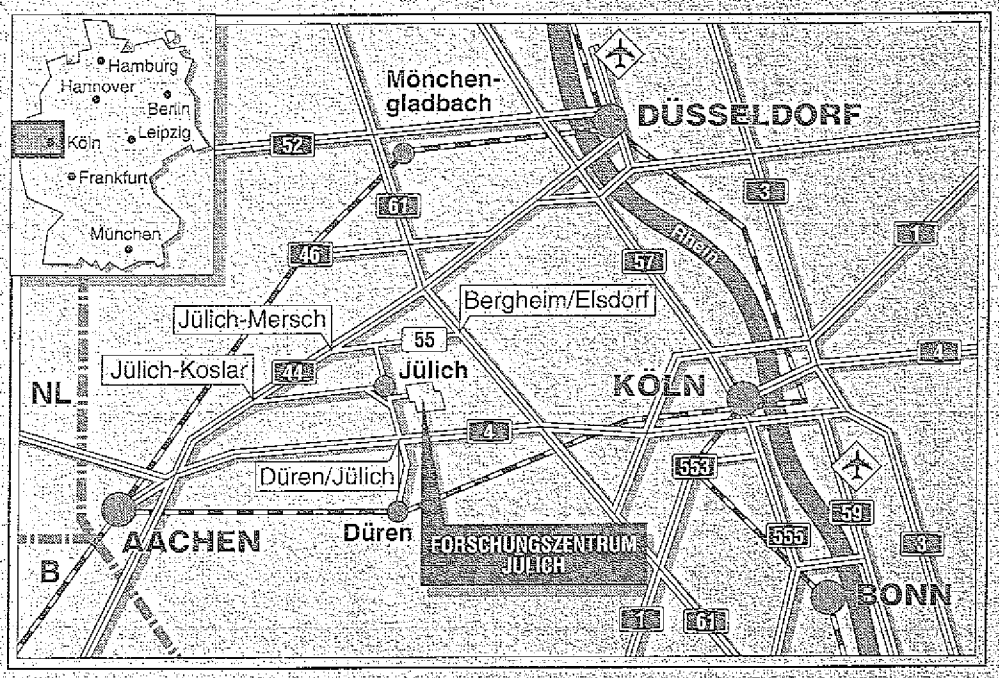
FORSCHUNGSZENTRUM JÜLICH GmbH

Institut für Nuklearchemie

Zur praktisch trägerfreien ^{11}C und ^{18}F Markierung von Dibenzodiazepinen (Clozapin) und Analogen

Dirk Bender



Berichte des Forschungszentrums Jülich ; 2858
ISSN 0944-2952
Institut für Nuklearchemie Jül-2858
D 38 (Diss. Universität Köln)

Zu beziehen durch: Forschungszentrum Jülich GmbH · Zentralbibliothek
D-52425 Jülich · Bundesrepublik Deutschland
Telefon: 02461/61-6102 · Telefax: 02461/61-6103 · Telex: 833556-70 kfa d

Zur praktisch trägerfreien ^{11}C und ^{18}F Markierung von Dibenzodiazepinen (Clozapin) und Analogen

Dirk Bender

Abstract

Pharmacologically active dibenzodiazepines were labelled with carbon-11 und fluorine-18, in particular the atypical neuroleptic clozapine (8-Cl-11-(4-methyl-1-piperazinyl)-5H-dibenzo[b,e]-[1,4]-diazepine) for pharmakokinetic studies with positron emission tomography (PET).

N.c.a. [^{11}C]clozapine was synthesized by N-methylation of the desmethyl compound norclozapine, using [^{11}C]methyl iodide and [^{11}C]methyl triflate for comparison. Highest radiochemical yields for both methylation agents were better than 90%, based on the trapped [^{11}C]methylation reagent. However, reaction conditions were milder when using [^{11}C]methyl triflate. The radiochemical purity of the isolated [^{11}C]clozapine exceeded 98%, and the specific activity was in the range of 92 - 130 GBq/µmol (2.5 -3.5 Ci/µmol).

Selective [^{11}C]methylation of the second amino function, the dibenzodiazepine amino function, was achieved by using a BOC protected derivative of norclozapine as precursor. As [^{11}C]methylation reagent in situ prepared [^{11}C]methyl triflate was used. Methylation and subsequent removal of the protective group with iodotrimethylsilane were carried out in chloroform as a two step one-pot reaction. Radiochemical yields of about 40% of the desired product were obtained within 15 min.

Subsequent oxidation of [^{11}C]clozapine with m-chloroperoxybenzoic acid yielded n.c.a. [^{11}C]clozapine-N-oxide, the major metabolite of clozapine. With [^{11}C]methyl triflate as methylation reagent the synthesis was carried out as a two step one-pot reaction. The oxidation was completed within 2 min at 2°C.

A fluorine-18 labelled analogue of clozapine was synthesized by the reaction of norclozapine with the [^{18}F]fluoroethylation reagent 1-[^{18}F]fluoro-2-tosyloxyethane. 1-[^{18}F]Fluoro-2-tosyloxyethane was prepared by nucleophilic fluorination using 1,2-bistosyloxyethane, and tetramethylammonium hydrogen carbonate as an anion activator in acetonitrile. The [^{18}F]fluoroethylated product was obtained in radiochemical yields of about 70% within 20 min at 80°C.

Inhaltsverzeichnis

1 Einleitung

1.1 Bedeutung kurzlebiger Positronenstrahler in Medizin und Pharmakologie

Mit der Entwicklung leistungsfähiger computergestützter Tomographen gewinnt die Positronen-Emissionstomographie (PET) als nicht invasive Methode bei der in vivo Erfassung physiologischer Parameter zunehmend an Bedeutung [1,2].

Positronenemitter sind im Vergleich zu ihren stabilen Isotopen neutronenarm. Der Zerfall der Positronenstrahler ist deshalb gekennzeichnet durch die Konversion eines Protons in ein Neutron unter gleichzeitiger Emission eines Positrons und eines Neutrinos. Die mittlere freie Weglänge bis zur Thermalisierung des Positrons beträgt in Wasser oder Gewebe einige Millimeter. Nach der Abgabe der hohen kinetischen Energie rekombiniert das Positron mit seinem Antiteilchen, dem Elektron. Die Rolle kurzlebiger Positronenstrahler in Medizin und Pharmakologie basiert auf der Vernichtungsstrahlung, die bei der Rekombination des Positrons mit einem Elektron emittiert wird. Bei dieser Rekombination werden zwei γ-Quanten mit einer Energie von 511 keV unter einem Winkel von ca. 180° ausgesendet. Diese Annihilationsstrahlung ist die Grundlage der Positronen-Emissionstomographie (PET). Bei PET ist eine große Zahl von NaI(Tl) bzw. BGO-Kristalldetektoren ringförmig angeordnet. Die Koinzidenzschaltung gegenüberliegender Detektoren ermöglicht die quantitative Messung der Konzentration physiologisch aktiver, mit Positronenstrahlern markierter Substanzen [3]. Je nach Positronenenergie beträgt die räumliche Auflösung einige mm. Neben der Lokalisierung des Wirkortes läßt sich auch die Pharmakokinetik der applizierten Radiopharmaka in vivo bestimmen. Mittels PET ist es möglich physiologische Vorgänge mit Tracern im nano- bis mikromolaren Bereich zu erfassen. Im Vergleich zur NMR-Spektroskopie bedeutet dies eine 10^3-10^6fach höhere Empfindlichkeit. Es ergeben sich damit Erkenntnisse über physiologische Parameter, die neue Perspektiven sowohl für die Grundlagenforschung als auch für routinemäßige Anwendungen in der medizinischen Diagnostik eröffnen [4].

Die Produktion der Positronenemitter am Cyclotron wird bei Kenntnis der Anregungsfunktionen durch Auswahl entsprechender Kernreaktionen und Teilchenenergien so gesteuert, daß Radionuklide hoher radionuklidischer Reinheit entstehen. Die daraus resultierenden hohen spezifischen Aktivitäten ermöglichen ein Arbeiten mit praktisch gewichtslosen Mengen. In der Regel treten daher pharmakologische Effekte wie allergische oder toxische Reaktionen nicht auf. Es ist vielmehr sogar möglich, toxische oder zentralwirksame Radiopharmaka einzusetzen. Desweiteren werden auf Grund der praktisch vorliegenden Trägerfreiheit bestehende physiologische Gleichgewichte normalerweise nicht gestört. Die Strahlenbelastung für den Patienten liegt etwa in der Größenordnung normaler Röntgenaufnahmen. Weiterhin besteht die Möglichkeit, die Anwendung - etwa zur Therapiekontrolle - in verhältnismäßig kurzen Zeitintervallen zu wiederholen. Ein weiterer nicht zu unterschätzender Vorteil der kurzen Halbwertzeit ist die im Vergleich zur Anwendung längerlebiger Nuklide problemlose Abfallbeseitigung. Jedoch bedingt die kurze Halbwertzeit auch, daß mit sehr hohen Anfangsaktivitäten gearbeitet werden muß. Die Synthesen müssen daher auf Grund der nicht mehr tolerierbaren Strahlenbelastung in automatisierten und ferngesteuerten Syntheseapparaturen durchgeführt werden. Da weiterhin die Synthesen inklusive der Qualitätskontrolle innerhalb von drei Halbwertzeiten abgeschlossen sein sollten, ergeben sich besonders hohe Anforderungen an die Synthesestrategie der Radiopharmaka, die Reinigung der Produkte und an die Qualitätskontrolle [5].

Für die Entwicklung von PET-Radiopharmaka sind im wesentlichen die folgenden Substanzgruppen von Bedeutung [1]:

- Blutflußindikatoren
- Stoffwechselsubstrate oder deren Analoga
- Enzym-Inhibitoren
- Rezeptor-bindende Liganden
- Antikörper-Antigen-Systeme

Physiologisch wirksame Substanzen bestehen in der Regel aus C-, H-, N-, O-, P-, und S-Atomen. Somit eignen sich zur Markierung für die PET insbesonde-

re die Positronenstrahler ^{11}C, ^{13}N, ^{15}O und ^{30}P. Ein Einbau dieser Radionuklide ist vorteilhaft, da sowohl die chemischen als auch die physiologischen Eigenschaften der markierten und nicht markierten Verbindung praktisch unverändert bleiben. Die kurze Halbwertzeit dieser Radionuklide setzt ihrem Einsatz allerdings enge Grenzen und führte dazu, daß die Nuklide ^{18}F, ^{75}Br und ^{73}Se als sogenannte "Analogtracer" eingesetzt werden. Grundlage dieser Fremdmarkierungen sind im Falle der beiden Radiohalogene der ähnliche sterische Raumbedarf von ^{18}F und Wasserstoff bzw. von ^{75}Br und Methyl-Resten. Im Falle von ^{73}Se ist die chemische Ähnlichkeit von Schwefel und Selen entscheidend. Allerdings führt der Einbau von Halogenatomen zu einer veränderten Ladungsverteilung im markierten Molekül. Diese veränderte Ladungsverteilung kann Vor- und Nachteile für die physiologische Wirksamkeit des markierten Moleküls mit sich bringen. In Tabelle 1.1 sind die wichtigsten Positronenstrahler für biomedizinische Anwendungen aufgeführt.

Tab. 1.1: Wichtige Positronenstrahler zur Molekülmarkierung für die Anwendung im Rahmen der PET [1].

Radionuklid	$T_{1/2}$	Zerfallsart	E_β max		Haupt-γ-Linien	
		(%)	keV	(rel. %)	keV	(% Häufigkeit)
^{11}C	20,3 min	β^+ (99,8)	960	(100)	511	(199,6)
		EC (0,2)				
^{13}N	9,96 min	β^+ (100)	1190	(100)	511	(200)
^{15}O	2,03 min	β^+ (99,9)	1723	(100)	511	(200)
		EC (0,1)				
^{18}F	109,7 min	β^+ (96,9)	635	(100)	511	(193,8)
		EC (3,1)				
^{30}P	2,5 min	β^+ (100)	3245	(100)	511	(200)
^{75}Br	1,6 h	β^+ (75,5)	1740	(82)	286	(91,6)
		EC (24,5)			511	(151)
^{73}Se	7,1 h	β^+ (65)	1320	(91,3)	511	(130)
		EC (35)				

Die Markierungsmöglichkeiten mit ^{15}O oder ^{13}N sind auf Grund der sehr kurzen Halbwertzeit dieser Nuklide sehr eingeschränkt. So beschränken

sich die Produkte im Falle von ^{15}O hauptsächlich auf einfache Moleküle wie $[^{15}O]O_2$, $[^{15}O]H_2O$, $[^{15}O]$ markierte Alkohole - hier ist vor allen Dingen $[^{15}O]$ n-Butanol zu nennen - , $[^{15}O]CO$ und $[^{15}O]CO_2$ [6,7]. Diese Verbindungen werden zur Messung des Blutflusses und des regionalen Sauerstoffumsatzes eingesetzt.

Auch im Falle des ^{13}N ergeben sich aus der kurzen Halbwertzeit nur wenige Möglichkeiten einer weiteren Umsetzung der Targetprodukte $[^{13}N]N_2$, $[^{13}N]NO_2^-$, $[^{13}N]NO_3^-$ und $[^{13}N]NH_3$. Eine wichtige anschließende Reaktion ist die Umsetzung von $[^{13}N]NH_3$ zur Synthese von Aminosäuren [8,9].

Eine Markierung mit ^{11}C verändert die biochemischen und physiologischen Eigenschaften eines Moleküls nicht. Diese Tatsache und die nicht zu kurze Halbwertzeit dieses Kohlenstoffisotops, läßt dieses Nuklid zu einem der wichtigsten Markierungsnuklide in der nuklearmedizinischen Funktionsdiagnostik und Pharmakologie werden. Erste Untersuchungen beschränkten sich zunächst auf Messungen des Gasaustausches der Lunge, auf Lungenfunktionsprüfungen und auf Blutflußmessungen. Die Weiterentwicklung von PET führte auch zu einer Verbreiterung des Spektrums ^{11}C markierter Wirkstoffe.

Bei zu langsamen Pharmakokinetiken, problematischen Synthesen sowie bei einem notwendigen zeitaufwendigen Transport müssen längerlebige "Analogtracer" eingesetzt werden. In der Regel bedeutet dies, daß auf Grund der günstigeren Halbwertzeit mit ^{18}F markiert wird. ^{18}F weist nicht nur den Vorteil einer längeren Halbwertzeit auf. Als Positronenemitter mit der kleinsten Positronenenergie (635 keV) kann mit ihm die höchste Auflösung erzielt werden, da die radiale Reichweite des Positrons bis zu seiner Vernichtung durch die Positronenenergie bestimmt wird. Im Falle von ^{18}F beträgt diese radiale Reichweite 2,3 mm. Neben der besten Auflösung bedingt auch die im Vergleich zu Kohlenstoff, Sauerstoff und Stickstoff weitaus geringere Häufigkeit des Fluors - vor allen Dingen der flüchtigen Fluorverbindungen - eine geringere Verdünnung des ^{18}F mit dem stabilen ^{19}F. Nachteilig ist andererseits, daß Fluor in biologisch relevanten Ver-

bindungen recht selten ist. Allerdings werden häufig Pharmaka mit Fluor substituiert, um eine metabolische Hydroxylierung zu vermeiden. Es kommen jedoch meist analoge Verbindungen zum Einsatz, deren pharmakologische und physiologische Wirksamkeit erneut geprüft werden muß. Desweiteren führt der sehr starke induktive Effekt des Fluors zu einer starken Beeinflussung der Bindungen des zum markierten Kohlenstoffatom α-ständigen Kohlenstoffatoms. Im ungünstigsten Fall kann es zu einer derart starken Destabilisierung dieser Bindungen kommen, daß bestimmte Substanzklassen nicht isoliert werden können [10,11]. Aber nichtsdestotrotz ist das zur Zeit wichtigste und am häufigsten angewendete PET-Radiopharmakon eine [^{18}F]fluorierte Verbindung: 2-[^{18}F]Fluor-2-desoxy-D-glucose.

1.2 Chemische und kinetische Aspekte von Reaktionen trägerfreier (n.c.a.) Radionuklide

Ein wichtiger Aspekt bei Umsetzungen mit Radionukliden ist die spezifische Aktivität. Hierbei werden grundsätzlich drei Begriffe unterschieden [1]:

- trägerfrei (carrier-free)
- ohne Trägerzusatz (n.c.a.: no-carrier-added)
- geträgert

Von trägerfreien Radionukliden wird gesprochen, wenn das betreffende Radionuklid frei von Verunreinigungen anderer Isotope ist. Auf Grund dieser Definition ist der trägerfreie Zustand nur bei rein künstlichen Elementen wie Technetium oder Astat realisierbar. Die Allgegenwärtigkeit aller natürlich vorkommender Elemente bedingt, daß eine Verdünnung des radioaktiven Nuklids mit stabilen Isotopen der Normalfall ist. Es wird daher zur Charakterisierung dieses Zustandes von Radionukliden ohne Trägerzusatz (n.c.a.) gesprochen. Wird isotoper Träger zugesetzt, so ist von geträgerten Substanzen die Rede. Wird beispielsweise [^{18}F]Fluor mit anderen Halogenen verdünnt, so ist die Rede von nicht isotopem Träger.

Die spezifische Aktivität A_s ist die auf die Masse m bezogene Aktivität A [12]:

$$A_s = A/m \quad [Bq/g]$$

A ist mit der Zerfallsrate des radioaktiven Nuklids identisch und hängt nur von dessen Masse und Halbwertzeit $T_{1/2}$ ab. Dieses geht aus dem Zerfallsgesetz hervor, wenn $T_{1/2} = \ln 2/\lambda$ gesetzt wird:

$$A = -dN/dt = \lambda \cdot N$$

λ: Zerfallskonstante [s^{-1}]; N: Anzahl der Atome des Radionuklids

Aus diesen Gleichungen ergibt sich, daß die spezifische Aktivität unverdünnter Radionuklide mit der Halbwertzeit zunimmt.

Der Träger spielt bei Synthese und Einsatz radiopharmazeutischer Produkte eine sehr wichtige Rolle, da er zum einen ein Hauptkriterium für den Einsatz zentralwirksamer oder hochtoxischer Substanzen ist. Andererseits bedingen hohe spezifische Aktivitäten zum Teil erhebliche Probleme bei der Synthese. Die Forderung nach Trägerfreiheit stellt sich insbesondere beim Einsatz von Rezeptor-bindenden Liganden. So ist die Rezeptordichte in der Hirnrinde in der Größenordnung von 10 pmol g^{-1} Hirnprotein. Dieses entspricht einer Konzentration von etwa 10^{-9} M. Auf Grund der physiologischen Randbedingungen ist abschätzbar, daß bei einer applizierten Dosis von 370 MBq und hohen Rezeptoraffinitäten (K_D etwa 1 - 10 nM) der markierte Ligand eine spezifische Aktivität von 10^4 - 10^5 GBq $mmol^{-1}$ besitzen muß [13]. Das bedeutet, daß diese Radiopharmaka nur im Nanogrammbereich einsetzbar sind. Ähnliches gilt auch, wenn toxische oder zentralwirksame Substanzen mittels PET untersucht werden sollen. Die spezifische Aktivität wird durch Verunreinigungen mit isotopem Träger gesenkt. So ist trotz aller Vorsichtsmaßnahmen die Verunreinigung mit isotopem Träger bei Synthesen mit ^{11}C so groß, daß eine Verdünnung mit ^{12}C um einen Faktor von 10 bis 10000 stattfindet [1]. Die Hauptquellen der isotopen Träger sind das Gefäßmaterial, das Targetmaterial, die Synthesechemikalien und die Atmosphäre. Das bedeutet, daß sich die spezifische Aktivität auch während der Synthese ändern kann. Daher muß bei ihrer Angabe auch die Angabe des Meßzeitpunktes erfolgen. Es werden hier einerseits der Zeitpunkt des "End of bombardment" (EOB) und des "End of synthesis" (EOS) unterschieden. Tabelle 1.4 gibt einen Überblick über die spezifischen Aktivitäten von n.c.a. markierten Vorläufern für Markierungssynthesen.

Tab. 1.2: Spezifische Aktivitäten einiger kurzlebiger n.c.a. markierter Vorläufer für Markierungssynthesen [1].

Vorläufer	Kernreaktion	Target	Spezifische Aktivität (EOS) GBq mmol^{-1} theoretisch	praktisch
$[^{11}C]CO_2$	$^{14}N(p,\alpha)^{11}C$	$N_2(O_2)$	$3{,}4 \cdot 10^8$	$10^4 - 10^5$
$[^{11}C]CH_3I$	$^{14}N(p,\alpha)^{11}C$			$10^3 - 10^4$
$[^{11}C]HCN$	$^{14}N(p,\alpha)^{11}C$	$N_2(H_2)$		10^4
$[^{18}F]F^-_{aq}$	$^{18}O(p,n)^{18}F$	$H_2{}^{18}O$	$6{,}4 \cdot 10^7$	$10^5 - 10^6$
$[^{18}F]F_2$	$^{20}Ne(d,\alpha)^{18}F$	Ne (0,1% F_2)		$10^1 - 10^2$

Die hohe spezifische Aktivität stellt die Grundvoraussetzung für den Einsatz vieler markierter Verbindungen dar. Sie ist aber auch mit vielen Problemen für die Synthese verbunden. Die Radionuklide liegen trotz der Verdünnung mit isotopen Trägermolekülen in extrem kleinen Mengen und hohen Aktivitäten vor. Die normale präparative Chemie läßt sich auf den Subnanogrammbereich der Radiochemie nur bedingt übertragen. Neben Adsorptionsverlusten an Glasoberflächen von Laborgeräten - Glasoberflächen haben Austauschkapazitäten von 10^{-10} mol/cm^2 - oder an sich bildenden Präzipitaten, stellen vor allem Konkurrenzreaktionen mit Lösungsmittelmolekülen oder Verunreinigungen im Solvens ein Problem dar. Selbst suprapure Lösungsmittel können oft zu hohe Konzentrationen an Verunreinigungen enthalten, um eine problemlose Synthese zu gewährleisten. Neben der Verunreinigung mit isotopen Verbindungen kann es auch zur Bildung analoger Verbindungen kommen, die chemisch oder chromatographisch nur unvollständig abgetrennt werden können. Ferner werden die untersuchten Reaktionen oft weit entfernt vom chemischen Gleichgewicht und von stöchiometrischen Bedingungen durchgeführt. Auch dieser Faktor kann erhebliche Folgen auf den Reaktionsverlauf haben.

Bei Reaktionen unter n.c.a. Bedingungen liegt die Konzentration eines Reaktionspartners B in einem sehr großem Überschuß vor. Diese Konzentration ändert sich bei der Umsetzung mit Radionukliden oder n.c.a. Substanzen praktisch nicht. Sie kann daher als konstant angesehen werden und in die

Reaktionsgeschwindigkeitskonstante k einbezogen werden. Die sich häufig daraus ergebende Kinetik wird demnach durch eine Reaktionskinetik pseudo 1.-Ordnung beschrieben. Für die Reaktionskinetik pseudo 1.-Ordnung gilt:

$$E + B_{const} \longrightarrow P + B_{const}$$

$$P = E \cdot (1 - e^{-k't}) \text{ mit } k' = k \cdot B$$

k: Geschwindigkeitskonstante

t: Reaktionszeit

B: Konzentration des inaktiven Eduktes

P: Konzentration des Produktes zur Zeit t

E: Ausgangskonzentration der radioaktiven Eduktes

Bei konstanten Reaktionszeiten und variierenden Konzentrationen des Reaktionspartners B kann die Zeit in die Geschwindigkeitskonstante einbezogen werden. In diesem Fall gilt:

$$P = E \cdot (1 - e^{-k''B}) \text{ mit } k'' = k \cdot t$$

Die Eduktkonzentrationsabhängigkeiten nehmen somit einen der Zeitabhängigkeit analogen Verlauf. Die Steilheit des Kurvenverlaufs wird dabei von der wahren Geschwindigkeitskonstanten k und der Reaktionszeit t bestimmt.

Zusammenfassend ergeben sich aus den oben dargelegten chemischen und kinetischen Aspekten folgende Konsequenzen für eine Syntheseplanung mit radioaktiven Nukliden unter n.c.a. Bedingungen:

- Die Gesamtsynthesezeit inklusive Reinigung und Qualitätskontrolle sollte drei Halbwertzeiten nicht überschreiten. Daraus ergibt sich die Forderung nach einer möglichst "schnellen" Chemie. Die Möglichkeiten der Identifizierung, Isolierung und Qualitätskontrolle sind auf schnelle Analysentechniken beschränkt. Es können hauptsächlich chromatographische Methoden wie Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC) und Gaschromatographie (GC) eingesetzt werden [5].
- Um Adsorptionsverluste an Oberfächen oder das Einschleppen von Träger zu vermeiden ist die Auswahl der Werkstoffe von großer Bedeutung. So sollte beispielsweise bei Arbeiten mit [^{18}F]Fluor nicht mit Teflon sondern auf Werkstoffe wie Poly(aryl-ether-ether-keton) (PEEK) [14,15] oder Glas-

faser verstärkten Kohlenstoff zurückgegriffen werden. Besondere Aufmerksamkeit sollte der Sauberkeit der verwendeten Lösungsmittel gelten.

- Nicht zuletzt unter dem Aspekt der Verfügbarkeit eines Radiopharmakons sind unkomplizierte und einfach automatisierbare Verfahren anzustreben. In diesem Zusammenhang sind sogenannte "Eintopfreaktionen" zu bevorzugen. Die Einführung des Radioisotopes sollte wenn möglich der letzte Reaktionsschritt der Synthese sein.

1.3 Kohlenstoff-11, Produktion und Synthesen

1.3.1 Produktion von ^{11}C und ^{11}C markierten Synthesevorläufern

Das seit 1934 [16] bekannte ^{11}C kann durch eine Vielzahl von Kernreaktionen dargestellt werden. Die wichtigsten Kernreaktionen sind die am ^{10}B, ^{11}B und ^{14}N, da in diesen Fällen das produzierte ^{11}C in trägerfreier Form vorliegt. Ausgehend vom ^{12}C kann ^{11}C durch Beschuß mit ^{3}He bzw. durch eine Kernphotoreaktion dargestellt werden (siehe z. B. [17]). Die ablaufenden Reaktionen sind in diesem Fall $^{12}C(^{3}He,\alpha)^{11}C$ bzw. $^{12}C(\gamma,n)^{11}C$. Allerdings ist die spezifische Aktivität bei Reaktionen am ^{12}C durch die zwangsläufige Gegenwart von ^{12}C Träger gering. Darüber hinaus erfordern die Kernreaktionen am ^{12}C höhere Energien [17]. Diese Kernreaktionen sind daher für eine Routineproduktion im Rahmen der Darstellung von Radiopharmaka ungeeignet. Tabelle 1.3 zeigt die am häufigsten verwendeten Kernreaktionen zur Erzeugung von ^{11}C.

Tab. 1.3: Kernreaktionen zur Erzeugung von ^{11}C (aus [17].)

Kernreaktion	Schwellenenergie	Maximaler Wirkungsquerschnitt	Teilchenenergie bei max. Wirkungsquerschnitt
	MeV	mb	MeV
$^{10}B(d,n)^{11}C$	0	~200	3,0 - 5,4
$^{11}B(p,n)^{11}C$	3	~360	8,7 - 10
$^{14}N(p,\alpha)^{11}C$	3,1	~290	~ 7,5
$^{12}C(^{3}He,^{4}He)^{11}C$	0	~340	~ 8,5
$^{12}C(\gamma,n)^{11}C$	18,7	—	—

Für die Produktion von ^{11}C ist die Bestrahlungseinrichtung i. allg. so ausgelegt, daß bereits mit der Erzeugung in situ markierte Synthesevorläufer entstehen (zur Übersicht siehe [1,18-21]). Beim $^{14}N(p,\alpha)^{11}C$ Prozeß, der am häufigsten verwendeten Darstellungsreaktion, erhalten die Kohlenstoffkerne Rückstoßenergien von bis zu einigen MeV. Nachdem diese ^{11}C Rückstoßkerne ihre hohe Anfangsenergie bis auf einige eV abgegeben haben, können sie als "heiße" Atome im unteren eV-Bereich chemische Reaktionen eingehen. So entstehen bei Anwesenheit von wenig Sauerstoff (1 - 10 ppm) $[^{11}C]CO$ und durch Reaktion mit dem N_2-Targetgas $[^{11}C]CN$-Radikale. Es folgt meist eine schnelle Oxidation zu $[^{11}C]CO_2$. Im einzelnen laufen die folgenden, sehr schnellen Reaktionen ab [1,19]:

$$^{11}C + O_2 \longrightarrow {}^{11}CO + O$$

$$^{11}CO \;\sim\sim\; O_2 \;\sim\sim\!> {}^{11}CO_2 + O$$

$$^{11}C + N_2 \longrightarrow [^{11}C\text{-}N\text{-}N] \longrightarrow {}^{11}CN + N$$

$$^{11}CN + O_2 \longrightarrow [^{11}CON] + O$$

$$[^{11}CON] + O_2 \longrightarrow {}^{11}CO_2 + NO$$

Nach Bestrahlungsende liegt somit ein Gemisch aus $[^{11}C]CO$ und $[^{11}C]CO_2$ vor. Die Größe des $[^{11}C]CO/[^{11}C]CO_2$-Verhältnisses hängt im wesentlichen von den Strahlströmen und damit von der absorbierten Strahlendosis ab, da die Oxidation von $[^{11}C]CO$ zu $[^{11}C]CO_2$ strahlenchemisch induziert wird [22,23]. Niedrige Strahlendosen in der Größenordnung von 10^{-3} - 10^{-4} eV pro Molekül führen vorwiegend zu $[^{11}C]CO$. Das $[^{11}C]CO_2$ entsteht unter diesen Bedingungen in erster Linie durch die Oxidation des $[^{11}C]CN$ [17]. In der Regel werden jedoch Hochstromtargets eingesetzt, um möglichst hohe Aktivitäten zu erreichen. In diesem Fall liegen nahezu 100% des ^{11}C in Form von $[^{11}C]CO_2$ vor [22]. Weiterhin nimmt im Hochstromtarget, vor allen Dingen bei längeren Bestrahlungszeiten, die Bildung des störenden ^{13}N ab [24]. Eine Beeinflussung des $[^{11}C]CO/[^{11}C]CO_2$-Verhältnisses durch Zusatz größerer Mengen Sauerstoffs findet kaum statt. Die Folge ist vielmehr die Bildung von NO_x und auch von unerwünschter ^{13}N Aktivität über den $^{16}O(p,\alpha)^{13}N$-Prozeß. Reines $[^{11}C]CO_2$ bzw. $[^{11}C]CO$ kann durch Konversion von $[^{11}C]CO$ in einem Oxidationsofen über CuO bei 800 °C [25] bzw. von $[^{11}C]CO_2$ in einem Reduktionsofen über Zn bei 300 °C erhalten werden [26]. Die Konversion kann "on-line" erfolgen.

[^{11}C]HCN kann direkt in einem N_2-H_2 Target erzeugt werden. Die zunächst entstehenden [^{11}C]CN-Radikale reagieren mit H_2 unter H-Abstraktion (zur Übersicht siehe [1,17,19]):

$$^{11}C + N_2 \longrightarrow [^{11}C\text{-}N\text{-}N] \longrightarrow {}^{11}CN + N$$

$$^{11}CN + H_2 \longrightarrow H^{11}CN + H$$

Die Ausbeuten sind jedoch relativ klein, da $H^{11}CN$ während der Bestrahlung wegen der Protonenradiolyse zu $^{11}CH_4$ konvertiert [22]:

$$H^{11}CN + 3\,H_2 \rightsquigarrow {}^{11}CH_4 + NH_3$$

Das $^{11}CH_4$ wird daher außerhalb des Targets "on-line" mit NH_3 umgesetzt [27]:

$$^{11}CH_4 + NH_3 \xrightarrow[1000°C]{Pt} H^{11}CN + 3\,H_2$$

Das $^{11}CH_4$ reagiert bei dieser Reaktionsführung fast quantitativ zu $H^{11}CN$. Ebenso wie das [^{11}C]CO/[^{11}C]CO_2-Verhältnis, hängt auch das [^{11}C]HCN/[^{11}C]CH_4-Verhältnis von den angewendeten Strahlströmen ab. In Hochstromtargets liegen 95 - 100 % der ^{11}C Aktivität in Form von $^{11}CH_4$ vor, während beim Einsatz niedriger Strahlströme fast 50 % des ^{11}C in Form von $H^{11}CN$ vorliegen (zur Übersicht siehe [17,21]).

Auch [^{11}C]CH_3I, das wichtigste Methylierungsreagenz für OH-, NH- und SH-Gruppen, kann in situ über Rückstoßreaktionen dargestellt werden. Zu diesem Zweck wird ein HI-N_2-Gasgemisch (1 : 4) bestrahlt [28]. Durch Einschiebungs- und H-Abstraktionsreaktionen entstehen hier vor allem [^{11}C]CH_3I und [^{11}C]CH_4. Große Aktivitätsmengen können durch dieses Verfahren nicht dargestellt werden, da es auch hier zu einer Protonenradiolyse und damit zu einer Zerstörung des gebildeten [^{11}C]CH_3I kommt. Da die Protonenradiolyse bei einer "off-line" Produktion nicht auftritt, ist dieses Verfahren zu bevorzugen. Für die Darstellung von [^{11}C]CH_3I bedeutet dies, daß zuerst auf klassischem Wege eine Reduktion von [^{11}C]CO_2 mit $LiAlH_4$ durchgeführt wird, und das entstandene Alanat wird durch Zusatz von wäßriger Iodwasserstoffsäure zu n.c.a. [^{11}C]CH_3I umgesetzt (siehe z. B [29]).

^{11}C markiertes Acetylen kann ebenfalls als Produkt von Rückstoßreaktionen im Target gewonnen werden. Die Darstellung kann in diesem Fall über

die Bestrahlung von Kohlenwasserstoffen unter Verwendung der $^{12}C(p,pn)^{11}C$ Reaktion erfolgen (zur Übersicht siehe [19]). Allerdings ergibt sich auch hier wieder das Problem der Protonenradiolyse. Alternativ kann eine "off-line" Synthese durch Hydrolyse von $[^{11}C]BaC_2$ [30] oder durch Pyrolyse von $[^{11}C]CH_4$ [31] angewandt werden.

$[^{11}C]$ Phosgen, ein wichtiges Ausgangsprodukt für Synthesen von ^{11}C markierten Dialkylcarbonaten, -carbamaten, Harnstoff und dessen Derivaten, kann ausgehend von $[^{11}C]CO_2$ dargestellt werden. Die Addition des Chlors kann durch $PtCl_4$-Katalyse [32] oder durch Umsetzung mit Chloratomen, die durch photochemische Spaltung des Cl_2 erzeugt werden können [33], erfolgen.

Der mit Abstand wichtigste Markierungsvorläufer für Markierungssynthesen mit ^{11}C ist das $[^{11}C]CO_2$. Über diese schon im Target leicht darstellbare Verbindung ist eine Vielzahl von Markierungsreagenzien zugänglich. Mittels dieser Vielzahl von Markierungsreagenzien steht eine große Palette von Markierungsreaktionen zur Verfügung. Der limitierende Faktor bei Markierungsynthesen mit ^{11}C sind meist nicht chemische Probleme, sondern die verhältnismäßig kurze Halbwertzeit. Eine Übersicht über die verfügbaren Markierungsreagenzien ist in Abbildung 1.1 dargestellt.

Für alle im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Untersuchungen wurde ausschließlich ^{11}C verwendet, welches über die $^{14}N(p,\alpha)^{11}C$ Kernreaktion in einem $N_2(O_2)$ Gastarget erzeugt wurde. Über diese Darstellung war es möglich, Aktivitätsmengen von mehr als 37 GBq mit spezifischen Akivitäten von $2 \cdot 10^4 - 4 \cdot 10^4$ GBq/mmol (EOS) zu erzeugen.

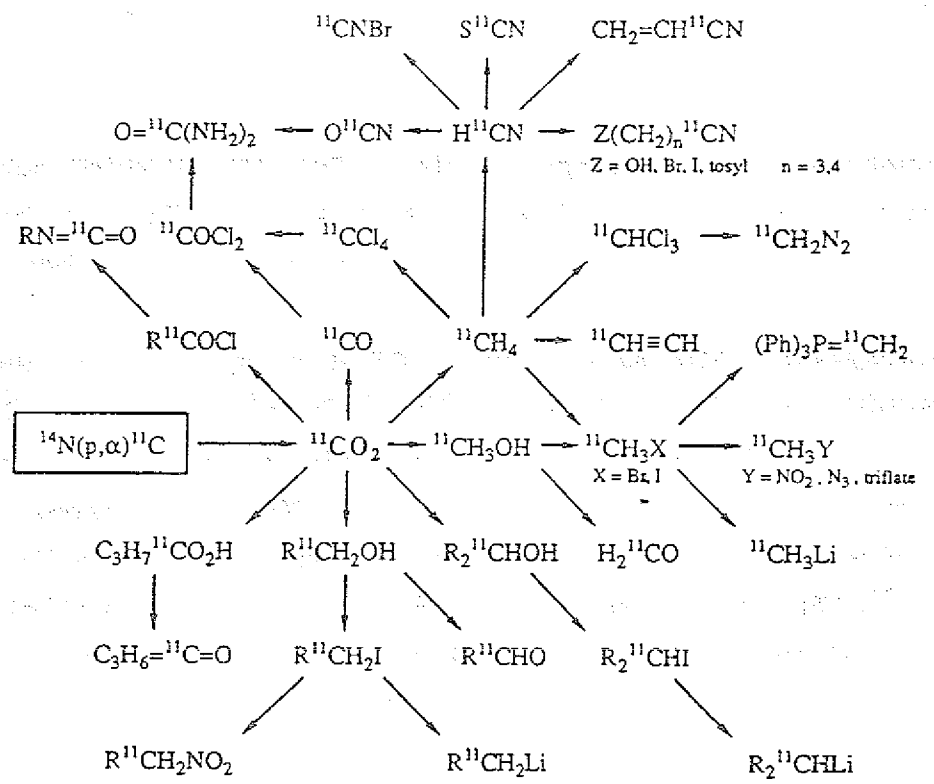


Abb. 1.1: Über [^{11}C]CO$_2$ zugängliche Markierungsvorläufer [34]

1.3.2 Markierungssynthesen mit ^{11}C

Das am häufigsten eingesetzte ^{11}C Markierungsreagenz ist [^{11}C]Methyliodid. Es ist durch Reduktion von [^{11}C]CO$_2$ mittels Lithiumaluminiumhydrid in Tetrahydrofuran und nachfolgender Umsetzung des Alanates mit wäßriger Iodwasserstoffsäure leicht zugänglich [35,36]. Eine neue sehr elegante Methode zur Darstellung von [^{11}C]CH$_3$I ist die "on-line" Umsetzung von [^{11}C]Methanol mit Triphenylphosphindiiodid [37]. [^{11}C]Methyliodid wird in der Regel zur [^{11}C]Methylierung von Amino- und Hydroxyfunktionen eingesetzt. Amino- und Hydroxyfunktionen sind in pharmakologisch relevanten Verbindungen recht häufig. Daraus ergibt sich zwangsläufig der häufige Einsatz von [^{11}C]CH$_3$I. Beispiele für ^{11}C methylierte Verbindungen sind:

3-N-[^{11}C]Methylspiperon [38], L-[S-Methyl-^{11}C]Methionin [39], [N-Methyl-^{11}C]Flumazenil [40], L-[N-Methyl-^{11}C]Deprenyl [41] oder auch [O-Methyl-^{11}C]Raclopride [42].

Die Umsetzung der entsprechenden Desmethylverbindungen mit [^{11}C]Methyliodid erfolgt in der Regel in Solventien wie N,N-Dimethylformamid oder Dimethylsulfoxid, wenn nötig in Gegenwart einer Hilfsbase.

Eine interessante Alternative zu [^{11}C]Methyliodid stellt das über [^{11}C]Methyliodid und Silber-trifluormethansulfonat zugängliche [^{11}C]Methyltriflat (Trifluormethansulfonsäure-[^{11}C]methylester) dar [43,44]. Methyltriflat hat im Vergleich zu Methyliodid ein etwa 10000fach höheres Methylierungsvermögen [45]. Mit Hilfe dieses Markierungsreagenzes sollten daher auch mit [^{11}C]CH_3I schwer zu methylierende Verbindungen zugänglich sein. Allerdings muß hier auf die Wahl des Lösungsmittels geachtet werden, das gegenüber [^{11}C]Methyltriflat inert sein muß.

In der Carbonylfunktion markierte Carbonsäuren sind über die Umsetzung von [^{11}C]CO_2 mit Grignard-Reagenzien darstellbar [46,47]. Ein Beispiel für diese Anwendung ist die Darstellung von [1-^{11}C]Actetat, welches zur Untersuchung des regionalen myocardialen Sauerstoffverbrauchs des Herzens eingesetzt wird (z. B. [48]).

