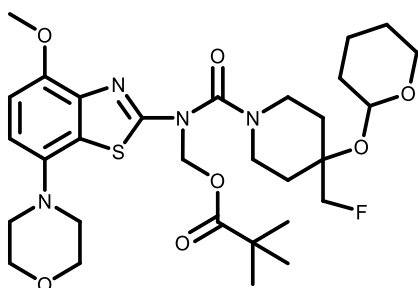
Verb. 61: (1-(*tert*-Butoxycarbonyl(4-methoxy-7-morpholinobenzothiazol-2-yl)carbamoyl)-4-(tetrahydro-2*H*-pyran-2-yloxy)piperidin-4-yl)methyl 4-methylbenzolsulfonat **65**



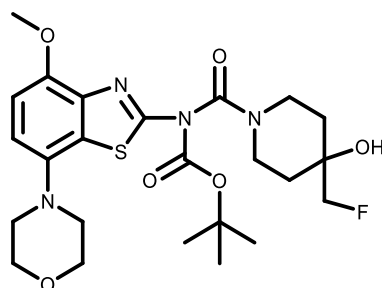
Verb. 62: (1-(*tert*-Butoxycarbonyl(4-methoxy-7-morpholinobenzo[d]thiazol-2-yl)carbamoyl)-4-(methoxymethoxy)piperidin-4-yl)methyl-4-methylbenzolsulfonat **66**



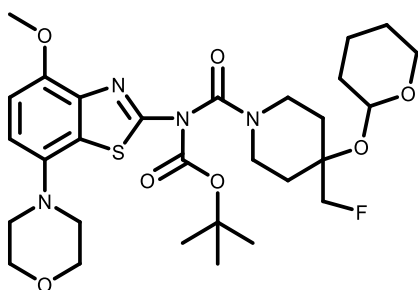
Verb. 63: (4-(Fluormethyl)-4-hydroxy-*N*-(4-methoxy-7-morpholinobenzo[d]thiazol-2-yl)piperidin-1-carboxamido)methylpivalat **67**



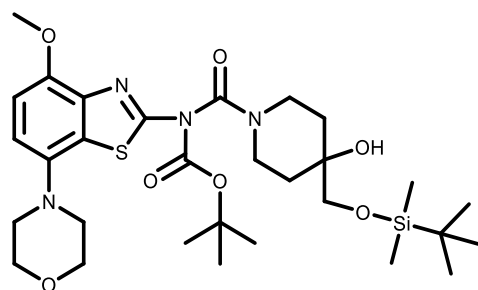
Verb. 64: (4-(Fluormethyl)-*N*-(4-methoxy-7-morpholinobenzo[d]thiazol-2-yl)-4-(tetrahydro-2*H*-pyran-2-yloxy)piperidin-1-carboxamido)methylpivalat **68**



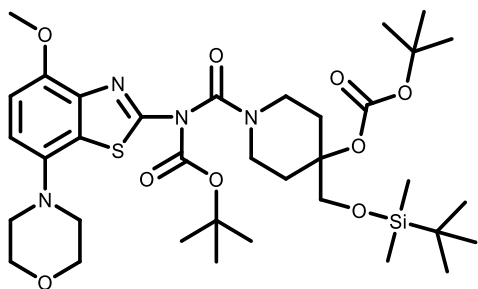
Verb. 65: *tert*-Butyl(4-(fluormethyl)-4-hydroxypiperidin-1-carbonyl)(4-methoxy-7-morpholino-benzo[d]thiazol-2-yl)carbammat **69**



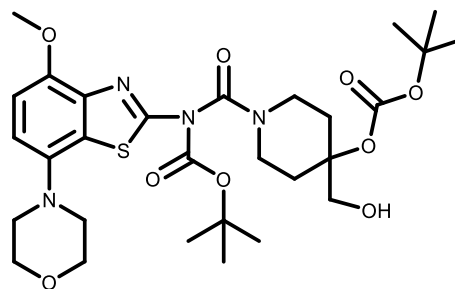
Verb. 66: Synthese von *tert*-Butyl(4-(fluormethyl)-4-(tetrahydro-2*H*-pyran-2-yloxy)-piperidin-1-carbonyl)(4-methoxy-7-morpholino-benzo[d]thiazol-2-yl)carbammat **70**



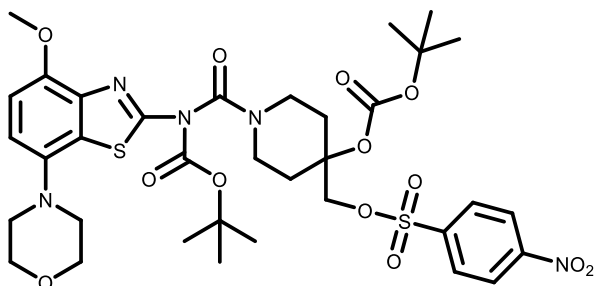
Verb. 67: 4-((*tert*-Butyldimethylsilyloxy)methyl)-1-(*boc*-(4-methoxy-7-morpholinobenzo[d]thiazol-2-ylcarbamoyl))piperidin-4-ol **75**



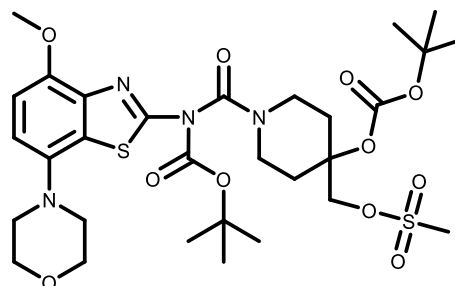
Verb. 68: *tert*-Butyl 4-((*tert*-butyldimethylsilyloxy)methyl)-1-(*boc*-(4-methoxy-7-morpholinobenzo[d]thiazol-2-yl)carbamoyl)piperidin-4-yl-carbonat **76**



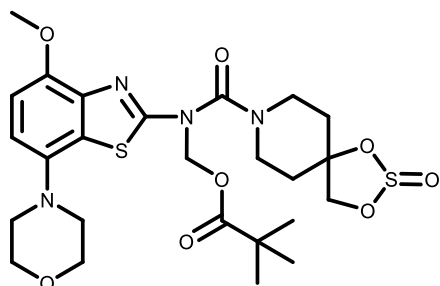
Verb. 69: *tert*-Butyl 4-(hydroxymethyl)-1-(*boc*-(4-methoxy-7-morpholinobenzo[d]thiazol-2-yl)carbamoyl)piperidin-4-yl-carbonat **77**



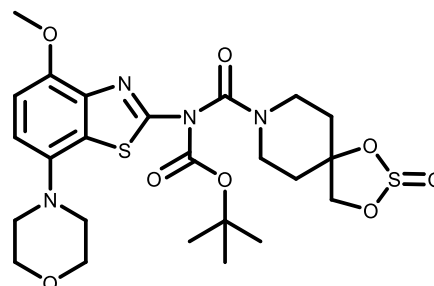
Verb. 70: (1-*tert*-Butoxycarbonyl(4-methoxy-7-morpholinobenzo[d]thiazol-2-yl)carbamoyl)-4-(*tert*-butoxycarbonyloxy)piperidin-4-yl)methyl-4-nitrobenzolsulfonat **78**



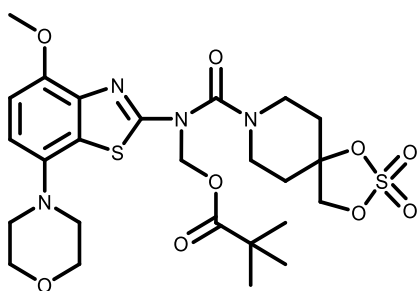
Verb. 71: (1-*tert*-Butoxycarbonyl(4-methoxy-7-morpholinobenzo[d]thiazol-2-yl)carbamoyl)-4-(*tert*-butoxycarbonyloxy)piperidin-4-yl)methylmethansulfonat **79**



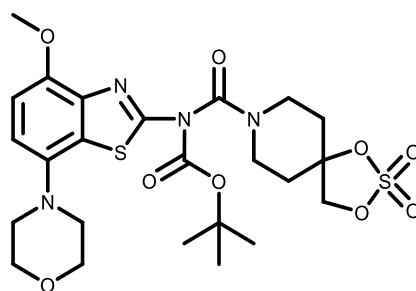
Verb. 72: Pivaloxymethyl-(4-methoxy-7-morpholinobenzo[d]thiazol-2-yl)(1,3-dioxaspiro[4.5]decan-2-ylidene)-8-carboxamid **80**