Aus ^{11}C markierten Carbonsäuren sind durch Reduktion mit Lithiumaluminiumhydrid und Umsetzung der resultierenden höheren Alkohole mit wäßriger Iodwasserstoffsäure weitere ^{11}C Alkylierungsreagenzien darstellbar. Von Bedeutung ist in diesem Zusammenhang die Synthese von [^{11}C]Ethyliodid zur N-Ethylierung des Dopamin-Rezeptor Antagonisten Raclopride [49].

[^{11}C]Formaldehyd ist darstellbar durch Oxidation von [^{11}C]Methanol an geeigneten Katalysatoren, meist Silberwolle [50,51]. Diese Darstellungen erfordern jedoch den Zusatz von Träger, da die Oxidation sonst nicht auf der Stufe des Formaldehyds stehen bleibt, sondern bis zum [^{11}C]CO_2 fortschreitet. Es werden daher nur verhältnismässig geringe spezifische Aktivitäten erreicht. Dieses schränkt den Einsatz von [^{11}C]Formaldehyd als Markierungsreagenz stark ein.

Die bisher dargestellten Markierungssynthesen sind gängige Verfahren zur Markierung von Verbindungen mit ^{11}C. Als Beispiel für eine eher ausgefallene ^{11}C Markierung sei die Synthese von [^{11}C]Physiostigmin mittels [^{11}C]Methylisocyanat genannt [52].

Die in diesem Abschnitt genannten Markierungssynthesen stellen nur Beispiele für die große Zahl von Markierungsmöglichkeiten mittels ^{11}C dar. Es wird aber deutlich, welches Potential für Markierungen hier zur Verfügung steht. Einschränkend ist jedoch anzumerken, daß die kurze Halbwertzeit von ^{11}C viele Anwendungen verhindert. In diesen Fällen ist eine Markierung mit ^{18}F die Methode der Wahl.

1.4 Fluor-18, Produktion und Synthesen

1.4.1 Produktion von ^{18}F

Zur Erzeugung von [^{18}F]Fluor im Reaktor oder mit Hilfe eines Cyclotrons sind mehr als 20 Kernreaktionen bekannt. Die wichtigsten Reaktionen zur Darstellung von [^{18}F]Fluor mittels eines Teilchenbeschleunigers sind in Tabelle 1.4 zusammengestellt.

Tab. 1.4: Erzeugung der wichtigsten primären [^{18}F] Vorläufer (siehe z. B. [53 - 55])

Target		Kernreaktion	Energiebereich [MeV]	Produkt
Ne + 0,1% F_2	(20 bar)	$^{20}Ne(d,\alpha)^{18}F$	14 --> 0	[^{18}F]F_2
Ne + 15% H_2	(8 bar)	$^{20}Ne(d,\alpha)^{18}F$		[^{18}F]HF
Ne + 15% H_2	(8 bar)	$^{20}Ne(d,\alpha)^{18}F$		[^{18}F]F^-_{aq}
$H_2{}^{18}O$		$^{18}O(p,n)^{18}F$	16 --> 3	[^{18}F]F^-_{aq}
H_2O		$^{16}O(^3He,p)^{18}F$	41 --> 14	[^{18}F]F^-_{aq}

Über die in Tabelle 1.5 angegebenen Kernreaktionen können somit [^{18}F]F^-_{aq}, [^{18}F]HF und [^{18}F]F_2 als primäre Vorläufer bereits im Target dargestellt werden. Es können damit sowohl elektrophile als auch nukleophile Flu-

orierungen im Rahmen von Radiosynthesen durchgeführt werden. Allerdings sind nur die nukleophilen Fluorierungen unter n.c.a. Bedingungen durchführbar. Zur Produktion von $[^{18}F]F_2$, welches die Möglichkeit zur elektrophilen Fluorierung bietet, muß inaktives Fluor zugesetzt werden.

Für alle im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Untersuchungen wurde ausschließlich über die $^{18}O(p,n)^{18}F$ Kernreaktion erzeugtes $[^{18}F]F^-_{aq}$ eingesetzt. Über die Bestrahlung von hoch angereichertem $H_2{}^{18}O$ können leicht Aktivitätsmengen von mehr als 1 GBq erzeugt werden (vergleiche hierzu Kapitel 3.3.4).

1.4.2 Markierungssynthesen mit ^{18}F

Für die Einführung von $[^{18}F]$Fluor in organische Moleküle stehen bislang mehrere Methoden zur Verfügung (zur Übersicht [56,57]):

- direkte nukleophile Fluorierung
- Fluoralkylierung
- Fluoracylierung
- Fluordediazonierung
- elektrophile Substitution
- elektrophile Addition

Allen Verfahren ist gemein, daß sie durch das spezielle chemische Verhalten des Fluors geprägt sind. Die für Radiohalogenierungen mit anderen Halogenen gewonnenen Reaktionsbedingungen sind daher nicht übertragbar. Das kleine Fluoridion weist eine sehr hohe Ladungsdichte auf. Es ist in protischen Solventien von einer Solvathülle umgeben. In wäßriger Lösung ist solvatisiertes $[^{18}F]F^-_{aq}$ sehr unreaktiv. Desweiteren wird $[^{18}F]$Fluorid in Gegenwart von Protonen sehr schnell unter Bildung von $[^{18}F]HF$ protoniert. Darüber hinaus neigt n.c.a. $[^{18}F]$Fluorid zur Adsorption an Oberflächen, beispielsweise an in der Lösung befindlichen festen Partikeln.

Die wichtigste Methode zur $[^{18}F]$Fluorierung ist zur Zeit die nukleophile Substitution mittels $[^{18}F]$Fluorid. Diese Methode stellt zur Zeit den einzigen gangbaren Weg zur n.c.a. Markierung mittels $[^{18}F]$ dar.

Die Aktivierung des Fluorids wird durch Phasentransferkatalysatoren wie Tetraalkylammoniumsalze oder Kryptat-Komplexe von Alkalimetallen erreicht. Diese Phasentransferkatalysatoren ermöglichen eine Überführung des [^{18}F]Fluorids in die organische Phase. In dipolar aprotischen Lösungsmitteln wie DMF, DMSO oder Acetonitril liegt dann das [^{18}F]Fluorid in Form eines "nackten" Ions sehr hoher Nukleophilie vor. Die besten Resultate werden mit dem Aminopolyether Kryptofix 2.2.2 mit K_2CO_3 [58] und mit Tetraethylammoniumhydroxid [59] erzielt. Neuerdings werden ebenfalls Tetraalkylammoniumcarbonate [60] und -hydrogencarbonate [61] erfolgreich zur Anionenaktivierung eingesetzt. Zur Aktivierung wird die wäßrige [^{18}F]Fluorid-Lösung mit dem Phasentransferkatalysator versetzt. Anschließend wird das Wasser durch azeotrope Destillation mit Acetonitril entfernt. Unter diesen Bedingungen sind Adsorptionsverluste vernachlässigbar, solange das Löslichkeitsprodukt des Phasentransferkatalysator/[^{18}F]Fluorid Gemisches nicht überschritten wird [62].

Der nukleophilen Fluorierung liegt in dipolar aprotischen Lösungsmitteln ein S_N2-Reaktionsmechanismus zugrunde [63,64]. Als Abgangsgruppen eignen sich insbesondere Halogene oder Sulfonate (Tosylate, Triflate) [65-67]. Auch das zur Zeit wichtigste PET Radiopharmakon, die 2-[^{18}F]Fluor-2-desoxy-D-glucose, wird über die nukleophile Fluorierung dargestellt [68].

Die nukleophile Substitution am Aromaten kann ebenfalls mit [^{18}F]Fluorid in Gegenwart geeigneter Phasentransferkatalysatoren durchgeführt werden. Voraussetzung ist in diesem Fall jedoch neben einer geeigneten Abgangsgruppe - in der Regel wird ein Nitro-Rest substituiert - eine Aktivierung des Aromaten. Die Aktivierung des Aromaten wird durch elektronenziehende Substituenten wie Carbonyl- oder Nitro-Reste erreicht. Handelt es sich bei dem aktivierendem Substituenten um eine Aldehydfunktion, so kann diese nach der nukleophilen Substitution durch Reduktion mittels des Wilkinsonkatalysators entfernt werden [69]. Beispiele für die nukleophile Substitution am Aromaten sind die Darstellung von [^{18}F]Altanserine [70] und die ^{18}F Markierung verschiedener Butyrophenon Neuroleptika [71,72].

Die in der klassischen organischen Chemie gängige regiospezifische Fluorierung über Dediazonierungsreaktionen führt bei der Übertragung auf die n.c.a. Reaktionen mit ^{18}F nur zu geringen radiochemischen Ausbeuten [73]. In einer neueren Arbeit [74] wurde zwar von einem erfolgreichen Fluordediazonierungsverfahren berichtet, jedoch konnten diese Ergebnisse in der dargestellten Form nicht reproduziert werden [75].

Versagt prinzipiell die direkte nukleophile Fluorierung, so kann auf Markierungssynthesen über prosthetische Gruppen zurückgegriffen werden. Bei diesen Verfahren werden zunächst kleinere gut zu fluorierende Moleküle mit ^{18}F umgesetzt. Diese werden anschließend an das sich der direkten nukleophilen Fluorierung entziehende Molekül gekoppelt. Die beiden wichtigsten Verfahren sind in diesem Zusammenhang die [^{18}F]Fluoralkylierung [62] und die [^{18}F]Fluoracylierung [67].

Die [^{18}F]Fluoralkylierung stellt eine längerlebige Alternative zur [^{11}C]Methylierung dar. Bei diesem Verfahren werden [^{18}F]Fluoralkyl-Reste wie $CH_2CH_2{}^{18}F$ mit Amino-, Hydroxy- oder Thio-Resten gekoppelt. Die besten Ergebnisse werden ausgehend von Ditosyloxyalkanen erhalten. Im ersten Reaktionsschritt wird ein Tosylrest durch [^{18}F]Fluorid substituiert. Der zweite Reaktionsschritt besteht aus einer nukleophilen Substitution des zweiten Tosylrestes durch das zu fluoralkylierende Edukt. Die [^{18}F]Fluoralkylierung ist als "Eintopfreaktion" durchführbar. Beispiele für die [^{18}F]Fluoralkylierung sind die [^{18}F]Fluorethylierungen von Spiperone [67] und von Benperidol [76].

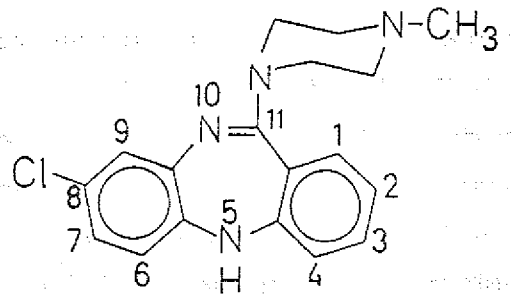
Die [^{18}F]Fluoracylierung eignet sich insbesondere für Reaktionen in protischen Solventien. Bei diesem Verfahren wird zunächst ein ^{18}F markierter Ester durch einen einfachen $^{18}F/Br$ Austausch dargestellt. In der Regel wird der 2-[^{18}F]Fluorpropionsäureester dargestellt. Nach der Hydrolyse des Esters kann dieser beispielsweise an N-Hydroxy-succinimid gekoppelt und über diese Verbindung in Peptide oder Proteine eingeführt werden [77]. Ein Beispiel für eine derartige Reaktionsführung ist die Einführung von ^{18}F in Biotin [78].

Für die elektrophilen Substitutions- und Additionsreaktionen mit ^{18}F gilt allgemein, daß die elektrophilen Agentien wie [^{18}F]XeF_2, [^{18}F]F_2 oder [^{18}F]Acetylhypofluorid auf Grund der Targetbedingungen nicht in trägerfreiem Zustand darstellbar sind. Somit kann dieses Verfahren nur bei Verbindungen eingesetzt werden bei denen es nicht auf eine hohe spezifische Aktivität ankommt. Bei diesen Verbindungen handelt es sich um Stoffe zur Untersuchung metabolischer Vorgänge wie Zucker, Aminosäuren oder auch Fettsäuren. Jedoch kann der Träger in diesen Fällen die Kinetik der Aufnahme beeinflussen, insbesondere wenn der Stofftransport über sogenannte "Carrier" erfolgt. Desweiteren besitzen diese [^{18}F]Fluorierungsmittel eine derart hohe Reaktivität, daß eine gezielte Steuerung der Reaktion nur bedingt möglich ist. Beispiele für elektrophil markierte Pharmaka sind 6-[^{18}F]Fluor-L-dopa [79], 2-[^{18}F]Fluor-L-Tyrosin [80] oder auch 2-[^{18}F]Fluor-2-desoxy-D-glucose [81]. Die Darstellung der 2-[^{18}F]Fluor-2-desoxy-D-glucose über [^{18}F]Acetylhypofluorid ist allerdings heute kaum noch gebräuchlich.

1.5 Clozapin, ein klassisches atypisches Neuroleptikum

Bei Clozapin (8-Chloro-11-(4-methyl-1-piperazinyl)-5H-dibenzo[b,e]-[1,4]-diazepin) handelt es sich um eine tricyclische Verbindung die zur Klasse der Dibenzodiazepine gezählt wird. Clozapin erwies sich als pharmakologisch wirksam und kann in weiterem Sinne zur Klasse der Phenothiazin Neuroleptika gezählt werden. Es unterscheidet sich von diesen jedoch durch den siebengliedrigen Dibenzodiazepinring. Die Wirkungsweise des Clozapins ist Gegenstand zahlreicher Untersuchungen (zur Übersicht siehe [82]). Der genaue Wirkmechanismus ist jedoch noch nicht aufgeklärt. Clozapin wird als atypisches Neuroleptikum bezeichnet, da nur sehr geringe extrapyramidal-motorische Nebenwirkungen hervorgerufen werden. Es wird vorwiegend zur Behandlung schizophrener Psychosen eingesetzt. Wie zahlreiche andere Dibenzodiazepine, -azepine, -oxazepine und -thiazepine wurde Cloza-

pin im Zeitraum von 1960 bis 1965 entwickelt [83-85]. Clozapin wird unter dem Handelsnamen Leponex von der Sandoz AG, Schweiz, vertrieben.



Clozapin

1.5.1 Darstellung der Dibenzodiazepine am Beispiel von Clozapin

Clozapin und andere Dibenzodiazepine werden über eine mehrstufige Synthese dargestellt. Ausgangspunkt der Synthese ist die Umsetzung von o-Brombenzoesäure mit 4-Chlor-2-nitroanilin zu N-(2-Nitro-4-chlorophenyl)anthranilsäure im Rahmen einer Ullmann Kondensation [86]. Der Ullmann Kondensation folgt die Reduktion der Nitrogruppe zur Darstellung der N-(2-Amino-4-chlorophenyl)anthranilsäure. Als Reduktionsmittel kommen Eisen(II)sulfat [87,88], Palladium/Wasserstoff [89], Natriumdithionit [89,90] oder eine salzsaure Zinn(II)chlorid-Lösung [91] zum Einsatz. Welches Reduktionsmittel zum Einsatz kommt, hängt von der Empfindlickeit des Nitro- bzw. des Aminoderivates der Anthranilsäure ab. Der Reduktion zu N-(2-Amino-4-chlorophenyl)anthranilsäure folgt die Cyclisierung zum entsprechenden Lactam: 8-Chloro-5,10-dihydro-11-oxo-dibenzo[b,e]-[1,4]-diazepin. Die Cyclisierung wird in der Regel thermisch durch Erhitzen des Anthranilsäurederivaten in siedendem Xylol am Wasserabscheider erreicht [87-89]. Alternativ kann die Cyclisierung auch basenkatalysiert über die Ester der entsprechenden Aminosäuren mittels Natriumamid durchgeführt werden [89]. Beide Methoden zur Darstellung des Lactams führen zu vergleichbaren Ausbeuten. Für den letzten Reaktionsschritt, die Umsetzung von 8-Chloro-5,10-dihydro-11-oxo-dibenzo[b,e]-[1,4]-diazepin mit N-Methylpiperazin zu Clozapin, stehen mehrere Reaktionswege zur Verfügung. Die Darstellung der Amidine über Imidochloride - diese werden durch die Umsetzung des Lac-

tams mit Phosporyl- oder Sulfonylchlorid erhalten [92] - und nachfolgender Aminolyse führt im Falle der in Position 5 unsubstituierten Derivate nur zu schlechten Ausbeuten [84,93]. Besser gangbar ist der Reaktionsweg über die Synthese der entsprechenden Thiolactame, nachfolgender Methylierung zum Iminothioether und schließlich nukleophiler Substitution des Methylthiorestes mittels N-Methylpiperazin [84,93]. Die beste und schnellste Variante zur Darstellung der Amidine ist jedoch die Umsetzung eines Titantetrachlorid/N-Methylpiperazin Komplexes mit dem entsprechendem Lactam [94,95]. Bei Anwendung dieses Verfahren werden Ausbeuten von mehr als 90%, bezogen auf das eingesetzte Lactam, erhalten. Die Synthese des Clozapins ist in Abbildung 1.2 schematisch dargestellt.

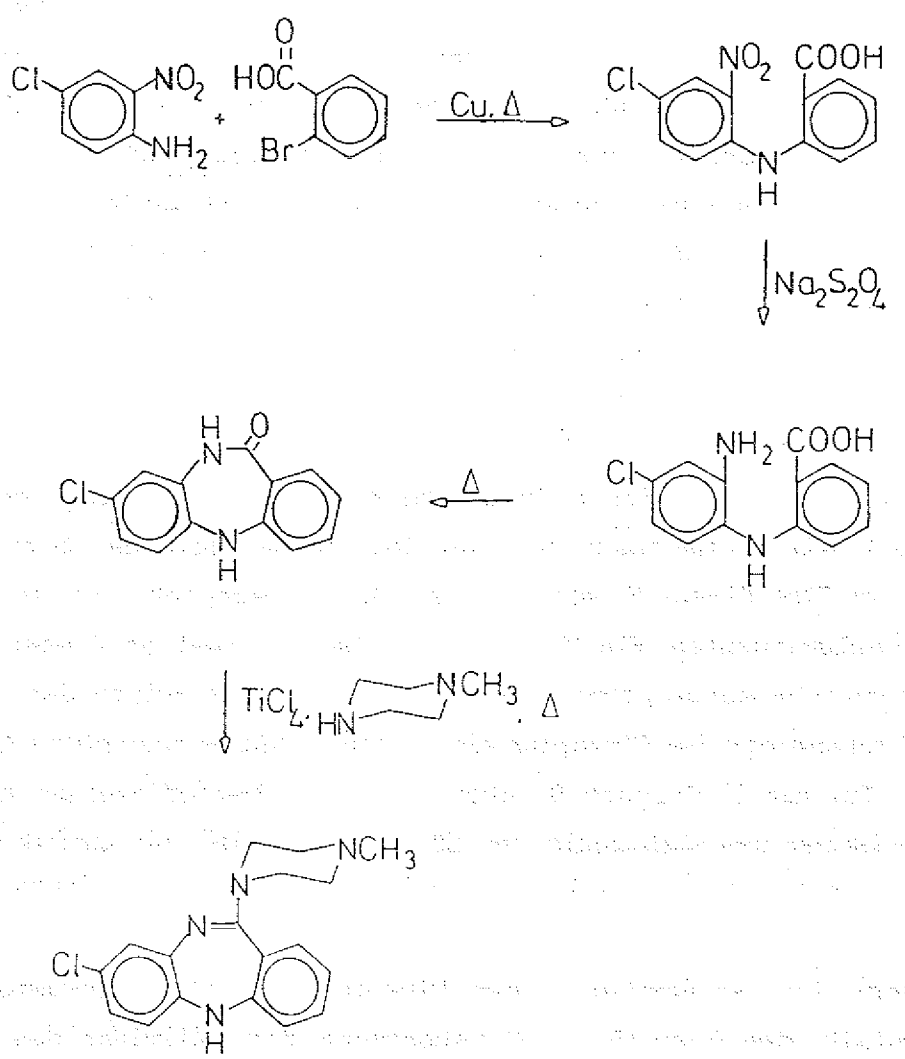


Abb. 1.2: Ein gangbarer Weg zur Synthese des Clozapins [86,89,95]

1.5.2 Struktur-Wirkungsbeziehungen des Clozapins

Die Wirkung von Clozapin und Clozapinderivaten ist abhängig von der Substitution am aromatischen Ring in Position 8, der Natur des Brückenatoms in Position 5 und der Art des basischen Substituenten an Position 11 (zur Übersicht siehe [96,97]).

Die Art der Verknüpfung der beiden Phenylreste in Position 5 hat unterschiedliche Effekte auf die pharmakologische Wirkung. Die verknüpfende Aminogruppe im Falle des Clozapins kann durch eine Methylengruppe, durch ein Sauerstoffatom oder durch ein Schwefelatom ersetzt werden. Clozapin sowie die analog substituierten Morphanthridin-, Dibenzo[b,f][1,4]oxazepin- und Dibenzo[b,f][1,4]thiazepin- Derivate bewirken eine unterschiedliche starke Herabsetzung der Aktivität des Zentralnervensystems (ZNS). Am wirksamsten sind Clozapin und das Dibenzoxazepin. Bis auf das Dibenzoxazepin zeigen alle Derivate eine ausgeprägt anticholinerge Wirkung. In diesem Zusammenhang ist das Thiazepin am potentesten. Eine N-Alkylierung im Falle des Clozapins bewirkt eine Verminderung der inhibitorischen Wirkung auf die Lokomotionsreflexe. Die anticholinerge Wirkung bleibt bei den 5-N alkylierten Derivaten erhalten [93,98].

Die Substitution an Position 8 durch Halogene, Alkyl-, O-Alkyl oder auch Nitroreste bewirkt eine mehr oder minder ausgeprägte Herabsetzung der Aktivität des ZNS. Dieser Effekt ist besonders ausgeprägt für den Chloro- und Fluorosubstituenten. Ein Methyl- oder Methoxyrest an dieser Position bewirkt schwache kataleptische Effekte. Desweiteren zeigen das Methoxy- und das Fluoranaloge des Clozapins eine gewisse antiapomorphine Aktivität. Es scheint für die in Position 8 substituierten Dibenzodiazepine keine Beziehung zwischen den elektronischen Effekten oder der Lipophilie der Substituenten und der pharmakologischen Aktivität zu bestehen [93,98].

Der basische Rest an Position 11 des Dibenzodiazepingrundgerüstes beeinflußt ebenfalls das Ausmaß der Herabsetzung der Aktivität des ZNS. Ein 4-substituierter Piperazinylrest ist essentiell für einen starken herabsetzenden Effekt. So zeigen das Ethylendiamin-, das Dimethylaminopyrolidin-

und auch das unsubstituierte Piperazinylderivat nur noch eine geringe depressive Wirkung auf das ZNS [93,99]. Der Ersatz des Methylrestes an Position 4 des Piperazinylrestes durch Hydroxyalkylreste bewirkt sowohl eine Verminderung des hemmenden Effektes auf das ZNS als auch der anticholinergen Wirkung [98]. Eine Oxidation des Stickstoffes an Position 4 des Piperazinylrestes unter Bildung des N-Oxids (Clozapin-N-oxid) hat ähnliche Auswirkungen wie die Substitution durch Hydroxyalkylreste [99].

1.5.3 Pharmakologie von Clozapin

Bei oraler Gabe wird Clozapin schnell absorbiert. Beim Menschen wird der maximale Blutplasmaspiegel nach etwa 3 h erreicht [100]. 60% der oralen Dosis erreichen den systemischen Blutkreislauf. Dosis und Blutplasmaspiegel verhalten sich zueinander linear [101]. Eine quasistationärer Zustand wird nach etwa 8 bis 10 Tagen Behandlung erreicht. Bei einer täglichen Dosis von 300 mg liegt in diesem Fall die Plasmakonzentration bei 200 bis 600 ng/l. Die Plasmaproteinbindung erreicht 92% [101]. Der Abfall des Blutplasmaspiegels verläuft in zwei Phasen. Es kommt zunächst zu einer schnellen Elimination. Die Halbwertzeit für diese schnelle Elimination beträgt etwa 6 h. Der schnellen Elimination folgt eine langsamere mit einer Halbwertzeit von etwa 25 h [102]. Verteilungsstudien zeigten, daß die höchsten Konzentrationen in Organen erreicht werden, die an Eliminationsprozessen beteiligt sind (Leber, Gallenblase, Niere) [103]. Die Ausscheidung erfolgt beim Menschen zu 49% über den Urin und zu 38% über den Fäzes [97].

Im menschlichen Urin werden neben unverändertem Clozapin drei Hauptmetaboliten gefunden. Es handelt sich hierbei um Clozapin-N-oxid, die Desmethylverbindung Norclozapin und um ein phenolisches Derivat des Norclozapins. Das Ausscheidungsverhältnis dieser vier Verbindungen beträgt 1 : 2 : 1 : 1 [103,104]. Das Clozapin-N-oxid stellt somit den eigentlichen Hauptmetaboliten dar. Es wird von einer oszilierenden Oxidation und Reduktion des Clozapins und des Clozapin-N-oxids berichtet [105]. Bei dem phenolischen Derivat des Norclozapins ist das Chloratom gegen eine Hydroxyfunktion ausgetauscht [104]. Das Enstehen dieses außergewöhnlichen Metaboliten

kann einerseits über ein reaktives Konjugat unter der Bildung eines Hydroxylamins [106], andererseits über die Bildung eines Epoxides [107] erklärt werden. Weitere Stoffwechselprodukte entstehen durch den oxidativen Abbau des Piperazinylringes [104]. Ein weiterer Metabolit trägt einen CH_3OSO-Rest [104].

Clozapin weist eine starke antipsychotische und sedative Wirkung auf. Das klinische Profil (zur Übersicht siehe [82]) ist geprägt durch eine starke Verminderung positiver und negativer Symptome der Schizophrenie. Gleichzeitig werden akute extrapyramidale Symptome (z. B. Parkinsonismus) und Langzeitstörungen (z. b. tardive Dyskenisie) in einem weitaus geringeren Maße beobachtet als bei der Anwendung anderer Neuroleptika wie beispielsweise bei Chlorpromazin. Aus diesen Gründen gilt Clozapin als der Prototyp der atypischen Neuroleptika. Der genaue Wirkmechanismus des Clozapins ist noch nicht geklärt. Clozapin weist eine Affinität sowohl zu den dopaminergen D_1-, D_2-, D_3- und D_4-Rezeptoren als auch zu den serotenergen 5-HT_2-Rezeptoren auf. Die Wechselwirkung mit den verschiedenen Rezeptortypen ist unterschiedlich stark ausgeprägt. Darüber hinaus finden sich Unterschiede in der Bindung an einzelne Rezeptortypen in verschiedenen Bereichen des Gehirns. Diese Faktoren werden zu Erklärungsversuchen des außergewöhnlichen klinischen Profils des Clozapins herangezogen. Zur Zeit werden drei Hypothesen diskutiert:

1.) Eine selektive bzw. bevorzugte Wirkung des Clozapins auf das mesolimbische System
2.) Ein Zusammenspiel von Serotonin- und Dopamin-Blockade
3.) Eine Interaktion des Clozapins mit den Dopamin-Rezeptorsubtypen

Die schwerwiegendste Nebenwirkung des Clozapins ist die Verminderung der Granulytenzahl im Blut (Agranulozytose). Das Auftreten dieser Nebenwirkung wird in 1 bis 2% der Fälle beobachtet. Die Anwendung von Clozapin erfordert daher die ständige Kontrolle des Blutbildes.

1.5.4 Untersuchungen mit Clozapin im Rahmen der Positronen-Emissionstomographie

[N-Methyl-^{11}C]Clozapin wurde erstmals 1984 durch die [^{11}C]Methylierung der Desmethylverbindung Norclozapin dargestellt [108]. Erste Untersuchungen im Rahmen der Positronen-Emissionstomographie wurden an Rhesusaffen durchgeführt [109,110]. Im Rahmen dieser Untersuchungen wurde festgestellt, daß [N-Methyl-^{11}C]Clozapin sehr schnell im Hirn nachgewiesen werden kann. Die maximale Radioaktivitätsaufnahme im Hirn wurde 5 bis 12 min nach der Gabe beobachtet. Die höchste Konzentration lag im Striatum vor. Weitere Anreicherungen wurden im Thalamus und im Mesencephalon festgestellt. Durch die Vorbehandlung mit Clozapin und nachfolgender Evaluierung mittels des selektiven D_2-Rezeptorantagonisten [O-Methyl-^{11}C]Raclopride konnte die Affinität zu D_2-Rezeptoren nachgewiesen werden. Eine Vorbehandlung mit Spiperon bewirkte eine verminderte Bindung von [N-Methyl-^{11}C]Clozapin sowohl im frontalen Cortex als auch im Striatum. Dieses deutet auf eine Konkurrenz von Dopamin- und Serotoninrezeptoren hin. PET-Untersuchungen am Menschen bestätigten die Tierversuche [111]. Bei diesen Untersuchungen wurde festgestellt, daß bei einer Vorbehandlung mit Haloperidol das Bindungsverhalten von [N-Methyl-^{11}C]Clozapin nur wenig beeinflußt wird. Dieses zeigt eine Affinität zu D_1-Rezeptoren an. Bei weiteren PET-Studien am Menschen wurde das Bindungsverhalten Clozapins durch Applikation von [O-Methyl-^{11}C]Raclopride [112] und [^{18}F]Methylspiperon [113] untersucht. Bei der Studie mit [O-Methyl-^{11}C]Raclopride wurde für Clozapin eine 65%ige Besetzung von D_2-Dopaminrezeptoren ermittelt. Die Untersuchung mittels [^{18}F]Methylspiperon zeigte, daß in Patienten mit Clozapin Therapie das Bindungsverhalten von [^{18}F]Methylspiperon nicht verändert war. Eine Vorbehandlung mit Haloperidol führte demgegenüber zu einer deutlichen Abnahme der [^{18}F]Methylspiperon Bindung im Striatum. Dieses Ergebnis verdeutlicht die unterschiedlichen Rezeptoraffinitäten von Clozapin.

1.6 Problemstellung

Für pharmakokinetische Untersuchungen am lebenden Primaten mit Hilfe der Positronen-Emissionstomographie (PET) sollte das atypische Neuroleptikum Clozapin (8-Chloro-11-(4-methyl-1-piperazinyl)-5H-dibenzo[b,e]-[1,4]-diazepin) und sein Hauptmetabolit, Clozapin-N-oxid (8-Chloro-11-(4-methyl-4-oxo-1-piperazinyl)-5H-dibenzo[b,e]-[1,4]-diazepin), mit Kohlenstoff-11 ($T_{1/2}$= 20,3 min) bzw. Fluor-18 ($T_{1/2}$= 109,7 min) praktisch trägerfrei (no-carrier-added = n.c.a.) markiert werden. Hierzu sollten geeignete schnelle Synthesen und chromatographische Reinigungsverfahren erarbeitet werden, die eine automatisierte Darstellung in präparativem Aktivitätsmaßstab erlauben.

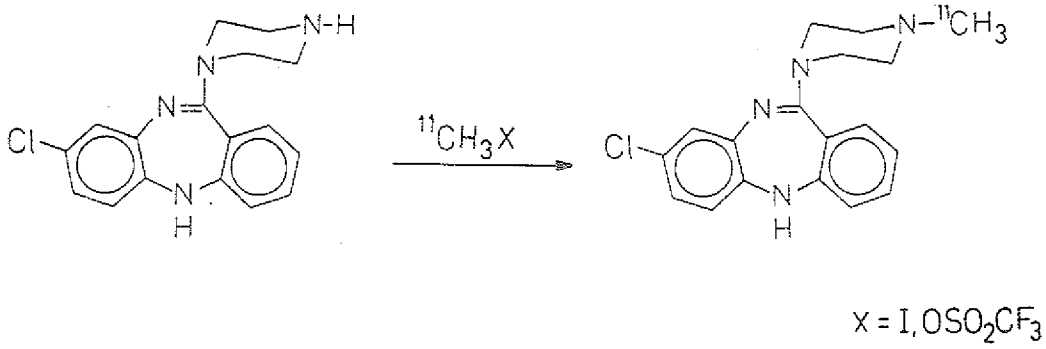
Clozapin ist mit Kohlenstoff-11 grundsätzlich an zwei Positionen über eine [^{11}C]Methylierung markierbar. Ein Ziel der Arbeit war die Untersuchung einer möglichen Konkurrenzmethylierung am sekundären Stickstoff des Diazepinringes. Hierbei sollte unter anderem die Auswirkung des äußerst reaktiven Methylierungsmittels [^{11}C]Methyltriflat untersucht werden. Desweiteren sollten die optimalen Bedingungen zur selektiven trägerfreien (n.c.a) [^{11}C]Methylierung sowohl am Piperazinyl-, als auch am Diazepinstickstoff erarbeitet werden. Im Falle der [^{11}C]Methylierung des Piperazinylstickstoffs zur Darstellung des [N-Methyl-^{11}C]Clozapins sollte die erarbeitete Darstellungsmethode auf eine automatisierte Reaktionsführung übertragbar sein.

Der Hauptmetabolit des Clozapins ist das Clozapin-N-oxid (8-Chloro-11-(4-methyl-4-oxo-1-piperazinyl)-5H-dibenzo[b,e]-[1,4]-diazepin). Um auch diese Verbindung einer Evaluierung mittels PET grundsätzlich zugänglich zu machen, sollte auch für dieses Molekül eine effiziente ^{11}C Markierungssynthese entwickelt werden. Zu diesem Zweck sollte eine geeignete Oxidationsreaktion unter trägerfreien Reaktionsbedingungen erarbeitet und optimiert werden.

Schließlich sollte durch die Markierung mittels [^{18}F]Fluor eine längerlebige Alternative zum [N-Methyl-^{11}C]Clozapin dargestellt werden. Die Markierung mit [^{18}F]Fluor sollte über eine prosthetische Gruppe mittels einer [^{18}F]Fluoralkylierung durchgeführt werden. Auch für diese Markierung sollten selektive und optimale Reaktionsbedingungen erarbeitet werden.

2 Ergebnisse und Diskussion

2.1 Synthese von n.c.a. [N-Methyl-^{11}C]Clozapin



2.1.1 Optimierung der Reaktionsparameter der Methylierung der Desmethylverbindung Norclozapin mit [^{11}C]Methyliodid

Die nachfolgenden Untersuchungen dienten zur Optimierung der Synthese von n.c.a. [N-Methyl-^{11}C]Clozapin durch die Umsetzung der Desmethylverbindung Norclozapin mit dem [^{11}C]Methylierungsreagenz [^{11}C]Methyliodid. Das bei dieser Optimierung eingesetzte [^{11}C]Methyliodid wurde auf "klassischem" Wege über die Umsetzung von [^{11}C]CO_2 mit Lithiumaluminiumhydrid und nachfolgender Reaktion mit wäßriger Iodwasserstoffsäure dargestellt (vergleiche hierzu Abschnitt 3.3.2). Die Synthese von n.c.a. [N-Methyl-^{11}C]Clozapin wurde bezüglich der Reaktionstemperatur und -zeit, des Solvens und der Eduktkonzentration optimiert. Desweiteren wurde untersucht, inwieweit die Synthese durch den Zusatz von inaktiven [^{12}C]Methyliodid beeinflußt wird. Darüber hinaus sollte geklärt werden, ob und in welchem Ausmaß bei der Synthese von [N-Methyl-^{11}C]Clozapin eine Konkurrenzmethylierung am 5-N Diazepinstickstoff, die zum 8-Chloro-11-piperazinyl-5-[N-methyl-^{11}C]-dibenzo[b,e]-[1,4]-diazepin (im folgendem "5-[N-Methyl-^{11}C]Clozapin") führt, stattfindet.

2.1.1.1 Abhängigkeit von der Reaktionstemperatur

Untersucht wurde zunächst die Abhängigkeit der Umsetzung von Norclozapin mit n.c.a. [^{11}C]Methyliodid von der Reaktionstemperatur. Neben der Ermittlung der optimalen Reaktionstemperatur interessierte in diesem Zusammenhang insbesondere, ob die Reaktionstemperatur einen Einfluß auf die Bildung des "5-[N-Methyl-^{11}C]Clozapins" hat. Das Ergebnis dieser Untersuchung ist in Abbildung 2.1 dargestellt.

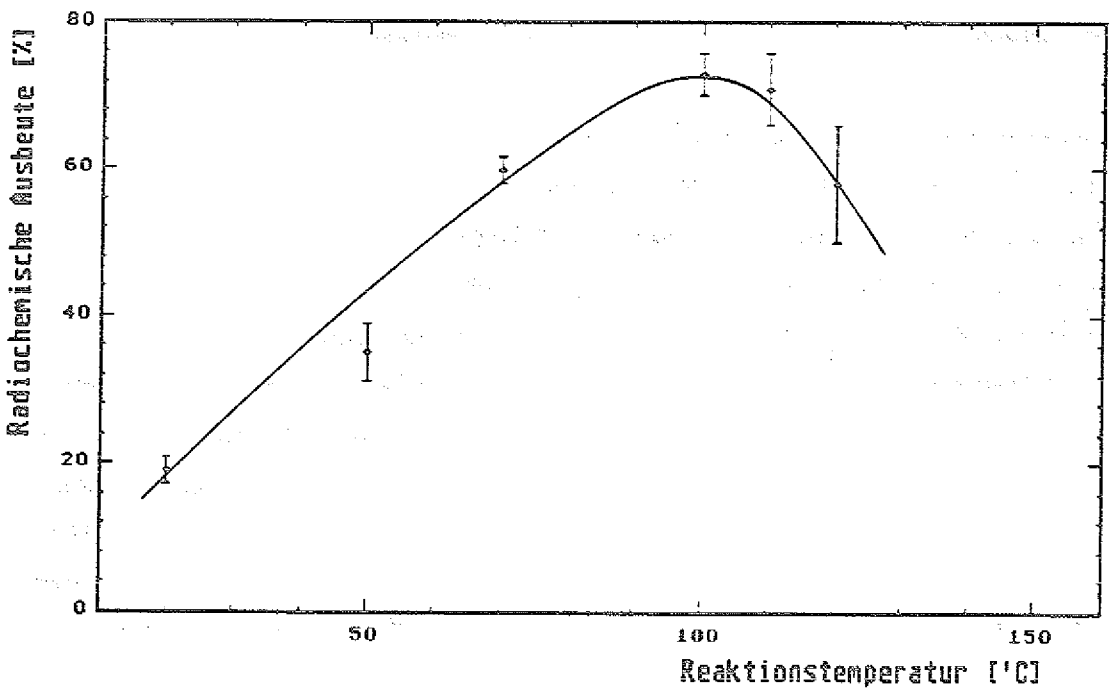


Abb. 2.1: Abhängigkeit der radiochemischen Ausbeute an [N-Methyl-^{11}C]Clozapin von der Reaktionstemperatur. (10 min, 1 mg (3 µmol) Norclozapin in 1 ml DMF, n.c.a. [^{11}C]CH_3I, Abbrechen der Reaktion durch Einfrieren in flüssigem Stickstoff)

Aus Abb. 2.1 ist zu entnehmen, daß der optimale Temperaturbereich für die Umsetzung der Desmethylverbindung Norclozapin mit [^{11}C]CH_3I bei etwa 90 bis 100°C liegt. Temperaturen von über 100°C führen zu einer Abnahme der radiochemischen Ausbeute an [N-Methyl-^{11}C]Clozapin. Das Entstehen von "5-[N-Methyl-^{11}C]Clozapin" als Nebenprodukt wird im untersuchten Temperaturbereich nicht beobachtet.

Die Abnahme und stärkere Streuung der radiochemischen Ausbeute an [N-Methyl-^{11}C]Clozapin bei Temperaturen über 100°C erklärt sich aus einer Instabilität des Markierungsvorläufers Norclozapin in dipolar aprotischen Solventien wie N,N-Dimethylformamid. Diese Instabilität zeigt sich insbesondere bei höheren Reaktionstemperaturen. Eine Lösung des Markierungsvorläufers in dipolar aprotischen Solventien ist wegen der vermutlich autokatalytischen Zersetzung nicht längere Zeit aufbewahrbar.

2.1.1.2 Abhängigkeit von Reaktionszeit und Solvens

Ziel dieser Meßreihen war die Ermittlung des optimalen Reaktionsmediums für die [^{11}C]Methylierung von Norclozapin mittels n.c.a. [^{11}C]CH_3I. Zu diesem Zweck wurden die Kinetiken der [N-Methyl-^{11}C]Clozapin-Bildung in verschiedenen Solventien gemessen. Der [^{11}C]Methylierung liegt in aprotischen Lösungsmitteln ein S_N2-Reaktionsmechanismus zugrunde. In dipolar aprotischen Solventien mit hoher Lösungsmittelpolarität sollten daher besonders hohe radiochemische Ausbeuten an [N-Methyl-^{11}C]Clozapin zu erwarten sein. Die Lösungsmittelpolarität ist jedoch nur ein Charakteristikum eines Solvens. Im Hinblick auf die vergleichende Methylierung mit [^{11}C]Methyltriflat (s. u.) wurden daher auch Kinetiken in Solventien niedriger Lösungsmittelpolarität (Chloroform und Tetrahydrofuran (THF)) ermittelt. Desweiteren wurde die Reaktion in dipolar aprotischen Lösungsmitteln hoher Polarität (Acetonitril, N,N-Dimethylformamid (DMF), Dimethylsulfoxid (DMSO) und 1,3-Dimethyl-3,4,5,6-tetrahydro-2(1H)-pyrimidinon (DMPU)) durchgeführt. Das Ergebnis dieser Untersuchungen ist in Abbildung 2.2 dargestellt.

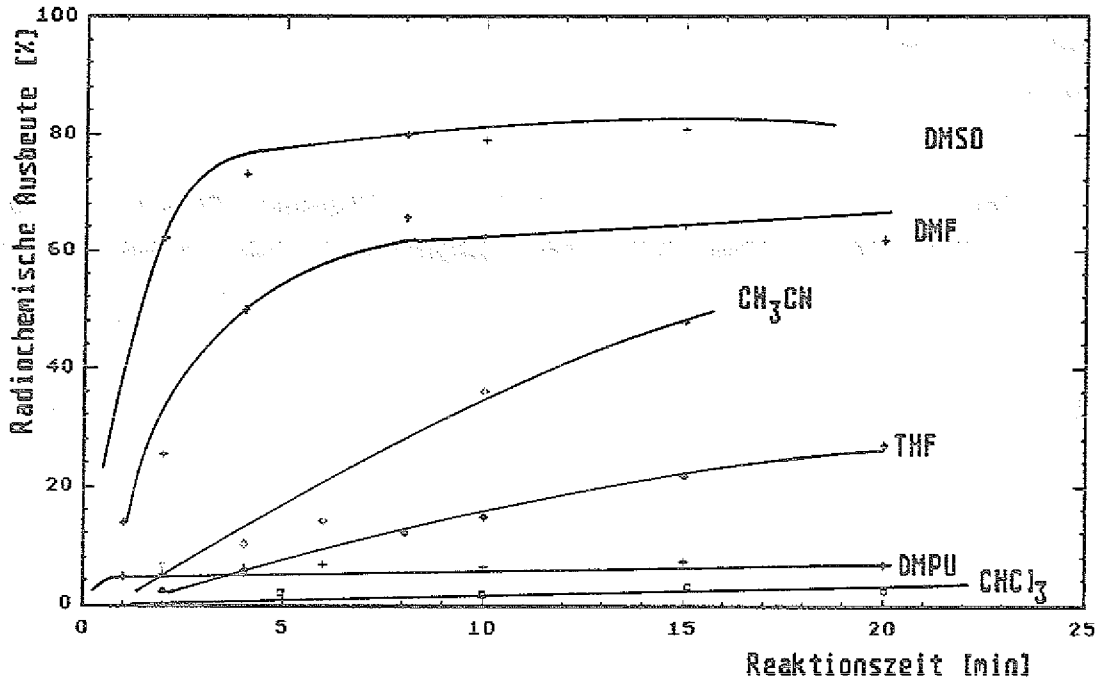


Abb. 2.2: Abhängigkeit der radiochemischen Ausbeute an [N-Methyl-^{11}C]Clozapin von Reaktionszeit und Solvens (70°C, 1 mg (3 µmol) Norclozapin in 1 ml des entsprechenden Lösungsmittels, n.c.a. [^{11}C]CH_3I, Abbrechen der Reaktion durch Ausfrieren in flüssigem Stickstoff)

Wie Abbildung 2.2 zeigt, bedingt eine Reaktionsführung in Solventien mit hoher Lösungsmittelpolarität in der Tat eine Zunahme der radiochemischen Ausbeute an [N-Methyl-^{11}C]Clozapin. So führt der Einsatz des Lösungsmittels mit der höchsten Polarität (DMSO) auch zur höchsten radiochemischen Ausbeute an [N-Methyl-^{11}C]Clozapin. Darüber hinaus wird in diesem Reaktionsmedium die maximale Ausbeute auch in der kürzesten Reaktionszeit erreicht. Auffallend ist die sehr niedrige radiochemische Ausbeute an [N-Methyl-^{11}C]Clozapin in DMPU als Solvens. Die Kurven für DMSO und DMF zeigen sehr deutlich die erwartete Abhängigkeit pseudo 1.-Ordnung. Die Bildung von "5-[N-Methyl-^{11}C]Clozapin" als Nebenprodukt wird bei keinem der eingesetzten Solventien festgestellt.

Ein Vergleich der eingesetzten Solventien bezüglich ausgewählter physikalischen Eigenschaften [114] ist in Tabelle 2.1 dargestellt. Ein Maß für die Lösungsmittelpolarität sind die Dielektrizitätskonstante ε und das Dipolmo-

ment μ. Zusätzlich sind die radiochemische Ausbeute an [^{11}C]Clozapin und die relative Geschwindigkeitskonstante k' (s. u.) für die Bildung dieses Produktes aufgeführt.

Tab. 2.1: Vergleich ausgewählter physikalischer Eigenschaften der untersuchten Solventien mit der radiochemischen Ausbeute an [^{11}C]Clozapin sowie der relativen Geschwindigkeitskonstanten k'

Solvens	$CHCl_3$	THF	DMPU	DMF	CH_3CN	DMSO
Dielektrizitäts-konstante ε	4.81	7.58	36	36,71	37,5	46,6
Dipolmoment μ [D]	1,01	1,75	3,59	3,86	3,92	3,90
Radiochem. Ausbeute (nach 10 min) [%]	2	15	5	60	35	80
k' [min^{-1}]	0,028	0,133	—	0,411	0,155	0,810

Aus der alleinigen Betrachtung der Solvenspolarität sind zwei Ergebnisse der obigen Untersuchung überraschend. Bei DMPU wäre eine deutlich andere radiochemische Ausbeute an [N-Methyl-^{11}C]Clozapin zu erwarten gewesen. Die Lösungsmittelpolarität von DMPU liegt in der Größenordnung derer von DMF bzw. Acetonitril. DMPU weist ähnliche Eigenschaften wie Hexamethylphosphorsäuretriamid (HMPT) auf und wird oftmals an Stelle des sehr cancerogenen HMPT eingesetzt [115-117]. Es wurde daher mit einer radiochemische Ausbeute an [N-Methyl-^{11}C]Clozapin in der Größenordnung von 40 bis 60% gerechnet. Der Einsatz von DMPU führt jedoch zu einer Zersetzung des zu methylierenden Norclozapins. Desweiteren wäre auch bei alleiniger Betrachtung der Lösungsmittelpolarität für Acetonitril eine deutlich höhere radiochemische Ausbeute an [N-Methyl-^{11}C]Clozapin zu erwarten gewesen. Diese Ergebnisse verdeutlichen, daß die Polarität des Lösungsmittels nur ein Kriterium neben anderen ist. Es ist vielmehr von einer spezifischen Wechselwirkung von Lösungsmittel- und Eduktmolekülen auszugehen. Es bleibt jedoch generell festzuhalten, daß Solventien hoher Lösungsmittelpolarität [^{11}C]Methylierungen begünstigen. Die Variation des Lösungsmittels

sollte daher auf die Untersuchung verschiedener Lösungsmittel hoher Solvenspolarität beschränkbar sein.

Das Lösungsmittel der Wahl für die Reaktion von [^{11}C]Methyliodid mit Norclozapin ist DMSO. Es wurde nun weiterhin untersucht, inwieweit hier eine Änderung der Temperatur die Bildung von [N-Methyl-^{11}C]Clozapin in DMSO beeinflußt. Zu diesem Zweck wurde die Kinetik für die Bildung von [N-Methyl-^{11}C]Clozapin in DMSO bei verschiedenen Temperaturen ermittelt. Das Ergebnis ist in Abbildung 2.3 dargestellt.

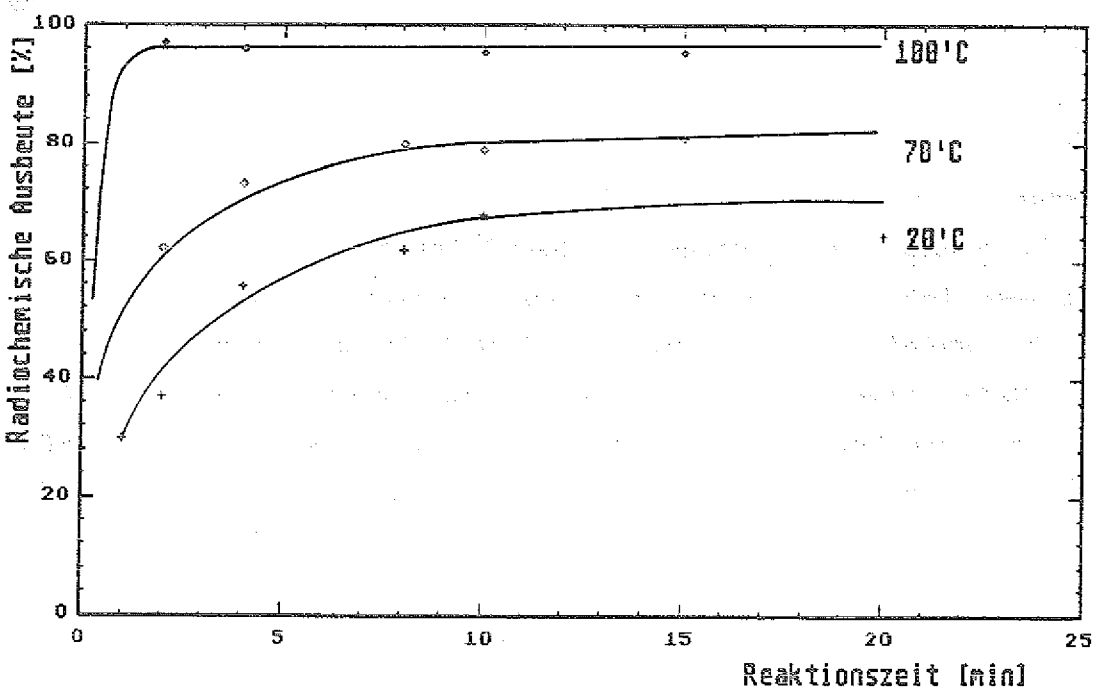


Abb. 2.3: Abhängikeit der radiochemischen Ausbeute an [N-Methyl-^{11}C]Clozapin von der Reaktionszeit bei verschiedenen Temperaturen in DMSO (1 mg (3 µmol)Norclozapin in 1 ml DMSO, n.c.a. [^{11}C]CH_3I, Abbrechen der Reaktion durch Einfrieren in flüssigem Stickstoff).

Wie aus Abbildung 2.3 zu erkennen ist, haben bei 100°C bereits nach 2 min Reaktionszeit über 90% des eingesetzten [^{11}C]CH_3I unter Bildung von [N-Methyl-^{11}C]Clozapin abreagiert. Dieses Ergebnis verdeutlicht die Überlegenheit des Lösungsmittels DMSO bei der [^{11}C]Methylierung von Norclozapin recht eindrucksvoll.

Nachteilig bei DMSO ist allerdings der mit 18,4°C hohe Schmelzpunkt. Eine Reaktionsführung in reinem DMSO bedingt ein Auffangen des dargestellten [^{11}C]Methyliodids bei Raumtemperatur. Die Folge sind sehr hohe Verluste an [^{11}C]CH_3I. Das [^{11}C]Methyliodid muß daher zunächst in möglichst wenig DMF aufgefangen werden. Das DMSO kann erst nach Abschluß der Isolierung des [^{11}C]Methyliodids zugesetzt werden. Darüber hinaus ist die Abtrennung des DMSO aus der Reaktionsmischung oftmals problematisch. Eine schwierige Abtrennung ergibt sich auch bei DMF als Lösungsmittel.

Aus der Änderung der radiochemischen Ausbeute an [N-Methyl-^{11}C]Clozapin mit der Reaktionszeit können relative Geschwindigkeitskonstanten k' für die Bildung von [N-Methyl-^{11}C]Clozapin ermittelt werden. Zu diesem Zweck werden nur die Reaktionszeiten berücksichtigt, bei denen ein Anwachsen der radiochemischen Ausbeute zu beobachten ist. Die zur Berechnung benötigten Konzentrationen c_t können mit dem Anteil des [N-Methyl-^{11}C]Clozapin an der Gesamtaktivitätsmenge gleichgesetzt werden. Der Wert für $c_{t=0}$ wird durch Extrapolation auf t=0 ermittelt. Eine Auftragung von $\ln(c_t/c_{t=0})$ gegen die Reaktionszeit t sollte bei einer Reaktionskinetik pseudo-1.Ordnung eine Gerade ergeben. Die relativen Geschwindigkeitskonstanten k' können aus der Steigung dieser resultierenden Geraden gewonnen werden. Dieses Verfahren zur Ermittlung der relativen Geschwindigkeitskonstanten k' wurde auf die in den verschiedenen Solventien ermittelten Kinetiken angewandt. Für DMPU wurde auf Grund der Zersetzungserscheinungen auf eine Bestimmung der relativen Geschwindigkeitskonstante k' verzichtet.

Im Bereich des Anstiegs der Ausbeute an [N-Methyl-^{11}C]Clozapin führte die Auftragung von $\ln(c_t/c_{t=0})$ gegen t bei allen untersuchten Solventien zu einer Geraden. Die aus diesen Auftragungen ermittelten Geraden sind in Abbildung 2.4 dargestellt. Es liegt somit in der Tat eine Reaktionskinetik pseudo-1.Ordnung vor. Der Korrelationskoeffizient liegt in allen Fällen über 0,9. Dieses spricht für eine geringe Streuung der Werte. Die relativen Geschwindigkeitskonstanten k' sind in Tabelle 2.2 aufgelistet. Zum Vergleich sind sowohl in Abbildung 2.4 als auch in Tabelle 2.2 die für die Darstellung von [N-Methyl-^{11}C]Clozapin mittels [^{11}C]Methyltriflat ermittelten Daten eingetragen (siehe hierzu Abschnitt 2.1.2).

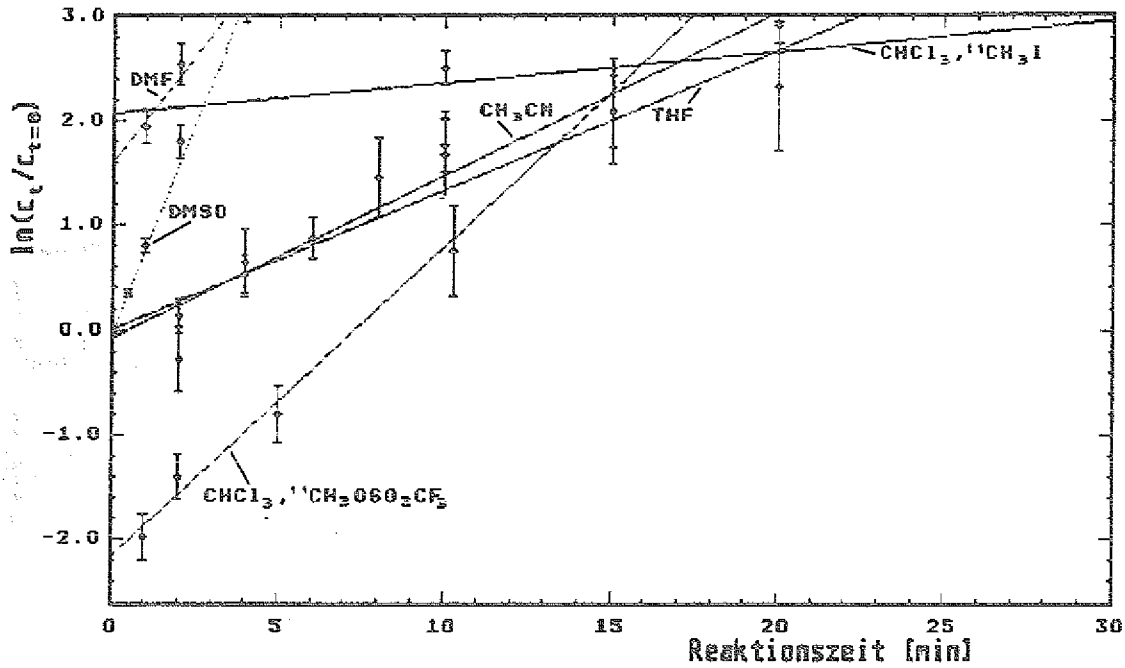


Abb. 2.4: Auftragung von $\ln(c_t/c_{t=0})$ gegen die Reaktionszeit t zur Ermittlung der relativen Geschwindigkeitskonstanten k' für die Bildung von [N-Methyl-^{11}C]Clozapin in verschiedenen Solventien

Tab. 2.2: Relative Geschwindigkeitskonstanten k' für die Bildung von [N-Methyl-^{11}C]Clozapin

Lösungsmittel	k'
Chloroform ([^{11}C]CH_3I)	(0,028 ± 0,011) min^{-1}
THF	(0,133 ± 0,027) min^{-1}
Acetonitril	(0,155 ± 0,020) min^{-1}
DMF	(0,411 ± 0,062) min^{-1}
DMSO	(0,810 ± 0,058) min^{-1}
Chloroform ([^{11}C]$CH_3OSO_2CF_3$)	(0,445 ± 0,046) min^{-1}

2.1.1.3 Abhängigkeit vom Zusatz an Methyliodid-Träger

Untersucht wurde hier der Einfluß des Zusatzes von inaktivem Methyliodid-Träger auf die Bildung des [N-Methyl-^{11}C]Clozapins. Varriert wurde die

Konzentration des Methyliodids. Es sollte ferner untersucht werden, ob es zur Bildung des "5-[N-Methyl-^{11}C]Clozapins" als Nebenprodukt bei Zusatz größerer Mengen Methyliodids kommt. Das Ergebnis dieser Meßreihe ist in Abbildung 2.5 dargestellt.

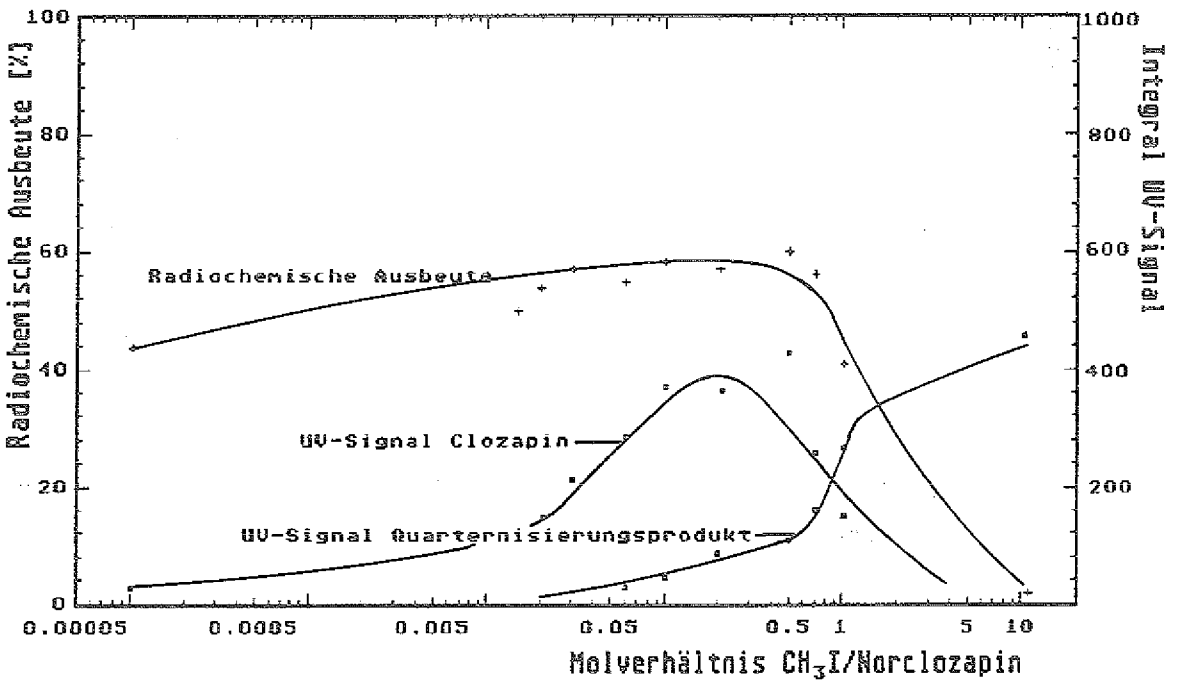


Abb. 2.5: Abhängigkeit der radiochemischen Ausbeute an [N-Methyl-^{11}C]Clozapin und der UV-Signale von Clozapin bzw. des Quarternisierungsproduktes vom Zusatz an Methyliodid-Träger (70°C, 5 min, 1 mg (3 µmol) Norclozapin in 1 ml DMF, spezifische Aktivität des n.c.a. [^{11}C]CH_3I: 70000 GBq/mmol, Abbruch der Reaktion durch Einfrieren in flüssigem Stickstoff)

Der Zusatz von Methyliodid Träger führt tendenziell zu einer leichten Erhöhung der radiochemischen Ausbeute an [N-Methyl-^{11}C]Clozapin. Bei einem deutlichen Methyliodid Unterschuß kann die Reaktion von Methyliodid mit Norclozapin nahezu als unabhängig von der Methyliodid Konzentration angesehen werden. Der Zusatz von etwa äquimolaren und größeren Mengen an Methyliodid führt zu einer starken Abnahme der radiochemischen Ausbeute an [N-Methyl-^{11}C]Clozapin. Darüber hinaus wird auch das UV-Signal des Clozapins immer kleiner, d. h. es findet auch eine Abnahme der chemischen Ausbeute des inaktiven Produktes statt. Die Bildung von

"5-[N-Methyl-^{11}C]Clozapin" als Nebenprodukt wird auch bei Zusatz von Methyliodid-Träger nicht beobachtet.

Der leichte Anstieg bei geringen Methyliodid-Zusätzen kann über einen Schutzeffekt des kalten Methyliodids gegen Adsorptionen und Nebenreaktionen des [^{11}C]Methyliodids erklärt werden. Üblicherweise ist dieser Effekt stärker ausgeprägt. Dieser schützende Effekt des inaktiven Methyliodids wird hier offensichtlich durch die konkurrierende Bildung des Quarternisierungsproduktes (s. u.) kompensiert. Die Umsetzung von Norclozapin mit [^{11}C]Methyliodid führt bei hohen Methyliodidkonzentrationen zu einem starken Abfall der radiochemischen Ausbeute an [N-Methyl-^{11}C]Clozapin. Für diese starke Abnahme können zwei Ursachen diskutiert werden. Einerseits kann es zur Bildung eines Quarternisierungsproduktes am Piperazinylstickstoff kommen. In diesem Fall liegt eine ionische Verbindung vor, die unter den verwendeten Chromatographiebedingungen nicht mehr retendiert wird. Andererseits kann die starke Abnahme auf der Konkurrenz zwischen [^{12}C]CH_3I und [^{11}C]CH_3I um eine gegebene Menge von Norclozapinmolekülen beruhen. Auf Grund des immensen Überschusses an inaktivem Methyliodid würde in diesem Falle in erster Linie die Bildung des kalten Clozapins beobachtet. In diesem Fall nimmt zwar die radiochemische Ausbeute ab, die chemische Ausbeute sollte jedoch näherungsweise konstant bleiben. Gegen diese Erklärung spricht jedoch, daß auch das UV-Signal des inaktiven Clozapins verschwindet. Bei einer Konkurrenz zwischen aktivem und inaktivem Methyliodid um eine gegebene Zahl von Norclozapinmolekülen ist zu erwarten, daß das UV-Signal zumindest konstant bleibt. Aus diesen Gründen ist die Bildung des Quarternisierungsproduktes wahrscheinlicher. Zum eindeutigem Nachweis wurde das Quarternisierungsprodukt synthetisiert und als Iodid isoliert. Es wurden Chromatographiebedingungen zum Nachweis des Quarternisierungsproduktes an Silicagel DC-Platten ermittelt. Mittels dieses Verfahrens konnte das Quarternisierungsprodukt in der Reaktionsmischung sowohl als aktives als auch inaktives Hauptprodukt identifiziert werden. Die Abnahme der radiochemischen Ausbeute an [N-Methyl-^{11}C]Clozapin erklärt sich somit in der Tat über die Bildung des Quarternisierungsproduktes.

2.1.1.4 Abhängigkeit von der Eduktkonzentration

Als letzter Parameter wurde die Konzentration des Eduktes Norclozapin variiert. Es sollte vor allem versucht werden, die Konzentration des Norclozapins zu erniedrigen. Dieses wäre positiv für die Abtrennung des Produktes aus dem Reaktionsgemisch. Das Ergebnis dieser Meßreihe ist in Tabelle 2.3 dargestellt. Die Synthesen wurden in DMF bei 70°C durchgeführt, da im Falle des für die Methylierung günstigeren Lösungsmittels DMSO das Auffangen des [^{11}C]CH_3I problematischer ist (vergleiche hierzu Abschnitt 2.1.1.2). Die Reaktionszeit betrug 10 min.

Tab. 2.3: Abhängigkeit der radiochemischen Ausbeute an [N-Methyl-^{11}C]Clozapin von der Norclozapin Konzentration

Norclozapin:	0,5 mg (1,5 µmol)	1 mg (3 µmol)	2 mg (6 µmol)
Radiochem. Ausbeute:	(50 ± 4)%	(62 ± 5)%	(60 ± 5)%

Eine Erhöhung der Norclozapin Konzentration von 1 auf 2 mg/ml führt laut Tab. 2.3 nicht zu einer Erhöhung der radiochemischen Ausbeute an [N-Methyl-^{11}C]Clozapin. Andererseits bedingt die Verringerung der Norclozapin-Konzentration auf 0,5 mg/ml eine leichte Abnahme der radiochemischen Ausbeute. Somit ist die Konzentration von 1 mg Norclozapin/ml Lösungsmittel als optimaler Wert zu betrachten.

2.1.2 Synthese von n.c.a. [N-Methyl-^{11}C]Clozapin durch Reaktion der Desmethylverbindung Norclozapin mit [^{11}C]Methyltriflat

Durch die Entwicklung einer einfachen Synthese [43,44] für [^{11}C]Methyltriflat ([^{11}C]$CH_3OSO_2CF_3$) steht mittlerweile, neben [^{11}C]Methyliodid, ein weiteres [^{11}C]Methylierungsmittel zur Verfügung. Methyltriflat weist auf Grund seiner besseren Abgangsgruppe im Vergleich zu Methyliodid eine 10^4 bis 10^5 fach höhere Reaktivität auf [45,118,119]. Das höhere Methylierungsvermögen äußert sich unter anderem darin, daß Methylierungen mit diesem Reagenz in der Regel in inerten chlorierten Kohlenwasserstoffen wie Chloroform durchgeführt werden müssen. Die für Methylierungen üblichen

dipolar aprotischen Lösungsmittel wie DMSO, DMF oder Acetonitril können nicht eingesetzt werden, da Methyltriflat diese Solventien methyliert. [^{11}C]Methyltriflat sollte somit eine Alternative zu [^{11}C]Methyliodid darstellen.

Es interessierte nun, wie sich das neue [^{11}C]Methylierungsreagenz [^{11}C]Methyltriflat bei einer einfachen Methylierung bewährt und ob es in der Tat eine Alternative zu [^{11}C]Methyliodid darstellt. Desweiteren sollte untersucht werden, inwieweit es beim Einsatz des hochreaktiven [^{11}C]Methyltriflates zur Bildung von "5-[N-Methyl-^{11}C]Clozapin" im Sinne einer Konkurrenzreaktion kommt. [^{11}C]Methyltriflat wurde über die Methode nach Holschbach [43] synthetisiert, da dieses Verfahren einfacher und besser reproduzierbar ist als die Methode nach Jewett [44]. Es wurde eine Kinetik für die [^{11}C]Methylierung in Chloroform ermittelt. Das Ergebnis ist in Abbildung 2.6 dargestellt. Zum Vergleich ist in dieser Abbildung ebenfalls die analoge Meßreihe für [^{11}C]Methyliodid als Methylierungsmittel eingetragen (vergleiche hierzu Abschnitt 2.1.1.2).

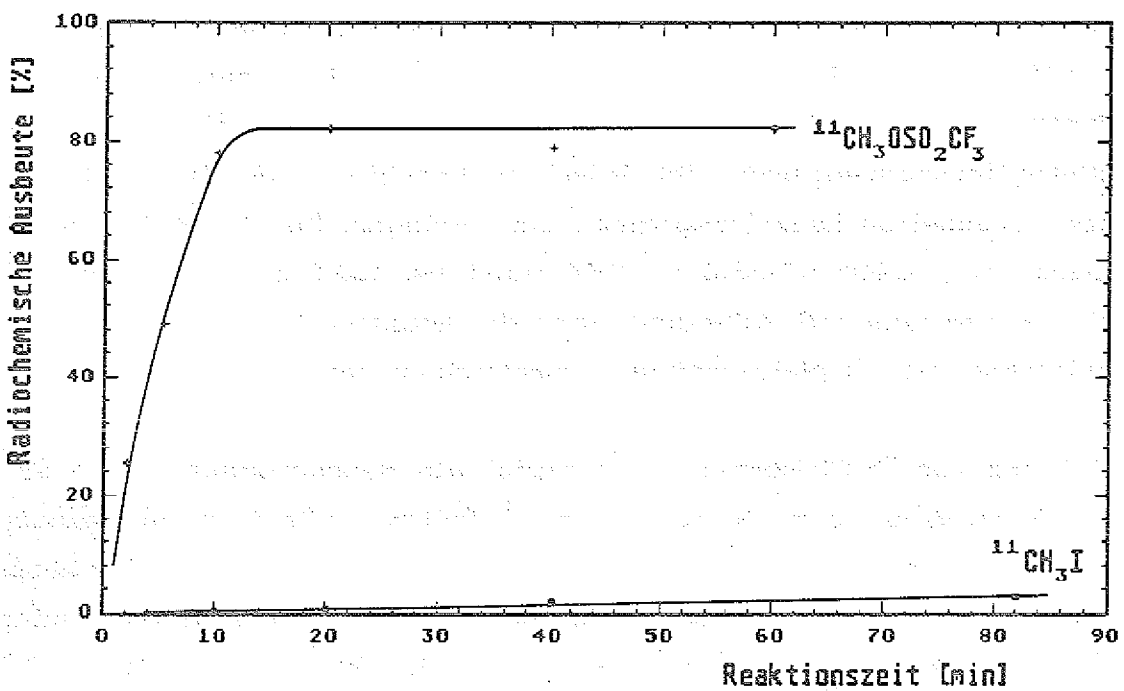


Abb. 2.6: Abhängigkeit der radiochemischen Ausbeute an [N-Methyl-^{11}C]Clozapin von der Reaktionszeit mit [^{11}C]Methyltriflat als [^{11}C]Methylierungsmittel (60°C, 1 mg (3 µmol) Norclozapin in 1 ml $CHCl_3$, n.c.a. [^{11}C]$CH_3OSO_2CF_3$, Abbruch der Reaktion durch Einfrieren in flüssigen Stickstoff, [^{11}C]CH_3I zum Vergleich)

In Abbildung 2.6 zeigt sich deutlich das überlegene Methylierungsvermögen von [^{11}C]Methyltriflat. Bereits nach weniger als 10 min wird die maximale radiochemische Ausbeute von etwa 80% an [N-Methyl-^{11}C]Clozapin, bezogen auf die in Lösung befindliche [^{11}C] Aktivität, erreicht. Der Einsatz von [^{11}C]Methyliodid führte demgegenüber zu diesem Zeitpunkt unter identischen Bedingungen lediglich zu einer vernachlässigbaren radiochemischen Ausbeute von weniger als 1%. Die Bildung von "5-[N-Methyl-^{11}C]Clozapin" als Nebenprodukt wurde auch beim Einsatz von [^{11}C]Methyltriflat nicht beobachtet.

Im Rahmen der [^{11}C]Methylierung von Norclozapin zu [N-Methyl-^{11}C]Clozapin kann [^{11}C]Methyliodid problemlos durch das wesentlich reaktivere [^{11}C]Methyltriflat ersetzt werden. Der Vergleich mit [^{11}C]Methyliodid zeigt deutlich das überlegene Methylierungsvermögen von [^{11}C]Methyltriflat. Dieses Ergebnis spiegelt sich auch bei den relativen Geschwindigkeitskonstanten k' wieder (vergleiche hierzu Abschnitt 2.1.1.2). So wurde für die Bildung von [N-Methyl-^{11}C]Clozapin über [^{11}C]Methyltriflat eine relative Geschwindigkeitskonstante k' von 0,445 min^{-1} ermittelt. Sie liegt somit in der Größenordnung der relativen Geschwindigkeitskonstanten k' die für [^{11}C]Methyliodid in DMF ermittelt wurde. Bei diesem Vergleich der beiden [^{11}C]Methylierungsreagenzien ist jedoch zu beachten, daß für den Einsatz denkbar ungünstige Reaktionsbedingungen vorlagen. Die Durchführung der Reaktion mit [^{11}C]Methyliodid in DMSO führt bei 100°C zu radiochemischen Ausbeuten von über 90%. Allerdings sind die Reaktionsbedingungen bei der Methylierung mit [^{11}C]Methyltriflat wesentlich milder.

Die Bildung von "5-[N-Methyl-^{11}C]Clozapin" als Nebenprodukt wurde auch bei der Verwendung des hochreaktiven [^{11}C]Methyltriflates nicht beobachtet. Dieses Ergebnis verdeutlicht die Reaktivitätsunterschiede der beiden potentiell [^{11}C]methylierbaren Aminfunktionen der Desmethylverbindung Norclozapin. Die im Diazepinring gelegene Biphenylamin-Funktion weist gegenüber der Piperazinyl NH-Funktion keine Nukleophilie mehr auf. Die Reaktivität der Biphenylamin-Funktion ist somit zu gering, um unter den gewählten Reaktionsbedingungen die Bildung des "5-[N-Methyl-^{11}C]Clozapins" zu beobachten. Eine Konsequenz hieraus ist, daß zur Synthese des

"5-[N-Methyl-^{11}C]Clozapins" ein an der Piperazinyl NH-funktion geschützter Markierungsvorläufer eingesetzt werden muß. Eine Darstellung dieses Produktes ausgehend von Norclozapin ist nicht möglich.

2.1.3 Zur Automatisierung der Synthese von n.c.a. [N-Methyl-^{11}C]Clozapin

Die zur Darstellung von [N-Methyl-^{11}C]Clozapin optimierten Reaktionsbedingungen wurden auf eine automatisierte und ferngesteuerte Reaktionsführung übertragen. Es konnte auf eine bestehende [^{11}C]Methylierungsapparatur zurückgegriffen werden (siehe Abschnitt 3.3.5). Neben der Ermittlung semipräparativer HPLC Bedingungen, mußte diese Apparatur zusätzlich durch eine Methode zur Abtrennung des [N-Methyl-^{11}C]Clozapins aus dem Eluentenstrom der semipräparativen HPLC ergänzt werden. Für diese Abtrennung wurde eine Festphasenextraktion an einem Kationenaustauscher ("Adsorbex SCX") erarbeitet. Die automatisierte ferngesteuerte Synthese wurde sowohl mit [^{11}C]Methyltriflat als auch mit [^{11}C]Methyliodid durchgeführt. Es wurden keine Änderungen an der [^{11}C]Methylierungsapparatur sowie an der Abtrennungs- und Reinigungsprozedur für [N-Methyl-^{11}C]Clozapin vorgenommen. Diese Versuche sollten daher einen Vergleich von [^{11}C]Methyliodid und [^{11}C]Methyltriflat in der praktischen Anwendung ermöglichen.

Zur Synthese des [N-Methyl-^{11}C]Clozapins mittels [^{11}C]Methyliodid wurde nicht das als optimal ermittelte Lösungsmittel DMSO eingesetzt. Der mit 18,4°C hohe Schmelzpunkt von DMSO bedingt, daß das [^{11}C]Methyliodid nicht direkt in diesem Solvens aufgefangen werden kann. Es muß daher in einer möglichst kleinen Menge DMF aufgefangen werden. Dieses ist problematisch, da bei der automatisierten Darstellung erheblich höhere Volumenströme des Hilfsgases Helium eingesetzt werden. Daher wurde auf das Solvens DMSO verzichtet und die Reaktion in dem ebenfalls sehr gut geeignetem DMF durchgeführt.

Die bei den Optimierungsversuchen ermittelten radiochemischen Ausbeuten an [N-Methyl-^{11}C]Clozapin konnten auch im präparativen automatischen Syntheseverlauf erhalten werden. Im Falle des [^{11}C]Methyltriflates wurden

die radiochemischen Ausbeuten sogar übertroffen. Dieses ist auf eine bessere Konversion des [^{11}C]Methyliodid zu [^{11}C]Methyltriflat bei der automatisierten Synthese zurückzuführen.

Zur besseren Veranschaulichung sind die beiden Darstellungsverfahren jeweils in einem Fließschema gegenübergestellt.

Schema 2.1: Fließschemata zur automatischen Darstellung von [N-Methyl-^{11}C]Clozapin

[^{11}C]Methyltriflat		[^{11}C]Methyliodid	
EOB	t = 0 min 11 GBq	EOB	t = 0 min 11 GBq
↓		↓	
Reduktion zu $LiAl(O^{11}CH_3)H_3$	t = 6 min 8,9 GBq (98%)	Reduktion zu $LiAl(O^{11}CH_3)H_3$	t = 6 min 8,9 GBq (98%)
↓		↓	
Darstellung des $^{11}CH_3OSO_2CF_3$	t = 15 min 5,2 GBq (80%)	Darstellung des $^{11}CH_3I$	t = 15 min 5,2 GBq (80%)
↓		↓	
Umsetzung mit Norclozapin	t = 22 min 3,7 GBq (90%)	Umsetzung mit Norclozapin	t = 29 min 2,3 GBq (70%)
↓		↓	
HPLC	t = 31 min 2,7 GBq	HPLC	t = 38 min 1,7 GBq
↓		↓	
Festphasenfix. und Elution	t = 38 min 1,5 GBq (70%)	Festphasenfix. und Elution	t= 45 min 0,9 GBq (70%)

Somit liegt die unkorrigierte Ausbeute über alle Schritte im Falle des Einsatzes von [^{11}C]Methyltriflat bei 14% und die radiochemische Ausbeute bei 50%. Für [^{11}C]Methyliodid beträgt die unkorrigierte Ausbeute über alle Schritte 8% und die radiochemische Ausbeute 39%. Alle Ausbeuten sind jeweils bezogen auf die Menge des eingesetzten [^{11}C]CO_2. Die radiochemische Reinheit des isolierten Produktes liegt in beiden Fällen bei 99%. Desweiteren wurde in beiden Fällen eine Trägermenge an Clozapin von 120 - 150 nmol ermittelt. Dieses entspricht einer spezifischen Aktivität von 74 GBq/µmol (EOS).

Aus den oben dargestellten Fließschemata ist erkennbar, daß die automatisierte Synthese mittels [^{11}C]Methyliodid etwa 7 min länger dauert als die mittels [^{11}C]Methyltriflat. Die Ursachen sind im Falle des [^{11}C]CH_3I die etwas längere Reaktionszeit und vor allen Dingen der Zeitbedarf zum Aufheizen der Reaktionsmischung. Die etwas längere Reaktionszeit ergibt sich nur im Falle von DMF als Solvens. Für DMSO ist die Reaktionszeit erheblich kürzer. Um größere Verluste an [^{11}C]Methyliodid beim Auffangen in der Reaktionsmischung zu vermeiden, muß die Reaktionsmischung auf -50°C gekühlt werden. Im Falle von [^{11}C]Methyltriflat beträgt diese Temperatur -20°C. Desweiteren beträgt die optimale Reaktionstemperatur im System [^{11}C]CH_3I/DMF 90°C, im System [^{11}C]$CH_3OSO_2CF_3/CHCl_3$ aber nur 60°C. Der Zeitaufwand bis zum Erreichen der Reaktionstemperatur ist also entsprechend höher. Darüberhinaus ist für die Reaktion von [^{11}C]Methyliodid in DMF die radiochemische Ausbeute etwas niedriger. Diese Faktoren führen dazu, daß beim Einsatz von [^{11}C]Methyliodid am Ende der Synthese etwa 40% weniger [N-Methyl-^{11}C]Clozapin isoliert werden als bei der Anwendung von [^{11}C]Methyltriflat. Der Einsatz von [^{11}C]Methyltriflat ist somit der Anwendung von [^{11}C]Methyliodid im Falle der n.c.a. Synthese von [N-Methyl-^{11}C]Clozapin überlegen.