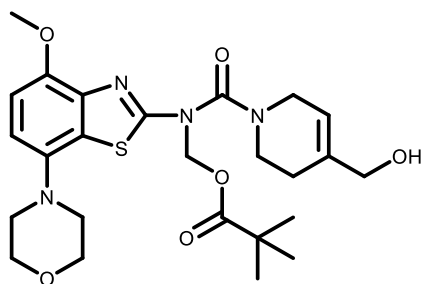
Verb. 73: *tert*-Butoxycarbonyl-(4-methoxy-7-morpholinobenzo[d]thiazol-2-yl)(1,3-dioxaspiro[4.5]decan-2-ylidene)-8-carboxamid **81**



Verb. 74: Pivaloxymethyl-(4-methoxy-7-morpholinobenzo[d]thiazol-2-yl)(1,3-dioxaspiro[4.5]decan-2,2-dioxid)-8-carboxamid **82**



Verb. 75: *tert*-Butoxycarbonyl-(4-methoxy-7-morpholinobenzo[d]thiazol-2-yl)(1,3-dioxaspiro[4.5]decan-2,2-dioxid)-8-carboxamid **83**



Verb. 76: Pivaloxymethyl-4-(hydroxymethyl)-*N*-(4-methoxy-7-morpholinobenzo[d]thiazol-2-yl)-5,6-dihydropyridin-1(2*H*)-carboxamid **84**

7 Literaturverzeichnis

- [1] Keller, C. *Grundlagen der Radiochemie*, 3rd ed.; 1993.
- [2] Lieser, K. H. *Einführung in die Kernchemie*, 3rd ed.; 1991.
- [3] Herzog, H.; Rösch, F. PET- und SPECT-Technik: Chemie und Physik der Bildgebung. *Pharm. Unserer Zeit* **2005**, 34 (6), 468–473. Copyright Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA. Reproduced with permission.
- [4] Bielawski, M.; Zhu, M.; Olofsson, B. Efficient and General One-Pot Synthesis of Diaryliodonium Triflates: Optimization, Scope and Limitations. *Adv. Synth. Catal.* **2007**, 349 (17–18), 2610–2618.
- [5] Wood, K. A.; Hoskin, P. J.; Saunders, M. I. Positron Emission Tomography in Oncology: A Review. *Clin. Oncol.* **2007**, 19 (4), 237–255.
- [6] Herholz, K.; Heiss, W.-D. Positron Emission Tomography in Clinical Neurology. *Mol. Imaging Biol.* **2004**, 6 (4), 239–269.
- [7] Neglia, D.; Rimoldi, O.; Kaufmann, P. Radionuclide PET and PET/CT in Coronary Artery Disease. *Curr. Pharm. Des.* **2008**, 14 (18), 1798–1814.
- [8] Miller, P. W.; Long, N. J.; Vilar, R.; Gee, A. D. Synthese von ^{11}C -, ^{18}F -, ^{15}O - und ^{13}N -Radiotracern für die Positronenemissionstomographie. *Angew. Chemie* **2008**, 120 (47), 9136–9172.
- [9] Paans, A.; Vaalburg, W. Positron Emission Tomography in Drug Development and Drug Evaluation. *Curr. Pharm. Des.* **2000**, 6 (16), 1583–1591.
- [10] Halldin, C.; Gulyas, B.; Langer, O. Brain Radioligands - State of the Art and New Trends. *Q. J. Nucl. Med.* **2001**.
- [11] Talbot, P. S.; Laruelle, M. The Role of *in vivo* Molecular Imaging with PET and SPECT in the Elucidation of Psychiatric Drug Action and New Drug Development. *Eur. Neuropsychopharmacol.* **2002**, 12 (6), 503–511.
- [12] Bergström, M.; Grahnén, A.; Langström, B. Positron Emission Tomography Microdosing: A New Concept with Application in Tracer and Early Clinical Drug Development. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* **2003**, 59 (5–6), 357–366.
- [13] Guilloteau, D.; Chalon, S. PET and SPECT Exploration of Central Monoaminergic Transporters for the Development of New Drugs and Treatments in Brain Disorders. *Curr. Pharm. Des.* **2005**, 11 (25), 3237–3245.
- [14] Schöder, H.; Erdi, Y. E.; Larson, S. M.; Yeung, H. W. D. PET/CT: A New Imaging Technology in Nuclear Medicine. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging.* **2003**, 30 (10), 1419–1437.
- [15] Kim, D. W.; Jeong, H.-J.; Lim, S. T.; Sohn, M.-H.; Katzenellenbogen, J. A.; Dae Yoon Chi. Facile Nucleophilic Fluorination Reactions Using *tert*-Alcohols as a Reaction Medium: Significantly Enhanced Reactivity of Alkali Metal Fluorides and Improved Selectivity. *J. Org. Chem.* **2008**, 73 (3), 957–962.
- [16] Pichler, B. J.; Wehrli, H. F.; Kolb, A.; Judenhofer, M. S. Positron Emission Tomography/Magnetic Resonance Imaging: The Next Generation of Multimodality Imaging? *Semin. Nucl. Med.* **2008**, 38 (3), 199–208.
- [17] Huang, S.-H.; Chien, C.-Y.; Lin, W.-C.; Fang, F.-M.; Wang, P.-W.; Lui, C.-C.; Huang, Y.-C.; Hung, B.-T.; Tu, M.-C.; Chang, C.-C. A Comparative Study of Fused FDG PET/MRI,

- PET/CT, MRI, and CT Imaging for Assessing Surrounding Tissue Invasion of Advanced Buccal Squamous Cell Carcinoma. *Clin. Nucl. Med.* **2011**, 36 (7), 518–525.
- [18] Aufklärung und Anamnese PET/CT http://www.radiologie.de/cms/upload/pdf/boegen_flyer/130801_Aufklb_PET_CT_2A_FINALsicher.pdf (accessed Jun 21, **2017**).
- [19] PET-CT Zentrum München – Strahlenbelastung <http://pet-ct-muenchen.com/?Patienteninfo/Strahlenbelastung> (accessed Jun 21, **2017**).
- [20] Qaim, S. M.; Coenen, H. H. Produktion pharmazeutisch relevanter Radionuklide: An Reaktoren und Zyklotronen. *Pharm. Unserer Zeit* **2005**, 34 (6), 460–466. Copyright Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA. Reproduced with permission.
- [21] Coenen, H. H. Fluorine-18 Labeling Methods: Features and Possibilities of Basic Reactions. In *PET Chemistry, The Driving Force in Molecular Imaging*; Schubiger, P. A., Lehmann, L., Friebe, M., Eds.; Springer Berlin Heidelberg, 2007; 15–50.
- [22] Casella, V.; Ido, T.; Wolf, A. P.; Fowler, J. S.; MacGegor, R. R.; Ruth, T. J. Anhydrous F-18 Labeled Elemental Fluorine for Radiopharmaceutical Preparation. *J. Nucl. Med.* **1980**, 21 (8), 750–757.
- [23] Schlyer, D.; Bastos, M.; Wolf, A. A Rapid Quantitative Separation of Fluorine-18 Fluoride from Oxygen-18 Water. *J. Nucl. Med.* **1987**, 28, 764.
- [24] Nickles, R. J.; Daube, M. E.; Ruth, T. J. An $^{18}\text{O}_2$ Target for the Production of ^{18}F . *Int. J. Appl. Radiat. Isot.* **1984**, 35 (2), 117–122.
- [25] Vallabhajosula, S. *Molecular Imaging: Radiopharmaceuticals for PET and SPECT*; Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg, 2009.
- [26] Bergman, J.; Solin, O. Fluorine-18-Labeled Fluorine Gas for Synthesis of Tracer Molecules. *Nucl. Med. Biol.* **1997**, 24 (7), 677–683.
- [27] Ruth, T. J.; Wolf, A. P. Absolute Cross Sections for the Production of ^{18}F via the $^{18}\text{O}(\text{p}, \text{n})^{18}\text{F}$ Reaction. *Radiochim. Acta.* **1979**, 26 (1), 21–24.
- [28] Hess, E.; Takács, S.; Scholten, B.; Tárkányi, F.; Coenen, H. H.; Qaim, S. M. Excitation Function of the $^{18}\text{O}(\text{p}, \text{n})^{18}\text{F}$ Nuclear Reaction from Threshold up to 30 MeV. *Radiochim. Acta.* **2001**, 89 (6), 357–362.
- [29] Solin, O.; Bergman, J.; Haaparanta, M.; Reissell, A. Production of ^{18}F from Water Targets. Specific Radioactivity and Anionic Contaminants. *Int. J. Radiat. Appl. Instrumentation. Part A. Appl. Radiat. Isot.* **1988**, 39 (10), 1065–1071.
- [30] Cai, L.; Lu, S.; Pike, V. W. Chemistry with ^{18}F Fluoride Ion. *European J. Org. Chem.* **2008**, 2008 (17), 2853–2873.
- [31] Hamacher, K.; Hirschfelder, T.; Coenen, H. H. Electrochemical Cell for Separation of ^{18}F fluoride from Irradiated ^{18}O -Water and Subsequent No Carrier Added Nucleophilic Fluorination. *Appl. Radiat. Isot.* **2002**, 56 (3), 519–523.
- [32] Ermert, J.; Coenen, H. H. No-Carrier-Added ^{18}F Fluorobenzene Derivatives as Intermediates for Built-up Radiosyntheses. *Curr. Radiopharm.* **2010**, 3 (2), 127–160.
- [33] Ermert, J. ^{18}F -Labelled Intermediates for Radiosynthesis by Modular Build-Up Reactions: Newer Developments. *Biomed Res. Int.* **2014**, 2014.
- [34] Jacobson, O.; Kiesewetter, D. O.; Chen, X. Fluorine-18 Radiochemistry, Labeling Strategies and Synthetic Routes. *Bioconjug. Chem.* **2015**, 26 (1), 1–18.