2.1.4 Vergleich von [^{11}C]Methyliodid und [^{11}C]Methyltriflat am Beispiel der [^{11}C]Methylierung der Desmethylverbindung Norclozapin

In den beiden vorangegangenen Abschnitten konnte das überlegene Methylierungsvermögen von [^{11}C]Methyltriflat eindrucksvoll dargestellt

werden. Es werden zwar sowohl mittels [^{11}C]Methyliodid als auch mittels [^{11}C]Methyltriflat ähnliche maximale radiochemische Ausbeuten an [N-Methyl-^{11}C]Clozapin erzielt, jedoch sind die Reaktionsbedingungen für die Reaktion mit [^{11}C]Methyltriflat erheblich milder. So wird die maximale radiochemische Ausbeute bei einer niedrigeren Reaktionstemperatur und in einem inerten Solvens erreicht. Dieses ist gerade für die bei Norclozapin bei hohen Reaktionstemperaturen beobachtete Instabilität in dipolar aprotischen Lösungsmitteln von Bedeutung. Die verwendeten Solventien wie Chloroform oder Dichlormethan können darüber hinaus einfach durch Destillation im Heliumstrom entfernt werden. Dieses stellt eine Vereinfachung dar, wenn in einer nachfolgenden Reaktion beispielsweise eine Schutzgruppe hydrolysiert werden muß. Desweiteren ergeben sich aus der geringeren Flüchtigkeit des [^{11}C]Methyltriflates erhebliche Vorteile bei der automatisierten Reaktionsführung. Die höhere Temperatur beim Auffangen des [^{11}C]Methylierungsreagenzes in der Reaktionsmischung und die erheblich niedrigere Reaktionstemperatur bedingen einen deutlichen Zeitgewinn bei der Synthese von n.c.a. [N-Methyl-^{11}C]Clozapin. Dieses ist auf Grund der kurzen Halbwertzeit des ^{11}C von erheblicher Bedeutung.

Einschränkend für den Einsatz von [^{11}C]Methyltriflat ist allerdings die hohe Reaktivität. Bei der Darstellung von [N-Methyl-^{11}C]Clozapin wurden zwar keine Unterschiede in der Selektivität festgestellt, jedoch bedingt generell eine höhere Reaktivität auch eine geringere Selektivität. Enthält eine Verbindung verschiedene funktionelle Gruppen ähnlicher Nukleophilie, so ist zu erwarten, daß der Einsatz von [^{11}C]Methyltriflat zu einer größeren Zahl [^{11}C] markierter Nebenprodukte führt. In einem solchen Fall ist [^{11}C]Methyliodid auf Grund seiner höheren Selektivität [^{11}C]Methyltriflat überlegen. Weiterhin ist [^{11}C]Methyliodid das [^{11}C]Methylierungsmittel der Wahl, wenn die zu methylierende Verbindung in unpolaren Lösungsmitteln wie Chloroform oder Dichlormethan unlöslich ist.

Insgesamt bleibt festzuhalten, daß [^{11}C]Methyltriflat bei der Synthese von n.c.a. [N-Methyl-^{11}C]Clozapin dem [^{11}C]Methyliodid überlegen ist. Diese Überlegenheit gilt jedoch nur für diese Reaktion und ist nicht pauschal auf andere Synthesen übertragbar. Es muß vielmehr in jedem einzelnen Fall geprüft werden, welches [^{11}C]Methylierungsreagenz zu optimalen Ergebnissen führt.

2.2 Synthese des ^{11}C markierten Hauptmetaboliten des Clozapins: [N-Methyl-^{11}C]Clozapin-N-oxid

Clozapin-N-oxid (8-Chloro-11-(4-methyl-4-oxo-1-piperazinyl)-5H-dibenzo[b, e]-[1,4]-diazepin) ist der Hauptmetabolit des Clozapins (siehe Abschnitt 1.5.3).

Dieser Metabolit hat für Untersuchungen mit [N-Methyl-^{11}C]Clozapin im Rahmen der Positronen-Emissionstomographie eine besondere Bedeutung, da er noch den [^{11}C]Methylrest trägt. Somit können PET-Messungen durch diesen Metaboliten gestört werden. Es ist daher von Bedeutung, diesen Metaboliten mittels ^{11}C zu markieren und ihn somit grundsätzlich einer Evaluierung zugänglich zu machen.

Es war daher ein Ziel dieser Arbeit zur Markierung dieses Metaboliten eine geeignete Synthese zu entwickeln. [N-Methyl-^{11}C]Clozapin ist in sehr guter radiochemischer Ausbeute und kurzer Reaktionszeit synthetisierbar. Diese Verbindung sollte daher einen guten Ausgangspunkt für die n.c.a Synthese von [N-Methyl-^{11}C]Clozapin-N-oxid darstellen, auch wenn nach dem Markierungsschritt noch ein weiterer Syntheseschritt (Oxidation) angeschlossen werden muß.

2.2.1 Wahl des [^{11}C]Methylierungsmittels

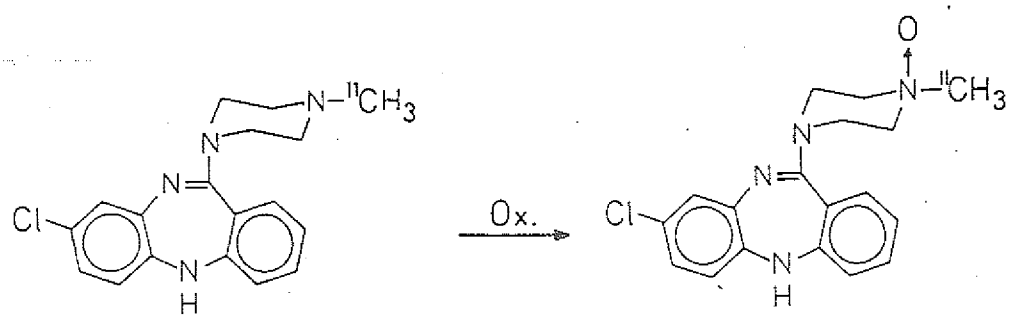
Die Verfügbarkeit zweier verschiedener [^{11}C]Methylierungsreagenzien wirft die Frage auf, ob [^{11}C]Methyliodid oder [^{11}C]Methyltriflat zu den besten Ergebnissen führt. Aus folgenden Gründen wurde für die Synthese des [N-Methyl-^{11}C]Clozapin-N-oxids [^{11}C]Methyltriflat ausgewählt:

1. Der Einsatz von [^{11}C]Methyltriflat erfordert kürzere Reaktionszeiten und führt bei der Synthese des [N-Methyl-^{11}C]Clozapins zu höheren radiochemischen Ausbeuten.
2. Die als Solvens für die [^{11}C]Methylierung in Frage kommenden Lösungsmittel (CH_2Cl_2, $CHCl_3$ etc.) stören eine nachfolgende Oxidation weniger als

die bei der Methylierung mittels [^{11}C]Methyliodid benötigten dipolar aprotischen Solventien. Der Einsatz von DMF, DMSO oder CH_3CN ist bei einer nachfolgenden Oxidation auf Grund von Nebenreaktionen des Oxidationsmittels mit dem Solvens problematisch.

3. Sollte dennoch nach der [^{11}C]Methylierung ein Wechsel des Lösungsmittels erforderlich sein, so können die bei einer [^{11}C]Methylierung mit [^{11}C]Methyltriflat verwendeten Lösungsmittel problemlos im Argonstrom abdestilliert werden.

2.2.2 Synthese von n.c.a. [N-Methyl-^{11}C]Clozapin-N-oxid durch Oxidation von [N-Methyl-^{11}C]Clozapin mittels verschiedener Oxidationsmittel



Es wurde zunächst versucht, [N-Methyl-^{11}C]Clozapin-N-oxid durch Oxidation mit Wasserstoffperoxid darzustellen [120]. Bei ersten Experimenten wurde die Oxidation in Gegenwart des für die [^{11}C]Methylierung notwendigen Lösungsmittels Chloroform durchgeführt. Zu diesem Zweck wurde ein Gemisch aus Wasserstoffperoxid und Methanol der Reaktionsmischung zugesetzt und diese auf 60°C erwärmt. Unter diesen Bedingungen wurde die Bildung des N-Oxids nicht beobachtet. Daraufhin wurde das Solvens Chloroform im Argonstrom bei 60°C abdestilliert und Wasserstoffperoxid in Ethanol zugesetzt. Es wurde eine Reaktionstemperatur von 0°C gewählt. Unter diesen Bedingungen konnte [N-Methyl-^{11}C]Clozapin-N-oxid in Spuren nachgewiesen werden. Vorwiegend wurde die Zersetzung des eingesetzten [N-Methyl-^{11}C]Clozapins beobachtet. Bei einer Oxidation mittels Wasser-

stoffperoxid unter n.c.a. Bedingungen ist somit nicht die Oxidation sondern die Zersetzung der vorherrschende Reaktionsweg. Aus diesem Grund wurde Wasserstoffperoxid als Oxidationsmittel verworfen.

Wasserstoffperoxid erweist sich für die Synthese des [N-Methyl-^{11}C]Clozapin-N-oxids unter n.c.a. Bedingungen als ein zu starkes Oxidationsmittel. Es wurde daher auf ein milderes Oxidationsverfahren zurückgegriffen. Hierbei handelt es sich um Cumolhydroperoxid in Gegenwart von Vanadium(III)oxid [121,122]. Dieses Verfahren hat desweiteren den Vorteil, daß in einem wasserfreiem Medium gearbeitet werden kann.

Es wurde zunächst versucht, die Oxidation im für die Methylierung des Norclozapins erforderlichen Solvens Chloroform bei Raumtemperatur durchzuführen. Cumolhydroperoxid und Vanadium(III)oxid wurden in großem Überschuß zugesetzt. Unter diesen Reaktionsbedingungen konnte selbst nach sehr langen Reaktionszeiten (60 min) das [N-Methyl-^{11}C]Clozapin-N-oxid nur in Spuren nachgewiesen werden. Da bei Raumtemperatur nur ein sehr unbefriedigendes Ergebnis erzielt werden konnte, wurde der Syntheseversuch bei einer Reaktionstemperatur von 55°C wiederholt. Das Ergebnis ist in Abbildung 2.7 dargestellt.

Abbildung 2.7 ist zu entnehmen, daß unter den gewählten Reaktionsbedingungen radiochemische Ausbeuten an [N-Methyl-^{11}C]Clozapin-N-oxid von etwa 10% erreicht werden. Jedoch kommt es nach etwa 10 min Reaktionszeit zu verstärkten Zersetzungserscheinungen. So werden nach 25 min Reaktionszeit nur noch 40% der eingesetzten Aktivität wiedergefunden. Dieses Ergebnis legt die Vermutung nahe, daß es ca. 10 - 15 min dauert bis der Katalysator seine maximale Wirksamkeit erreicht.

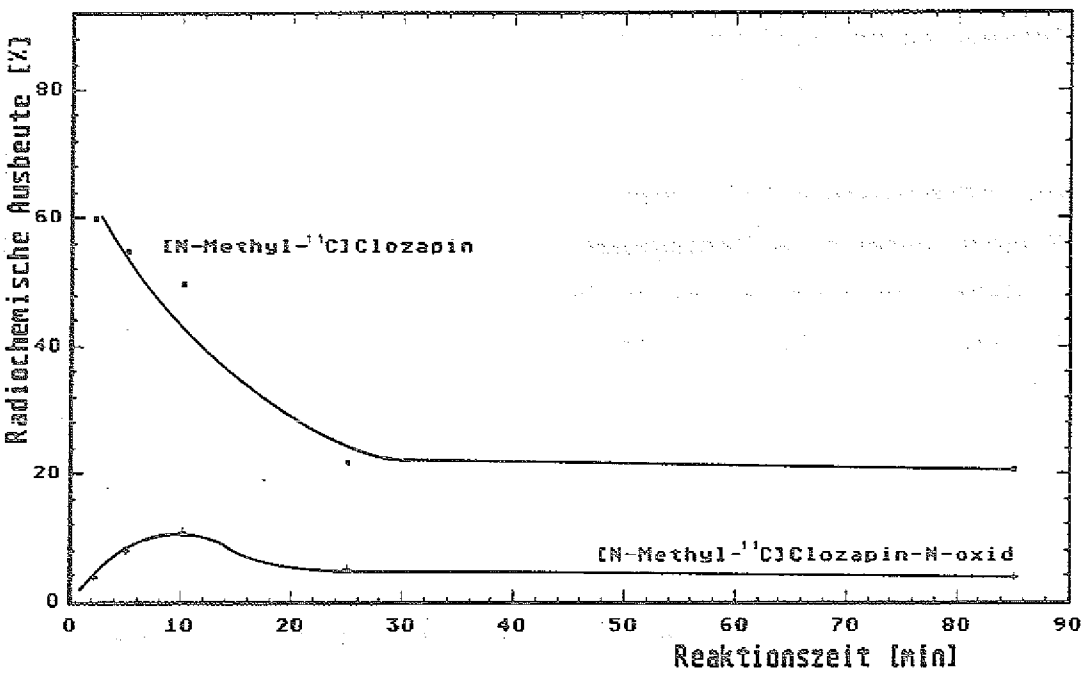


Abb. 2.7: Abhängigkeit der radiochemischen Ausbeute an [N-Methyl-^{11}C]Clozapin-N-oxid und [N-Methyl-^{11}C]Clozapin von der Reaktionszeit bei einer Oxidation mittels Cumolhydroperoxid/Vanadium(III)oxid ([N-Methyl-^{11}C]Clozapin: 2 mg (6 µmol) Norclozapin, 1 ml $CHCl_3$, n.c.a. [^{11}C]$CH_3OSO_2CF_3$, 10 min bei 55°C. [N-Methyl-^{11}C]Clozapin-N-oxid: Zusatz von 1 mg (7 µmol) V_2O_3, 10 µl (65 µmol) Cumolhydroperoxid, 55°C, Durchführung der Oxidationsreaktion als "Eintopfreaktion")

Der Versuch, die radiochemische Ausbeute an [N-methyl-^{11}C]Clozapin-N-oxid durch einen Wechsel des Lösungsmittels zu erhöhen, führte nicht zum Erfolg. Sowohl mit THF als auch mit Ethanol wurde nur eine vernachlässigbare Bildung des gewünschten Produktes beobachtet. In beiden Fällen wurden auch nach langen Reaktionszeiten lediglich radiochemische Ausbeuten von weniger als 5% erreicht.

Die Darstellungsversuche des [N-Methyl-^{11}C]Clozapin-N-oxids durch die Oxidation mittels Wasserstoffperoxid und Cumolhydroperoxid/Vanadium(III)oxid führten nicht zu brauchbaren radiochemischen Ausbeuten. Es wurde daraufhin 3-Chlorperoxybenzoesäure (MCPBA) als Oxidationsmittel eingesetzt [120]. MCPBA ist auf Grund der besseren Abgangsgruppe ein stär-

keres Oxidationsmittel als beispielsweise ein Alkoholperoxid wie Cumolhydroperoxid. Die Oxidation wird in $CHCl_3$ bei verhältnismäßig niedrigen Temperaturen durchgeführt. Ein Wechsel des Lösungsmittels nach der [^{11}C]Methylierungsreaktion ist daher nicht nötig. Die Synthese ist daher als "Eintopfreaktion" durchführbar. Darüber hinaus entfällt das bei der Oxidation mittels Cumolhydroperoxid/Vanadium(III)oxid zur Zugabe des Vanadiumoxids notwendige Öffnen des Reaktionsgefäßes. Es wurde zunächst versucht, [N-Methyl-^{11}C]Clozapin-N-oxid bei Raumtemperatur und mit MCPBA im Überschuß zu synthetisieren. Das Ergebnis ist in Abbildung 2.8 dargestellt.

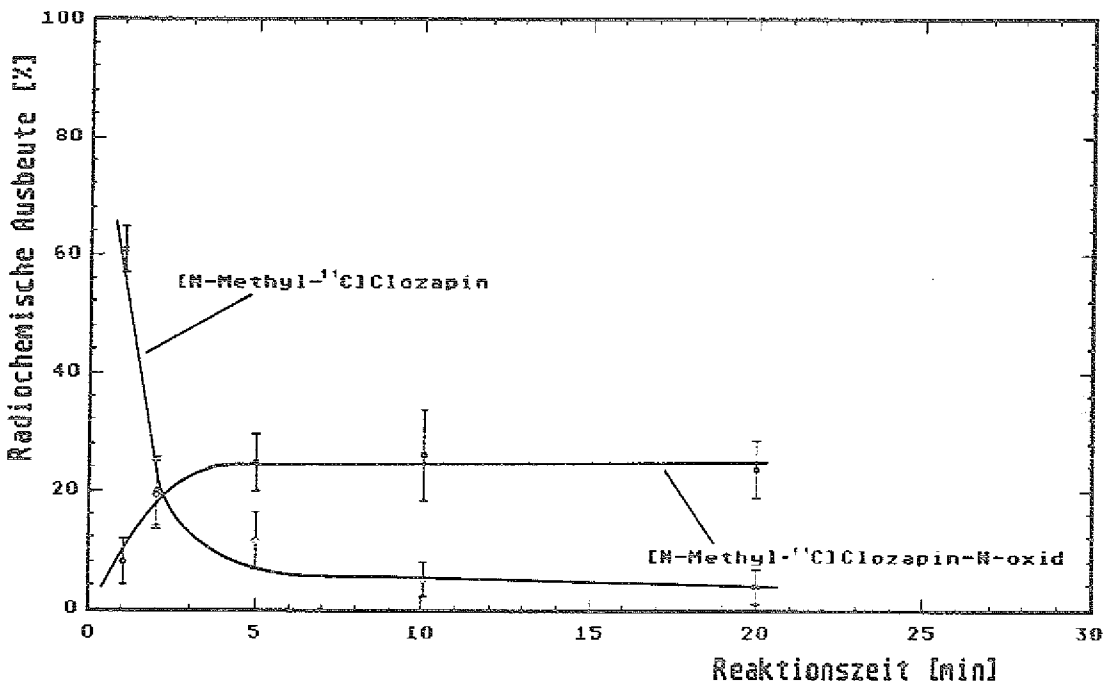


Abb. 2.8: Abhängigkeit der radiochemischen Ausbeute an [N-Methyl-^{11}C]Clozapin-N-oxid und von [N-Methyl-^{11}C]Clozapin von der Reaktionszeit bei einer Oxidation mittels 3-Chlorperoxybenzoesäure (MCPBA) ([N-Methyl-^{11}C]Clozapin: 2 mg (6 µmol) Norclozapin, 1 ml $CHCl_3$, n.c.a. [^{11}C]$CH_3OSO_2CF_3$, 10 min bei 55°C. [N-Methyl-^{11}C]Clozapin-N-oxid: Zusatz von 5 µmol MCPBA in 50 µl $CHCl_3$, 22°C, Durchführung der Reaktion als "Eintopfreaktion")

Aus Abbildung 2.8 ist zu entnehmen, daß das [N-Methyl-^{11}C]Clozapin-N-oxid unter den gewählten Reaktionsbedingungen in einer vertretbaren Reaktionszeit mit einer radiochemischen Ausbeute von etwa 25% darstellbar ist.

Die Ergebnisse erwiesen sich als schwer reproduzierbar. Unter den gewählten Reaktionsbedingungen ist die Zersetzung von [N-Methyl-^{11}C]Clozapin gegenüber der Bildung des [N-Methyl-^{11}C]Clozapin-N-oxids vorherrschend. Durch die Senkung der Reaktionstemperatur auf 0°C und die Verminderung der zugesetzten MCPBA Menge auf etwa 50 nmol konnten sowohl die radiochemische Ausbeute an [N-Methyl-^{11}C]Clozapin-N-oxid als auch die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse entscheidend verbessert werden. Die Kinetik der Reaktion von MCPBA mit [N-Methyl-^{11}C]Clozapin-N-oxid unter den verbesserten Reaktionsbedingungen ist in Abbildung 2.9 dargestellt.

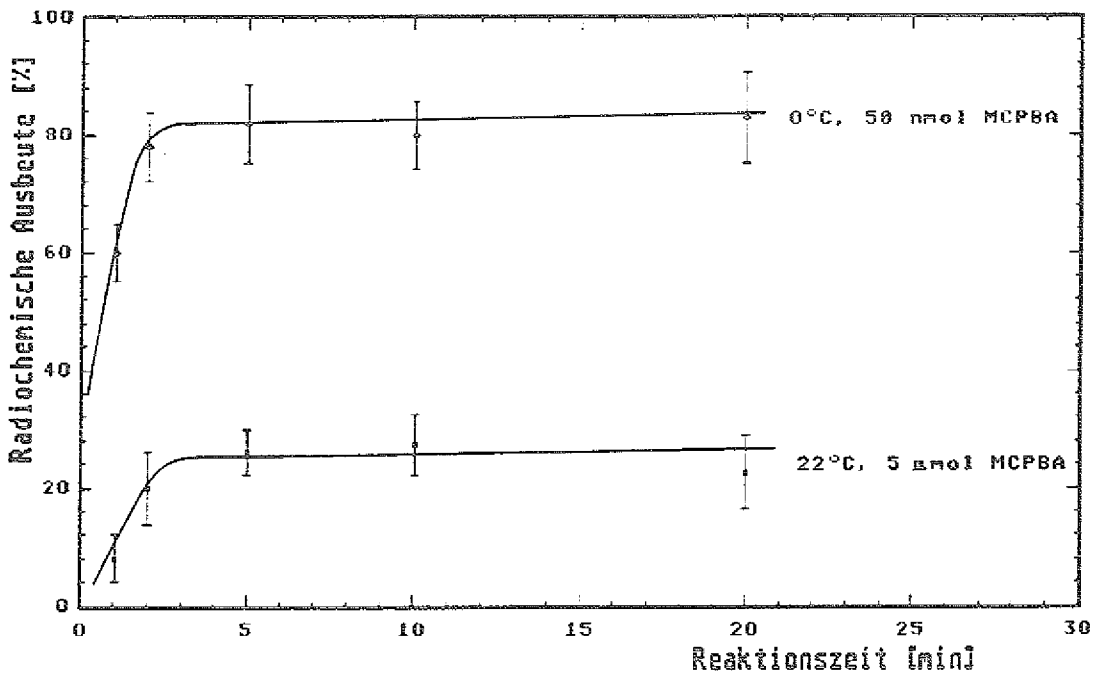


Abb. 2.9: Abhängigkeit der radiochemischen Ausbeute an [N-Methyl-^{11}C]Clozapin-N-oxid von der Reaktionszeit bei einer Oxidation mittels 3-Chlorperoxybenzoesäure (MCPBA) ([N-Methyl-^{11}C]Clozapin: 2 mg (6 µmol) Norclozapin, 1 ml $CHCl_3$, n.c.a. [^{11}C]$CH_3OSO_2CF_3$, 10 min bei 55°C. [N-Methyl-^{11}C]Clozapin-N-oxid: Zusatz von 50 nmol MCPBA in 50 µl $CHCl_3$, 0°C, Durchführung der Reaktion als "Eintopfreaktion", zum Vergleich die Kinetik der Bildung von [N-Methyl-^{11}C]Clozapin-N-oxid bei 22°C)

Nach etwa 2 min Reaktionszeit hat das [N-Methyl-^{11}C]Clozapin unter den gewählten Reaktionsbedingungen nahezu quantitativ abreagiert. Zerset-

zungsprodukte treten nur noch in geringem Umfang auf. Desweiteren eignet sich diese Reaktionsführung, um [N-Methyl-^{11}C]Clozapin-N-oxid im Rahmen einer automatisierten Darstellung zu synthetisieren. Ein Wechsel des Lösungsmittels entfällt. Es muß lediglich gekühlt und das MCPBA zugesetzt werden. Somit kann die n.c.a. Synthese über eine "Eintopfreaktion" durchgeführt werden.

Ein weiteres Verfahren zur Darstellung von N-Oxiden ist die Quarternisierung von N-Peroxybenzoyl Derivaten mittels [^{11}C]Methyltriflat und nachfolgender Hydrolyse unter der Bildung des N-Oxids und Benzoesäure [120,123]. Die Durchführung dieser Reaktion erfordert zunächst die Umsetzung des sekundären Amins mit Dibenzoylperoxid zum N-Peroxybenzoyl Derivat. Der problematische Oxidationsschritt findet somit vor der [^{11}C]Methylierung statt. Zur Untersuchung dieser Darstellungsmöglichkeit wurde das entsprechende Peroxybenzoyl Derivat des Norclozapins synthetisiert. Die Quarternisierung wurde mit [^{11}C]Methyltriflat durchgeführt. Zur Hydrolyse wurde das $CHCl_3$ im Argonstrom abdestilliert und durch wäßrige Ammoniak-Lösung ersetzt.

Es wurde zunächst versucht, die Quarternisierung in Chloroform durchzuführen. Dieses gelang jedoch nicht. Daraufhin wurde Nitromethan als Solvens eingesetzt. In diesem Fall werden bei einer Reaktionstemperatur von 60°C und 20 min Reaktionszeit (jeweils 10 min für die Methylierung und die Hydrolyse) eine radiochemische Ausbeute an [N-Methyl-^{11}C]Clozapin-N-oxid von etwa 30% erhalten. Dieses Verfahren bedingt somit, im Vergleich zur Oxidation mittels MCPBA, erheblich längere Reaktionszeiten und führt zudem zu schlechteren radiochemischen Ausbeuten. Aus diesen Gründen wurde dieses Verfahren nicht weiter untersucht.

2.2.3 Zur Automatisierung der Synthese von n.c.a. [N-Methyl-^{11}C]Clozapin-N-oxid

Die Darstellung von [N-Methyl-^{11}C]Clozapin-N-oxid durch Oxidation von [N-Methyl-^{11}C]Clozapin mittels MCPBA führte bei den Optimierungsversuchen

zu den besten radiochemischen Ausbeuten. Dieses Verfahren wurde daher zur Synthese von [N-Methyl-^{11}C]Clozapin-N-oxid in einer automatisierten Syntheseapparatur eingesetzt. Problematisch bei der Übertragung dieses Verfahrens auf die automatisierte Reaktionsführung ist die Zugabe von MCPBA zur Reaktionsmischung. Bei den Optimierungsversuchen wurden mittels einer Mikroliterspritze 50 µl einer Lösung von MCPBA in $CHCl_3$ zugesetzt. Die Temperaturerhöhung im Zeitpunkt der Zugabe ist daher bei einem Gesamtvolumen von etwa 1 ml vernachlässigbar. Derartig kleine Volumina können bei der automatisierten Reaktionsführung nicht mehr unter definierten Bedingungen zugesetzt werden. Es muß mit größeren Volumina (etwa 200 µl) gearbeitet werden. Im Zeitpunkt der Zugabe kommt es daher zu einer stärkeren Temperaturerhöhung. Unter diesen Bedingungen führt das zu erheblichen Zersetzungserscheinungen. Das Problem ließ sich lösen, indem die Teflonkanüle, über die das MCPBA/$CHCl_3$ Gemisch zugesetzt wird, gekühlt wird. Darüber hinaus wurde die Reaktortemperatur im Zeitpunkt der Zugabe auf -20°C gesenkt. Unter diesen Reaktionsbedingungen konnten nahezu die in den Optimierungsversuchen erhaltenen radiochemischen Ausbeuten erhalten werden. Die Menge der zugesetzten MCPBA muß zum Ausgleich des höheren Trägergehaltes bei den Synthesen in der automatisierten [^{11}C]Methylierungsapparatur auf 150 nmol erhöht werden. Der Ablauf der automatisierten Synthese von n.c.a. [N-Methyl-^{11}C]Clozapin-N-oxid ist in Fließschema 2.2 dargestellt.

Wie in Fließschema 2.2 erkennbar ist, konnte 1 GBq [N-Methyl-^{11}C]Clozapin-N-oxid, d. h. 10% unkorrigierte bzw. 45% radiochemische Ausbeute bezogen auf die Menge des eingesetzten [^{11}C]CO_2, erhalten werden. Die radiochemische Reinheit des isolierten Produktes lag bei 99%. Es wurde eine Trägermenge von etwa 120 - 150 nmol Clozapin-N-oxid ermittelt, das entspricht einer spezifischen Aktivität von 74 GBq/µmol (EOS).

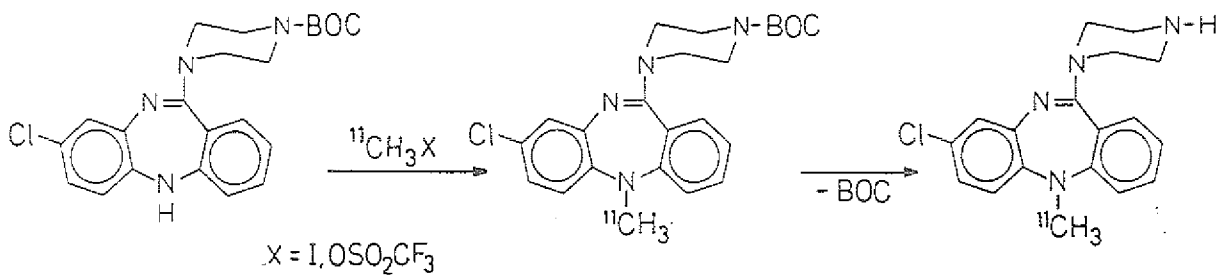
Schema 2.2: Fließschema zur automatisierten Synthese von n.c.a [N-Methyl-^{11}C]Clozapin-N-oxid

	Zeit	Aktivität
EOB	t = 0 min	11 GBq
↓		
Reduktion zu $LiAl(O^{11}CH_3)H_3$	t = 6 min	8,9 GBq (98%)
↓		
Darstellung des $^{11}CH_3OSO_2CF_3$	t = 15 min	5,2 GBq (80%)
↓		
Umsetzung mit Norclozapin	t = 20 min	3,9 GBq (90%)
↓		
Umsetzung mit MCPBA	t = 28 min	2,4 GBq (80%)
↓		
HPLC	t = 36 min	1,8 GBq
↓		
Festphasenfixierung und Elution	t = 45 min	1 GBq (80%)

2.3 Synthese von n.c.a 8-Chloro-11-piperazinyl-5-[N-Methyl-^{11}C]-dibenzo[b,e]-[1,4]-diazapin

Die Untersuchungen zur n.c.a. Synthese von [N-Methyl-^{11}C]Clozapin zeigten, daß "5-[N-Methyl-^{11}C]Clozapin" über eine Methylierung der Desmethylverbindung Norclozapin nicht zugänglich ist. Zur Darstellung des "5-[N-Methyl-^{11}C]Clozapin" muß die sehr viel reaktivere Piperazinyl-NH

Funktion auf Grund ihrer hohen Nukleophilie geschützt werden. Als Schutzgruppe wurde tert.-Butyloxycarbonyl (BOC) ausgewählt. Verbindungen, die diese Schutzgruppe tragen, sind i. allg. gut kristallisierbar und in vielen Solventien gut löslich. Desweiteren führt die Einführung dieser Schutzgruppe über den Pyrokohlensäure-di-tert.-butylester ($(BOC)_2O$) in Gegenwart des Acylierungskatalysators 4-Dimethylaminopyidin (DMAP) in kurzer Zeit zu guten Ausbeuten [124-126]. Die Strategie zur Synthese des "5-[N-Methyl-^{11}C]Clozapin" unter n.c.a. Bedingungen bestand daher in der [^{11}C]Methylierung der BOC-geschützten Vorläuferverbindung und nachfolgender Abspaltung der Schutzgruppe.



2.3.1 Versuche zur Abspaltung der tert.-Butyloxycarbonyl (BOC) Schutzgruppe

Erste Versuche zeigten, daß die Abspaltung der Schutzgruppe BOC unter n.c.a. Bedingungen nicht problemlos durchführbar ist. Diese Probleme betreffen vor allen Dingen die zeitliche Einschränkung bei Synthesen mit ^{11}C. Es wurden mehrere Wege zur Entfernung der Schutzgruppe unter n.c.a. Bedingungen erarbeitet.

Der klassische Weg der Abspaltung des BOC-Restes ist die acidolytische Spaltung. In diesem Zusammenhang werden mit Trifluoressigsäure (TFA) die besten Ergebnisse erzielt [127].

Zunächst wurde versucht, die BOC-Schutzgruppe durch Zusatz eines großen Überschusses von Trifluoressigsäure (TFA) zur Reaktionsmischung zu ent-

fernen. Dieses Verfahren erwies sich jedoch zumindest bei Raumtemperatur als zu langsam. So liegen nach 30 min Reaktionszeit immer noch über 90% des geschützten Norclozapins in unveränderter Form vor. Eine Erhöhung der Reaktionstemperatur bewirkt zwar eine Beschleunigung der Abspaltung, führt aber zu einer verstärkten Bildung von Zersetzungsprodukten. Vermutlich kommt es in diesem Fall zu einem verstärkten Angriff auf die Amidin-Bindung des Markierungsvorläufers. Diese Ergebnisse ergeben sich bei allen verwendeten dipolar aprotischen Lösungsmitteln (CH_3CN, DMF, DMSO). Im Falle der halogenierten Kohlenwasserstoffe ($CHCl_3$, CH_2Cl_2) war dieser Effekt noch ausgeprägter. Der Übergang von polar aprotischen zu polar protischen Bedingungen durch Zusatz von Wasser führte zu keiner Verbesserung.

Eine schnelle Abspaltung des BOC-Restes erfordert die Abtrennung des bei der Methylierung verwendeten Lösungsmittels. Dieses ist für Chloroform und Dichlormethan problemlos. In diesen Fällen sind die Solventien durch Destillation im Argonstrom schnell und einfach zu entfernen. Demgegenüber ist eine Abtrennung der dipolar aprotischen Lösungsmittel nicht trivial. Dieses gilt insbesondere für DMF und DMSO. Die Methode der Wahl stellt in diesem Fall eine Festphasenfixierung des Reaktionsproduktes an Sep-Pak™ C-18 Kartuschen dar. Zur Durchführung dieses Verfahrens wird die Reaktionsmischung zunächst mit Wasser verdünnt. Anschließend werden die Reaktionsprodukte auf der Sep-Pak™ C-18 Kartusche fixiert. Die störenden Lösungsmittel sind dann durch Waschen mit Wasser zu entfernen. Die Elution der Produkte von der Sep-Pak™ C-18 Kartusche kann im vorliegenden Fall einfach durch Spülen mit TFA durchgeführt werden. Mittels dieser Vorgehensweise kann der BOC-Rest innerhalb von 10 min zu mehr als 90% abgespalten werden.

Desweiteren wurde versucht, saure Kationenaustauscherharze (Dowex 50 WX 8, Nafion NR 50) zur Abspaltung des BOC-Restes einzusetzen [128]. Jedoch ist auch bei diesem Verfahren die Abspaltung zu langsam.

Die Abspaltung der tert.-Butyloxycarbonyl-Schutzgruppe ist auch durch Umsetzung mit der sehr starken Lewis-Säure Bortribromid möglich [129]. Im

vorliegendem Fall führt der Einsatz dieses Reagenzes jedoch zu einer Zersetzung des geschützten Markierungsvorläufers.

Eine Alternative zur acidolytischen Abspaltung des BOC-Restes stellt die Umsetzung mit Iodtrimethylsilan (TMSI) dar [130,131]. Der dieser Abspaltung zugrunde liegende Reaktionsmechanismus ist in Abbildung 2.10 dargestellt.

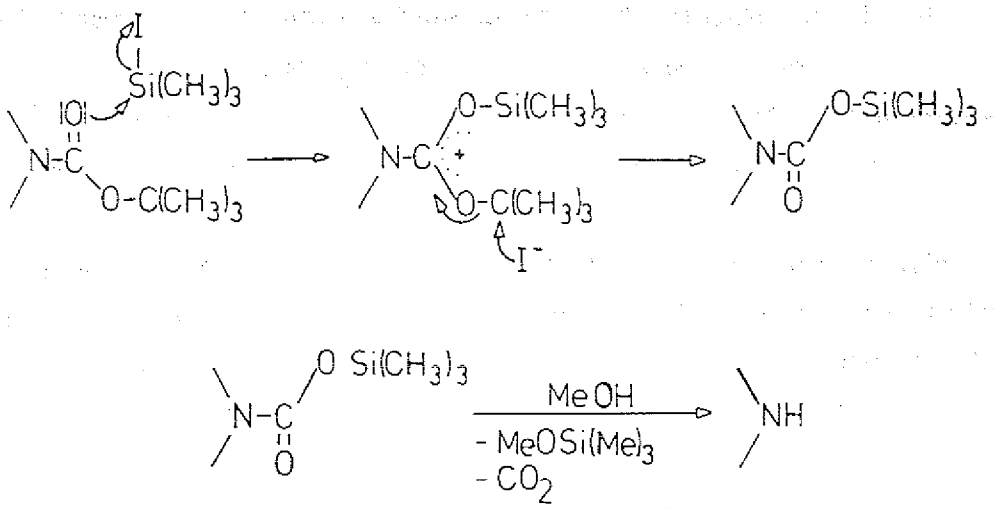


Abb. 2.10: Abspaltung des BOC-Restes mittels Iodtrimethylsilan (TMSI)

Die Abspaltung mittels TMSI wurde in verschiedenen Lösungsmitteln bei Raumtemperatur untersucht. Das Ergebnis ist in Tabelle 2.4 zusammengefaßt.

Tab. 2.4 Abspaltung des BOC-Restes mittels TMSI in verschiedenen Lösungsmitteln.

Lösungsmittel	Effekt
DMSO	Zersetzung des Markierungsvorläufers
DMF	geringe Mengen (< 2%) werden abgespalten
CH_3CN	Abspaltung bei längeren Reaktionszeiten möglich
CH_3NO_2	Zersetzung des Markierungsvorläufers
CH_2Cl_2	quantitative Abspaltung innerhalb von 5 Minuten
$CHCl_3$	quantitative Abspaltung innerhalb von 5 Minuten
CCl_4	Abspaltung bei längeren Reaktionszeiten möglich

Tabelle 2.4 zeigt, daß die halogenierten Kohlenwasserstoffe Chloroform und Dichlormethan für die Abspaltung des BOC-Restes mittels TMSI optimal sind. Lösungsmittel hoher Lösungsmittelpolarität eignen sich nicht als Reaktionsmedium. Vermutlich ist Iodtrimethylsilan in diesen Solventien zu reaktiv.

Neben der hohen Abspaltungsgeschwindigkeit weist der Einsatz von Iodtrimethylsilan den Vorteil auf, daß keinerlei Säure freigesetzt wird. Die im Falle einer Abspaltung mit Trifluoressigsäure notwendige Neutralisation entfällt. Trotz der auch hier notwendigen Abtrennung der dipolar aprotischen Solventien, stellt Iodtrimethylsilan im vorliegendem Fall das Abspaltungsreagenz der Wahl dar.

Vor der Solvolyse mit Methanol bedingt die Umsetzung mit Iodtrimethylsilan die Bildung eines Trimethylsilylcarbamates. Es konnte gezeigt werden, daß diese Verbindung ebenfalls als Vorläuferverbindung einsetzbar ist. Allerdings sind die radiochemischen Ausbeuten etwas niedriger. Ursache hierfür sind vermutlich Reaktionen des [^{11}C]Methylierungsmittels mit, bei der Synthese des Trimethylsilylcarbamates, entstehenden Nebenprodukten. Die Zeit für die Abspaltung der Schutzgruppe verkürzt sich jedoch entscheidend, da das Trimethylsilylcarbamat bei Zusatz von Methanol augenblicklich zerfällt. Die etwas schlechtere radiochemische Ausbeute wird dadurch mehr als ausgeglichen.

2.3.2 Markierungsversuche mit [^{11}C]Methyltriflat

Es wurde zunächst versucht, "5-[N-Methyl-^{11}C]Clozapin" durch Umsetzung des BOC-geschützten Norclozapins mit [^{11}C]Methyliodid zu synthetisieren. Dieses Verfahren ist jedoch kein gangbarer Weg zur Darstellung des gewünschten Reaktionsproduktes. Auch der Zusatz von Hilfsbasen führt nicht zum Erfolg. Entweder haben die Hilfsbasen eine Zersetzung der zu markierenden Verbindung zur Folge oder bewirken nur eine vernachlässigbare Bildung des "5-[N-Methyl-^{11}C]Clozapins".

Aus diesen Gründen wurde versucht, die Markierung mittels [^{11}C]Methyltriflat durchzuführen. Die kalte Referenzverbindung "5-(N-Methyl)Clozapin" konnte ebenfalls mittels Methyltriflat dargestellt werden (siehe Abschnitt 3.2). Daher war zu erwarten, daß das "5-[N-Methyl-^{11}C]Clozapin" durch eine [^{11}C]Methylierung mittels [^{11}C]Methyltriflat synthetisierbar ist.

Die [^{11}C]Methylierung mittels [^{11}C]Methyltriflat führt entgegen der Erwartung nur zu vernachlässigbaren radiochemischen Ausbeuten an "5-[N-Methyl-^{11}C]Clozapin" von etwa 2 bis 3%. Auch der Zusatz von sterisch stark gehinderten Hilfsbasen [132] erhöhte die radiochemische Ausbeute nicht. Zwei Ursachen kommen für dieses Ergebnis in Betracht. Einerseits besteht die Möglichkeit, daß das sehr reaktive n.c.a. [^{11}C]Methyltriflat mit Verunreinigungen eher abreagiert als mit der zu markierenden Verbindung. In diesem Fall würde der Zusatz von inaktivem Methyltriflat-Träger die Ausbeute erhöhen.