- [35] van der Born, D.; Pees, A.; Poot, A. J.; Orru, R. V. A.; Windhorst, A. D.; Vugts, D. J. Fluorine-18 Labelled Building Blocks for PET Tracer Synthesis. *Chem. Soc. Rev.* **2017**, No. 46, 4709–4773.
- [36] Firnau, G.; Chirakal, R.; Garnett, E. Aromatic Radiofluorination with [^{18}F]F₂ in Anhydrous Hydrogen Fluoride. *J. Label. Compd. Radiopharm.* **1986**, 23 (10–12), 1106–1108.
- [37] Visser, G. W. M.; Bakker, C. N. M.; Herscheid, J. D. M.; Brinkman, G.; Hoekstra, A. The Chemical-Properties of [^{18}F]Acetylhypofluorite in Acetic-Acid Solution. *J. Label. Compd. Radiopharm.* **1984**, 21 (11–1), 1226.
- [38] Adam, M. J.; Ruth, T. J.; Jivan, S.; Pate, B. D. Fluorination of Aromatic Compounds with F₂ and Acetyl Hypofluorite: Synthesis of ^{18}F -Aryl Fluorides by Cleavage of Aryl-Tin Bonds [1]. *J. Fluor. Chem.* **1984**, 25 (3), 329–337.
- [39] Coenen, H. H.; Elsinga, P. H.; Iwata, R.; Kilbourn, M. R.; Pillai, M. R. A.; Rajan, M. G. R.; Wagner, H. N.; Zaknun, J. J. Fluorine-18 Radiopharmaceuticals beyond [^{18}F]FDG for Use in Oncology and Neurosciences. *Nucl. Med. Biol.* **2010**, 37 (7), 727–740.
- [40] Ehrenkaufer, R.; Potocki, J. Simple Synthesis of ^{18}F -labeled 2-Fluoro-2-Deoxy-D-Glucose: Concise Communication. *J. Nucl. Med.* **1984**, 25 (3), 333–337.
- [41] Jewett, D. M.; Toorongian, S. A.; Mulholland, G. K.; Watkins, G. L.; Kilbourn, M. R. Multiphase Extraction: Rapid Phase-Transfer of [^{18}F]fluoride Ion for Nucleophilic Radiolabeling Reactions. *Int. J. Radiat. Appl. Instrumentation. Part A. Appl. Radiat. Isot.* **1988**, 39 (11), 1109–1111.
- [42] Kim, D. W.; Choe, Y. S.; Chi, D. Y. A New Nucleophilic Fluorine-18 Labeling Method for Aliphatic Mesylates: Reaction in Ionic Liquids Shows Tolerance for Water. *Nucl. Med. Biol.* **2003**, 30 (4), 345–350.
- [43] Kim, H. W.; Jeong, J. M.; Lee, Y.-S.; Chi, D. Y.; Chung, K.-H.; Lee, D. S.; Chung, J.-K.; Lee, M. C. Rapid Synthesis of [^{18}F]FDG Without an Evaporation Step Using an Ionic Liquid. *Appl. Radiat. Isot.* **2004**, 61 (6), 1241–1246.
- [44] Kilbourn, M. R. *Fluorine-18 Labeling of Radiopharmaceuticals, Nuclear Science Series*; National Academy Press: Washington, DC, 1990.
- [45] March, J. *Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure*; Wiley, 1992.
- [46] Snyder, S. E.; Kilbourn, M. R. Chemistry of Fluorine-18 Radiopharmaceuticals. In *Handbook of Radiopharmaceuticals*; John Wiley & Sons, Ltd: Chichester, UK, 2005; 195–227.
- [47] Hamacher, K.; Coenen, H. H.; Stöcklin, G. Efficient Stereospecific Synthesis of No-Carrier-Added 2-[^{18}F]Fluoro-2-Deoxy-D-Glucose Using Aminopolyether Supported Nucleophilic-Substitution. *J. Nucl. Med.* **1986**, 27, 235–238.
- [48] Lu, S.; Lepore, S. D.; Li, S. Y.; Mondal, D.; Cohn, P. C.; Bhunia, A. K.; Pike, V. W. Nucleophile Assisting Leaving Groups: A Strategy for Aliphatic ^{18}F -Fluorination. *J. Org. Chem.* **2009**, 74 (15), 5290–5296.
- [49] Berridge, M. S.; Crouzel, C.; Comar, D. Aromatic Fluorination with N.C.A. F-18 Fluoride: A Comparative Study. *J. Label. Compd. Radiopharm.* **1985**, 22 (7), 687–694.
- [50] Shen, B.; Löffler, D.; Reischl, G.; Machulla, H.-J.; Zeller, K.-P. Nucleophilic Substitution of Nitro Groups by [^{18}F]fluoride in Methoxy-Substituted Ortho-nitrobenzaldehydes—A Systematic Study. *J. Fluor. Chem.* **2009**, 130 (2), 216–224.
- [51] Elander, N.; Jones, J. R.; Lu, S.-Y.; Stone-Elander, S. Microwave-Enhanced Radiochemistry. *Chem. Soc. Rev.* **2000**, 29 (4), 239–249.

- [52] Stone-Elander, S.; Elander, N. Microwave Applications in Radiolabelling with Short-Lived Positron-Emitting Radionuclides. *J. Label. Compd. Radiopharm.* **2002**, *45* (9), 715–746.
- [53] Lazarova, N.; Siméon, F. G.; Musachio, J. L.; Lu, S.; Pike, V. W. Integration of a Microwave Reactor with Synthia to Provide a Fully Automated Radiofluorination Module. *J. Label. Compd. Radiopharm.* **2007**, *50* (5–6), 463.
- [54] Lemaire, C.; Cantineau, R.; Guillaume, M.; Plenevaux, A.; Christiaens, L. Study of Serotonin Receptors with PET: Radiolabeling and *in vivo* Biologic Behavior. *J. Nucl. Med.* **1991**, *32*, 2266–2272.
- [55] Le Bars, D.; Lemaire, C.; Ginovart, N.; Plenevaux, A.; Aerts, J.; Brihaye, C.; Hassoun, W.; Leviel, V.; Mekhsian, P.; Weissmann, D.; *et al.* High-Yield Radiosynthesis and Preliminary *in vivo* Evaluation of *p*-[¹⁸F]MPPF, a Fluoro Analog of WAY-100635. *Nucl. Med. Biol.* **1998**, *25* (4), 343–350.
- [56] Riss, P. J.; Roesch, F. Efficient Microwave-Assisted Direct Radiosynthesis of [¹⁸F]PR04.MZ and [¹⁸F]LBT999: Selective Dopamine Transporter Ligands for Quantitative Molecular Imaging by Means of PET. *Bioorg. Med. Chem.* **2009**, *17* (22), 7630–7634.
- [57] Lu, S.-Y.; Chin, F. T.; McCarron, J. A.; Pike, V. W. Efficient O- and N-(β-Fluoroethylation)s with NCA[¹⁸F]β-Fluoroethyl Tosylate under Microwave-Enhanced Conditions. *J. Label. Compd. Radiopharm.* **2004**, *47* (5), 289–297.
- [58] Toorongian, S. A.; Mulholland, G. K.; Jewett, D. M.; Bachelor, M. A.; Kilbourn, M. R. Routine Production of 2-Deoxy-2-[¹⁸F]fluoro-D-Glucose by Direct Nucleophilic Exchange on a Quaternary 4-Aminopyridinium Resin. *Int. J. Radiat. Appl. Instrumentation. Part B. Nucl. Med. Biol.* **1990**, *17* (3), 273–279.
- [59] Gillies, J. M.; Prenant, C.; Chimon, G. N.; Smethurst, G. J.; Perrie, W.; Hamblett, I.; Dekker, B.; Zweit, J. Microfluidic Reactor for the Radiosynthesis of PET Radiotracers. *Appl. Radiat. Isot.* **2006**, *64* (3), 325–332.
- [60] Steel, C. J.; O'Brien, A. T.; Luthra, S. K.; Brady, F. Automated PET Radiosyntheses Using Microfluidic Devices. *J. Label. Compd. Radiopharm.* **2007**, *50* (5–6), 308–311.
- [61] Richarz, R.; Krapf, P.; Zarrad, F.; Urusova, E. A.; Neumaier, B.; Zlatopolskiy, B. D. Neither Azeotropic Drying, nor Base nor Other Additives: A Minimalist Approach to ¹⁸F-Labeling. *Org. Biomol. Chem.* **2014**, *12* (40), 8094–8099.
- [62] Kim, D. W.; Ahn, D.-S.; Oh, Y.-H.; Lee, S.; Kil, H. S.; Oh, S. J.; Lee, S. J.; Kim, J. S.; Jin Sook Ryu; Moon, D. H.; *et al.* A New Class of S_N2 Reactions Catalyzed by Protic Solvents: Facile Fluorination for Isotopic Labeling of Diagnostic Molecules. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128* (50), 16394–16397.
- [63] Lee, J. W.; Yan, H.; Jang, H. B.; Kim, H. K.; Park, S.-W.; Lee, S.; Chi, D. Y.; Song, C. E. Bis-Terminal Hydroxy Polyethers as All-Purpose, Multifunctional Organic Promoters: A Mechanistic Investigation and Applications. *Angew. Chemie Int. Ed.* **2009**, *48* (41), 7683–7686.
- [64] Lee, S.-S.; Kim, H.-S.; Hwang, T.-K.; Oh, Y.-H.; Park, S.-W.; Lee, S.; Lee, B. S.; Chi, D. Y. Efficiency of Bulky Protic Solvent for S_N2 Reaction. *Org. Lett.* **2008**, *10* (1), 61–64.
- [65] Oh, Y.-H.; Ahn, D.-S.; Chung, S.-Y.; Jeon, J.-H.; Park, S.-W.; Oh, S. J.; Kim, D. W.; Kil, H. S.; Dae Yoon Chi; Lee, S. Facile S_N2 Reaction in Protic Solvent: Quantum Chemical Analysis. *J. Phys. Chem. A* **2007**, *111* (40), 10152–10161.
- [66] Im, S.; Jang, S.-W.; Kim, H.-R.; Oh, Y.-H.; Park, S.-W.; Lee, S.; Chi, D. Y. A Mechanistic Study of S_N2 Reaction in a Diol Solvent. *J. Phys. Chem. A* **2009**, *113* (15), 3685–3689.

- [67] Park, S.; Lee, S. Effects of Ion and Protic Solvent on Nucleophilic Aromatic Substitution (S_NAr) Reactions. *Bull. Korean Chem. Soc.* **2010**, *31* (9), 2571–2573.
- [68] Lee, S. J.; Oh, S. J.; Chi, D. Y.; Lee, B. S.; Ryu, J. S.; Moon, D. H. Comparison of Synthesis Yields of 3'-Deoxy-3'-[^{18}F]fluorothymidine by Nucleophilic Fluorination in Various Alcohol Solvents. *J. Label. Compd. Radiopharm.* **2008**, *51* (1), 80–82.
- [69] Lee, S. J.; Oh, S. J.; Chi, D. Y.; Kil, H. S.; Kim, E. N.; Ryu, J. S.; Moon, D. H. Simple and Highly Efficient Synthesis of 3'-Deoxy-3'-[^{18}F]fluorothymidine Using Nucleophilic Fluorination Catalyzed by Protic Solvent. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging.* **2007**, *34* (9), 1406–1409.
- [70] Windhorst, A. D.; Klein, P. J.; Eisenbarth, J.; Oeser, T.; Kruijer, P. S.; Eisenhut, M. 3'-Sulfonylestere of 2,5'-Anhydro-1-(2-Deoxy- β -D-Threo-Pentofuranosyl)thymine as Precursors for the Synthesis of [^{18}F]FLT: Syntheses and Radiofluorination Trials. *Nucl. Med. Biol.* **2008**, *35* (4), 413–423.
- [71] Olberg, D. E.; Arukwe, J. M.; Grace, D.; Hjelstuen, O. K.; Solbakken, M.; Kindberg, G. M.; Cuthbertson, A. One Step Radiosynthesis of 6-[^{18}F]Fluoronicotinic Acid 2,3,5,6-Tetrafluorophenyl Ester ([^{18}F]F-Py-TFP): A New Prosthetic Group for Efficient Labeling of Biomolecules with Fluorine-18. *J. Med. Chem.* **2010**, *53* (4), 1732–1740.
- [72] Zischler, J.; Kolks, N.; Modemann, D.; Neumaier, B.; Zlatopolskiy, B. D. Alcohol-Enhanced Cu-Mediated Radiofluorination. *Chem. - A Eur. J.* **2017**, *23* (14), 3251–3256.
- [73] Beuthien-Baumann, B.; Hamacher, K.; Oberdorfer, F.; Steinbach, J. Preparation of Fluorine-18 Labelled Sugars and Derivatives and Their Application as Tracer for Positron-Emission-Tomography. *Carbohydr. Res.* **2000**, *327* (1), 107–118.
- [74] Lyle, T.; Magill, C.; Pitzenberger, S. Fluoride-Induced Formation and Ring Opening of Cyclic Sulfamates from Hydroxy Triflamides. Synthetic and Mechanistic Studies. *J. Am. Chem. Soc.* **1987**, *109* (25), 7890–7891.
- [75] Machulla, H.-J.; Blocher, A.; Kuntzsch, M.; Piert, M.; Wei, R.; Grierson, J. R. Simplified Labeling Approach for Synthesizing 3'-Deoxy-3'-[^{18}F]fluorothymidine ([^{18}F]FLT). *J. Radioanal. Nucl. Chem.* **2000**, *243* (3), 843–846.
- [76] Tewson, T. J.; Soderlind, M. 1-Propenyl 4,6-Q-Benzylidene- β -D-Mannopyranoside-2,3-Cyclic Sulfate: A Substrate for the Synthesis of [^{18}F]2-Deoxy-2-Fluoro-D-Glucose. *J. Carbohydr. Chem.* **1985**, *4* (4), 529–543.
- [77] Sykes, P. *Reaktionsmechanismen in Der Organischen Chemie*, 9; Verlag Chemie, 1988.
- [78] Haka, M. S.; Kilbourn, M. R.; Leonard Watkins, G.; Toorongian, S. A. Aryltrimethylammonium Trifluoromethanesulfonates as Precursors to Aryl [^{18}F]fluorides: Improved Synthesis of [^{18}F]GBR-13119. *J. Label. Compd. Radiopharm.* **1989**, *27* (7), 823–833.
- [79] K gler, F.; Sihver, W.; Ermert, J.; H bner, H.; Gmeiner, P.; Prante, O.; Coenen, H. H. Evaluation of ^{18}F -Labeled Benzodioxine Piperazine-Based Dopamine D4 Receptor Ligands: Lipophilicity as a Determinate of Nonspecific Binding. *J. Med. Chem.* **2011**, *54* (24), 8343–8352.
- [80] Pike, V. W.; Aigbirhio, F. I.; Waters, S. L.; Tanner, R. J. N.; Masullo, G.; Mausner, M.; Sommer, E. Reactions of Cyclotron-Produced [^{18}F]fluoride with Diaryliodonium Salts - a Novel Single-Step Route to No-Carrier-Added [^{18}F]fluoroarenes. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1995**, *70* (21), 2215–2216.
- [81] H.H. Coenen; Ermert, J. Direct Nucleophilic ^{18}F -Fluorination of Electron Rich Arenes: Present Limits of No-Carrier-Added Reactions. *Curr. Radiopharm.* **2010**, *3* (3), 163–173.