Als Quellen für Verunreinigungen kommen das als Lösungsmittel verwendete Chloroform oder die zu markierende Verbindung in Betracht. Analytische Untersuchungen zeigten jedoch, daß diese Quellen ausgeschlossen werden können. Falls eine Verunreinigung vorhanden ist, so liegt diese unterhalb der Nachweisgrenze. Falls die störende Verbindung mit der zu markierenden Verbindung eingeschleppt wird, bedeutet dies, daß die Verunreinigung allenfalls im µg Bereich liegen dürfte. Wahrscheinlich handelt es sich bei der störenden Verbindung um Wasser, welches entweder während der Synthese oder mit den Synthesechemikalien in das Reaktionsgefäß gelangt. Im vorliegendem Fall wäre dann die Hydrolyse des [^{11}C]Methyltriflates zu [^{11}C]Methanol schneller als die [^{11}C]Methylierung der geschützten Vorläuferverbindung.

Diese Möglichkeit wurde durch die Ermittlung einer Trägerabhängigkeit überprüft. Das Ergebnis ist in Abbildung 2.11 dargestellt.

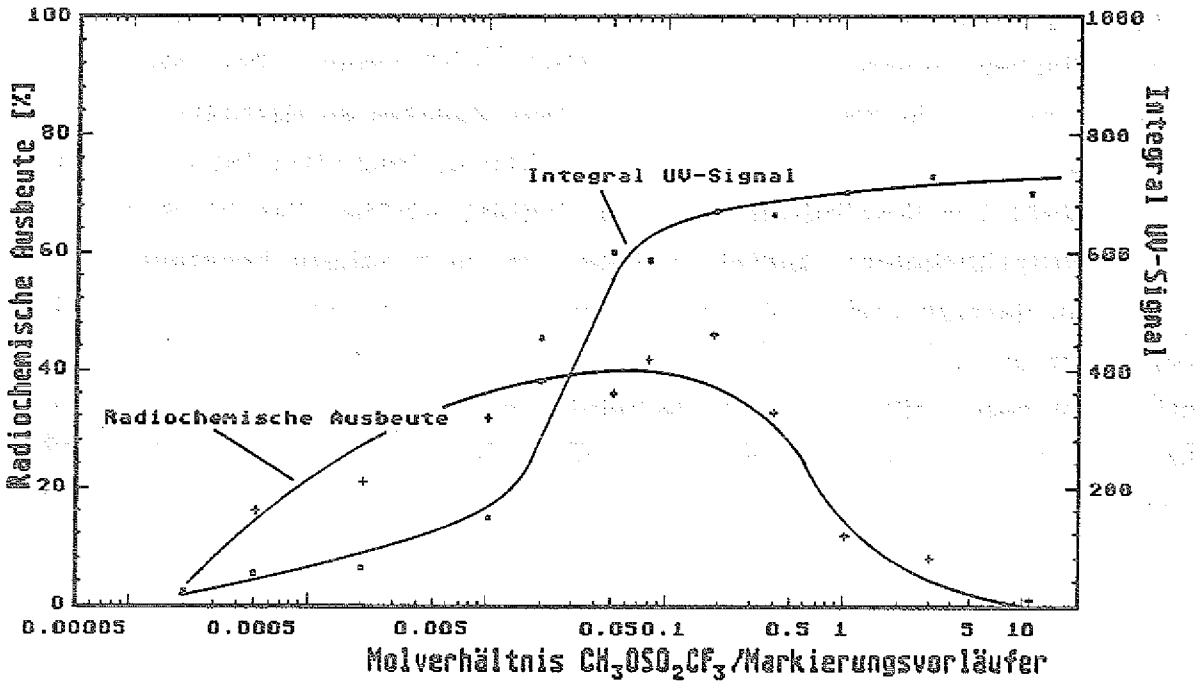


Abb. 2.11: Abhängigkeit der radiochemischen Ausbeute an "5-[N-Methyl-^{11}C]Clozapin" und des UV-Signals von "5-(N-Methyl)Clozapin" vom zugesetzten Methyltriflat-Träger (60°C, 20 min, 2 mg (5 µmol) BOC-geschütztes Norclozapin in 1 ml $CHCl_3$, Abspaltung der Schutzgruppe mittels 5 µl (36 µmol) TMSI in 50 µl $CHCl_3$)

Die radiochemische Ausbeute nimmt zunächst mit zunehmendem Gehalt an Triflat stark zu und erreicht bei einem Triflat/Edukt-Verhältnis von 0,05 ein breites Maximum von etwa 40%. Die Ausbeute nimmt sodann bei hohen Triflat Konzentrationen schnell wieder ab. Bei äquimolaren Verhältnissen beträgt die radiochemische Ausbeute nur noch etwa 15%.

Der starke Anstieg der radiochemischen Ausbeute im Bereich kleiner Methyltriflatmengen deutet darauf hin, daß es sich um eine Verunreinigung handelt, mit der das Methyltriflat reagiert bevor es zu einer Methylierung des BOC-geschützten Vorläufers kommt. Auf Grund des großen Überschusses an inaktivem Methyltriflat reagiert aus statistischen Gründen hauptsächlich das "kalte" Methyltriflat mit der Verunreinigung. Für die langsamere Methylierung des BOC-geschützten Norclozapins steht somit mehr

[^{11}C]Methyltriflat zur Verfügung. Dieses äußert sich in dem Anstieg der radiochemischen Ausbeute an "5-[N-Methyl-^{11}C]Clozapin". Der Abfall der radiochemischen Ausbeute im Bereich hoher Zusätze an Methyltriflat kann durch die Konkurrenz von aktivem und inaktivem Methyltriflat um eine gegebene Zahl von Norclozapinmolekülen erklärt werden. Das UV-Signal des "5-[N-Methyl]Clozapins" bleibt in diesem Bereich nahezu konstant. Es ist somit ein Sättigungwert für die Bildung des "5-[N-Methyl]Clozapins" erreicht. Ob nun [^{11}C] oder [^{12}C]Methyltriflat zur Reaktion kommt, ist statistisch zu beschreiben. Die Wahrscheinlichkeit, daß [^{11}C]Methyltriflat zur Reaktion kommt, wird bei einer Erhöhung der Methyltriflatkonzentration immer kleiner. Die Folge ist die Erniedrigung der radiochemischen Ausbeute bei etwa konstanter chemischer Ausbeute.

2.3.3 Markierungsversuche mit [^{11}C]Methyliodid in Gegenwart von Silber-trifluormethansulfonat

Im Rahmen der Untersuchungen wurde festgestellt, daß das "5-[N-Methyl-^{11}C]Clozapin" gebildet wird, wenn [^{11}C]Methyliodid in Gegenwart von festem Silber-trifluormethansulfonat eingesetzt wird. In diesem Fall werden radiochemische Ausbeuten an n.c.a. "5-[N-Methyl-^{11}C]Clozapin" von bis zu 40% (bezogen auf [^{11}C]CH_3I) innerhalb von 10 min bei 60°C in $CHCl_3$ erhalten. Es stellte sich die Frage, ob in situ gebildetes [^{11}C]Methyltriflat oder durch die Anwesenheit von Silber aktiviertes [^{11}C]Methyliodid das methylierende Agens ist.

2.3.3.1 Zum Mechanismus der Markierungssynthese mit [^{11}C]Methyliodid in Gegenwart von Silber-trifluormethansulfonat

Für die Reaktion von [^{11}C]Methyliodid mit dem BOC-geschützten Vorläufer sind zwei Reaktionswege denkbar. Einerseits kann das "5-[N-Methyl-^{11}C]Clozapin" durch eine der Koenig-Knorr Synthese analogen Reaktion gebildet werden (zur Übersicht: [133,134]):

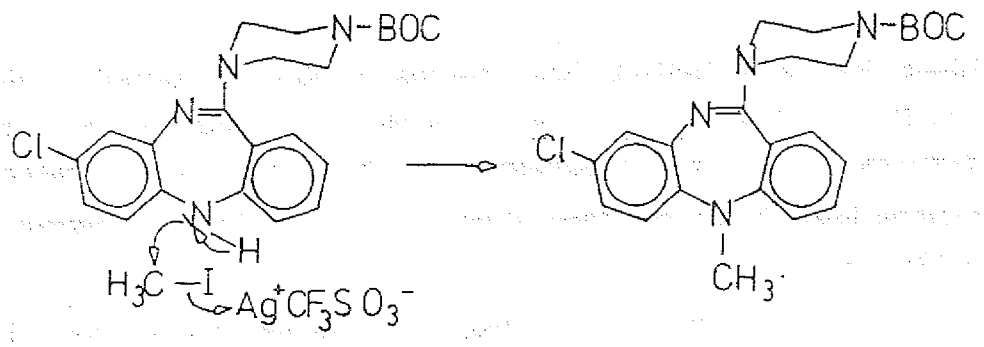


Abb. 2.12: Koenig-Knorr Synthese mit Silber-trifluormethansulfonat

Für diesen Reaktionsverlauf sprechen in erster Linie die zur König-Knorr Reaktion identischen Reaktionsbedingungen [135,136].

Andererseits besteht die Möglichkeit, daß zunächst durch die Reaktion von [^{11}C]Methyliodid mit Silber-trifluormethansulfonat [^{11}C]Methyltriflat "in situ" gebildet wird. Dieses "in situ" gebildete [^{11}C]Methyltriflat wäre dann das eigentliche Methylierungsreagenz. Hierfür spricht vor allem die Tatsache, daß die Standardverbindung mit Methyltriflat dargestellt werden konnte.

Zur Klärung des Reaktionsmechanismus wurden die folgenden Experimente durchgeführt:

1. Umsetzung des BOC-geschützten Norclozapins mit [^{11}C]Methyliodid in Gegenwart von metallischem Silber, Silbernitrat und Silberiodid:
   Es werden radiochemischen Ausbeuten an "5-[N-Methyl-^{11}C]Clozapin" von bis zu 5% erreicht.
2. Umsetzung von [^{11}C]Methyliodid mit Silber-trifluormethansulfonat in Chloroform:
   Unter diesen Bedingungen ensteht [^{11}C]Methyltriflat mit etwa 85% radiochemischer Ausbeute.
3. Umsetzung des BOC-geschützten Norclozapins in Gegenwart von [^{11}C]Methyltriflat und Silber-trifluormethansulfonat:
   Es werden radiochemische Ausbeuten von bis zu 10% erreicht.

Mit Hilfe dieser Experimente können folgende wesentliche Rückschlüsse gezogen werden:

1. Die Bildung des "5-[N-Methyl-^{11}C]Clozapins" findet prinzipiell in Gegenwart von Silbersalzen, insbesondere von Silber-trifluormethansulfonat, statt. Offenbar müssen die Silbersalze jedoch in organischen Solventien eine gewisse Löslichkeit besitzen. Dieses ist bei Silber-trifluormethansulfonat der Fall [118].
2. Die Tatsache, daß die Reaktion insbesondere in Gegenwart von Silbertrifluormethansulfonat stattfindet, deutet darauf hin, daß das methylierende Agens tatsächlich [^{11}C]Methyltriflat ist. Hierfür spricht auch die Bildung von [^{11}C]Methyltriflat durch Reaktion von [^{11}C]Methyliodid mit Silber-trifluormethansulfonat in Chloroform.

Für die Koenig-Knorr Variante spricht eigentlich nur, daß die Bildung des "5-[N-Methyl-^{11}C]Clozapins" auch mit anderen Silbersalzen als Silbertrifluormethansulfonat beobachtet wird. Argumente für [^{11}C]Methyltriflat als methylierendes Agens sind demgegenüber die Synthese der Standardverbindung mit inaktivem Methyltriflat, die "in-situ" Synthese von [^{11}C]Methyltriflat und die bei der Trägerabhängigkeit ermittelten radiochemischen Ausbeuten an "5-[N-Methyl-^{11}C]Clozapin". Es ist daher wahrscheinlich, daß die im System vorliegende Verunreinigung - vermutlich Wasser - mit dem Silber-trifluormethansulfonat reagiert und somit nicht mehr durch das [^{11}C]Methyltriflat methyliert werden kann.

2.3.4 Optimierung der Reaktionsparameter zur n.c.a. Synthese des 8-Chloro-11-piperazinyl-5-[N-Methyl-^{11}C]-dibenzo[b,e]-[1,4]-diazepins

2.3.4.1 Abhängigkeit von der Reaktionszeit

Ziel dieser Versuchsreihe war die Aufnahme einer Kinetik zur Ermittlung der optimalen Reaktionszeit für die Synthese von "5-[N-Methyl-^{11}C]Clozapin". Das Ergebnis ist in Abbildung 2.13 dargestellt.

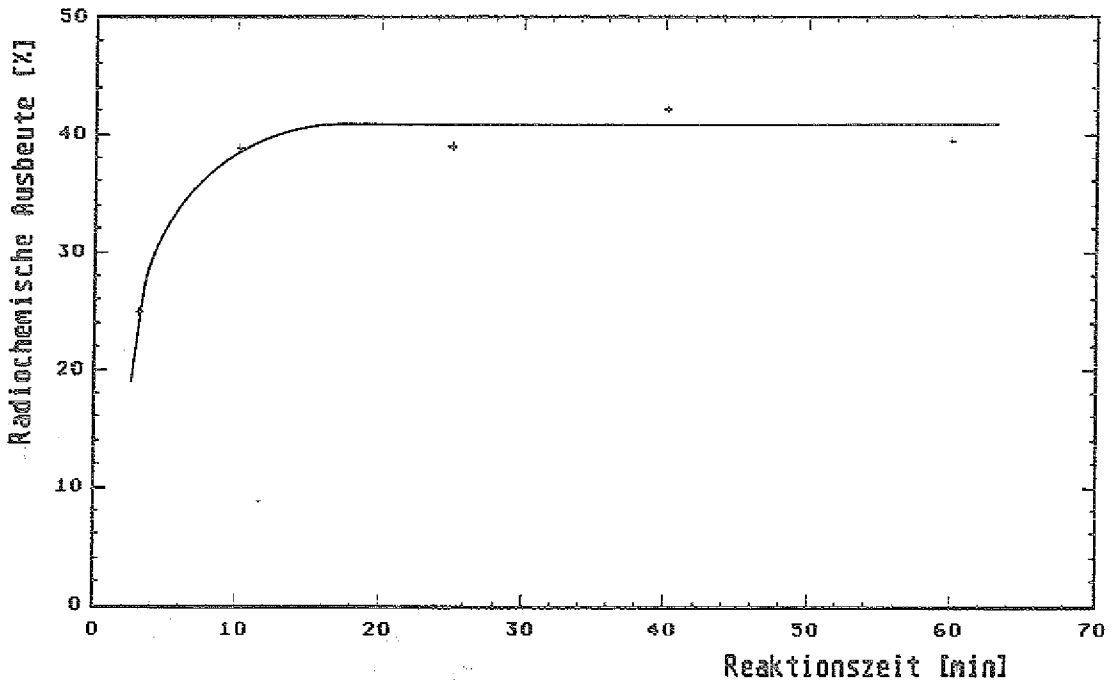


Abb. 2.13: Abhängigkeit der radiochemischen Ausbeute an "5-[N-Methyl-^{11}C]Clozapin" von der Reaktionszeit. (60°C, 2 mg (5 µmol) BOC geschütztes Norclozapin in 1 ml $CHCl_3$, Zusatz von 2 mg (8 µmol) Silber-trifluormethansulfonat, n.c.a. [^{11}C]CH_3I, Abspaltung des BOC-Restes mittels 5 µl (36 µmol) TMSI in 50 µl $CHCl_3$, Zusatz von $NaB(OCH_3)_3H$)

Die maximale radiochemische Ausbeute an "5-[N-Methyl-^{11}C]Clozapin" von etwa 40%, bezogen auf [^{11}C]CH_3I, wird bereits nach 10 min Reaktionszeit erreicht. Eine Verlängerung der Reaktionszeit führt nicht mehr zu einer Steigerung der radiochemischen Ausbeute.

2.3.4.2 Abhängigkeit von der Reaktionstemperatur

Bei dieser Meßreihe interessierte, inwieweit die Änderung der Reaktionstemperatur die radiochemische Ausbeute an "5-[N-Methyl-^{11}C]Clozapin" beeinflußt. Das Ergebnis ist in Abbildung 2.14 dargestellt.

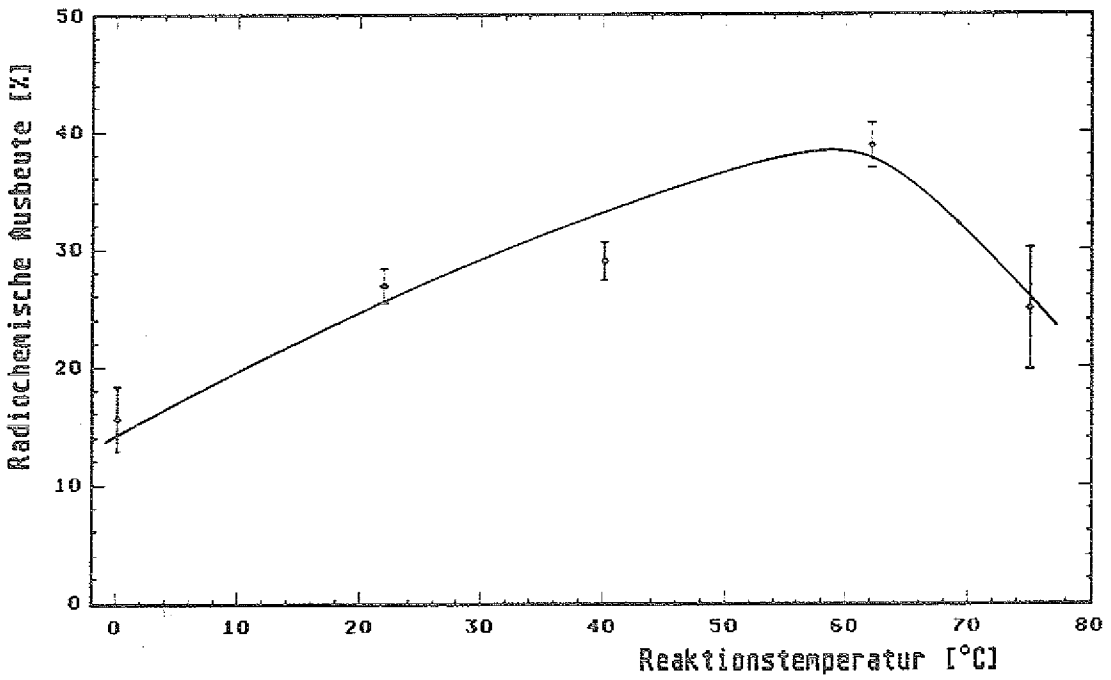


Abb. 2.14: Abhängigkeit der radiochemischen Ausbeute an "5-[N-Methyl-^{11}C]Clozapin" von der Reaktionstemperatur (10 min, 2 mg (5 µmol) BOC-geschütztes Norclozapin in 1 ml $CHCl_3$, Zusatz von 2 mg (8 µmol) Silber-trifluormethansulfonat, n.c.a. [^{11}C]CH_3I, Abspaltung des BOC-Restes mittels 5 µl TMSI in 50 µl $CHCl_3$, Zusatz von $NaB(OCH_3)_3H$)

Die maximale radiochemische Ausbeute an "5-[N-Methyl-^{11}C]Clozapin" von etwa 40%, bezogen auf [^{11}C]Methyliodid, wird bei 60°C erreicht. Eine weitere Erhöhung der Temperatur führt zu einer Abnahme der radiochemischen Ausbeute. Die Abnahme der radiochemischen Ausbeute an "5-[N-Methyl-^{11}C]Clozapin" bei einer Reaktionstemperatur oberhalb des Siedepunktes des Chloroforms erklärt sich vermutlich durch eine Anreicherung von [^{11}C]Methyliodid in der Gasphase über der Reaktionsmischung.

2.3.4.3 Abhängigkeit vom Solvens

Untersucht wurde bei dieser Meßreihe der Einfluß der Art des Solvens auf die Reaktion von [^{11}C]Methyliodid mit dem BOC-geschützten Norclozapin in

Gegenwart von Silber-trifluormethansulfonat.

Die Reaktion wurde jeweils wenig unterhalb der Siedepunktes des entsprechenden Lösungsmittels durchgeführt. Dies bedeutet, daß die einzelnen Meßreihen unabhängig voneinander betrachtet werden müssen, da im Prinzip zwei Parameter (Temperatur und Solvens) gleichzeitig variiert wurden. Es zeigte sich jedoch, daß die Reaktionstemperatur nur einen geringen Einfluß auf die Umsetzung von [^{11}C]Methyliodid mit dem BOC-geschützten Norclozapin in Gegenwart von Silber-trifluormethansulfonat hat (siehe auch Abb. 2.14).

Ein Umsetzungsversuch in DMF bei 70°C führte unter den gewählten Reaktionsbedingungen zu starken Zersetzungerscheinungen. Es wurden daher ausschließlich halogenierte Kohlenwasserstoffe (Dichlormethan, 1,2-Dichlorethan und 1,3-Dichlorpropan) untersucht. Das Ergebnis dieser Meßreihen ist in Abbildung 2.15 dargestellt.

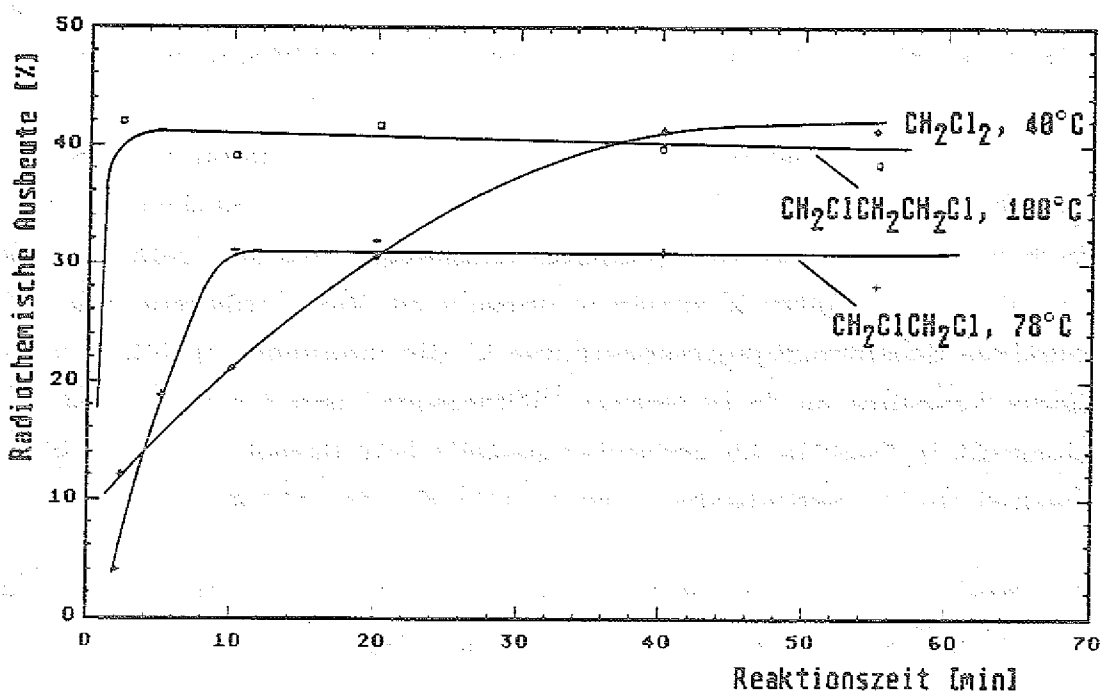


Abb. 2.15: Abhängigkeit der radiochemischen Ausbeute an "5-[N-Methyl-^{11}C]Clozapin" vom Solvens. (2 mg (5 µmol) BOC-geschütztes Norclozapin in 1 ml Solvens, Zusatz von 2 mg (8 µmol) Silber-trifluormethansulfonat, n.c.a. [^{11}C]CH_3I, Abspaltung des BOC-Restes mittels 5 µl (36 µmol) TMSI in 50 µl $CHCl_3$, Zusatz von $NaB(OCH_3)_3H$)

Die maximale radiochemische Ausbeute an "5-[N-Methyl-^{11}C]Clozapin" liegt bei allen untersuchten Solventien bei etwa 40%. Lediglich im Falle des Dichlorethans wird eine etwas niedrigere radiochemische Ausbeute erzielt. Unterschiedlich ist hingegen die Zeit, in der die maximale radiochemische Ausbeute in den verschiedenen Lösungsmitteln erreicht wird.

Die untersuchten Lösungsmittel haben auf die radiochemische Ausbeute an "5-[N-Methyl-^{11}C]Clozapin" nur einen geringen Einfluß. Die Ursache hierfür kann in der Ähnlichkeit der untersuchten Solventien begründet sein. Die Lösungsmittel sind in ihren chemischen und physikalischen Eigenschaften nahezu identisch. Der einzige wesentliche Unterschied sind die verschiedenen Siedepunkte. Es ist daher wahrscheinlich, daß auf Grund dieser Ähnlichkeit vergleichbare radiochemische Ausbeuten an "5-[N-Methyl-^{11}C]Clozapin" erreicht werden.

Die maximale radiochemische Ausbeute wird in unterschiedlichen Zeiten erzielt. So wird bei der höchsten Reaktionstemperatur der Maximalwert am schnellsten erreicht. Den wesentlichen temperaturabhängigen Faktor im untersuchten System stellt die relative Geschwindigkeitskonstante k' für die Bildung des "5-[N-Methyl-^{11}C]Clozapins" dar. Es ist daher wahrscheinlich, daß die verschiedenen Zeiten bis zum Erreichen der maximalen radiochemischen Ausbeute auf die Temperaturabhängigkeit der relativen Geschwindigkeitskonstanten k' zurückzuführen sind. Zur Verdeutlichung sind die relativen Geschwindigkeitskonstanten k', die maximal erreichte radiochemische Ausbeute an "5-[N-Methyl-^{11}C]Clozapin" und die dazu benötigte Reaktionszeit in Tabelle 2.5 gegenübergestellt (zur Berechnung der relativen Geschwindigkeitskonstanten k' vergleiche Kapitel 2.1.1.2).

Tab. 2.5: Reaktionszeit und relative Geschwindigkeitskonstante k' bis zum Erreichen der maximalen radiochemischen Ausbeute

Lösungsmittel	Sdp [°C]	Temp. [°C]	RY [%]	Zeit [min]	k' [min^{-1}]
CH_2Cl_2	40	40	40	40	0,032
$CHCl_3$	62	62	40	10	0,195
CH_2ClCH_2Cl	84	78	30	10	0,223
$CH_2ClCH_2CH_2Cl$	122	100	40	2	0,310

2.3.4.4 Abhängigkeit von der Menge des zugesetzten Silber-trifluormethansulfonats

Als letzter Reaktionsparameter wurde die Menge des zugesetzten Silbertrifluormethansulfonates variiert. Untersucht wurde somit die Abhängigkeit der radiochemischen Ausbeute an "5-[N-Methyl-^{11}C]Clozapin" von der Konzentration an Silber-trifluormethansulfonat. Das Ergebnis ist in Abbildung 2.16 dargestellt.

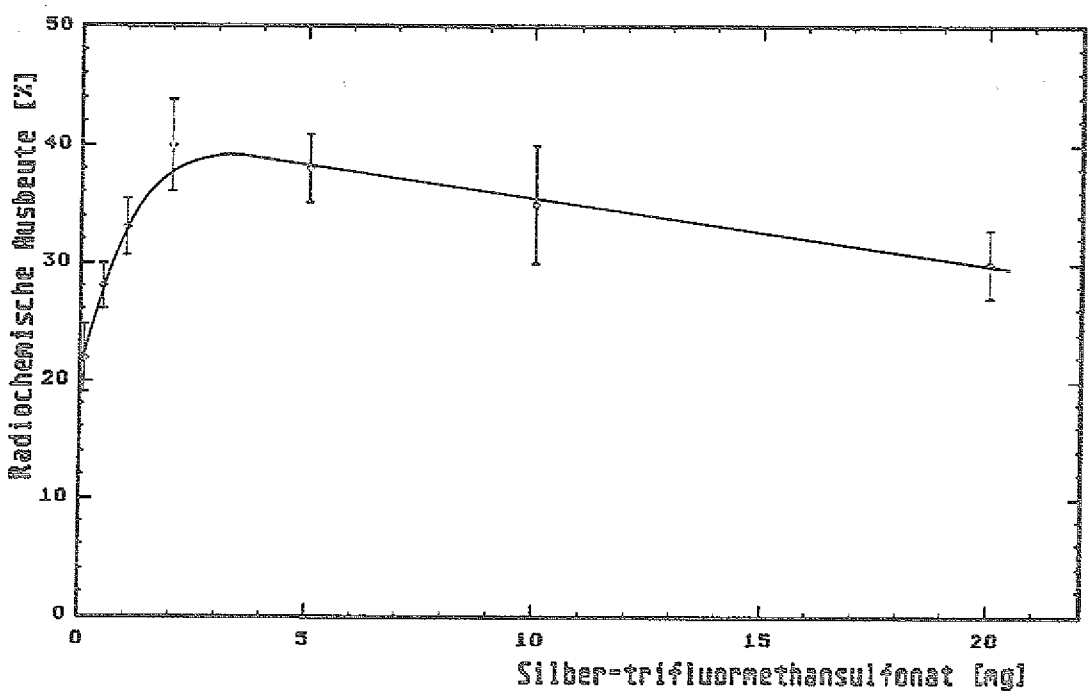


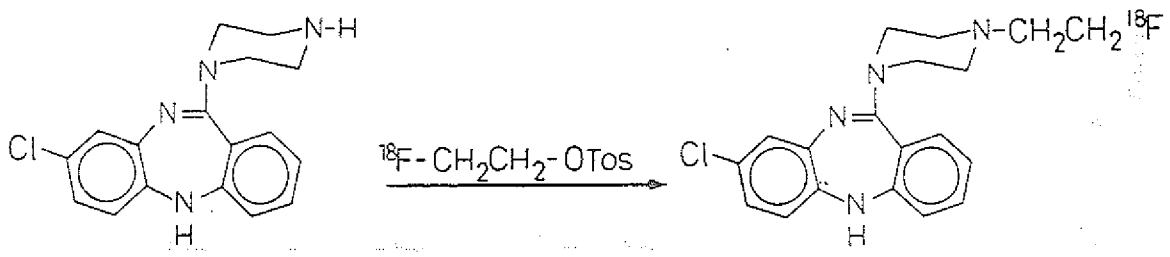
Abb. 2.16: Abhängigkeit der radiochemischen Ausbeute an "5-[N-Methyl-^{11}C]Clozapin" von der Menge an Silber-trifluormethansulfonat (60°C, 10 min, 2 mg (5 µmol) BOC-geschütztes Norclozapin in 1 ml $CHCl_3$, n.c.a. [^{11}C]CH_3I, Abspaltung des BOC-Restes mittels 5 µl (36 µmol) TMSI in 50 µl $CHCl_3$, Zusatz von $NaB(OCH_3)_3H$)

Die radiochemische Ausbeute an "5-[N-Methyl-^{11}C]Clozapin" steigt zunächst schnell bis zu einem Maximum von 40% bei etwa 2 mg Silber-trifluormethansulfonat an. Größere Mengen an Silbertriflat führen zu einem langsamen Abfall der radiochemischen Ausbeute.

Die Abnahme der radiochemischen Ausbeute an "5-[N-Methyl-^{11}C]Clozapin" bei größeren Mengen Silber-trifluormethansulfonates ist wahrscheinlich durch das Einschleppen von Verunreinigungen zu erklären. Wird viel Silber-trifluormethansulfonat zugesetzt, so wird zwangsläufig auch die Konzentration möglicher im Silber-trifluormethansulfonat enthaltener Verunreinigungen erhöht. Bei Zusätzen größer 10 mg wird schließlich eine Konzentration erreicht, die sich als störend erweist. Die Folge ist die Abnahme der radiochemischen Ausbeute.

2.4 Synthese von n.c.a. 8-Chloro-11-(4-(1-[^{18}F]fluorethyl)-1-piperazinyl)-5H-dibenzo[b,e]-[1,4]-diazepin über eine [^{18}F]Fluoralkylierungsreaktion

$$^{18}F^- + TosO\text{-}CH_2CH_2\text{-}OTos \longrightarrow {}^{18}F\text{-}CH_2CH_2\text{-}OTos$$



2.4.1 Synthese von n.c.a. 1-[^{18}F]Fluor-2-tosyloxyethan als Markierungsreagenz

Das Markierungsreagenz 1-[^{18}F]Fluor-2-tosyloxyethan stellt für Markierungsynthesen im Rahmen einer [^{18}F]Fluoralkylierung das Reagenz der Wahl dar [62]. Die Umsetzung von [^{18}F]Fluorid mit Ethylenglykol-1,2-ditosylat führt zu erheblich besseren radiochemischen Ausbeuten als die Umsetzung von [^{18}F]Fluorid mit 1,2-Dibromethan. Desweiteren weist 1-[^{18}F]Fluor-2-tosyloxyethan mit dem Toluolsulfonsäurerest eine bessere Abgangsgruppe auf. Daher sind bei der Verwendung dieses Markierungsreagenz bessere radiochemische Ausbeuten an 8-Chloro-11-(4-(1-[^{18}F]fluorethyl)-1-pipera-

zinyl)-5H-dibenzo[b,e]-[1,4]-diazepin zu erwarten.

Die Darstellung des 1-[^{18}F]Fluor-2-tosyloxyethans wurde zunächst in Gegenwart des Aminopolyethers Kryptofix 2.2.2 und Kaliumcarbonat durchgeführt. Im Rahmen dieser Untersuchungen konnten die früher ermittelten Reaktionsbedingungen und radiochemischen Ausbeuten [62] an 1-[^{18}F]Fluor-2-tosyloxyethan bestätigt werden. In Acetonitril wurden innerhalb von 10 min bei 80°C radiochemische Ausbeuten von etwa 80% an 1-[^{18}F]Fluor-2-tosyloxyethan, bezogen auf das in Lösung befindliche [^{18}F]Fluorid, erreicht.

Die Umsetzung von [^{18}F]Fluorid mit Ethylenglykol-1,2-ditosylat in Gegenwart von K_2CO_3/Kryptofix 2.2.2 führt zur Bildung verhältnismäßig vieler inaktiver Nebenprodukte. Die Ursache hierfür ergibt sich aus der doch relativ hohen Basizität des Carbonatanions in Acetonitril bei gleichzeitiger Basenempfindlichkeit des Ethylenglykol-1,2-ditosylates. Diese Nebenprodukte können nachfolgende Umsetzungen von 1-[^{18}F]Fluor-2-tosyloxyethan stören und erschweren darüber hinaus die Reinigung des Reaktionsproduktes. Es wurde daher versucht, das Aminopolyether/K_2CO_3- System durch das weniger basische Tetramethylammonium- bzw. Tetra(n-butyl)ammoniumhydrogencarbonat ($TMAHCO_3$ bzw. $TBAHCO_3$) [61] zu ersetzen. Die Tetraalkylammoniumhydrogencarbonate wurden ausgehend von den entsprechenden Hydroxiden durch Sättigen mit gasförmigem CO_2 dargestellt (siehe [61] und Abschnitt 3.2). Die in Acetonitril bei 80°C innerhalb von 10 min erhaltenen radiochemischen Ausbeuten sind in Tabelle 2.6 zusammengefaßt.

Tab. 2.6: Radiochemische Ausbeute an 1-[^{18}F]Fluor-2-tosyloxyethan in Abhängigkeit vom Phasentransferkatalysators

Phasentransferkatalysator	Radiochemische Ausbeute an 1-[^{18}F]Fluor-2-tosyloxyethan
Kryptofix 2.2.2/K_2CO_3	80%
$TMAHCO_3$	80%
$TBAHCO_3$	70%

Tabelle 2.6 zeigt, daß im Falle der Umsetzung von [^{18}F]Fluorid mit Ethylenglykol-1,2-ditosylat das System Kryptofix 2.2.2/K_2CO_3 ohne Ausbeuteverlust durch $TMAHCO_3$ ersetzt werden kann. Demgegenüber führt $TBAHCO_3$ zu etwas geringeren radiochemischen Ausbeuten an 1-[^{18}F]Fluor-2-tosyloxyethan. Eine mögliche Ursache für die etwas schlechtere radiochemische Ausbeute bei der Verwendung von $TBAHCO_3$ kann die Temperaturempfindlichkeit der Tetra(n-butyl)ammoniumsalze sein [61].

Bei allen drei Phasentransferkatalysatoren befanden sich jeweils zwischen 85 und 95% der eingesetzten Aktivität im Solvens. Adsorptionsverluste von [^{18}F]Fluorid waren somit vernachlässigbar.

Die geringere Basizität des Hydrogencarbonatanions macht sich durch weniger inaktive Produkte bemerkbar. Daher wurden die Optimierungsversuche zur Darstellung des 8-Chloro-11-(4-(1-[^{18}F]fluorethyl)-1-piperazinyl)-5H-dibenzo[b,e]-[1,4]-diazepins mit $TMAHCO_3$ als Anionenaktivator durchgeführt.

2.4.2 Optimierung der Reaktionsparameter zur n.c.a. Synthese von 8-Chloro-11-(4-(1-[^{18}F]fluorethyl)-1-piperazinyl)-5H-dibenzo[b,e]-[1,4]-diazepin

Die Umsetzung von n.c.a. [^{18}F]Fluorid mit Ethylenglykol-1,2-ditosylat zu 1-[^{18}F]Fluor-2-tosyloxyethan führt zu einem sehr potenten [^{18}F]Fluoralkylierungsreagenz, welches innerhalb einer kurzen Reaktionszeit in sehr guten radiochemischen Ausbeuten erhalten wird. Die n.c.a. Synthese von 8-Chloro-11-(4-(1-[^{18}F]fluorethyl)-1-piperazinyl)-5H-dibenzo[b,e]-[1,4]-diazepin (im Folgendem "[N-(1-[^{18}F]Fluorethyl)]Clozapin") wurde daher durch die Umsetzung von 1-[^{18}F]Fluor-2-tosyloxyethan mit Norclozapin in einer "Eintopfreaktion" durchgeführt.

2.4.2.1 Abhängigkeit von der Reaktionszeit

Untersucht wurde die Kinetik der Umsetzung von 1-[^{18}F]Fluor-2-tosyloxyethan mit Norclozapin in Acetonitril. Ziel war die Ermittlung der optimalen Reaktionszeit zur n.c.a. Synthese des "[N-(1-[^{18}F]Fluorethyl)]Clozapins". Das Ergebnis dieser Meßreihe ist in Abbildung 2.17 dargestellt.

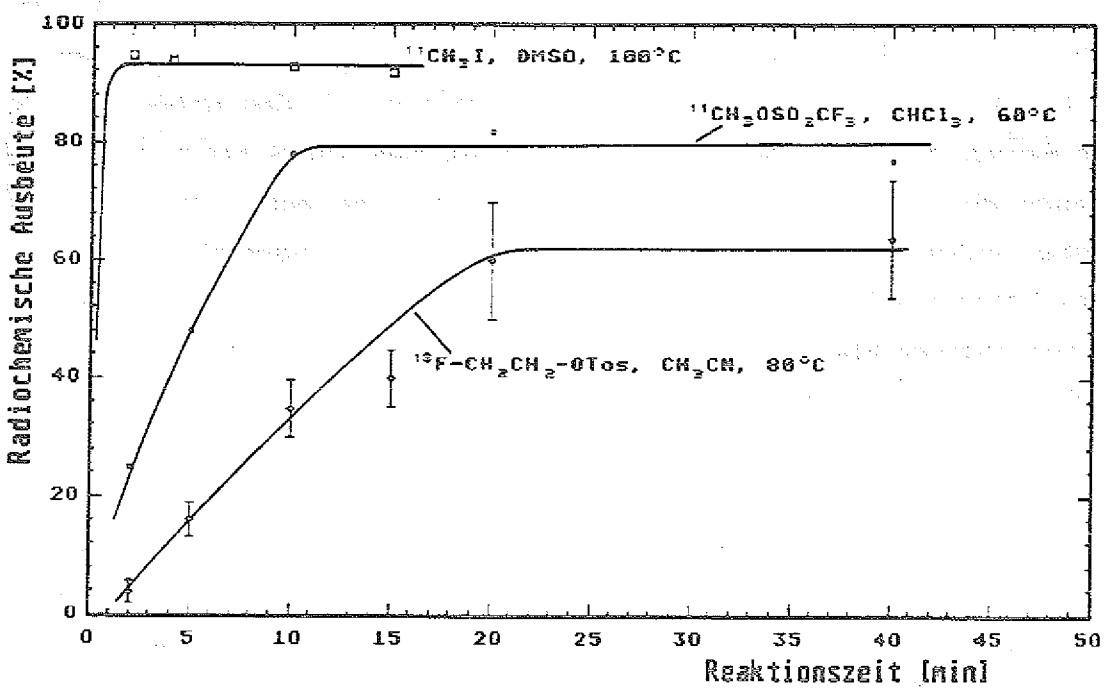


Abb. 2.17: Abhängigkeit der radiochemischen Ausbeute an "[N-(1-[^{18}F]Fluorethyl)]Clozapin" von der Reaktionszeit (1-[^{18}F]Fluor-2-tosyloxyethan: 20 µl $TMAHCO_3$ (1 M), 4 mg (10 µmol) Ethylenglykol-1,2-ditosylat, 10 min, 80°C, 250 µl CH_3CN, n.c.a. [^{18}F]Fluorid; "[N-(1-[^{18}F]Fluorethyl)]Clozapin": Zusatz von 7,5 mg (24 µmol) Norclozapin in 150 µl CH_3CN, 80°C; zum Vergleich sind die bei den [^{11}C]Methylierungen mit [^{11}C]Methyliodid und -triflat ermittelten Kinetiken eingetragen).