- [82] Ermert, J.; Hocke, C.; Ludwig, T.; Gail, R.; Coenen, H. H. Comparison of Pathways to the Versatile Synthons of No-Carrier-Added 1-Bromo-4-[^{18}F]fluorobenzene. *J. Label. Compd. Radiopharm.* **2004**, *47* (7), 429–441.
- [83] Wüst, F. R.; Kniess, T. Synthesis of 4-[^{18}F]fluoroiodobenzene and Its Application in Sonogashira Cross-Coupling Reactions. *J. Label. Compd. Radiopharm.* **2003**, *46* (8), 699–713.
- [84] Ross, T. L.; Ermert, J.; Hocke, C.; Coenen, H. H. Nucleophilic ^{18}F -Fluorination of Heteroaromatic Iodonium Salts with No-Carrier-Added [^{18}F]Fluoride. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129* (25), 8018–8025.
- [85] Brooks, A. F.; Topczewski, J. J.; Ichiishi, N.; Sanford, M. S.; Scott, P. J. H. Late-Stage [^{18}F]fluorination: New Solutions to Old Problems. *Chem. Sci.* **2014**, *5* (12), 4545–4553.
- [86] Ametamey, S. M.; Honer, M.; Schubiger, P. A. Molecular Imaging with PET. *Chem. Rev.* **2008**, *108* (5), 1501–1516.
- [87] Tredwell, M.; Preshlock, S. M.; Taylor, N. J.; Gruber, S.; Huiban, M.; Passchier, J.; Mercier, J.; Génicot, C.; Gouverneur, V. A General Copper-Mediated Nucleophilic ^{18}F Fluorination of Arenes. *Angew. Chemie Int. Ed.* **2014**, *53* (30), 7751–7755.
- [88] Preshlock, S.; Tredwell, M.; Gouverneur, V. ^{18}F -Labeling of Arenes and Heteroarenes for Applications in Positron Emission Tomography. *Chem. Rev.* **2016**, *116* (2), 719–766.
- [89] Ichiishi, N.; Brooks, A. F.; Topczewski, J. J.; Rodnick, M. E.; Sanford, M. S.; Scott, P. J. H. Copper-Catalyzed [^{18}F]Fluorination of (Mesityl)(aryl)iodonium Salts. *Org. Lett.* **2014**, *16*, 3224–3227.
- [90] Mossine, A. V.; Brooks, A. F.; Makaravage, K. J.; Miller, J. M.; Ichiishi, N.; Sanford, M. S.; Scott, P. J. H. Synthesis of [^{18}F]Arenes via the Copper-Mediated [^{18}F]Fluorination of Boronic Acids. *Org. Lett.* **2015**, *17* (23), 5780–5783.
- [91] Scott, P. J. H. *Further Radiopharmaceuticals for Positron Emission Tomography and New Strategies for Their Production*; Wiley series on radiochemical syntheses; Wiley, 2015.
- [92] Makaravage, K. J.; Brooks, A. F.; Mossine, A. V.; Sanford, M. S.; Scott, P. J. H. Copper-Mediated Radiofluorination of Arylstannanes with [^{18}F]KF. *Org. Lett.* **2016**, *18* (20), 5440–5443.
- [93] Zlatopolskiy, B. D.; Zischler, J.; Krapf, P.; Zarrad, F.; Urusova, E. A.; Kordys, E.; Endepols, H.; Neumaier, B. Copper-Mediated Aromatic Radiofluorination Revisited: Efficient Production of PET Tracers on a Preparative Scale. *Chem. - A Eur. J.* **2015**, *21* (15), 5972–5979.
- [94] Schäfer, D.; Weiß, P.; Ermert, J.; Castillo Meleán, J.; Zarrad, F.; Neumaier, B. Preparation of No-Carrier-Added 6-[^{18}F]Fluoro-L-Tryptophan via Cu-Mediated Radiofluorination. *European J. Org. Chem.* **2016**, *2016* (27), 4621–4628.
- [95] Chen, J.-F.; Eltzschig, H. K.; Fredholm, B. B. Adenosine Receptors as Drug Targets - What Are the Challenges? *Nat. Rev. Drug Discov.* **2013**, *12* (4), 265–286.
- [96] Fredholm, B. B.; IJzerman, A. P.; Jacobson, K. A.; Klotz, K.-N.; Linden, J. International Union of Pharmacology. XXV. Nomenclature and Classification of Adenosine Receptors. *Pharmacol. Rev.* **2001**, *53* (4).
- [97] Fredholm, B. B.; IJzerman, A. P.; Jacobson, K. A.; Linden, J.; Müller, C. E. International Union of Basic and Clinical Pharmacology. LXXXI. Nomenclature and Classification of Adenosine Receptors—An Update. *Pharmacol. Rev.* **2011**, *63* (1).

- [98] van Calker, D.; Müller, M.; Hamprecht, B. Adenosine Regulates via Two Different Types of Receptors, the Accumulation of Cyclic AMP in Cultured Brain Cells. *J. Neurochem.* **1979**, 33 (5), 999–1005.
- [99] Daly, J. W.; Butts-Lamb, P.; Padgett, W. Subclasses of Adenosine Receptors in the Central Nervous System: Interaction with Caffeine and Related Methylxanthines. *Cell. Mol. Neurobiol.* **1983**, 3 (1), 69–80.
- [100] Meyerhof, W.; Müller-Brechlin, R.; Richter, D. Molecular Cloning of a Novel Putative G-Protein Coupled Receptor Expressed during Rat Spermiogenesis. *FEBS Lett.* **1991**, 284 (2), 155–160.
- [101] Zhou, Q. Y.; Li, C.; Olah, M. E.; Johnson, R. A.; Stiles, G. L.; Civelli, O. Molecular Cloning and Characterization of an Adenosine Receptor: The A₃ Adenosine Receptor. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **1992**, 89 (16), 7432–7436.
- [102] Poulsen, S.-A.; Quinn, R. J. Adenosine Receptors: New Opportunities for Future Drugs. *Bioorg. Med. Chem.* **1998**, 6 (6), 619–641.
- [103] Slee, D. H.; Zhang, X.; Moorjani, M.; Lin, E.; Lanier, M. C.; Chen, Y.; Rueter, J. K.; Lechner, S. M.; Markison, S.; Malany, S.; *et al.* Identification of Novel, Water-Soluble, 2-Amino-N-Pyrimidin-4-yl Acetamides as A_{2A} Receptor Antagonists with *in vivo* Efficacy. *J. Med. Chem.* **2008**, 51 (3), 400–406.
- [104] Svenningsson, P.; Le Moine, C.; Fisone, G.; Fredholm, B. B. Distribution, Biochemistry and Function of Striatal Adenosine A_{2A} Receptors. *Prog. Neurobiol.* **1999**, 59 (4), 355–396.
- [105] Ferré, S. Adenosine-Dopamine Interactions in the Ventral Striatum. *Psychopharmacology (Berl.)*. **1997**, 133 (2), 107–120.
- [106] Jacobson, K. A.; von Lubitz, D. K. J. E.; Daly, J. W.; Fredholm, B. B. Adenosine Receptor Ligands: Differences with Acute versus Chronic Treatment. *Trends Pharmacol. Sci.* **1996**, 17 (3), 108–113.
- [107] Bauer, A.; Zilles, K.; Matusch, A.; Holzmann, C.; Riess, O.; Von Hörsten, S. Regional and Subtype Selective Changes of Neurotransmitter Receptor Density in a Rat Transgenic for the Huntington's Disease Mutation. *J. Neurochem.* **2005**, 94 (3), 639–650.
- [108] Kase, H.; Richardson, P.; Jenner, P. *Adenosine Receptors and Parkinson's Disease*; Access Online via Elsevier, 1999.
- [109] Preti, D.; Baraldi, P. G.; Moorman, A. R.; Borea, P. A.; Varani, K. History and Perspectives of A_{2A} Adenosine Receptor Antagonists as Potential Therapeutic Agents. *Med. Res. Rev.* **2015**, 35 (4), 790–848.
- [110] Müller, C. E. A_{2A} Adenosine Receptor Antagonists - Future Drugs for Parkinson's Disease? *Drugs Future*. **2000**, 25 (10), 1043.
- [111] Müller, C. E.; Folkers, G. Adenosinrezeptor-Liganden - Arzneistoffe der Zukunft? *Pharm. Unserer Zeit.* **1989**, 18 (3), 65–75.
- [112] Ijzerman, A. P.; van der Wenden, E. M.; van Galen, P. J. M.; Jacobson, K. A. Molecular Modeling of Adenosine Receptors. The Ligand Binding Site on the Rat Adenosine A_{2A} Receptor. *Eur. J. Pharmacol. Mol. Pharmacol.* **1994**, 268 (1), 95–104.
- [113] Kim, J.; Wess, J.; van Rhee, A. M.; Schöneberg, T.; Jacobson, K. A. Site-Directed Mutagenesis Identifies Residues Involved in Ligand Recognition in the Human A_{2A} Adenosine Receptor. *J. Biol. Chem.* **1995**, 270 (23), 13987–13997.

- [114] Moreau, J.-L.; Huber, G. Central Adenosine A_{2A} Receptors: An Overview. *Brain Res. Rev.* **1999**, 31 (1), 65–82.
- [115] Jaakola, V.-P.; Griffith, M. T.; Hanson, M. A.; Cherezov, V.; Chien, E. Y. T.; Lane, J. R.; IJzerman, A. P.; Stevens, R. C. The 2.6 Ångström Crystal Structure of a Human A_{2A} Adenosine Receptor Bound to an Antagonist. *Science*. **2008**, 322 (5905), 1211–1217. Reprinted with permission from AAAS.
- [116] Yung-Chi, C.; Prusoff, W. H. Relationship Between the Inhibition Constant (K_i) and the Concentration of Inhibitor Which Causes 50 per Cent Inhibition (I₅₀) of an Enzymatic Reaction. *Biochem. Pharmacol.* **1973**, 22 (23), 3099–3108.
- [117] Sihver, S.; Sihver, W.; Bergström, M.; Höglund, A. U.; Sjöberg, P.; Långström, B.; Watanabe, Y. Quantitative Autoradiography with Short-Lived Positron Emission Tomography Tracers: A Study on Muscarinic Acetylcholine Receptors with N-[¹¹C]methyl-4-Piperidylbenzilate. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **1999**, 290 (2).
- [118] Ametamey, S. M.; Honer, M. Pharmacological Prerequisites for PET Ligands and Practical Issues in Preclinical PET Research. In *PET Chemistry*; Springer Berlin Heidelberg, 2007; 317–327.
- [119] Haaparanta, M.; Grönroos, T.; Marjamäki, P.; Eskola, O.; Bergman, J.; Paul, R.; Solin, O. *In vivo* Sampling for Pharmacokinetic Studies in Small Experimental Animals: A Combination of Microdialysis, Planar Chromatography and Digital Autoradiography. *Mol. Imaging Biol.* **2004**, 6 (1), 27–33.
- [120] Lundkvist, C.; Halldin, C.; Ginovart, N.; Swahn, C.-G.; Farde, L. [¹⁸F]β-CIT-FP Is Superior to [¹¹C]β-CIT-FP for Quantitation of the Dopamine Transporter. *Nucl. Med. Biol.* **1997**, 24 (7), 621–627.
- [121] Elsinga, P. H. Radiopharmaceutical Chemistry for Positron Emission Tomography. *Methods*. **2002**, 27 (3), 208–217.
- [122] Gulyás, B.; Halldin, C.; Mazière, B. *in vivo* Imaging of Neurotransmitter Systems with PET. *Handbook of Neurochemistry and Molecular Neurobiology: Neurotransmitter Systems*; Lajtha, A., Vizi, E. S., Eds.; Springer US: Boston, MA, 2008; 75–100.
- [123] Halldin, C.; Suhara, T.; Farde, L.; Sedvall, G. Preparation and Examination of Labelled Stereoisomers *in vivo* by PET. In *Chemists' Views of Imaging Centers*; Springer, 1995; 497–511.
- [124] Bhattacharjee, A. K.; Lang, L.; Jacobson, O.; Shinkre, B.; Ma, Y.; Niu, G.; Trenkle, W. C.; Jacobson, K. A.; Chen, X.; Kiesewetter, D. O. Striatal Adenosine A_{2A} Receptor-Mediated Positron Emission Tomographic Imaging in 6-Hydroxydopamine-Lesioned Rats Using [¹⁸F]-MRS5425. *Nucl. Med. Biol.* **2011**, 38 (6), 897–906.
- [125] Hirani, E.; Gillies, J.; Karasawa, A.; Shimada, J.; Kase, H.; Opacka-Juffry, J.; Osman, S.; Luthra, S. K.; Hume, S. P.; Brooks, D. J. Evaluation of [4-O-Methyl-¹¹C]KW-6002 as a Potential PET Ligand for Mapping Central Adenosine A_{2A} Receptors in Rats. *Synapse*. **2001**, 42 (3), 164–176.
- [126] Ishiwata, K.; Mishina, M.; Kimura, Y.; Oda, K.; Sasaki, T.; Ishii, K. First Visualization of Adenosine A_{2A} Receptors in the Human Brain by Positron Emission Tomography with [¹¹C]TMSX. *Synapse*. **2005**, 55 (2), 133–136.
- [127] Ishiwata, K.; Noguchi, J.; Wakabayashi, S.; Shimada, J. ¹¹C-Labeled KF18446: A Potential Central Nervous System Adenosine A_{2A} Receptor Ligand. *J. Nucl. Med.* **2000**, 41 (2), 345.

- [128] Moresco, R. M.; Todde, S.; Belloli, S.; Simonelli, P.; Panzacchi, A.; Rigamonti, M.; Galli-Kienle, M.; Fazio, F. *In vivo* Imaging of Adenosine A_{2A} Receptors in Rat and Primate Brain Using [¹¹C]SCH442416. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging*. **2005**, 32 (4), 405–413.
- [129] Naganawa, M.; Kimura, Y.; Mishina, M.; Manabe, Y.; Chihara, K.; Oda, K.; Ishii, K.; Ishiwata, K. Quantification of Adenosine A_{2A} Receptors in the Human Brain Using [¹¹C]TMSX and Positron Emission Tomography. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging*. **2007**, 34 (5), 679–687.
- [130] Tavares, A. A. dos S.; Batis, J.; Barret, O.; Alagille, D.; Vala, C.; Kudej, G.; Koren, A.; Cosgrove, K. P.; Nice, K.; Kordower, J. H.; *et al.* *in vivo* Evaluation of [¹²³I]MNI-420: A Novel Single Photon Emission Computed Tomography Radiotracer for Imaging of Adenosine 2A Receptors in Brain. *Nucl. Med. Biol.* **2013**, 40 (3), 403–409.
- [131] Tavares, A. A. S.; Batis, J. C.; Papin, C.; Jennings, D.; Alagille, D.; Russell, D. S.; Vala, C.; Lee, H.; Baldwin, R. M.; Zubal, I. G.; *et al.* Kinetic Modeling, Test-Retest, and Dosimetry of ¹²³I-MNI-420 in Humans. *J. Nucl. Med.* **2013**, 54 (10), 1760–1767.
- [132] Wells, L.; Salinas, C.; Tang, S. Evaluation of the Adenosine A₂ Receptor Ligand [¹¹C]SCH442416 in the Rodent Brain. *J. Nucl. Med.* **2013**, 54, (sup. 2) 382.
- [133] Noguchi J, Ishiwata K, Wakabayashi S, *et al.* Evaluation of Carbon-11-Labeled KF17837: A Potential CNS Adenosine A_{2A} Receptor Ligand. *J. Nucl. Med.* **1998**, 39 (3), 498–503.
- [134] Stone-Elander, S.; Thorell, J.-O.; Eriksson, L.; Fredholm, B. B.; Ingvar, M. *in vivo* Biodistribution of [N-¹¹C-methyl]KF 17837 Using 3-D-PET: Evaluation as a Ligand for the Study of Adenosine A_{2A} Receptors. *Nucl. Med. Biol.* **1997**, 24 (2), 187–191.
- [135] Holschbach, M.; Bier, D.; Stüsgen, S.; Wutz, W.; Sihver, W.; Coenen, H. H.; Olosson, R. Synthesis and Evaluation of 7-Amino-2-(2(3)-Furyl)-5-Phenylethylamino-oxazolo[5,4-D]pyrimidines as Potential A_{2A} Adenosine Receptor Antagonists for Positron Emission Tomography (PET). *Eur. J. Med. Chem.* **2006**, 41 (1), 7–15.
- [136] Ishiwata, K.; Noguchi, J.; Toyama, H.; Sakiyama, Y.; Koike, N.; Ishii, S.-I.; Oda, K.; Endo, K.; Suzuki, F.; Senda, M. Synthesis and Preliminary Evaluation of [¹¹C]KF17837, a Selective Adenosine A_{2A} Antagonist. *Appl. Radiat. Isot.* **1996**, 47 (5–6), 507–511.
- [137] Ishiwata, K.; Ogi, N.; Shimada, J.; Nonaka, H.; Tanaka, A.; Suzuki, F.; Senda, M. Further Characterization of a CNS Adenosine A_{2A} Receptor Ligand [¹¹C]KF18446 with *in vitro* Autoradiography And *in vivo* Tissue Uptake. *Ann. Nucl. Med.* **2000**, 14 (2), 81–89.
- [138] Jacobson, K. A.; Nikodijević, O.; Padgett, W. L.; Gallo-Rodriguez, C.; Maillard, M.; Daly, J. W. 8-(3-Chlorostyryl)caffeine (CSC) is a Selective A₂-Adenosine Antagonist *in vitro* and *in vivo*. *FEBS Lett.* **1993**, 323 (1–2), 141–144.
- [139] Márián, T.; Boros, I.; Lengyel, Z.; Balkay, L.; Horváth, G.; Emri, M.; Sarkadi, E.; Szentmiklósi, A. ; Fekete, I.; Trón, L. Preparation and Primary Evaluation of [¹¹C]CSC as a Possible Tracer for Mapping Adenosine A_{2A} Receptors by PET. *Appl. Radiat. Isot.* **1999**, 50 (5), 887–893.
- [140] Klotz, K.-N. Adenosine Receptors and Their Ligands. *Naunyn. Schmiedeberg's. Arch. Pharmacol.* **2000**, 362 (4–5), 382–391.
- [141] Baraldi, P. G.; Cacciari, B.; Spalluto, G.; Pineda de las Infantas y Villatoro, M. J.; Zocchi, C.; Dionisotti, S.; Ongini, E. Pyrazolo[4,3-E]-1,2,4-triazolo[1,5-C]pyrimidine Derivatives: Potent and Selective A_{2A} Adenosine Antagonists. *J. Med. Chem.* **1996**, 39 (5), 1164–1171.