Die maximale radiochemische Ausbeute an "[N-(1-[^{18}F]Fluorethyl)]Clozapin" von etwa 60% wird unter den gewählten Reaktionsbedingungen nach etwa 20 min Reaktionszeit erreicht. Eine Verlängerung der Reaktionszeit führt nicht mehr zur Erhöhung der radiochemischen Ausbeute.

Auf Grund der Ergebnisse die bei der [^{11}C]Methylierung des Norclozapins sowohl mit [^{11}C]Methyliodid als auch mit [^{11}C]Methyltriflat (siehe Abschnitte 2.1.1.2 und 2.1.2) gewonnen wurden, wäre zu erwarten gewesen, daß die Sättigungsausbeute an "[N-(1-[^{18}F]Fluorethyl)]Clozapin" nach einer kürzeren Reaktionszeit erreicht wird. Diese Erwartung basiert auf der, im Vergleich zu Methyliodid, besseren Abgangsgruppe im Falle des 1-[^{18}F]Fluor-2-tosyloxyethans. Folgende Ursachen für die im Vergleich zur [^{11}C]Methylierung verhältnismäßig langsame Reaktion sind in Betracht zu ziehen. Einerseits kann der Vorteil der besseren Abgangsgruppe durch den größeren sterischen Bedarf des Tosylrestes kompensiert werden. Diese sterischen Anforderungen sind bei einer S_N2-Reaktion, welche eine enge räumliche Nähe zwischen nukleophiler und nukleofuger Gruppe voraussetzt, ein nicht zu unterschätzender Faktor. Andererseits hat der induktive Effekt des stark elektronegativen Fluors einen starken Einfluß auf die Bindungsenergie des Toluolsulfonsäurerestes, mit der Folge einer erschwerten Substituierbarkeit des Tosylrestes.

Die relative Geschwindigkeitskonstante k' für die Bildung des "[N-(1-[^{18}F]Fluorethyl)]Clozapins" wurde auch für die Umsetzung von 1-[^{18}F]Fluor-2-tosyloxyethan mit Norclozapin ermittelt (vergleiche hierzu Abschnitt 2.1.1.2). Es wurde ein Wert für k' von (0,131 +/- 0,038) min^{-1} ermittelt. Trotz der besseren Abgangsgruppe bewegt sich die relative Geschwindikeitskonstante k' in der Größenordnung des Wertes, der für die [^{11}C]Methylierung mittels [^{11}C]Methyliodid in Acetonitril ermittelt worden ist. Dieses Ergebnis verdeutlicht nochmals die verhältnismäßig langsame Reaktion von 1-[^{18}F]Fluor-2-tosyloxyethan mit Norclozapin.

2.4.2.2 Abhängigkeit von der Eduktkonzentration

Im Rahmen der Optimierung dieses Reaktionsparameters wurden zwei Konzentrationen variiert. Zuerst wurde die Konzentration des Ethylengly-

kol-1,2-ditosylates vermindert. Anschließend wurde untersucht, inwieweit die Konzentration an Norclozapin die radiochemische Ausbeute an "[N-(1-[^{18}F]Fluorethyl)]Clozapin" beeinflußt.

Durch die Verringerung der Konzentration des eingesetzten Ethylenglykol-1,2-ditosylates sollte die Menge der eingesetzten Reagenzien vermindert und hierdurch die Abtrennung des "[N-(1-[^{18}F]Fluorethyl)]Clozapins" erleichtert werden . Zu beachten ist allerdings, daß die Konzentration des eingesetzten Ethylenglykol-1,2-ditosylates primär für die Darstellung des Markierungsreagenz 1-[^{18}F]Fluor-2-tosyloxyethan von Bedeutung ist. Es handelt sich somit vielmehr um einen Optimierungsversuch zur Darstellung des 1-[^{18}F]Fluor-2-tosyloxyethans. Das Ergebnis ist in Tabelle 2.7 dargestellt. Die Synthesen wurden unter den gleichen Reaktionsbedingungen wie bei der Bestimmung der Abhängigkeit von der Reaktionszeit durchgeführt.

Tab. 2.7: Abhängigkeit der radiochemische Ausbeute an "[N-(1-[^{18}F]Fluorethyl)]Clozapin" von der Menge des eingesetzten Ethylenglkol-1,2-ditosylates

Ethylenglykol-1,2-ditosylat [mg]	[µmol]	Radiochemische Ausbeute an "[N-(1-[^{18}F]Fluorethyl)]Clozapin" [%]
4	10	60 ± 10
2	5	60 ± 10
1	2,5	55 ± 10

Tabelle 2.7 verdeutlicht, daß zur Synthese von "[N-(1-[^{18}F]Fluorethyl)]Clozapin" die Menge des eingesetzten Ethylenglykol-1,2- ditosylates problemlos zu verringern ist. Die radiochemische Ausbeute an 1-[^{18}F]Fluor-2-tosyloxyethan ist somit für den untersuchten Konzentrationsbereich von Ethylenglykol-1,2-ditosylat konstant.

Neben der Konzentration an Ethylenglykol-1,2-ditosylat ist auch die Menge an Norclozapin ein zu variierender Reaktionsparameter. Untersucht wurde,

inwieweit die Norclozapin-Konzentration die radiochemische Ausbeute an "[N-(1-[^{18}F]Fluorethyl)]Clozapin" beeinflußt. Das Ergebnis ist in Abbildung 2.18 dargestellt.

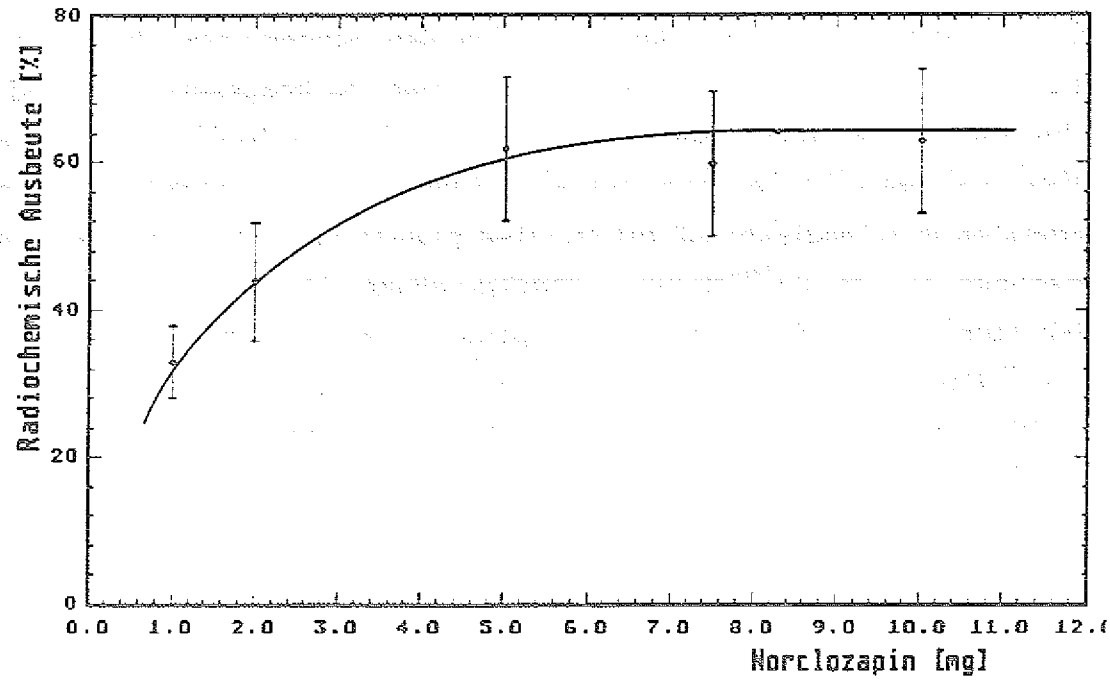


Abb. 2.18: Abhängigkeit der radiochemischen Ausbeute an "[N-(1-[^{18}F]Fluorethyl)]Clozapin" von der Norclozapinmenge (1-[^{18}F]Fluor-2-tosyloxyethan: 20 µl $TMAHCO_3$ (1 M), 2 mg (5 µmol) Ethylenglykol-1,2-ditosylat, 10 min, 80°C, 250 µl CH_3CN, n.c.a. [^{18}F]Fluorid; "[N-(1-[^{18}F]Fluorethyl)]Clozapin": 150 µl CH_3CN, 20 min, 80°C).

Die Abbildung zeigt den für eine Reaktion pseudo 1.-Ordnung erwarteten Reaktionsverlauf. Unter den gewählten Reaktionsbedingungen kann die Menge des zugesetzten Norclozapins auf 5 mg (16 µmol) beschränkt werden. Eine weitere Senkung führt zur Verminderung der radiochemischen Ausbeute an "[N-(1-[^{18}F]Fluorethyl)]Clozapin". Die Erhöhung auf 10 mg (30 µmol) beeinflußt die radiochemische Ausbeute an "[N-(1-[^{18}F]Fluorethyl)]Clozapin" demgegenüber nicht.

2.4.2.3 Abhängigkeit von der Reaktionstemperatur

Ziel dieser Meßreihe war die Klärung der Frage, inwieweit die Reaktionstemperatur die Umsetzung von 1-[^{18}F]Fluor-2-tosyloxyethan mit Norclozapin beeinflußt. Das Ergebnis ist in Abbildung 2.19 dargestellt.

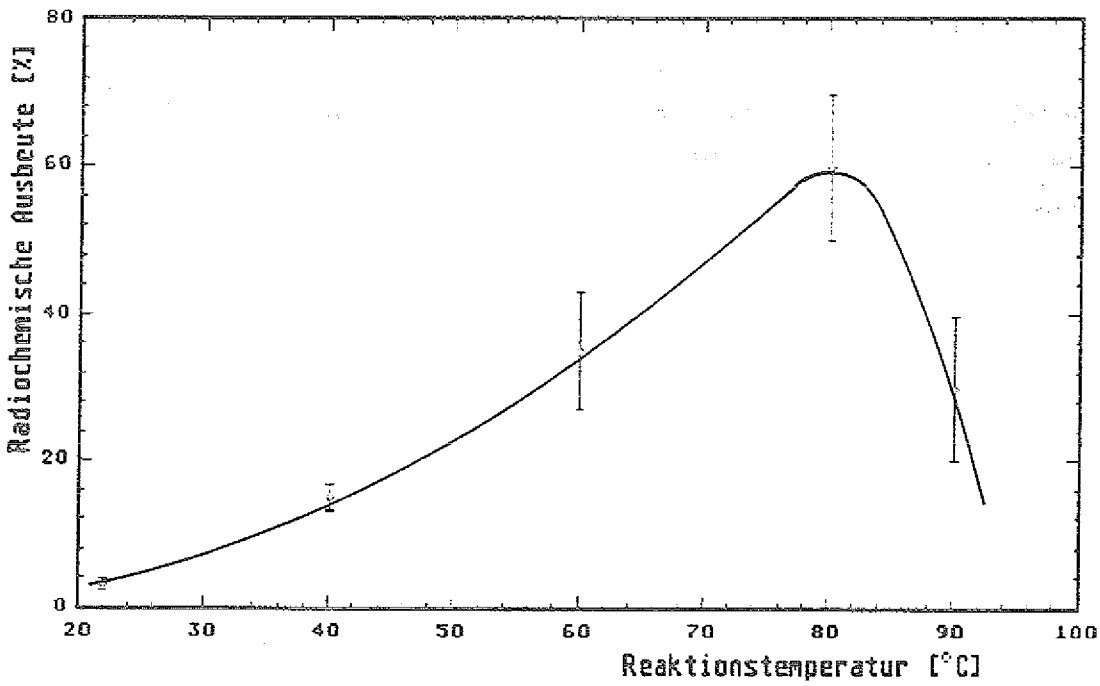


Abb. 2.19: Abhängigkeit der radiochemischen Ausbeute an "[N-(1-[^{18}F]Fluorethyl)]Clozapin" von der Reaktionstemperatur (1-[^{18}F]Fluor-2-tosyloxyethan: 20 µl $TMAHCO_3$ (1 M), 2 mg (5 µmol) Ethylenglykol-1,2-ditosylat, 10 min, 80°C, 250 µl CH_3CN n.c.a. [^{18}F]Fluorid; "[N-(1-[^{18}F]Fluorethyl)]Clozapin": Zusatz von 5 mg (16 µmol) Norclozapin in 150 µl CH_3CN, 20 min).

Die Reaktion von 1-[^{18}F]Fluor-2-tosyloxyethan mit Norclozapin weist eine starke Temperaturabhängigkeit auf. Die Bildung von "[N-(1-[^{18}F]Fluorethyl)]Clozapin" wird bei Raumtemperatur fast nicht mehr beobachtet. Die Erhöhung der Reaktionstemperatur auf 80°C führt zu einer Steigerung der radiochemischen Ausbeute an "[N-(1-[^{18}F]Fluorethyl)]Clozapin" auf etwa 60%. Höhere Reaktionstemperaturen führen nicht mehr zu einer Steigerung der radiochemischen Ausbeute an "[N-(1-[^{18}F]Fluorethyl)]Clozapin", sondern zu einer stark verminderten Produktbildung.

Es wird eine Abnahme der radiochemischen Ausbeute an "[N-(1-[^{18}F]Fluorethyl)]Clozapin" bei Reaktionstemperaturen größer 80°C beobachtet. Ursache dürfte die schon bei den [^{11}C]Methylierungsreaktionen beobachtete Instabilität der untersuchten Dibenzodiazepine in stark polar aprotischen Lösungsmitteln sein. Die Zersetzung der Dibenzodiazepine wird durch die basischeren Bedingungen bei der Fluoralkylierung noch begünstigt.

Die starke Temperaturabhängigkeit im Bereich niedriger Reaktionstemperaturen weist auf eine verhältnismäßig hohe Aktivierungsenergie für die Reaktion von 1-[^{18}F]Fluor-2-tosyloxyethan mit Norclozapin hin. Diese Aktivierungsenergie ist in jedem Fall höher als bei der [^{11}C]Methylierung. Dieses Ergebnis verdeutlicht nochmals den Einfluß des Fluors auf die Substituierbarkeit des Toluolsulfonsäurerestes im 1-[^{18}F]Fluor-2-tosyloxyethan.

2.4.2.4 Abhängigkeit vom Solvens

Bei der [^{18}F]Fluoralkylierung handelt es sich um eine S_N2-Reaktion. Eine wichtige Rolle bei diesen Reaktionen spielt das verwendete Solvens. In der Regel werden diese Reaktionen durch aprotische Solventien hoher Lösungsmittelpolarität begünstigt. Ziel dieser Meßreihe war die Klärung der Frage, inwieweit die Lösungsmittelpolarität die Bildung von "[N-(1-[^{18}F]Fluorethyl)]Clozapin" beeinflußt. Zur Durchführung der Experimente wurde das zur Darstellung des 1-[^{18}F]Fluor-2-tosyloxyethans eingesetzte Acetonitril im Heliumstrom abdestilliert und 5 mg Norclozapin in 400 µl des entsprechenden Lösungsmittels zugesetzt. Die Reaktionstemperatur betrug 80°C und die Reaktionszeit 20 min. Das Ergebnis ist in Tabelle 2.8 dargestellt.

Tabelle 2.8 zeigt, daß die radiochemische Ausbeute an "[N-(1-[^{18}F]Fluorethyl)]Clozapin" mit Zunahme der Lösungsmittelpolarität ansteigt. Die maximale radiochemische Ausbeute von etwa 70% wird in DMF erreicht. Der Einsatz von DMSO führt zu einer Abnahme der radiochemischen Ausbeute.

Tab. 2.8 : Abhängigkeit der radiochemische Ausbeute an "[N-(1-[^{18}F]Fluorethyl)]Clozapin" vom Solvens

Solvens	Dielektrizitätskonstante ε	Radiochemische Ausbeute "[N-(1-[^{18}F]Fluorethyl)]Clozapin" [%]
$CHCl_3$	4,81	7 ± 3
THF	7,58	14 ± 3
CH_3CN	37,5	60 ± 10
DMF	36,71	70 ± 10
DMSO	46,6	37 ± 5

Der Abfall der radiochemischen Ausbeute bei Einsatz von DMSO als Solvens erklärt sich aus einer Instabilität des "[N-(1-[^{18}F]Fluorethyl)]Clozapins" in diesem Solvens. Auch bei der [^{18}F]Fluoralkylierung ist erkennbar, daß die Lösungsmittelpolarität nur ein Teil des Parameters Solvens ist. So weisen Acetonitril und DMF etwa die gleiche Lösungsmittelpolarität auf. Der Einsatz von DMF führt jedoch zu etwa 10% höheren radiochemischen Ausbeuten an "[N-(1-[^{18}F]Fluorethyl)]Clozapin". Dieses Ergebnis zeigt einmal mehr, daß es zu spezifischen Wechselwirkungen zwischen Edukten und Lösungsmitteln kommt. Auch in diesem Fall kann nicht pauschal von einer Erhöhung der Ausbeute bei einer Erhöhung der Solvenspolarität ausgegangen werden.

2.4.2.5 Abhängigkeit vom Trägerzusatz

Als letzter Reaktionsparameter wurde die Menge des Fluorids variiert. Es wurde untersucht, inwieweit die Erhöhung der Fluoridkonzentration die radiochemische Ausbeute an "[N-(1-[^{18}F]Fluorethyl)]Clozapin" beeinflußt. Bei der Durchführung dieser Experimente wurde die Menge an $TMAHCO_3$ jeweils so angepaßt, das ein etwa 1,5 facher Überschuß an $TMAHCO_3$, bezogen auf die eingesetzte Menge Kaliumfluorid, vorlag. Das Ergebnis ist in Abbildung 2.20 dargestellt.

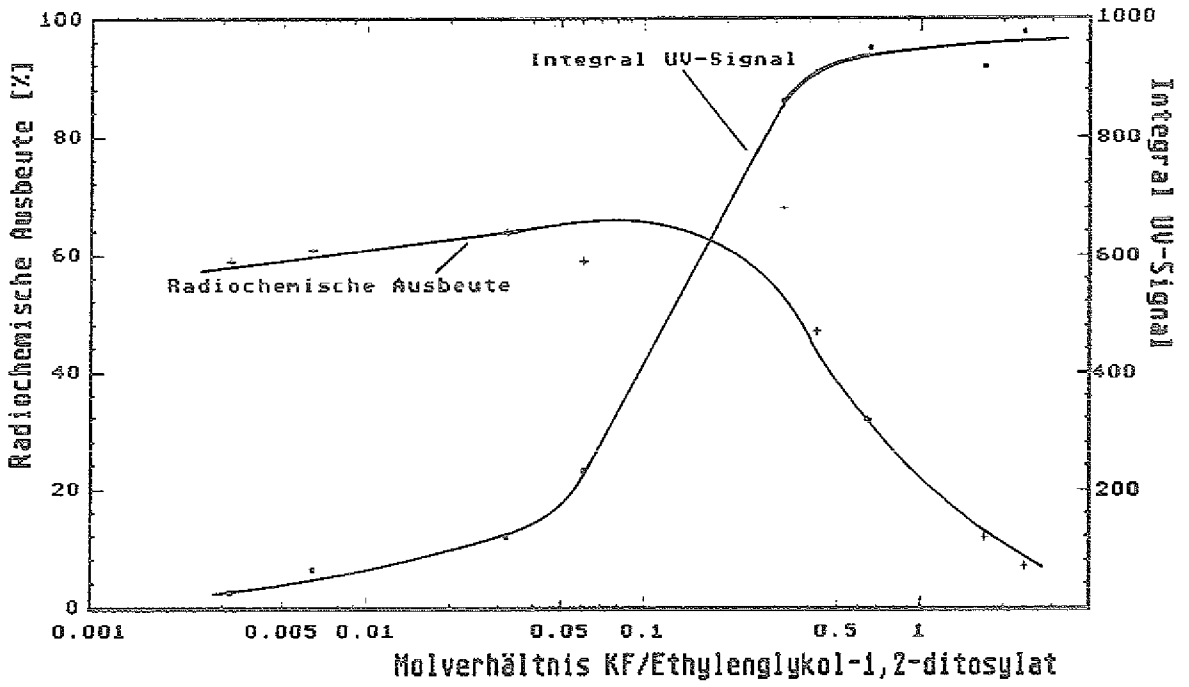


Abb. 2.20: Abhängigkeit der radiochemischen Ausbeute an "[N-(1-[^{18}F]Fluorethyl)]Clozapin" und des UV-Signals von "[N-(1-Fluorethyl)]Clozapin" vom zugesetzten Fluoridträger (1-[^{18}F]Fluor-2-tosyloxyethan: variable Menge an $TMAHCO_3$ (1 M), 2 mg (5 µmol) Ethylenglykol-1,2-ditosylat, 10 min, 80°C, 250 µl CH_3CN; "[N-(1-[^{18}F]Fluorethyl)]Clozapin": Zusatz von 5 mg (16 µmol) Norclozapin in 150 µl CH_3CN, 20 min, 80°C).

Abbildung 2.20 verdeutlicht, daß die untersuchte Reaktion über einen weiten Bereich nahezu unabhängig von der zugesetzten Menge an Kaliumfluorid ist. Es ist allenfalls ein leichter Anstieg der radiochemischen Ausbeute an "[N-(1-[^{18}F]Fluorethyl)]Clozapin" mit der Erhöhung der Kaliumfluoridkonzentration erkennbar. Werden jedoch Molverhältnisse KF/Ethylenglykol-1,2-ditosylat von größer 0,35 erreicht, so wird ein drastischer Abfall der radiochemischen Ausbeute an "[N-(1-[^{18}F]Fluorethyl)]Clozapin" beobachtet. Das UV-Signal bleibt demgegenüber nahezu konstant.

Anders als bei der zur [^{11}C]Methylierung ermittelten Trägerabhängigkeit erklärt sich der drastische Abfall der radiochemischen Ausbeute an "[N-(1-[^{18}F]Fluorethyl)]Clozapin" nicht durch eine Quarternisierungsreakti-

on am Piperazinyl-Stickstoff. Dieses ist alleine schon aus sterischen Gründen unwahrscheinlich. Hier konkurrieren aktives und inaktives Fluorid um eine gegebene Zahl von Eduktmolekülen. Dieses ist am UV-Signal des "[N-(1-Fluorethyl)]Clozapins" erkennbar. Das UV-Signal nimmt zunächst proportional mit der Steigerung der Kaliumfluoridkonzentration zu. Bei Molverhältnisses KF/Ethylenglykol-1,2-ditosylat größer 0,35 hingegen ist nur noch eine geringe Zunahme des UV-Signals zu beobachten. Somit stellt sich bei diesen Konzentrationsverhältnissen ein Sättigungswert ein. Ob jetzt ein 1-[^{18}F]Fluor-2-tosyloxyethan Molekül oder ein 1-[^{19}F]Fluor-2-tosyloxyethan Molekül mit Norclozapin unter der Bildung von "[N-(1-Fluorethyl)]Clozapin" abreagiert, ist nun eine Frage der Statistik. Auf Grund des sehr großen Überschusses von 1-[^{19}F]Fluor-2-tosyloxyethan wird bevorzugt die Bildung des inaktiven "[N-(1-Fluorethyl)]Clozapins" beobachtet. Die Folge ist zwangsläufig die Abnahme der radiochemischen Ausbeute an "[N-(1-[^{18}F]Fluorethyl)]Clozapin" bei nahezu konstanter chemischer Ausbeute. Die beobachtete Abhängigkeit des UV-Signals von "[N-(1-Fluorethyl)]Clozapin" deutet ferner an, daß der Abfall der radiochemischen Ausbeute in diesem Fall wohl nicht auf die Basizität des "nackten" Fluoridions und der damit verbundenen Zersetzung der Edukte oder Produkte zurückzuführen ist. In diesem Fall hätte ein Abfallen des UV-Signals beobachtet werden müssen. Dieses ist jedoch nicht der Fall.

3. Experimentelles

3.1 Chemikalien und Geräte

Alle Lösungsmittel und Chemikalien wurden nach Standardmethoden gereinigt und getrocknet (siehe z. B. [137]).

Die Referenzverbindung Clozapin (8-Chloro-11-(4-methyl-1-piperazinyl)-5H-dibenzo[b,e]-[1,4]-diazepin) und die Desmethylverbindung Norclozapin (8-Chloro-11-piperazinyl-5H-dibenzo[b,e]-[1,4]-diazepin) wurden freundlicherweise von der Sandoz AG, Schweiz, zur Verfügung gestellt. Zusätzlich benötigtes Norclozapin wurde selbst synthetisiert (siehe Abschnitt 3.2).

Die Syntheseprodukte sind durch IR-, ^{1}H-NMR- und teilweise auch Massenspektren charakterisiert worden. Die verwendeten Geräte waren:

^{1}H-NMR:	Bruker WP 80	(Signale gemessen gegen TMS als internen Standard, alle Werte in δ)
IR:	Shimadzu IR-440	
MS:	Finnigan 5100 SP	

Bezüglich der verwendeten chromatographischen Geräte siehe Abschnitt 3.4.

Die Schmelz-, Druck- und Siedepunktangaben sind nicht korregiert.

Die Kontrolle des Reaktionsverlaufs und der Reinheit der Produkte erfolgte dünnschichtchromatographisch auf Polygram Sil G/UV 254-Fertigfolien (Macherey und Nagel, Düren).

Um ein Einschleppen von Träger in Form [^{12}C]CO_2 bei der Reduktion des [^{11}C]CO_2 mittels Lithiumaluminiumhydrid in Tetrahydrofuran (THF) zu vermeiden, wurden für diese beiden Chemikalien besondere Vorkehrungen getroffen:

Das THF wurde wie folgt absolutiert und von gelöstem CO_2 befreit [138]:
200 ml THF wurden über 2 g Lithiumaluminiumhydrid für 2 h zum Rückfluß erwärmt. Zu diesem Zeitpunkt wurde über eine 10 cm lange Kolonne, gefüllt

mit bei 400°C ausgeheiztem Molsieb 4 A), destilliert. Der Vorlauf, etwa 50 ml, wurde verworfen. Anschließend wurde direkt in mit einem Septum verschließbare dunkle Glasampullen (50 ml) destilliert. Die Glasampullen enthielten etwa 0,5 g/ml THF bei 400°C ausgeheiztes Molsieb 4 A. Alle Schritte zur Reinigung des THF fanden unter Argonatmosphäre statt. Das THF wurde in einem Exsikkator über Phosphorpentoxid und unter Argon aufbewahrt.
Das derart gereinigte und aufbewahrte THF konnte mehrere Wochen ohne Qualitätsverluste eingesetzt werden.

Lithiumaluminiumhydrid wurde unter Argonatmosphäre und Feuchtigkeitsausschluß in einem Handschuhkasten in mit einem Septum verschließbare 5 ml fassende Glasampullen überführt. Zu diesem Zweck wurde der Handschuhkasten und die darin befindlichen Geräte und Chemikalien 24 h mit Argon 5.7 (ca. 1 l/min) gespült. Zu diesem Zeitpunkt wurden 50 bis 70 mg Lithiumaluminiumhydrid in die Glasampullen überführt. Die Glasampullen wurden unter Argonatmosphäre mit einem Septum und einer Bördelkappe verschlossen. Die Aufbewahrung erfolgte in einem Exsikkator über Phosphorpentoxid und unter Argon.

Zur Herstellung der zur Reduktion des $[^{11}C]CO_2$ erforderlichen Lösung von Lithiumaluminiumhydrid in THF wurde das in Glasampullen überführte Lithiumaluminiumhydrid mit 4 ml des besonders aufbereiteten THF versetzt. Die Zugabe des THF erfolgte unter Argonatmosphäre. Das Absetzen der gesättigten Lösung erforderte mehrere Stunden. Die überstehende klare Lösung wurde als Reduktionsmittel verwendet.

3.2 Darstellung der inaktiven Ausgangs- und Referenzverbindungen

Für eine eindeutige Zuordnung der über die chromatographischen Methoden getrennten radioaktiven Fraktionen müssen die chromatographischen Daten der gewünschten Produkte bekannt sein. Daraus resultiert die Notwendigkeit , inaktive Referenzverbindungen herzustellen. Im folgendem werden die Synthesen der inaktiven Referenzverbindungen sowie käuflich nicht erhältlicher Ausgangsverbindungen beschrieben.

- 8-Chloro-11-piperazinyl-5H-dibenzo[b,e]-[1,4]-diazepin (Norclozapin)

Die Desmethylverbindung Norclozapin wurde zum Teil von der Sandoz AG, Schweiz, zur Verfügung gestellt. Da die zur Verfügung gestellte Menge nicht ausreichte, mußte diese Verbindung synthetisiert werden. Die Ausgangsverbindung N-(2-Amino-4-chlorophenyl)anthranilsäure ist im Handel erhältlich (Aldrich Chem. Corp.). Die Synthese der Desmethylverbindung beschränkte sich somit auf die Lactamisierung und Amidinierung [89,95].

- 8-Chloro-5,10-dihydro-11-oxo-dibenzo[b,e]-[1,4]diazepin (Lactam) [89]

10 g (38 mmol) N-(2-Amino-4-chlorophenyl)anthranilsäure wurden in 100 ml Xylol suspendiert. Anschließend wurde 64 h am Wasserabscheider auf 170°C Ölbadtemperatur erwärmt. Zu diesem Zeitpunkt wurde das Xylol durch Destillation weitgehend entfernt. Restliche flüchtige Bestandteile wurden mittels einer Wasserdampfdestillation entfernt. Anschließend wurde auf Raumtemperatur abgekühlt. Es wurden etwa 25 ml konzentrierte Ammoniaklösung zugesetzt und der Niederschlag abfiltriert. Es wurde aus Aceton/Wasser umkristallisiert.

Ausbeute: 7,7 g (80%)

Schmelzpunkt: 228°C (Lit.: 231-232°C [89])

IR-Spektrum (KBr): NH-Bande bei 3130 cm^{-1}; C=O-Bande bei 1640 cm^{-1}

^{1}H-NMR-Spektrum (d_6-Aceton): 7,6 - 6,55 ppm Multiplett (7H)

- 8-Chloro-11-piperazinyl-5H-dibenzo[b,e]-[1,4]-diazepin (Norclozapin) [95]

80 ml abs. Toluol und 15 ml abs. Anisol wurden in einem geeigneten Reaktionsgefäß vorgelegt. Es folgte die Zugabe von 10 g (53 mmol) Titantetrachlorid. Nach der Bildung des Titantetrachlorid-Dietherat Komplexes wurden 15 g (174 mmol) getrocknetes Piperazin zugesetzt. Es wurde auf 90 - 95°C erwärmt. Nachdem sich eine bräunlich-gelbe Suspension gebildet hatte, folgte die Zugabe eines Gemisches aus 7,5 g (31 mmol) 8-Chloro-5,10-dihydro-11-oxo-dibenzo[b,e]-[1,4]diazepin und 5,4 g (62 mmol) Piperazin. Die Zugabe erfolgte in einer Portion. Es wurde 3,5 h bei 90 - 95°C gerührt. Zu diesem Zeitpunkt wurde auf 70°C abgekühlt und es wurden 20 ml Isopropanol zugesetzt. Bei Raumtemperatur wurden 20 ml konzentrierte Ammoniaklösung zugesetzt, und der Niederschlag über einen Büchner Trichter abfiltriert. Der Nieder-

schlag wurde 3 mal mit je 50 ml Toluol gewaschen. Die vereinigten Toluolphasen wurden mit 10%iger HCl (3 x 50 ml) extrahiert. Der salzsaure Extrakt wurde vorsichtig mit konzentrierter Ammoniaklösung versetzt. Die ausgefallene Base wurde in Dichlormethan aufgenommen. Die Dichlormethanphase wurde über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Zur weiteren Reinigung wurde der gelbe Rückstand säulenchromatographisch (Kieselgel Si 60, Dichlormethan : Methanol (90 : 10)) aufgetrennt. Das isolierte Norclozapin wurde nach Entfernen des Eluens aus Dichlormethan/n-Hexan umkristallisiert.

Ausbeute: 3,9 g (30%)

Schmelzpunkt: 115°C (Zers.) (Lit.: 115 - 117°C [84])

IR-Spektrum (KBr): NH-Banden: 3380 und 3305 cm^{-1}, C=N-Bande: 1595 cm^{-1}

^{1}H-NMR Spektrum ($CDCl_3$): 7,45 - 6,55 ppm Multiplett (7H), 3,5 ppm Triplett (4H), 3,0 ppm Triplett (4H)

- <u>8-Chloro-11-(4-dimethyl-1-piperazinium)-5H-dibenzo[b,e]-[1,4]-diazepin Iodid [137]</u>

25 mg (76 µmol) Clozapin wurden mit 50 mg (380 µmol) Methyliodid in 3 ml abs. Acetonitril 3 h auf 70°C erwärmt. Zu diesem Zeitpunkt wurde das Solvens im Vakuum entfernt. Zur Entfernung des nicht umgesetzten Clozapins wurde der Rückstand mit Dichlormethan extrahiert.

Ausbeute: 21 mg (60%)

^{1}H-NMR-Spektrum (D_2O): 7,45 - 6,55 ppm Multiplett (7H), 3,5 ppm Triplett (4H), 3,2 ppm Triplett (4H), 2,7 ppm Singulett (6H).

- <u>8-Chloro-11-(4-tert.butyloxycarbonyl-1-piperazinyl)-5H-dibenzo[b,e]-[1,4]-diazepin [124]</u>

50 mg (160 µmol) Norclozapin wurden in 5 ml abs. Acetonitril gelöst. Bei Raumtemperatur wurden unter Rühren 2 mg (16 µmol) 4-Dimethylaminopyridin (DMAP) zugegeben. Anschließend wurden 42 mg (192 µmol) Pyrokohlensäure-di-tert.-butylester ($(BOC)_2O$) in 1 ml abs. Acetonitril zugetropft. Es wurde 18 h bei Raumtemperatur gerührt. Zu diesem Zeitpunkt wurde das Lösungs-

mittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde säulenchromatographisch (Kieselgel Si 60, Dichlormethan : Methanol (90 : 10)) aufgetrennt. Das Eluens wurde im Vakuum entfernt und der Rückstand aus Dichlormethan/n-Hexan umkristallisiert.

Ausbeute: 52 mg (79%)

Schmelzpunkt: 138 - 140°C

IR-Spektrum (KBr): NH-Bande: 3295 cm^{-1}, C=O-Bande: 1656 cm^{-1}

^{1}H-NMR-Spektrum ($CDCl_3$): 7,45 - 6,55 ppm Multiplett (7H), 3,5 ppm Multiplett (8H), 1,5 ppm Singulett (9H)

- 8-Chloro-11-(4-trimethylsilyloxycarbonyl-1-piperazinyl)-5H-dibenzo[b,e]-[1,4]-diazepin

2 mg (5 µmol) BOC-geschütztes Norclozapin wurden in einem mit GL-14 Schraubkappe und Siliconseptum verschlossenem Reaktionsgefäß in 100 µl abs. Dichlormethan gelöst. Es folgte die Zugabe von 5 µl (37 µmol) Iodtrimethylsilan (TMSI) in 100 µl abs. Dichlormethan. Nach 10 min bei Raumtemperatur wurde das überschüssige Iodtrimethylsilan sowie das Dichlormethan im Argonstrom (200 ml/min) bei Raumtemperatur entfernt. Das Produkt wurde ohne weitere Aufarbeitung oder Charakterisierung zur Markierungssynthese eingesetzt.

- 8-Chloro-11-piperazinyl-5-methyl-dibenzo[b,e]-[1,4]-diazepin

20 mg (48 µmol) BOC-geschütztes Norclozapin wurden in 2 ml abs. Chloroform gelöst. Es wurden zunächst 12 µl (48 µmol) 2,6-Di-tert.-butylpyridin und anschließend 3,5 µl (48 µmol) Methyltriflat zugesetzt. Es wurde 2 h auf 55 - 60°C erwärmt. Zu diesem Zeitpunkt wurde das Chloroform im Vakuum abdestilliert. Zur Abspaltung der Schutzgruppe wurden 400 µl Trifluoressigsäure zugesetzt. Nach 10 min bei Raumtemperatur wurde die überschüssige Trifluoressigsäure im Vakuum entfernt. Zur Freisetzung der Base wurden 400 µl konz. Ammoniaklösung zugesetzt. Die Base wurde in Dichlormethan aufgenommen. Es folgte die säulenchromatographische Auftrennung der organischen Phase (Kieselgel Si 60, Dichlormethan : Methanol (95 : 5).

Ausbeute: 10 mg (64%)

Schmelzpunkt: 128°C (Zers.)

^{1}H-NMR-Spektrum ($CDCl_3$): 7,45 - 6,55 ppm Multiplett (7H), 3,5 ppm Triplett (4H), 3,25 ppm Singulett (3H), 2,95 ppm Triplett (4H)

Massenspektrum (70 eV, EI): M^+= 326, M^+-15, M^+-56, M^+-69, M^+-85; das Fragmentierungsmuster des Piperazinrestes entspricht dem des Norclozapins [104]

- 8-Chloro-11-(4-methyl-4-oxo-1-piperazinyl)-5H-dibenzo[b,e]-[1,4]-diazepin (Clozapin-N-oxid) [120]

20 mg (61 µmol) Clozapin wurden in 1 ml Chloroform gelöst. Bei 0°C wurden 18 mg (61 µmol) 3-Chlorperoxybenzoesäure (MCPBA) in 200 µl Chloroform langsam zugetropft. Es wurde 1,5 h bei 0°C belassen. Zur Isolierung wurde das Clozapin-N- oxid auf einer Alumina N Sep-Pak^{TM}-Kartusche (1710 mg, Fa. Waters) fixiert. Nicht umgesetztes Clozapin und andere Reaktionsprodukte wurden mit Dichlormethan von der Kartusche gewaschen. Das Reaktionsprodukt wurde mit Methanol eluiert. Das Solvens wird im Vakuum bei Raumtemperatur entfernt.

Ausbeute: 18 mg (90%)

Schmelzpunkt: 224°C (Zers.) (Lit.: 230 - 235°C [103])

IR-Spektrum (KBr): N-Oxid-Bande: 970 cm^{-1}

^{1}H-NMR-Spektrum ($CDCl_3$): 7,45 - 6,55 ppm Multiplett (7H), 3,5 ppm Multiplett (8H), 3,3 ppm Singulett (3H)

- 8-Chloro-11-(4-peroxybenzoyl-1-piperazinyl)-5H-dibenzo[b,e]-[1,4]-diazepin) [123]

100 mg (320 µmol) Norclozapin wurden in 5 ml abs. Dichlormethan gelöst. Bei Raumtemperatur wurden unter Rühren 82 mg (320 µmol) Dibenzoylperoxid in 5 ml abs. Dichlormethan zugetropft. Die Reaktionsmischung wurde 3 h zum Rückfluß erwärmt. Zu diesem Zeitpunkt wurde die Lösung eingeengt. Die aufarbeitung und Reinigung erfolgte säulenchromatographisch (Kieselgel Si 60, Dichlormethan : Methanol (90 : 10).

Ausbeute: 103 mg (72%)

Schmelzpunkt: 82°C (Zers.)

IR-Spektrum (KBr): C=O-Bande: 1690 cm^{-1}

^{1}H-NMR-Spektrum ($CDCl_3$): 8,1 ppm Multiplett (2H), 7,6 - 6,55 ppm Multiplett (7H) 3,5 ppm Multiplett (8H)

- 1-Fluor-2-tosyloxyethan [137]

Zu einer Lösung von 8,2 g (43 mmol) Toluolsulfonsäurechlorid und 3,3 g (52 mmol) Fluorethanol in 12 ml abs. Chloroform wurden unter Eiskühlung 6,7 g (86 mmol) abs. Pyridin getropft. Es wurde 1 h bei 0°C gerührt. Zu diesem Zeitpunkt wurde eine Mischung aus 35 g Eis und 12 ml konzentrierter Salzsäure zugegeben. Die organische Phase wurde abgetrennt, mehrmals mit Wasser gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Nach dem Entfernen des Lösungsmittels wurde der Rückstand, ein bräunliches Öl, bei 10 mbar destilliert.

Ausbeute: 4,2 g (45%)

Siedepunkt: 148 - 150°C (10 mbar)

^{1}H-NMR-Spektrum ($CDCl_3$): 7,9 ppm Dublett (2H), 7,45 ppm Dublett (2H), 4,7 ppm Dublett von Tripletts (48 Hz) (2H), 4,2 ppm Dublett von Tripletts (23 Hz) (2H), 2,4 ppm Singulett (3H)

- 8-Chloro-11-(4-(1-fluorethyl)-1-piperazinyl)-5H-dibenzo[b,e]-[1,4]-diazepin

100 mg (320 µmol) Norclozapin wurden in 5 ml abs. Acetonitril gelöst. Anschließend erfolgte die Zugabe von 280 mg (1,28 mmol) 1-Fluor-2-tosyloxyethan und von 96 mg (320 µmol) Tetra(n-butyl)ammoniumhydrogencarbonat. Es wurde 1,5 h auf 85 - 90°C unter Rühren erwärmt. Zur Aufarbeitung wurde das Acetonitril im Vakuum entfernt und der Rückstand in Dichlormethan aufgenommen. Die Abtrennung des Produktes erfolgte säulenchromatographisch (Kieselgel Si 60, Dichlormethan : Methanol (98 : 2). Nachdem das Eluens im Vakuum entfernt worden war, wurde aus Dichlormethan/n-Hexan umkristallisiert.

Ausbeute: 23 mg (20%)

Schmelzpunkt: 143°C (Zers.)

^{1}H-NMR-Spektrum ($CDCl_3$): 7,45 - 6,55 ppm Multiplett (7H), 4,7 ppm Dublett von Tripletts (48 Hz) (2H), 4,25 ppm Dublett von Tripletts (23 Hz) (2H), 3,5 ppm Multiplett (8H)

- **Silber-trifluormethansulfonat auf α-Aluminiumoxid [43]**

5 g (19,4 mmol) Silber-trifluormethansulfonat wurden unter Argonatmosphäre und Lichtausschluß in 50 ml abs. Diethylether gelöst. Anschließend wurden 10 g α-Aluminiumoxid zugesetzt. Es wurde 30 min bei Raumtemperatur gerührt. Zu diesem Zeitpunkt wurde der Ether im Vakuum abdestilliert. Das Produkt wurde 4 h im Ölpumpenvakuum getrocknet. Das so dargestellte Silber-trifluormethansulfonat auf α-Aluminiumoxid konnte ohne weitere Reinigung zur Darstellung von [^{11}C]Methyltriflat eingesetzt werden.

- **Triphenylphosphindiiodid auf γ-Aluminiumoxid [37]**

14 g (61,3 mmol) Triphenylphosphin wurden in möglichst wenig abs. Diethylether gelöst. Es wurden 13 g (51,2 mmol) Iod in 150 ml Benzol unter heftigen Rühren bei Raumtemperatur zugetropft. Das Produkt fiel sofort in Form eines gelben Feststoffes aus. Nach Beendigung der Zugabe wurde zur Vervollständigung der Reaktion weitere 30 min bei Raumtemperatur gerührt. Schließlich wurde filtriert und aus abs. Acetonitril umkristallisiert.

Ausbeute: 21,9 g (83%)

Schmelzpunkt: 172°C (Zers.) (Lit.: 172 - 175°C [139])

Zur Fixierung des Triphenylphosphindiiodids auf γ-Alumuniumoxid wurde das Diiodid in 250 ml abs. Dichlormethan gelöst. Es folgte die Zugabe von 50 g γ-Alumuniumoxid. Die Suspension wurde 30 min bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde das Dichlormethan im Vakuum entfernt und das Produkt 12 h im Ölpumpenvakuum getrocknet. Das Produkt konnte ohne weitere Aufarbeitung zur Synthese von [^{11}C]Methyliodid eingesetzt werden.

- Tetra(n-butyl)- bzw. Tetramethylammoniumhydrogencarbonat [61]

Die als Phasentransferkatalysatoren eingesetzten quartären Ammoniumsalze wurden ausgehend von Tetra(n-butyl)- bzw. Tetramethylammoniumhydroxid dargestellt.

- Tetra(n-butyl)ammoniumhydrogencarbonat

Eine 20%ige wäßrige Lösung von Tetra(n-butyl)ammoniunhydroxid wurde mit gasförmigen Kohlendioxid bis zum Erreichen eines konstanten pH-Wertes gesättigt. Diese Lösung wurde unter Kohlendioxid-Atmosphäre aufbewahrt und ohne weitere Charakterisierung als 20%ige wäßrige Lösung von Tetra(n-butyl)ammoniumhydrogencarbonat eingesetzt.

- Tetramethylammoniumhydrogencarbonat

Eine 1 molare wässrige Lösung von Tetramethylammoniumhydroxid wurde mit gasförmigem Kohlendioxid bis zum Erreichen eines konstanten pH-Wertes gesättigt. Diese Lösung wurde unter Kohlendioxid-Atmosphäre aufbewahrt und ohne weitere Charakterisierung als 1 molare wäßrige Lösung von Tetramethylammoniumhydrogencarbonat eingesetzt.

3.3 Radiosynthesen

3.3.1 Produktion von n.c.a $[^{11}C]CO_2$

Kohlenstoff-11 wird am Babycyclotron BC 1710 des Institutes für Nuklearchemie der KFA Jülich GmbH über den $^{14}N(p,\alpha)^{11}C$-Prozeß erzeugt. Bei dem verwendeten Target handelt es sich um ein $[^{11}C]CO_2$-Batch-Targetsystem (vergleiche Abbildung 3.1). Die Protonenenergie beträgt hinter dem Targetfenster (on-gas) 13 MeV. Der Strahlstrom beträgt 30 µA, daraus resultieren Strahlendosen von mehr als 50 eV pro Molekül. Als Targetgas wird Kohlenmonoxid freier Stickstoff 5.9 der Fa. Linde verwendet. Der Gehalt an Sauerstoff beträgt 2 - 4 vpm. Das Target ist an die Keulenform des aufgeweiteten Strahls angepaßt. Dadurch wird eine Interaktion des Plasmas bzw. der gestreuten Protonen mit den Targetwandungen unterbunden [140,141]. Die

Länge des Targets beträgt 144 mm. Der Durchmesser am Kopf bzw. Ende des Targets beträgt 18 bzw. 44 mm. Die Geometrie des Targets bedingt eine optimale Energiedegradierung der Protonen von 13 auf 3 MeV bei einem Stickstoffdruck von 12 bar und einer Gastemperatur von 20°C [142]. Das Stickstoffvolumen beträgt unter Normalbedingungen 1344 ml. Während einer Bestrahlung mit einem Strahlstrom von 45 µA wächst der Innendruck auf bis zu 16 bar an. Das Targetmaterial besteht aus einer kohlenstofffreien $AlMg_3$-Legierung und das Leitungssystem innerhalb des Targets aus Titan. Das Doppelfenster am Targetkopf besteht aus einer 0,63 mm starken Aluminiumfolie, um das Target zu verschließen und einer 50 µm starken Aluminiumfolie, um das Vakuum im Cyclotron zu halten. Durch diese Fenster wird die Protonenenergie von 17 MeV auf 13 MeV reduziert. Dadurch wird die ^{13}N Produktion, die bei Protonenenergien von über 13 MeV über die $^{14}N(p,pn)^{13}N$ Reaktion stattfindet, verringert. Die beiden Fenster des Targets werden bei der Bestrahlung durch einen Heliumstrom (0,8 bar, -7°C) gekühlt. Der Körper des Targets wird über einen Wasserkreislauf gekühlt. Um Diffusion und Eindringen von Luft durch Leckagen während des Betriebs und den Vorbereitungen zu verhindern, ist ein ständiger Helium-Spülkreislauf vorgesehen.

Abbildung 3.1 zeigt ein Schnittbild des $[^{11}C]CO_2$ Targets sowie seiner Gasversorgung und Steuerung.

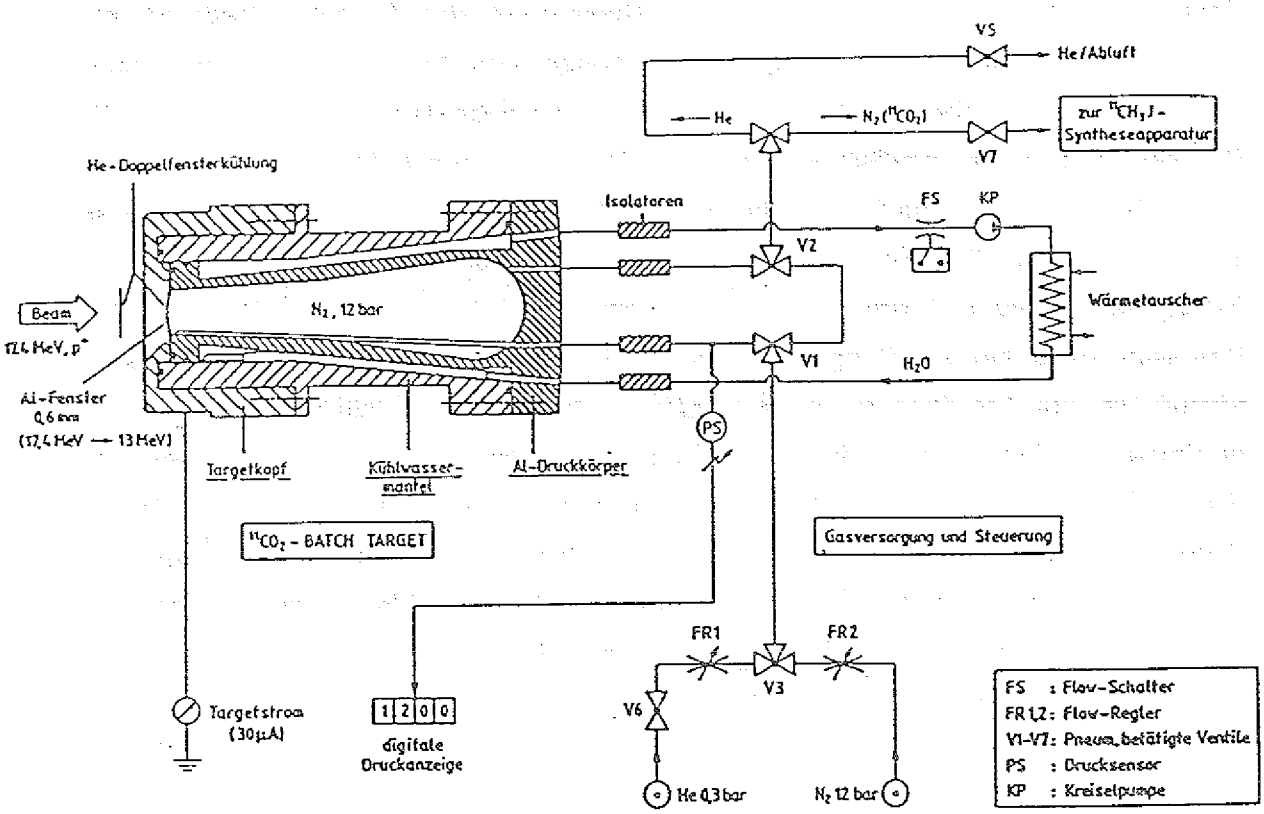


Abb. 3.1: Das $[^{11}C]CO_2$-Batch-Targetsystem am Babycyclotron BC 1710 des Institutes für Nuklearchemie des Forschungszentrums Jülich GmbH

3.3.2 Synthese von n.c.a. $[^{11}C]$Methyliodid

Die Synthese des $[^{11}C]$Methyliodids erfolgte durch Reduktion von $[^{11}C]CO_2$ mit $LiAlH_4$ in Tetrahydrofuran und anschließender Zersetzung des $[^{11}C]$Methanolates mit 67%iger wäßriger Iodwasserstoffsäure [35,36]:

$$2\,[^{11}C]CO_2 + 3\,LiAlH_4 \longrightarrow 2\,LiAlH_3(O[^{11}C]CH_3) + LiAlO_2$$

$$LiAlH_3(O[^{11}C]CH_3) \xrightarrow{H_2O} [^{11}C]CH_3OH \xrightarrow{HI} [^{11}C]CH_3I$$

Zunächst wurden die $[^{11}C]CO_2$-Entnahmevorrichtung und das Reaktionsgefäß (Volumen: 3 ml; mit GL-14 Schraubverschluß und Silicon-Septum verschließbar) 30 min mit Argon 5.7 (100 ml/min) gespült. Es wurden 250 µl mit $LiAlH_4$ gesättigtem Tetrahydrofuran unter Argon-Atmosphäre vorgelegt. Anschließend wurde in einem Dewar-Gefäß mittels Aceton/fl. N_2 auf -35° C gekühlt. Das n.c.a. $[^{11}C]CO_2$ wurde, direkt vom Target kommend, mit einem Stickstoff-Gasstrom von 50 ml/min durch die Reduktionslösung geleitet. Unter diesen Bedingungen wurden mehr als 98% des $[^{11}C]CO_2$reduziert. Dieses steht im Einklang mit der Literatur [35]. Nach der Reduktion wurde das Reaktionsgefäß in ein Ölbad von 130°C überführt. Das THF wurde in einem Heliumstrom von 100 ml/min abdestilliert und in einer Kühlfalle bei -78°C aufgefangen. Die Darstellung des $[^{11}C]$Methyliodids erfolgte durch Zugabe von 0,2 ml wäßriger 67%iger Iodwasserstoffsäure. Die Iodwasserstoffsäure wurde über eine 1 ml Tuberkulinspritze zugesetzt. Das derart synthetisierte $[^{11}C]$Methyliodid wurde in einem Heliumstrom von 30 ml/min bei 130°C aus dem Reaktionsgefäß destilliert. Zur Entfernung von Wasserspuren, Iodwasserstoffsäure und $[^{11}C]$Methanol wurde das $[^{11}C]$Methyliodid durch eine Trockensäule (Glasrohr; Länge: 10 cm, Innendurchmesser: 3,5 mm, Außendurchmesser: 6 mm; gefüllt: je zur Hälfte mit Phosphorpentoxid und feingepulvertem Natriumhydroxid) geleitet. Das getrocknete $[^{11}C]$Methyliodid wurde bei -50°C in einem Reaktionsgefäß (Volumen: 3 ml, mit GL-14 Schraubverschluß und Silicon-Septum verschließbar) in einer, den Markierungsvorläufer enthaltenden, Reaktionsmischung aufgefangen.

Die gasförmigen Stoffe wurden durch Injektionsnadeln (0,4 x 80 mm, Braun-Melsungen) über die Siliconsepta in die Reaktionsgefäße geleitet. Luer-Lock Anschlüsse und Verbindungsstücke aus Teflon der Firma Latek verbanden die Injektionsnadeln mit 1/16 Zoll Teflonleitungen. Die Trockensäule war mittels Übergangsstücke (6 mm auf 1/16 Zoll) aus Teflon der Firma Swagelock mit den Teflonleitungen verbunden.

Mit diesem Verfahren wurden radiochemische Ausbeuten von über 80% und spezifische Aktivitäten von mehr als 70000 GBq/mmol (EOS) erreicht. Der Zeitbedarf, bezogen auf EOB, betrug etwa 10 min. Die radiochemische Reinheit war > 99%.

Nach einem neueren Verfahren [37] wurde $[^{11}C]CH_3I$ auch on-line über Festphasenreaktionen wie folgt dargestellt:

$$2\,[^{11}C]CO_2 + 3\,LiAlH_4 \longrightarrow 2\,LiAlH_3(O[^{11}C]CH_3) + LiAlO_2$$

$$LiAlH_3(O[^{11}C]CH_3) \xrightarrow{ROH} [^{11}C]CH_3OH \xrightarrow{[\Phi_3PI]^+I^-} [^{11}C]CH_3I$$

$$ROH = CH_3CH_2CH_2CH_2OCH_2CH_2OCH_2CH_2OH$$

Diese neue Verfahren wurde für die automatisierten Synthesen von n.c.a. $[^{11}C]$Methyliodid eingesetzt. Bei diesen Synthesen wurde das $[^{11}C]CO_2$ im Stickstoffstrom mit einer Volumendurchflußgeschwindigkeit von 500 ml/min durch 150 µl einer mit $LiAlH_4$ gesättigten Tetrahydrofuran-Lösung geleitet. Die Reduktion fand bei -50°C statt. Das Tetrahydofuran wurde bei 130°C im Vakuum abdestilliert. Das $[^{11}C]$Methanolat wurde durch Zusatz von 500 µl Diethylenglykolmonobutylether hydrolysiert. Der Diethylenglykolmonobutylether enthielt 5% entgastes mit Helium gesättigtes Wasser. Das derart dargestellte $[^{11}C]$Methanol wurde bei 140°C mit einem Heliumstrom von 50 ml/min aus dem Reaktionsgefäß destilliert. Die n.c.a. Darstellung des $[^{11}C]$Methyliodids erfolgte "on-line" in einer Glaskolonne (60 x 5 mm) durch die Reaktion von $[^{11}C]$Methanol mit Triphenylphosphindiiodid auf γ-Aluminiumoxid (1 g) bei 160°C. Das so dargestellte n.c.a. $[^{11}C]$Methyliodid wurde über eine zweite, Natriumhydroxid und Phosphorpentoxid enthaltende, Kolonne (45 x 9 mm) destilliert und bei -50°C aufgefangen. Die Kolonnen waren durch Kugelschliffe untereinander verbunden. Die Verbindungen mit den Teflonleitungen waren durch entsprechende Übergangsstücke gegeben (siehe hierzu [37] und Abb. 3.2).

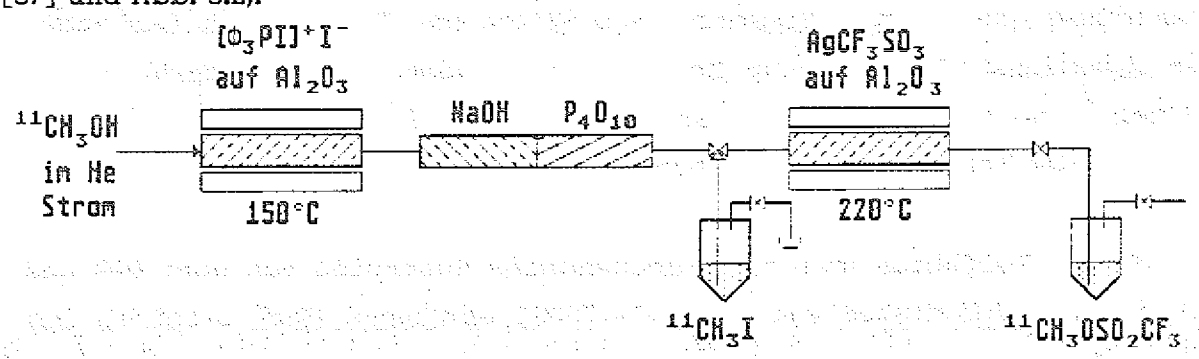


Abb. 3.2: Schematische Darstellung der on-line Synthese von n.c.a. $[^{11}C]CH_3I$ und n.c.a. $[^{11}C]CH_3OSO_2CF_3$ über Festphasenreaktionen

Mit diesem Verfahren wurden radiochemische Ausbeuten von 90% und spezifische Aktivitäten von mehr als 70000 GBq/mmol (EOS) erreicht. Der Zeitbedarf, bezogen auf EOB, betrug 11 min. Die radiochemische Reinheit war > 99%.

3.3.3 Synthese von n.c.a. [^{11}C]Methyltriflat

Die Darstellung des [^{11}C]Methyltriflates erfolgte ebenfalls "on-line" über die Reaktion von [^{11}C]Methyliodid mit Silber-trifluormethansulfonat bei 220°C im Durchflußsystem (siehe hierzu [43] und Abb. 3.2):

$$LiAlH_3(O[^{11}C]CH_3) \xrightarrow{ROH} [^{11}C]CH_3OH \xrightarrow{[\Phi_3PI]^+I^-} [^{11}C]CH_3I$$

$$ROH = CH_3CH_2CH_2CH_2OCH_2CH_2OCH_2CH_2OH$$

$$[^{11}C]CH_3I \xrightarrow{AgCF_3SO_3} [^{11}C]CH_3OSO_2CF_3$$

Das [^{11}C]Methyliodid wurde wie in Abschnitt 3.3.2 beschrieben dargestellt. Zur Konversion des [^{11}C]Methyliodids wurde hinter der Trockensäule eine Reaktionssäule (Glasrohr, Länge: 10 cm, Innendurchmesser: 3,5 mm, Außendurchmesser: 6 mm) eingebaut. Trockensäule und Reaktionssäule waren über Übergangsstücke (6 mm auf 1/16 Zoll) aus Teflon der Firma Swagelock und einer 1/16 Zoll Teflonleitung miteinander verbunden. Das Silber-trifluormethansulfonat auf α-Alumniumoxid (etwa 200 mg) wurde in der Mitte der mit Aluminiumfolie umwickelten Reaktionssäule mit Quarzwolle fixiert. Bei einer Füllhöhe von etwa 20 mm betrug die Kontaktzeit des [^{11}C]Methyliodids mit dem Silber-trifluormethansulfonat auf α-Aluminiumoxid bei einem Heliumstrom von 12 ml/min etwa 1 s. Die Reaktionssäule wurde mittels eines Heizbandes und Temperaturregelgerät (Fa. Heraeus) auf 220°C beheizt. Wasser- und Trifluormethansulfonsäurespuren wurden durch Ausheizen (60 min) im Heliumstrom bei 220°C entfernt. Zur Synthese des [^{11}C]Methyltriflates wurde das [^{11}C]Methyliodid in einem Heliumstrom von 12 ml/min über die auf 220°C erwärmte Reaktionssäule geleitet. Das [^{11}C]Methyltriflat wurde in einem inerten Lösungsmittel - in der Regel Chloroform - bei -20°C aufgefangen.

Mit diesem Verfahren war [^{11}C]Methyltriflat innerhalb von 10 bis 12 min (EOB) in radiochemischen Ausbeuten von etwa 75% (bezogen auf [^{11}C]CO_2) bzw. 85% (bezogen auf [^{11}C]Methyliodid) synthetisierbar. Die radiochemische Reinheit des isolierten [^{11}C]Methyltriflat betrug etwa 90%. Es konnten etwa 10% [^{11}C]Methyliodid nachgewiesen werden. Die spezifische Aktivität lag in der Größenordnung der Vorläuferverbindung [^{11}C]Methyliodid.

Die Darstellung des [^{11}C]Methyltriflates im Rahmen der automatisierten Reaktionsführung erfolgte analog der oben beschriebenen Synthese. Die Menge des eingesetzten Silber-trifluormethansulfonates auf α-Aluminiumoxid war der Geometrie und dem vergrössertem Heliumstrom angepaßt. Auch in diesem Fall betrug die Kontaktzeit des [^{11}C]Methyliodids mit dem Silbersalz etwa 1 s.

Im Falle der automatisierten Synthese von [^{11}C]Methyltriflat wurden radiochemische Ausbeuten von etwa 90% (bezogen auf [^{11}C]CO_2) bzw. etwa 95% (bezogen auf [^{11}C]Methyliodid) erreicht. Die etwas höhere Konversion des [^{11}C]Methyliodids bei der automatisierten Reaktionsführung erklärt sich aus der besseren Geometrie der verwendeten Reaktionssäulen. Der Zeitbedarf, bezogen auf EOB, betrug 12 min. Die spezifische Aktivität bewegte sich in der Größenordnung des Wertes, der für [^{11}C]Methyliodid ermittelt wurde.

3.3.4 Produktion von n.c.a. [^{18}F]Fluorid

[^{18}F]Fluorid wird am Babycyclotron BC 1710 des Institutes für Nuklearchemie der KFA Jülich GmbH über die ^{18}O(p,n)^{18}F Kernreaktion produziert. Das verwendete Target ist in Abbildung 3.3 dargestellt.

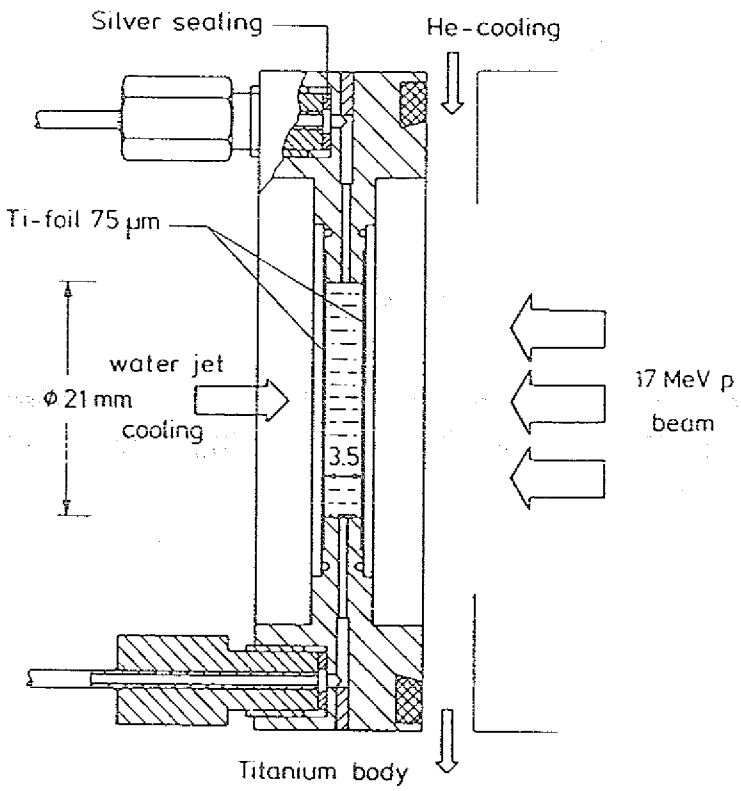


Abb. 3.3: Schnittbild des $H_2{}^{18}O$-Targets zur Produktion von $[^{18}F]F^-_{aq}$ über die $^{18}O(p,n)^{18}F$ Kernreaktion [55]

Die Targetzelle besteht aus einem Titankörper. Zwei Titanfolien bilden das vordere und das hintere Targetfenster. Der Innendurchmesser des Targets beträgt 21 mm und die Dicke der Wasserschicht 3,5 mm. Das Volumen des Targets beträgt 1,3 ml. Während der Bestrahlung wird das Eintrittsfenster mit Helium auf -7°C und das Austrittsfenster mit Wasser auf 8 bis 10°C gekühlt. Bestrahlt wird zu 98% angereichertes $H_2{}^{18}O$. Die Bestrahlung erfolgt mit 17 MeV Protonen und mit einem Strahlstrom von 25 µA. Während der Bestrahlung steigt der Druck im Target auf 5,5 bis 6,8 bar an.

Mittels dieses Targets können bei einem Strahlstrom von 25 µA innerhalb einer Stunde Aktivitätsmengen von über 37 GBq erzeugt werden. Bei EOB beträgt die spezifische Targetausbeute 2,41 GBq/µAh und die spezifische Aktivität des $[^{18}F]$Fluorids bei guter Qualität des $H_2{}^{18}O$ 7,4 TBq/µmol [5,143].

Nach Bestrahlungsende wird der Targetinhalt durch einen Heliumdruck von 1,3 bar aus dem Target herausgedrückt. Das Targetwasser kann nach der Fixierung des [^{18}F]Fluorids an Anionenaustauscherharzen zurückgewonnen und für weitere Bestrahlungen genutzt werden [144].

3.3.5 Durchführung der n.c.a. [^{11}C]Methylierungsreaktionen

Die [^{11}C]Methylierungsreaktionen wurden in Reaktionsgefäßen aus Duranglas durchgeführt. Die Reaktionsgfäße hatten ein Volumen von etwa 3 ml und waren mittels einer GL 14 Schraubkappe und Siliconseptum verschließbar. Im Reaktionsgefäß befand sich ein Magnetrührstäbchen (Länge: 12 mm).

Die Zugabe der Edukte erfolgte über 1 ml Tuberkulin- bzw. µl-Spritzen. Die Konzentration der Desmethylverbindung Norclozapin betrug in der Regel 1 mg (3 µmol)/ml Solvens, die des BOC-geschützten Norclozapins 2 mg (5 µmol)/ml Solvens.

Die Reaktionstemperatur wurde über ein Heizbad (Heizplatte mit Rührmotor, Ölbad, Temperaturregelung über ein Kontaktthermometer und zur Kontrolle der Temperatur ein zusätzliches Thermometer) vorgegeben.

Die [^{11}C]Methylierungsreagenzien [^{11}C]Methyliodid und [^{11}C]Methyltriflat wurden in 100 µl des für die Reaktion vorgesehenen Lösungsmittels aufgefangen. [^{11}C]Methyliodid wurde bei -50°C, [^{11}C]Methyltriflat bei -20°C aufgefangen. In der Regel wurden 185 bis 555 MBq der [^{11}C]Methylierungsreagenzien synthetisiert. Von der Lösung des [^{11}C]Methylierungsreagenzes wurden 10 µl mittels einer µl-Spritze entnommen und zu 150 µl einer Lösung von 1 mg Norclozapin (2 mg im Falle des BOC-geschützten Norclozapins) in 1 ml Solvens gegeben. Für DMSO konnte dieses Verfahren auf Grund des hohen Schmelzpunktes (18,4°C) nicht angewandt werden. Der hohe Schmelzpunkt bedingt ein Auffangen des [^{11}C]Methyliodids bei Raumtemperatur, was erhebliche Aktivitätsverluste verursacht. Zur Durchführung der Reaktionen in DMSO wurde [^{11}C]Methyliodid daher in 100 µl DMF aufgefangen.

Für die Aufnahme der Kinetiken für die Bildung der markierten Verbindungen wurde das [^{11}C]Methylierungsreagenz in 1 ml Reaktionsmischung aufgefangen. Zu festgelegten Zeitpunkten wurden Proben mittels einer 1 ml Injektionsspritze entnommen, in ein anderes Gefäß überführt und in flüssigem Stickstoff eingefroren.

Zur Ermittlung der Trägerabhängigkeiten wurde zunächst das inaktive Methylierungsmittel bei -50°C der Reaktionslösung zugesetzt. Anschließend erfolgte die Zugabe des [^{11}C]Methylierungsmittels.

Die Reaktionen wurden durch Einfrieren in flüssigen Stickstoff beendet. Der Zusatz eines Amins wie Triethylamin zum Abbrechen der Reaktion konnte nicht durchgeführt werden, da es unter diesen Bedingungen zu einer Zersetzung der Markierungsprodukte kommt.

Zur n.c.a. Synthese des Hauptmetaboliten des Clozapins, [N-Methyl-^{11}C]Clozapin-N-oxid, wurde zunächst [N-Methyl-^{11}C]Clozapin mittels [^{11}C]Methyltriflat in $CHCl_3$ synthetisiert. Die Konzentration des Norclozapins betrug bei diesen Synthesen 2 mg (6 µmol) in 1 ml Chloroform. Es wurden 1 ml der Reaktionsmischung eingesetzt und 10 min bei 55°C gerührt. Bei den Versuchen, die einen Wechsel des Solvens erforderten, wurde das Chloroform in einem Argonstrom von 100 ml/min bei 55°C abdestilliert. Zur Oxidation mittels 3-Chlorperoxybenzoesäure wurde zunächst im Eisbad auf 0°C abgekühlt. Es folgte die Zugabe von 50 µl einer Lösung von 2 mg (6 µmol) 3-Chlorperoxybenzoesäure in 1 ml Chloroform. Nach 2 min bei 0°C ist die Oxidation abgeschlossen. Bei den Versuchen mit Wasserstoffperoxid wurden 80 µmol (50 µl einer Lösung von 100 µl 30%igem Wassserstoffperoxid in 500 µl Ethanol) zugesetzt und die Reaktion unter den gewählten Reaktionsbedingungen durchgeführt. Für die Versuche mit Cumolhydroperoxid/Vanadium(III)oxid wurde das Reaktionsgefäß nach der Synthese des [N-Methyl-^{11}C]Clozapins geöffnet und 1 mg (7 µmol) Vanadium(III)oxid zugesetzt. Nachdem das Reaktionsgefäß wieder geschlossen war, wurden mittels einer µl-Spritze 10 µl (65 mmol) Cumolhydroperoxid zugesetzt und die Reaktion unter den gewählten Bedingungen durchgeführt. Zur Darstellung des [N-Methyl-^{11}C]Clozapin-N-oxids über eine Quarternisierungsreaktion am Peroxybenzoyl-Derivat

des Norclozapins wurden 2 mg (5 µmol) des Vorläufers vorgelegt und die Methylierung mit [^{11}C]Methyltriflat unter den gewählten Reaktionsbedingungen durchgeführt. Zur Hydrolyse wurden 150 µl einer 5%igen Ammoniaklösung zugesetzt und 10 min bei 55°C gerührt.

Bei den Synthesen mit [^{11}C]Methyliodid in Gegenwart von festem Silber-trifluormethansulfonat wurden zusätzlich zum Markierungsvorläufer noch 2 mg (8 µmol) festes Silber-trifluormethansulfonat vorgelegt. Die Reaktionen wurden unter Lichtausschluß durchgeführt. Nach Beendigung der vorgegebenen Reaktionszeit wurde das Reaktionsgemisch im Eisbad abgekühlt. Zur Abspaltung der Schutzgruppe wurden 5 µl (36 µmol) Iodtrimethylsilan in 50 µl abs. Chloroform zugesetzt. Es wurde 5 min bei Raumtemperatur belassen. Zur Solvolyse des resultierenden Trimethylsilylcarbamates wurden 100 µl Methanol zur Reaktionsmischung gegeben.

Bei der Abspaltung der BOC-Schutzgruppe mittels Iodtrimethylsilan wird Iodid frei. Dieses reagiert mit dem Silber-trifluormethansulfonat unter der Bildung von Silberiodid. Um Adsorptionsverluste an dem sehr voluminösen Silberiodid zu vermeiden, ist der Zusatz eines Reduktionsmittels zur Zersetzung des Silberiodids unbedingt erforderlich. Dieses Reduktionsmittel wurde im Anschluß an die Solvolyse zugesetzt. In diesem Zusammenhang hat sich insbesondere Natrium-trimethoxyborhydrid bewährt. Zur Zersetzung des Silberiodids wurden 10 mg (80 µmol) dieses sehr milden Reduktionsmittels in 100 µl abs. Tetrahydrofuran zugesetzt. Das Silber lag nach der Reduktion in kolloidaler Form vor. Das Markierungsprodukt wird unter diesen Bedingungen nicht angegriffen.

Die schnelle Abspaltung der BOC-Schutzgruppe mittels Trifluoressigsäure erfordert die Abtrennung des Lösungsmittels. Zu diesem Zweck wurde die Reaktionsmischung mit 2 ml Wasser verdünnt. Diese Lösung wurde mittels einer 5 ml Injektionsspritze aufgenommen und über eine Sep-Pak™ C-18 Kartusche (360 mg, Fa. Waters) geleitet. Markierungsprodukt und Markierungsvorläufer wurden unter diesen Bedingungen quantitativ auf der C-18 Kartusche fixiert. Die Reste des dipolar aprotischen Solvens wurden mit 10 ml Wasser von der Kartusche gewaschen. Das Markierungsprodukt wurde

mit 1 ml reiner Trifluoressigsäure eluiert. Zur Protolyse der Schutzgruppe wurde die Reaktionsmischung 5 min bei Raumtemperatur belassen. Die saure Lösung wurde unter Eiskühlung mit konzentrierter Ammoniaklösung neutralisiert und mit Wasser auf ein Volumen von 10 ml verdünnt. Das Markierungsprodukt wurde erneut auf einer Sep-Pak™ C-18 Kartusche fixiert, mit Wasser gewaschen und schließlich mit 2 ml Methanol eluiert. Die Sep-Pak™ C-18 Kartuschen wurden vor ihrem Einsatz zunächst mit Acetonitril gewaschen und durch Spülen mit Wasser konditioniert. Bei der Verwendung der halogenierten Kohlenwasserstoffe als Solventien kann auf die erste Fixierung an der Sep-Pak™ C-18 Kartusche verzichtet werden. Diese Lösungsmittel können durch Destillation im Argonstrom (100 ml/min) bei 60°C schnell entfernt werden. Zur Abtrennung des Reaktionsproduktes nach der Neutralisation ist aber auch hier eine Festphasenfixierung unumgänglich.

Die automatisierten Synthesen von [N-Methyl-^{11}C]Clozapin und von [N-Methyl-^{11}C]Clozapin-N-oxid wurden in einer ferngesteuerten [^{11}C]Methylierungsapparatur durchgeführt. Diese [^{11}C]Methylierungsapparatur mußte lediglich hinsichtlich einer Festphasenextraktion der Markierungsprodukte aus dem Eluentenstrom der semipräparativen HPLC an einer Kationenaustauscherkartusche modifiziert werden. Die eingesetzte [^{11}C]Methylierungsapparatur ist in Abbildung 3.4 schematisch dargestellt.

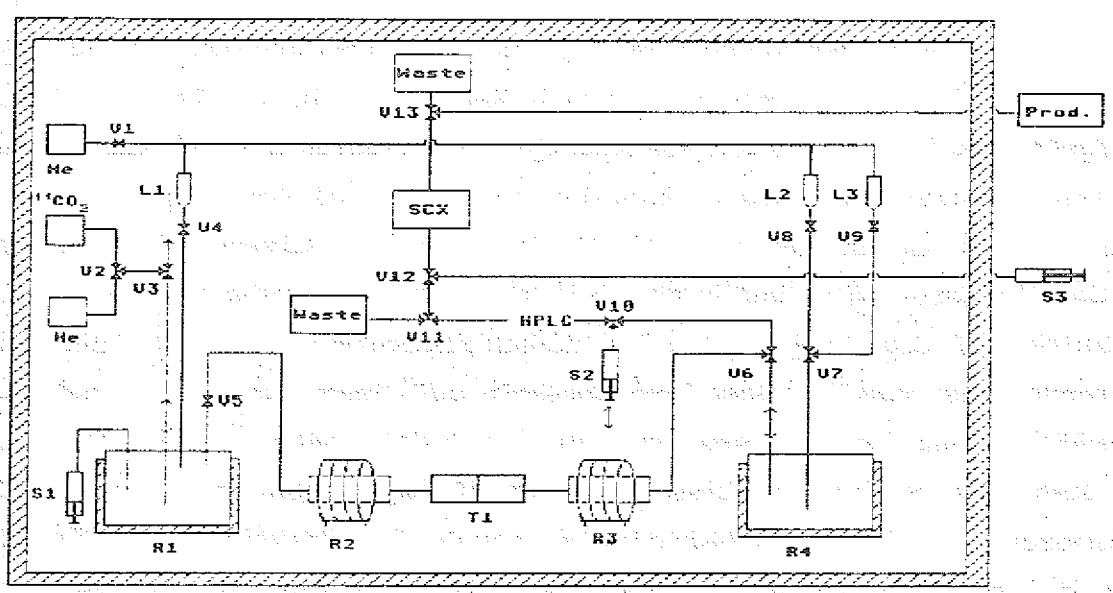


Abb. 3.4: Schema der zur automatisierten Synthese der Markierungsprodukte eingesetzten [^{11}C]Methylierungsapparatur

V1 - V13:	elektrisch schaltbare Ventile
S1:	inertisierbare Spritze zur Zugabe der Reduktionslösung
S2:	Spritze mit Motorantrieb zur Entnahme der Reaktionsmischung und Aufgabe auf die HPLC
S3:	Spritze zur Zugabe der Elutionslösung im Anschluß an die Festphasenextraktion
R1:	Reaktor zur Darstellung des $[^{11}C]CH_3OH$
R2:	Reaktionssäule zur Darstellung des $[^{11}C]CH_3I$ über die Reaktion von Φ_3P^+-I I^- mit $[^{11}C]CH_3OH$ (T = 150°C)
R3:	Reaktionssäule zur Darstellung des $[^{11}C]CH_3OSO_2CF_3$ über die Reaktion von $[^{11}C]CH_3I$ mit Silber-trifluormethansulfonat (T = 250°C)
R4:	Reaktor zur $[^{11}C]$Methylierung von Norclozapin
T1:	Trockenrohr gefüllt mit NaOH und P_4O_{10}
L1 - L3:	Vorratsgefäße zur Zugabe von Reaktionslösungen
HPLC:	Radio-HPLC, bestehend aus Injektionsblock, Pumpe, NaI- und UV-Detektor
SCX:	"Adsorbex SCX" Kationenaustauscherkartusche zur Festphasenextraktion
Waste:	Behälter zum Auffangen nicht benötigter Lösungen
Prod:	steriles Gefäß zur Aufnahme des Produktes

Die automatisierte n.c.a Synthese von $[^{11}C]$Methyliodid bzw. $[^{11}C]$Methyltriflat wurde wie in den Abschnitten 3.3.2 und 3.3.3 beschrieben durchgeführt. Das $[^{11}C]$Methylierungsreagenz wurde in Reaktor R4 in der Reaktionslösung aufgefangen. Zum Ausgleich von Adsorptionsverlusten beim Befüllen dieses Reaktors betrug die Konzentration der Desmethylverbindung Norclozapin im Rahmen der automatisierten Synthese 2 mg/ml Solvens. Nachdem das $[^{11}C]$Methylierungsreagenz in den Reaktor R4 übergetrieben war, wurde der Reaktor auf die vorgegebene Reaktionstemperatur aufgeheizt und, entsprechend der vorgegebenen Reaktionszeit, auf dieser Temperatur gehalten. Die Abtrennung der Markierungsprodukte aus dem Reaktionsgemisch erfolgte über eine semipräparative Hochdruckflüssigkeitschromatographie. Zur Isolierung des Markierungsproduktes wurde die Reaktionsmischung über die Spritze S2 aus dem Reaktor entnommen und über eine 5 ml fassende Probenschleife auf die Trennsäule gegeben. Die Fraktion des Produktes wurde

geschnitten und der Eluentenstrom mit dem Markierungsprodukt über eine "Adsorbex-SCX" Kationenaustauscherkartusche (400 mg, Fa. Merck) geleitet. Die Fixierung der Markierungsprodukte war selbst bei Volumenströmen von 10 ml/min quantitativ. Die "Adsorbex-SCX" Kartuschen wurden mit 1%iger Essigsäure beladen und mit etwa 80 ml Wasser neutral gewaschen. Nachdem das Produkt fixiert worden war, wurden Eluensreste mit 10 ml Wasser von der "Adsorbex-SCX"-Kartusche gewaschen. Zur Neutralisation des Austauschermaterials wurden 20 mg (240 µmol) Natriumhydrogencarbonat in 1 ml Wasser über die "Adsorbex-SCX"-Kartusche geleitet. Anschließend wurde erneut mit 2 ml Wasser gewaschen. Die Elution erfolgte mittels 0,5 ml Ethanol und anschließend mit 9,5 ml isotonischer Kochsalzlösung. Mit diesem Verfahren konnten etwa 75% des fixierten Produktes eluiert werden. Die Adsorptionsverluste betrugen demnach etwa 25%.