- [142] Moresco, R. M.; Todde, S.; Belloli, S.; Simonelli, P.; Panzacchi, A.; Rigamonti, M.; Galli-Kienle, M.; Fazio, F. *In vivo* Imaging of Adenosine A_{2A} Receptors in Rat and Primate Brain Using [¹¹C]SCH442416. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging.* **2005**, 32 (4), 405–413.
- [143] Khanapur, S.; van Waarde, A.; Dierckx, R. A. J. O.; Elsinga, P. H.; Koole, M. J. B. Preclinical Evaluation and Quantification of ¹⁸F-Fluoroethyl and ¹⁸F-Fluoropropyl Analogs of SCH442416 as Radioligands for PET Imaging of the Adenosine A_{2A} Receptor in Rat Brain. *J. Nucl. Med.* **2017**, 58 (3), 466–472.
- [144] Barret, O.; Hannestad, J.; Alagille, D.; Vala, C.; Tavares, A.; Papin, C.; Morley, T.; Fowles, K.; Lee, H.; Seibyl, J.; *et al.* Adenosine 2A Receptor Occupancy by Tozadenant and Preladenant in Rhesus Monkeys. *J. Nucl. Med.* **2014**, 55 (10), 1712–1718.
- [145] Barret, O.; Hannestad, J.; Vala, C.; Alagille, D.; Tavares, A.; Laruelle, M.; Jennings, D.; Marek, K.; Russell, D.; Seibyl, J.; *et al.* Characterization in Humans of ¹⁸F-MNI-444, a PET Radiotracer for Brain Adenosine 2A Receptors. *J. Nucl. Med.* **2015**, 56 (4), 586–591.
- [146] Flohr, A.; Riemer, C. Patent: US2006/19950 A1, 2006.
- [147] Nishiyama, M.; Koie, Y. Process for Producing Heterocyclic Aromatic Amine or Arylamine. 5929281, 1999.
- [148] Müller, C. E.; Jacobson, K. A. Recent Developments in Adenosine Receptor Ligands and Their Potential as Novel Drugs. *Biochim. Biophys. Acta - Biomembr.* **2011**, 1808 (5), 1290–1308.
- [149] Cooper, David, G.; Forbes, Ian, T.; Garzya, V.; Jin, J.; Walker, G.; Wyman, Paul, A.; Yang, Z. Compounds Which Have Activity at M1 Receptor and Their Use in Medicine. WO/2008/119718, 2008.
- [150] Clayton, J.; Van Wagenen, I.; *et al.* Isoindolone Compounds And Their Use as Metabotropic Glutamate Receptor Potentiators. WO/2006/020879, 2006.
- [151] Ogino, Y.; Kurihara, H.; Matsuda, K.; Numazawa, Tomoshige Otake, N.; Noguchi, K. Ester Derivatives. 20030191316, 2003.
- [152] Seimbille, Y.; Benard, F.; van Lier, J. E. Synthesis of 16 α -Fluoro ICI 182,780 Derivatives: Powerful Antiestrogens to Image Estrogen Receptor Densities in Breast Cancer by Positron Emission Tomography. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **2002**, No. 20, 2275–2281.
- [153] Kim, B. M.; Sharpless, K. B. Cyclic Sulfates Containing Acid-Sensitive Groups and Chemoselective Hydrolysis of Sulfate Esters. *Tetrahedron Lett.* **1989**, 30 (6), 655–658.
- [154] Fuentes, J.; Angulo, M.; Angeles Pradera, M. Completely Regioselective Synthesis of 5- and 6- Amino and Fluoro-Hexofuranoses via Cyclic Sulphates. *Tetrahedron Lett.* **1998**, 39 (39), 7149–7152.
- [155] Sharpless, K. B.; Amberg, W.; Bennani, Y. L.; Crispino, G. A.; Hartung, J.; Jeong, K. S.; Kwong, H. L.; Morikawa, K.; Wang, Z. M. The Osmium-Catalyzed Asymmetric Dihydroxylation: A New Ligand Class and a Process Improvement. *J. Org. Chem.* **1992**, 57 (10), 2768–2771.
- [156] Mueller, S. G.; Rudolf, K.; Lustenberger, P.; Stenkamp, D.; Santagostino, M.; Paleari, F.; Schaenzle, G.; Arndt, K.; Doods, H. Selected CGRP Antagonists, Methods For The Production Thereof, And Use Thereof As Medicaments. WO/2005/103037, 2005.
- [157] Liu, A.; Carlson, K. E.; Katzenellenbogen, J. A. Synthesis of High Affinity Fluorine-Substituted Ligands for the Androgen Receptor. Potential Agents for Imaging Prostatic Cancer by Positron Emission Tomography. *J. Med. Chem.* **1992**, 35 (11), 2113–2129.

- [158] Fernandes, R. A.; Kumar, P. Enantioselective Synthesis of (R)-(-)-Mevalonolactone via Cyclic Sulfate Methodology. *Tetrahedron: Asymmetry*. **1999**, 10 (22), 4349–4356.
- [159] Schirmmacher, R.; Lucas, P.; Schirmmacher, E.; Wängler, B.; Wängler, C. Alpha Selective Epoxide Opening with $^{18}\text{F}^-$: Synthesis of 4-(3-[^{18}F]fluoro-2-Hydroxypropoxy)benzaldehyde ([^{18}F]FPB) for Peptide Labeling. *Tetrahedron Lett.* **2011**, 52 (16), 1973–1976.
- [160] Landini, D.; Penso, M. Tetrabutylammonium Dihydrogentrifluoride: An Efficient Catalyst for Regio and Stereoselective Conversion of Epoxides to Fluorohydrins under Solid-Liquid Phase-Transfer Catalysis Conditions. *Tetrahedron Lett.* **1990**, 31 (49), 7209–7212.
- [161] Gu, G.; Fang, M.; Du, Y. Efficient and Selective Removal of Chloroacetyl Group Promoted with Tetra-N-Butylammonium Fluoride (TBAF); *Carbohydr. Res.* **2011**; 346 (17), 2801–2804.
- [162] Karimi, B.; Ma'mani, L. Scandium Trifluoromethanesulfonate as a Recyclable Catalyst for Efficient Methoxymethylation of Alcohols. *Tetrahedron Lett.* **2003**, 44 (32), 6051–6053.
- [163] Sharma, G. V. M.; Reddy, K. L.; Sree Lakshmi, P.; Radha Krishna, P. An Efficient Protocol for the Preparation of MOM Ethers and Their Deprotection Using zirconium(IV) Chloride; *Tetrahedron Lett.* **2004**; 45 (50), 9229–9232.
- [164] Mander, L. N.; McLachlan, M. M. The Total Synthesis of the Galbulimima Alkaloid GB 13. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, 125 (9), 2400–2401.
- [165] Deshpande, P. K. Substituted Piperidino Phenylloxazolidones Having Antimicrobial Activity with Improved *in vivo* Efficacy. WO/2005/054234, 2005.
- [166] Fujioka, H.; Senami, K.; Kubo, O.; Yahata, K.; Minamitsuji, Y.; Maegawa, T. Novel Regiocontrolled Protection of 1,2- and 1,3-Diols via Mild Cleavage of Methylene Acetals. *Org. Lett.* **2009**, 11 (22), 5138–5141.
- [167] Koudih, R.; Gilbert, G.; Dhilly, M.; Abbas, A.; Barré, L.; Debruyne, D.; Sobrio, F. Synthesis and *in vitro* Characterization of *trans*- and *cis*-[^{18}F]-4-Methylbenzyl 4-[(Pyrimidin-2-Ylamino)methyl]-3-Fluoropiperidine-1-Carboxylates as New Potential PET Radiotracer Candidates for the NR2B Subtype *N*-Methyl-D-Aspartate Receptor. *Eur. J. Med. Chem.* **2012**, 53, 408–415.
- [168] De Castro, K. A.; Rhee, H. Selective Nosylation of 1-Phenylpropane-1,3-Diol and Perchloric Acid Mediated Friedel-Crafts Alkylation: Key Steps for the New and Straightforward Synthesis of Tolterodine. *Synthesis (Stuttg)*. **2008**, 12, 1841–1844.
- [169] Nájera, C.; Yus, M.; Seebach, D. C-Metallierte chirale Aloxide als d^2 - und d^3 Reagenzien für die Synthese enantiomerenreiner Produkte (EPC-Synthese). *Helv. Chim. Acta*. **1984**, 67 (1), 289–300.
- [170] Chakraborti, A. K.; Gulhane, R. Indium(III) Chloride as a New, Highly Efficient, and Versatile Catalyst for Acylation of Phenols, Thiols, Alcohols, and Amines. *Tetrahedron Lett.* **2003**, 44 (35), 6749–6753.
- [171] O'Connell, J. F.; Rapoport, H. 1-Benzenesulfonyl- and 1-*p*-Toluenesulfonyl-3-Methylimidazolium Triflates: Efficient Reagents for the Preparation of Arylsulfonamides and Arylsulfonates. *J. Org. Chem.* **1992**, 57 (17), 4775–4777.
- [172] Nandy, S. K.; Krishnamurthy, N. V.; Rajan, M. G. R. Evaluation of the Radiochemical Impurities Arising During the Competitive Fluorination of Nosyl Group During the Synthesis of 3'-deoxy-3'-fluorothymidine, [^{18}F]FLT. *J. Radioanal. Nucl. Chem.* **2010**, 283 (1), 245–251.

- [173] Becker, H. G.; Berger, W.; Fanghänel, G. *Organikum*, 20th ed.; WILEY-VCH: Weinheim, 1999.
- [174] Nyasse, B.; Grehn, L.; Ragnarsson, U.; Maia, H. L. S.; Monteiro, L. S.; Leito, I.; Koppel, I.; Koppel, J. Synthesis and Cathodic Cleavage of a Set of Substituted Benzenesulfonamides Including the Corresponding *tert*-Butyl Sulfonylcarbamates: pK_a of Sulfonamides. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1995**, 0 (16), 2025.
- [175] Ramunno, A.; Cosconati, S.; Sartini, S.; Maglio, V.; Angiuoli, S.; La Pietra, V.; Di Maro, S.; Giustiniano, M.; La Motta, C.; Da Settimo, F.; *et al.* Progresses in the Pursuit of Aldose Reductase Inhibitors: The Structure-Based Lead Optimization Step. *Eur. J. Med. Chem.* **2012**, 51, 216–226.
- [176] Thavonekham, B. A Practical Synthesis of Ureas from Phenyl Carbamates. *Synthesis (Stuttg)*. **1997**, 10, 1189–1194.
- [177] Cho, E.; Chung, S.; Kim, J.; Lee, S.; Kwon, H.; Byung-Chul, K.; Kong, J.; Lee, J.; Kang, D. Piperazine Derivatives and Methods for the Preparation Thereof and Compositions Containing the Same. 5780472, 1998.
- [178] Crawford, J. J.; Drobnick, J.; Gazzard, L. J.; Lee, W.; Ndubaku, C.; Rudolph, J. Pyrimidine-Pyridinone Serine/threonine Kinase Inhibitors. WO/2015/011252, 2015.
- [179] Evans, D. A.; Kim, A. S.; Metternich, R.; Novack, V. J. General Strategies toward the Syntheses of Macrolide Antibiotics. The Total Syntheses of 6-Deoxyerythronolide B and Oleandolide. *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, 120 (24), 5921–5942.
- [180] Qaim, S. M.; Clark, J. C.; Crouzel, C.; Guillaume, M.; Helmeke, H. J.; Nebeling, B.; Pike, V. W.; Stöcklin, G. PET Radionuclide Production. In *Radiopharmaceuticals for Positron Emission Tomography: Methodological Aspects*; Stöcklin, G., Pike, V. W., Eds.; Springer Netherlands: Dordrecht, 1993; 1–43.

Danksagung

Als erstes möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. Bernd Neumaier dafür bedanken, dass ich meine Arbeit in seinem Hause durchführen durfte.

Ein ganz besonderer Dank gilt meinem Doktorvater Prof. Dr. Johannes Ermert für die interessante Themenstellung und seine freundliche Unterstützung. Danke auch für diverse Korrekturen und Hilfestellungen.

Einen großen Dank gilt meinem Betreuer Dr. Marcus Holschbach, der stets eine offene Tür für mich hatte. Besonders bedanke ich mich für seine fachlichen Ratschläge sowie die vielen Tipps, Korrekturen, die intensive Betreuung und die zahlreichen durchgeführten NMR-Messungen.

Ein großer Dank gilt Dr. Dirk Bier für diverse Ratschläge, Korrekturen, Hilfestellungen im Laboralltag und zahlreiche gemessene Massenspektren. Sein ausgeprägtes Wissen im Bereich der pharmakologischen Anwendungen war stets hilfreich und regte zur Entwicklung neuer Lösungswege an.

Prof. Dr. Syed Qaim danke ich für die Durchsicht meines Abstracts.

Frau Annette Schulze möchte ich für die Durchführung zahlreicher Bindungsstudien und Autoradiographien meiner Verbindungen danken.

Weiterhin möchte ich auch Frau Dr. Birte Drews sehr für Ihre Ratschläge danken.

Frau Melanie Brugger danke ich an dieser Stelle für die Reproduktion meiner Leitverbindung dem 4-Methoxy-7-morpholin-4-yl-benzothiazol-2-ylamin.

Den Zyklotronoperatoren Manfred Holzgreve und Dr. Zoltan Kormany danke ich für die regelmäßige Produktion und Bereitstellung des, für die Radiomarkierungen benötigten, [^{18}F]Fluorid.

Vielen Dank an Sebastian Becker, Volker Mauel und den Rest der IT-Abteilung des INM-5. Ihr seid echt spitze.

Vielen Dank an Herrn Mergner, Stefan Spellerberg, Ingo Montag und Christian Fischer, die mir bei Belangen bezüglich des Strahlenschutzes und anderen Angelegenheiten immer mit Rat und Tat zur Seite standen.

Ein herzlicher Dank an alle Mitarbeiter des INM-5, für die tolle Zeit, die freundliche Aufnahme im Institut und der Unterstützung während der Entstehung dieser Arbeit. Danke!

Vielen Dank an meine Freunde, die mich auf vielerlei Weisen unterstützt haben.

Der größte Dank gilt meinen Eltern Petra und Hans-Karl Skraban, die mich stets unterstützen und immer für mich da sind und mir so alles ermöglicht haben.

Ich versichere, dass ich die von mir vorgelegte Dissertation selbstständig angefertigt, die benutzten Quellen und Hilfsmittel vollständig angegeben und die Stellen der Arbeit – einschließlich Tabellen, Karten und Abbildungen –, die anderen Werken im Wortlaut oder Sinn nach entnommen sind, in jedem Einzelfall als Entlehnung kenntlich gemacht habe; dass diese Dissertation noch keiner anderen Fakultät oder Universität zur Prüfung vorgelegen hat; dass sie – abgesehen von unten angegebenen Teilpublikationen – noch nicht veröffentlicht worden ist, sowie, dass ich eine solche Veröffentlichung vor Abschluss des Promotionsverfahrens nicht vornehmen werde.

Die Bestimmungen dieser Promotionsordnung sind mir bekannt. Die von mir vorgelegte Dissertation ist von Prof. Dr. J. Ermert betreut worden.

Jülich, im September 2017

Jül-4405
Dezember 2017
ISSN 0944-2952