Zur n.c.a. Synthese des [N-Methyl-^{11}C]Clozapin-N-oxids muß nach der Darstellung des [N-Methyl-^{11}C]Clozapins 3-Chlorperoxybenzoesäure zugesetzt werden. Unter Berücksichtigung des Trägergehaltes wurden etwa 150 nmol 3-Chlorperoxybenzoesäure in 200 µl Chloroform zugesetzt. Um eine Temperaturerhöhung im Zeitpunkt der Zugabe zu vermeiden, wurde die Teflonleitung über die die 3-Chlorperoxybenzoesäure in den Reaktor geleitet wird, durch die Kühlung für Reaktor R4 gelegt. Die Zugabe erfolgte bei -20°C. Anschließend wurde auf 0°C erwärmt und 2 min auf dieser Temperatur belassen. Die Abtrennung und Isolierung des Produktes erfolgte analog der Aufarbeitung des [N-Methyl-^{11}C]Clozapins.

Bei allen Ausbeuten handelt es sich um zerfallskorrigierte radiochemische Ausbeuten. Bei den Optimierungsversuchen beziehen sich die radiochemischen Ausbeuten auf die nach der [^{11}C]Methyliodid bzw. [^{11}C]Methyltriflat Synthese in der Reaktionsmischung befindlichen Aktivität. Dieser Wert wurde über einen Aliquotwert ermittelt. Der Aliquotwert wurde bestimmt, in dem über einen zweiten Injektionsblock das gleiche Volumen wie zur Trennung aufgegeben wird. Dieser zweite Injektionsblock ist hinter der Trennsäule und vor dem Detektionssystem installiert, d. h. die Trennsäule wird umgegangen. Durch dieses Verfahren werden Verluste auf der Trenn-

säule vermieden. Desweiteren ist bei diesem Verfahren die Zählgeometrie bei der Aktivitätsmessung der radioaktiven Fraktionen und des Aliquotwertes identisch. Die ermittelten Werte sind somit bei der Umrechnung auf den gleichen zeitlichen Bezugspunkt direkt vergleichbar. Die injizierten Aktivitätsmengen sind so gewählt, daß die Totzeit des NaI(Tl)-Szintillationszählers vernachlässigbar ist. In der Regel werden Aktivitätsmengen von 30 bis 100 kBq aufgetrennt. Gegebenenfalls wird die Reaktionsmischung verdünnt, bis diese Aktivitätsmengen erreicht sind. Die Fläche des Aliquotwertes erscheint als sehr scharfes und hohes Signal. Um auch in diesem Fall die Totzeit vernachlässigen zu können, wird mit der Bestimmung des Aliquotwertes so lange gewartet - in der Regel drei Halbwertzeiten - bis die Totzeitkorrektur nicht mehr erforderlich ist.

3.3.6 Durchführung der n.c.a. [^{18}F]Fluorierungssynthesen

Die [^{18}F]Fluorierungsreaktionen wurden in Reaktionsgefäßen aus Quarzglas durchgeführt. Die Reaktionsgefäße hatten ein Volumen von etwa 3 ml und waren mittels einer GL 14 Schraubkappe und Siliconseptum verschließbar. Im Reaktionsgefäß befand sich ein Magnetrührstäbchen (Länge: 12 mm).

Die Zugabe der Edukte erfolgte wie im Falle der [^{11}C]Methylierungssynthesen über 1 ml Tuberkulin- oder µl Spritzen.

Die Reaktionstemperatur wurde über ein Heizbad (Heizplatte mit Rührmotor, Ölbad, Temperaturregelung über ein Kontaktthermometer und zur Kontrolle der Temperatur ein zusätzliches Thermometer) vorgegeben.

In der Regel wurden die Synthesen mit Aktivitätsmengen an [^{18}F]Fluorid in der Größenordnung von 15 bis 30 MBq durchgeführt.

Zur Anionenaktivierung mittels des Aminopolyethers Kryptofix 2.2.2 wurde der wäßrigen Lösung des [^{18}F]Fluorids 1 mg (7 µmol) Kaliumcarbonat als nicht isotoper Träger zugesetzt. Es folgte die Zugabe von 7,5 mg (20 µmol)

Kryptofix 2.2.2 in 1 ml Acetonitril. Das Kryptat wurde unter mehrmaliger Zugabe von jeweils 1 ml Acetonitril durch azeotrope Destillation bei 90°C im Heliumstrom (100 ml/min) getrocknet.

Bei der Verwendung von Tetra(n-butyl)- bzw. Tetramethylammoniumhydrogencarbonat als Phasentransferkatalysator war der Zusatz von Kaliumcarbonat nicht erforderlich. In diesen Fällen wurde die wäßrige Lösung des [^{18}F]Fluorids mit 20 µl der 1 M Tetramethylammoniumhydrogencarbonat-Lösung bzw. mit 20 µl der 20%igen wäßrigen Lösung von Tetra(n-butyl)ammoniumhydrogencarbonat versetzt. Das Wasser wurde ebenfalls durch mehrmalige azeotrope Destillation mit Acetonitril im Heliumstrom bei 90°C entfernt.

Zur n.c.a. Synthese des 1-[^{18}F]Fluor-2-tosyloxyethans wurden zu dem vom Lösungsmittel befreiten Phasentransferkatalysator/[^{18}F]Fluorid-Gemisch, je nach den gewählten Reaktionsbedingungen, 2 bis 4 mg (5 bis 10 µmol) Ethylenglykol-1,2-ditosylat in 250 µl Acetonitril zugesetzt. Es wurde 10 min bei 80°C gerührt. Wurde für die nachfolgende Umsetzung des 1-[^{18}F]Fluor-2-tosyloxyethans ein anderes Solvens benötigt, so wurde das Acetonitril bei 80°C im Heliumstrom (100 ml/min) abdestilliert.

Zur n.c.a. Synthese des "[N-(1-[^{18}F]Fluorethyl)]Clozapins" wurde der Markierungsvorläufer Norclozapin zur Lösung des 1-[^{18}F]Fluor-2-tosyloxyethans zugesetzt. Bei einer Reaktionsführung in Acetonitril wurden 5 mg (16 µmol) Norclozapin in 150 µl Acetonitril zugegeben. Wurde die Reaktion in einem anderen Solvens durchgeführt, so wurde die gleiche Norclozapinmenge in 400 µl des entsprechenden Lösungsmittels zugesetzt.

Die Reaktionen wurden durch Einfrieren in flüssigen Stickstoff abgebrochen.

Bei der Aufnahme der Kinetik der Bildung des "[N-(1-[^{18}F]Fluorethyl)]Clozapins" wurden dem Reaktionsgemisch zu vorgegebenen Zeiten Proben entnommen und in flüssigem Stickstoff eingefroren.

Zur Ermittlung der Trägerabhängigkeit wurde Kaliumfluorid in Form einer wäßrigen Lösung zur $[^{18}F]F^-_{aq}/TMAHCO_3$ Lösung zugesetzt. Die Menge des Tetramethylammoniumhydrogencarbonates wurde entsprechend dem Zusatz an Kaliumfluorid erhöht. Es wurde jeweils mindestens ein 1,5 facher Überschuß an Tetramethylammoniumhydrogencarbonat eingesetzt.

Bei allen Ausbeuten handelt es sich um zerfallskorrigierte radiochemische Ausbeuten. Sie beziehen sich auf die in Lösung befindliche Radioaktivität. Adsorptionsverluste an den Wänden der Reaktionsgefäße sind nicht berücksichtigt. Es wurde jedoch ermittelt, daß bei den durchgeführten $[^{18}F]$Fluorierungsreaktionen zwischen 90 und 95% des eingesetzten $[^{18}F]$Fluorids in Lösung war. Die Menge der in der Lösung befindlichen Aktivität wurde über einen Aliquotwert bestimmt. Bezüglich der Bestimmung des Aliquotwertes, der Zählgeometrie und der Berücksichtigung der Totzeit gilt das in Abschnitt 3.3.5 Gesagte.

3.3.7 Bestimmung der spezifischen Aktivität der markierten Reaktionsprodukte

Die Kenntnis der spezifischen Aktivität ist vor allem bei der Markierung von Rezeptorliganden von besonderer Bedeutung, da diese oftmals nur in nanomolaren Konzentrationen eingesetzt werden können. Daher ist es notwendig, die spezifische Aktivität sowohl für das $[^{11}C]$Methylierungsreagenz $[^{11}C]$Methyliodid als auch für die markierten Reaktionsprodukte [N-Methyl-^{11}C]Clozapin, [N-Methyl-^{11}C]Clozapin-N-oxid, "5-([N-Methyl-^{11}C]) Clozapin" und "[N-(1-$[^{18}F]$Fluorethyl)]Clozapin" zu bestimmen. Die spezifische Aktivität des $[^{11}C]$Methyliodids wurde auf gaschromatographischem Wege, die der übrigen Verbindungen über die Hochdruckflüssigkeitschromatographie bestimmt.

Für die Ermittlung der spezifischen Aktivität des $[^{11}C]$Methyliodids wurde eine Eichgerade, Methyliodid-Trägermenge gegen die Signal-Fläche, erstellt. Zur Bestimmung des Trägergehaltes wurde das $[^{11}C]$Methyliodid in 100 µl Tetrahydrofuran aufgefangen. Von diesen 100 µl wurden 10 µl gaschro-

matographisch aufgetrennt. Die [^{11}C]Methyliodid Fraktion wurde auf Aktivkohle (Aktivkohleröhrchen: Länge: 30 mm, Innendurchmesser: 3,5 mm, Außendurchmesser: 6 mm, gefüllt mit Aktivkohle (60 bis 80 mesh)) fixiert und in einem geeichten NaI(Tl)-Szintillationszähler gezählt. Das Signal des Trägers und die bestimmte Aktivitätsmenge können nun in Bezug gesetzt werden. Für die spezifische Aktivität des [^{11}C]Methyliodids wurde ein Wert von bis zu 70000 GBq/mmol (EOS) ermittelt.

Die spezifische Aktivität des [^{11}C]Methyltriflates kann unter den gewählten gaschromatographischen Bedingungen nicht ermittelt werden, da es zu einer Methylierung des Packungsmaterials der gaschromatographischen Trennsäule kommt. [^{11}C]Methyltriflat wird über [^{11}C]Methyliodid synthetisiert. Es ist daher davon auszugehen, daß die spezifische Aktivität dieses [^{11}C]Methylierungsreagenz in der Größenordnung des Wertes für [^{11}C]Methyliodid liegt. Die zur Ermittlung der spezifischen Aktivität ermittelte Eichgerade des [^{11}C]Methyliodids ist in Abbildung 3.5 dargestellt.

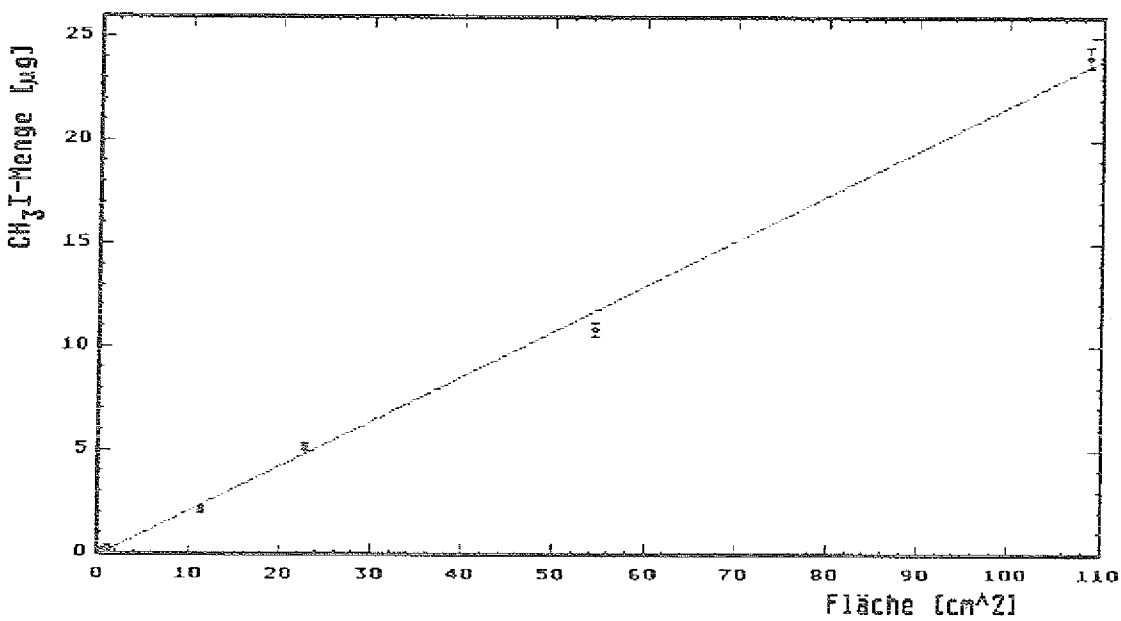


Abb. 3.5: Eichgerade zur Bestimmung der spezifischen Aktivität des Markierungsreagenz [^{11}C]Methyliodid (Säule: Glasspirale (Länge 1m, Innendurchmesser 3,5mm) gepackt mit Triton X-100 (20 Gew.%) auf Volaspher A1 100 - 120 mesh; Trägergas: He 6.0; Volumendurchflußgeschwindigkeit: 20 ml/min; Ofentemperatur: 100°C; WLD-Detektortemperatur: 180°C; Injektortemperatur: 130°C; Injiziertes Volumen: 10 µl; Meßstrom: 110 mA)

Zur Ermittlung der spezifischen Aktivität der [^{11}C]markierten Reaktionsprodukte wurde ebenfalls eine Eichgerade erstellt. Zu diesem Zweck wurde die Clozapinmenge gegen die Fläche des UV-Signals aufgetragen. Diese Eichung war auch auf das Clozapin-N-oxid und "5-(N-Methyl)Clozapin" übertragbar. Zur Überprüfung der Übertragbakeit wurden die UV-Signale jeweils identischer Mengen der entsprechenden Verbindungen verglichen. Dabei zeigte sich, daß die Extinktionskoeffizienten für die drei Verbindungen bei einer Detektionswellenlänge von 254 nm die gleiche Größenordnung haben. Zur Bestimmung der spezifischen Aktivität wurden die [^{11}C]Methylierungsreaktionen in 250 µl des entsprechenden Solvens durchgeführt. Von diesen 250 µl wurden 20 µl über die Hochdruckflüssigkeitschromatographie aufgetrennt. Die Fraktion des zu untersuchenden Markierungsproduktes wurde geschnitten und die Aktivität in einem NaI(Tl)-Szintillationszähler gezählt. Damit sind die Masse des Markierungsproduktes und die Radioaktivität aufeinander beziehbar. Für alle drei [^{11}C]Methylierungsprodukte wurde für die spezifische Aktivität ein Wert von 25 bis 50 GBq/µmol (EOS) ermittelt. Unter Berücksichtigung des unterschiedlichen zeitlichen Bezugspunktes waren die hier ermittelten spezifischen Aktivitäten in der Größenordnung des für [^{11}C]Methyliodid ermittelten Wertes. Die Eichgerade zur Ermittlung des Trägergehaltes von [N-Methyl-^{11}C]Clozapin ist in Abbildung 3.6 dargestellt.

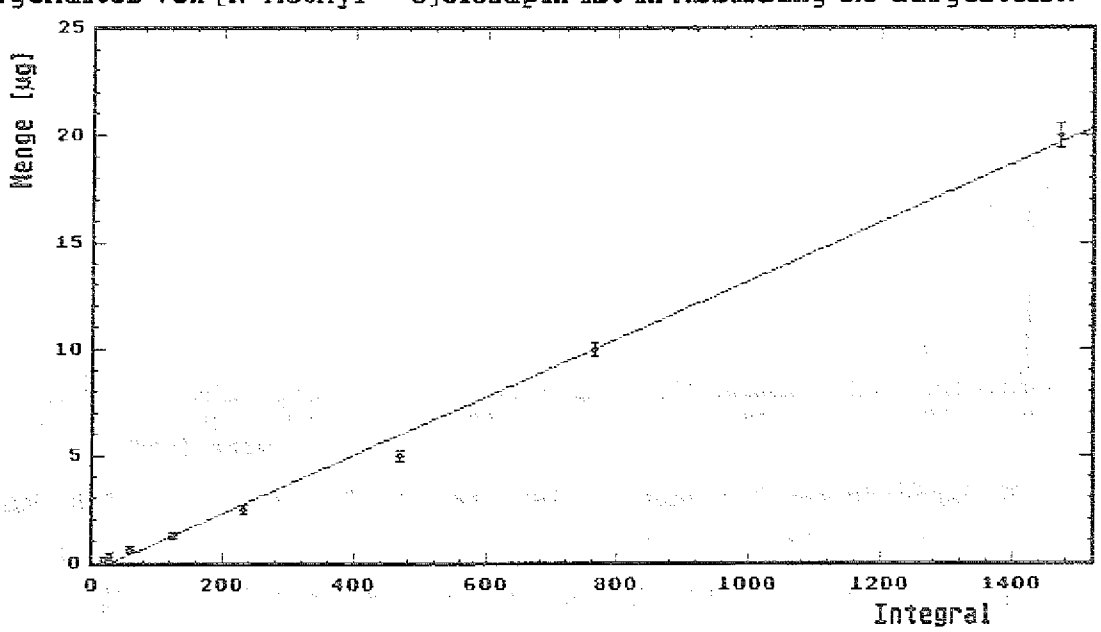


Abb. 3.6: Eichgerade zur Bestimmung der spezifischen Aktivität des Markierungsproduktes [N-Methyl-^{11}C]Clozapin (Säule: Lichrospher Si 60 Select B 5 (125 x 4,6 mm); Eluens: 90% Acetonitril, 10% 0,01M Ammoniumacetat; Volumenfluß des Eluens: 1 ml/min; Wellenlänge: 254 nm)

Zur Bestimmung der spezifischen Aktivität des [^{18}F]Fluoralkylierungsproduktes "[N-(1-[^{18}F]Fluorethyl)]Clozapin" wurde ebenfalls eine Eichgerade (Menge gegen UV-Signal) erstellt. Die Bestimmung der spezifischen Aktivität dieses Produktes erfolgte analog dem Verfahren zur Bestimmung der spezifischen Aktivität der [^{11}C]markierten Produkte. Für das "[N-(1-[^{18}F]Fluorethyl)]Clozapin" wurde ein Wert für die spezifische Aktivität in der Größenordnung von 500 GBq/µmol ermittelt. Die Eichgerade zur Ermittlung des Trägergehaltes ist in Abbildung 3.7 dargestellt.

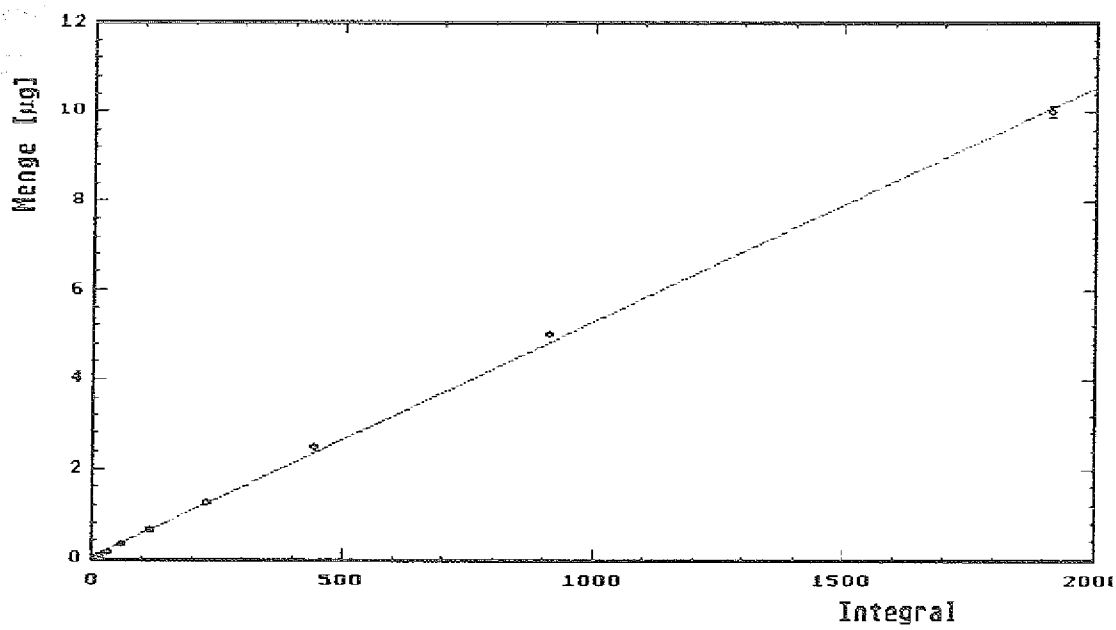


Abb. 3.7: Eichgerade zur Bestimmung der spezifischen Aktivität des Markierungsproduktes [N-(1-[^{18}F]Fluorethyl)]Clozapin (Säule: LiChrospher Si 60 Select B 5 (125x4,6 mm); Eluens: CH_3OH : H_2O 70 : 30; Flow: 2 ml/min; Wellenlänge 254 nm)

3.3.8 Bestimmung der radiochemischen Reinheit

Neben der spezifischen Aktivität ist die radiochemische Reinheit der synthetisierten Produkte ein wichtiges Kriterium bei der n.c.a. Synthese markierter Verbindungen. Es ist immer möglich, daß in der vermeintlichen Fraktion des Produktes ein oder mehrere weitere markierte Verbindungen sind. Zur Bestimmung der radiochemischen Reinheit wurde die über ein chromatographisches Verfahren isolierte Fraktion des Produktes erneut ei-

ner Chromatographie unterworfen. Diese zweite Chromatographie wurde mit einem System durchgeführt, welches ganz andere Trennbedingungen als das erste System aufweist. Die radiochemische Reinheit ist dann durch den Anteil des markierten Produktes an der Gesamtaktivität in der isolierten Fraktion gegeben. Im vorliegenden Fall wurden die synthetisierten Markierungsprodukte im Rahmen einer Hochdruckflüssigkeitschromatographie an sogenannten Umkehrphasen (reversed phase; RP) isoliert. Die Bestimmung der radiochemischen Reinheit erfolgte über eine Hochdruckflüssigkeitschromatographie an einer sogenannten Normalphase (Si 100 Material). Diese Trennsäulen weisen ganz verschiedene Oberflächenstrukturen auf und erfordern deshalb auch ganz verschiedene Eluentensysteme (siehe Abschnitt 3.4.2).

Für die [^{11}C]markierten Verbindungen wurden radiochemische Reinheiten von über 99% erreicht. Im Falle des [N-(1-[^{18}F]Fluorethyl)]Clozapins war die radiochemische Reinheit > 98%.

3.4 Analytische Verfahren

Zur Ermittlung der radiochemischen Ausbeute und Reinheit werden verschiedene analytische Verfahren eingesetzt. Die kurze Halbwertzeit der eingesetzten Nuklide bedingt eine sehr schnelle Abtrennung und Charakterisierung der Produkte. Es kommen daher vorwiegend die Radiogas- und Radiohochdruckflüssigkeitschromatographie, sowie die Radiodünnschichtchromatographie zum Einsatz.

3.4.1 Radiogaschromatographie

Die Reinheit und die spezifische Aktivität des flüchtigen [^{11}C]Methylierungsmittel [^{11}C]Methyliodid wird auf gaschromatographischem Wege bestimmt. Zur Untersuchung stand ein Gaschromatograph vom Typ IGC 121-2 der Firma "delsi instruments" zur Verfügung. Der Gaschromatograph ist mit einem Wärmeleitfähigkeitsdetektor (WLD) und einem Flammenionisati-

onsdetektor (FID) ausgestattet. Die Analyse der Produktgemische erfolgte mit dem WLD. Zum kontinuierlichen Nachweis der radioaktiven Fraktionen wurde der Gasstrom nach der Passage des WLD aus dem Gaschromatographen in einer beheizten 1/16 Zoll Stahlkapillare herausgeführt und über einen NaI(Tl)-Szintillationszähler (Durchmesser: 8 cm) geleitet, der an einen Radioaktivitätszähler (Fa. Ortec) angeschlossen ist. Zur diskontinuierlichen Detektion wurden die aktiven Fraktionen in mit Aktivkohle gefüllten Glasröhrchen (Länge: 30 mm, Innendurchmesser: 3,5 mm, Außendurchmesser: 6 mm, Aktivkohle 60 bis 80 mesh) aufgefangen und in einem NaI(Tl)-Bohrlochkristall (Bohrlochdurchmesser: 2,5 cm; Tiefe: 3 cm) ausgemessen. Der verwendete NaI(Tl) Szintillationszähler (EG & G Ortec, Model 276 Photomultiplier Base; Verstärker: EG & G ACE Mate™ Amplifier and Bias Supply) weist eine Zählausbeute von 28% für die 511 keV γ-Strahlen auf. Die Signale von WLD und Radioaktivitätsdetektor wurden mit einem Zwei-Kanal-Schreiber (Fa. Linseis) aufgezeichnet.

Die verwendete Trennsäule war eine Glasspirale (Länge: 1 m, Innendurchmesser: 3,5mm, Außendurchmesser: 6 mm) gepackt mit Triton X-100 (20 Gew.%) auf Volaspher A1 (100 - 120 mesh). Als Trägergas wurde He 6.0 eingesetzt. Der Volumenstrom des Trägergases betrug 20 ml/min. Die Trennung wurde bei 100°C isotherm durchgeführt. Der WLD-Detektor wurde auf 180°C, der Injektor auf 130°C geheizt. Für den Brückenstrom des WLD wurden 110 mA eingestellt. Das Injizierte Volumen betrug 10 µl.

Die chromatographischen Daten der untersuchten Verbindungen sind in Anhang A aufgeführt.

3.4.2 Radiohochdruckflüssigkeitschromatographie

Die Trennung und Identfizierung der mit ^{11}C und ^{18}F markierten Produkte erfolgte über die Radiohochdruckflüssigkeitschromatographie. Das verwendete HPLC-System bestand aus einer HPLC-Pumpe mit analytischem Pumpenkopf (Sykam, Typ S-1000), einem Mischer (Sykam, Typ S-110), einem UV-Photometer mit variabler Wellenlänge (Beckman, Typ 165), einem NaI-Bohr-

lochkristalldetektor (EG & G Ortec, Model 276 Photomultiplier Base) und einem Verstärkerteil (EG & G ACE Mate™ Amplifier and Bias Supply). Die Probenaufgabe erfolgte über einen Injektionsblock (Rheodyne, Typ 7125) mit einer 20 µl Probenschleife. Im Anschluß an die Trennsäule war ein weiterer Injektionsblock (Rheodyne, Typ 7125), ebenfalls mit einer 20 µl Probenschleife, zur Aufgabe eines Aliquots installiert. Aufzeichnung, Auswertung und Verarbeitung der Meßwerte erfolgte rechnergestützt über das "Radio-Chromato-Graphik-System" (Nina, Version 3.4) der Fa. Nuclear Interface. Die Messung der Radioaktivität erfolgte kontinuierlich. Die Detektionswellenlänge des UV-Detektors betrug 254 nm.

Für die Abtrennung der markierten Produkte im Rahmen der automatisierten ferngesteuerten Synthesen bestand das HPLC-System aus einer HPLC-Pumpe mit analytischem Pumpenkopf (Knauer, Typ 64), einem UV-Photometer (Waters, Typ 440), einem NaI-Bohrlochkristalldetektor (EG & G Ortec, Model 276 Photomultiplier Base) und einem Verstärkerteil (EG & G ACE Mate™ Amplifier and Bias Supply). Die Probenaufgabe erfolgte über einen mit Preßluft umschaltbaren Injektor (Rheodyne, Typ 7125) über eine 5 ml Probenschleife.

In der Literatur [105,145,146] beschriebene HPLC-Bedingungen zur Abtrennung des Clozapins bzw. Clozapin-N-oxids konnten nicht reproduziert werden. Es sind daher für alle untersuchten Verbindungen neue HPLC-Bedingungen erarbeitet worden.

Für analytische Trennungen wurden folgende Säulen eingesetzt:
- LiChrospher Si 60 Select B 5 (125 x 4,6 mm) mit Vorsäule (10 x 4,6 mm) der Firma Merck, Darmstadt
- Hypersil ODS 100-5 (250 x 4,6mm) mit Vorsäule (20 x 4,6 mm) der Firma CS-Chromatographieservice, Langerwehe
- LiChrospher Si 100-10 (250 x 60 mm) mit Vorsäule (20 x 4,6 mm) der Firma CS-Chromatographieservice, Langerwehe

Für semipräparative Trennungen wurden die folgenden Säulen eingesetzt:
- LiChrosorb RP 18 100-7 (250 x 8 mm) der Firma CS-Chromatographieservice, Langerwehe

- Nucleosil RP 18 100-10 (250 x 10 mm) der Firma Macherey & Nagel, Düren
- LiChrosorb Si 100-7 (250 x 10 mm) der Firma CS-Chromatographieservice, Langerwehe

Die Trennungen an den Umkehrphasen wurden mit Acetonitril/Wasser- bzw. Methanol/Wasser Gemischen, gegebenenfalls in Gegenwart von Ammoniumacetat-Puffer, durchgeführt. Das Eluentensystem zur Trennung an einer Normalphase bestand aus Dichlormethan/Methanol Gemischen. Sowohl die analytischen, als auch die semipräparativen Trennungen wurden ausschließlich unter isokratischen Bedingungen durchgeführt.

Die chromatographischen Bedingungen und Retentionszeiten der untersuchten Verbindungen sind in Anhang A aufgeführt.

3.4.3 Radiodünnschichtchromatographie

Die Radiodünnschichtchromatographie wurde zum Nachweis des ^{11}C markierten Quarternisierungsproduktes des Clozapins eingesetzt. 10 µl des Produktgemisches wurden auf mit Silicagel Si 60 beschichteten Folien (Polygram SiL G/UV 254, Macherey & Nagel, Düren) aufgetrennt. Als Laufmittel wurden Methanol/Wasser bzw. Dichlormethan/Methanol Gemische eingesetzt. Die radioaktiven Bereiche wurden durch Vergleich mit den Rf-Werten der inaktiven Referenzsubstanzen isoliert. Zur Quantifizierung der Ausbeuten wurden die entsprechenden Bereiche von der Folie entfernt, in einem NaI(Tl)-Szintillationszähler gezählt und mit der Gesamtaktivitätsmenge in 10 µl Reaktionsmischung verglichen.

Die chromatographischen Bedingungen und die Rf-Werte der untersuchten Verbindungen sind in Anhang A aufgeführt.

4. Zusammenfassung

Für pharmakokinetische Untersuchungen mit Hilfe der Positronen-Emissions Tomographie (PET) wurde das atypische Neuroleptikum Clozapin (8-Chloro-11-(4-methyl-1-piperazinyl)-5H-dibenzo[b,e]-[1,4]-diazepin) sowie sein Hauptmetabolit, das Clozapin-N-oxid, trägerfrei (n.c.a.) mit Kohlenstoff-11 ($T_{1/2}$= 20,3 min) markiert und die Synthese automatisiert. Darüber hinaus wurde das mit Fluor-18 ($T_{1/2}$= 110 min) markierte Clozapin-Analoge "[N-(1-[^{18}F]Fluorethyl)]Clozapin" durch eine [^{18}F]Fluorethylierung trägerfrei synthetisiert.

Zur Abtrennung der Reaktionsprodukte mit Hilfe der Hochdruckflüssigkeitschromatographie konnten sowohl im analytischen als auch im semipräparativen Maßstab effiziente Bedingungen erarbeitet werden. Die radiochemische Reinheit der isolierten Produkte lag in der Regel über 99%. Mittels einer Festphasenextraktion an "Adsorbex SCX" Kationenaustauscherkartuschen wurden die Reaktionsprodukte vom Eluens der chromatographischen Trennung befreit und in eine applizierbare Form überführt.

Der Kohlenstoff-11 wurde über die $^{14}N(p,\alpha)^{11}C$ Kernreaktion als n.c.a. [^{11}C]CO_2 am Babyzyclotron BC 1710 im Institut für Nuklearchemie des Forschungszentrums Jülich GmbH erzeugt.

Zur Synthese des [^{11}C]Methylierungsreagenz [^{11}C]Methyliodid wurde neben der klassischen Reaktion von [^{11}C]Methanol mit wäßriger Iodwasserstoffsäure eine neue on-line Darstellung über eine Festphasenreaktion an Triphenylphosphindiiodid auf Aluminiumoxid eingesetzt. Mit beiden Verfahren konnte [^{11}C]Methyliodid in weniger als 10 Minuten mit radiochemischen Ausbeuten von über 80% synthetisiert werden. Es wurden spezifische Aktivitäten von mehr als 70 TBq/mmol (EOS) erreicht. Die radiochemische Reinheit des [^{11}C]Methyliodids lag über 99%. Die Festphasenreaktion erwies sich jedoch als materialschonender, da auf den Einsatz der sehr aggressiven Iodwasserstoffsäure verzichtet werden kann. Auch das reaktivere [^{11}C]Methylierungsmittel [^{11}C]Methyltriflat konnte durch die Umsetzung von [^{11}C]Methyliodid mit Silber-trifluormethansulfonat in einem Festphasen-

Durchflußsystem on-line synthetisiert werden. Für diese Synthese wurde das System zur Produktion von [^{11}C]Methyliodid um eine zweite Reaktionssäule ergänzt. Durch dieses Verfahren war [^{11}C]Methyltriflat innerhalb weniger Minuten in radiochemischen Ausbeuten von über 85% darstellbar. Die spezifische Aktivität entsprach der des [^{11}C]Methyliodids und die radiochemische Reinheit lag bei 90% (10% [^{11}C]Methyliodid). Die Synthesen ließen sich leicht automatisieren.

[^{11}C]Methylierungen der Desmethylverbindung Norclozapin mit [^{11}C]Methyliodid und dem wesentlich reaktiveren [^{11}C]Methyltriflat führten selektiv zu [N-Methyl-^{11}C]Clozapin. Nach der Optimierung der Reaktionsparameter konnten mit [^{11}C]Methyliodid bei 100°C in weniger als 5 Minuten radiochemische Ausbeuten von mehr als 90% erhalten werden. Als Reaktionsmedium der Wahl erwies sich Dimethylsulfoxid, obwohl in diesem Lösungsmittel partielle Zersetzung sowohl der Desmethylverbindung als auch des Produktes beobachtet wurde. Auch der Einsatz von [^{11}C]Methyltriflat führte in weniger als 10 min zu radiochemischen Ausbeuten von über 90%. Allerdings waren die Reaktionbedingungen (Chloroform, 60°C) hier erheblich milder. Die erarbeiteten optimalen Reaktions- und Trennbedingungen konnten sowohl für [^{11}C]Methyliodid als auch für [^{11}C]Methyltriflat auf eine automatisierte Synthese übertragen werden. Die im Falle des [^{11}C]Methyltriflats günstigeren Reaktionsbedingungen führten zu einer kürzeren Gesamtsynthesezeit von etwa 38 Minuten, so daß die unkorrigierte Ausbeute an [N-Methyl-^{11}C]Clozapin um etwa 40% gesteigert werden konnte. Eine konkurrierende [^{11}C]Methylierung am Dibenzodiazepin Stickstoff in der Position 5 wurde weder beim Einsatz von [^{11}C]Methyliodid noch von [^{11}C]Methyltriflat beobachtet. Die Ursache hierfür ist die im Vergleich zum Piperazinyl Stickstoff viel schwächere Nukleophilie des Dibenzodiazepin Stickstoffs.

Zur Synthese des am Diazepin Stickstoff [^{11}C]methylierten Clozapinderivates "5-[N-Methyl-^{11}C]Clozapin" mußte die sekundäre Aminofunktion des Piperazinringes geschützt werden. Es wurde daher an der Piperazinyl NH Funktion des Norclozapins ein tert.Butyloxycarbonyl (BOC) Rest eingeführt. Die schnelle Abspaltung der Schutzgruppe wurde sowohl durch Protolyse mittels Trifluoressigsäure als auch durch Umsetzung mit Iodtrimethylsilan

erreicht. Das letztere Verfahren erwies sich in diesem Zusammenhang als Methode der Wahl. Darüber hinaus konnte der BOC-geschützte Vorläufer durch Umsetzung mit Iodtrimethylsilan vor der [^{11}C]Methylierung modifiziert werden. Die augenblickliche Zersetzung des resultierenden Trimethylsilylcarbamat-Restes durch Zusatz von Methanol verkürzt die Gesamtsynthese um etwa 5 Minuten.
Die gewünschte Verbindung, "5-[N-Methyl-^{11}C]Clozapin", konnte unter n.c.a. Bedingungen weder über [^{11}C]Methyliodid, noch mit [^{11}C]Methyltriflat direkt synthetisiert werden. Erst die Umsetzung mit [^{11}C]Methyliodid in Gegenwart von festem Silber-trifluormethansulfonat führte zur Bildung des Produktes. Es konnte gezeigt werden, daß es sich bei dem methylierenden Agens unter diesen Bedingungen um "in situ" erzeugtes [^{11}C]Methyltriflat handelt. Die Aktivierung des [^{11}C]Methyliodids durch das Silbersalz (Koenig-Knorr Reaktion) ist demgegenüber von untergeordneter Bedeutung. Durch dieses Verfahren konnte das am Dibenzodiazepin Stickstoff [^{11}C]methylierte Clozapinderivat innerhalb von 10 Minuten bei 60°C in radiochemischen Ausbeuten von über 40% synthetisiert werden. Da die Reaktion in Chloroform durchgeführt wurde, konnte die [^{11}C]Methylierung und die Abspaltung des BOC-Restes durch Iodtrimethylsilan als "Eintopfreaktion" durchgeführt werden.

Der Hauptmetabolit des Clozapins, das Clozapin-N-oxid, konnte durch Oxidation des [N-Methyl-^{11}C]Clozapins mittels 3-Chlorperoxybenzoesäure bei 0°C innerhalb von 2 Minuten mit radiochemischen Ausbeuten von etwa 80% synthetisiert werden. Durch die Methylierung des Norclozapins mit [^{11}C]Methyltriflat in Chloroform ist die Oxidation, die ebenfalls in Chloroform durchgeführt wird, als "Eintopfreaktion" durchführbar. Dieses neue Verfahren zur Darstellung ^{11}C markierter N-Oxide erwies sich Oxidationsversuchen mittels Wasserstoffperoxid oder Cumolhydroperoxid/Vanadium(III)oxid als überlegen. Die ausgearbeitete Synthese ließ sich leicht automatisieren.

Zur Synthese des [^{18}F]Fluor markierten Analogen des Clozapins, "[N-(1-[^{18}F]Fluorethyl)]Clozapin", wurde zunächst das Fluorethylierungsmittel 1-[^{18}F]Fluor-2-tosyloxyethan synthetisiert. 1-[^{18}F]Fluor-2-tosyloxyethan konnte in Gegenwart von Tetramethylammoniumhydrogencarbonat als

Phasentransferkatalysator über die Reaktion von [^{18}F]Fluorid mit Ethylenglykol-1,2-ditosylat innerhalb von 10 Minuten bei 80°C in Acetonitril in radiochemischen Ausbeuten von über 80% trägerfrei synthetisiert werden. Ausgehend von 1-[^{18}F]Fluor-2-tosyloxyethan konnte Norclozapin innerhalb von 20 Minuten bei 80°C in N,N-Dimethylformamid mit radiochemischen Ausbeuten von über 70% zu "[N-(1-[^{18}F]Fluorethyl)]Clozapin" umgesetzt werden. Unter Verwendung von Acetonitril als Solvens konnte die gesamte Synthese mit gleichen Ausbeuten als "Eintopfreaktion" durchgeführt werden.

Die mit hoher radiochemischer Reinheit (> 99%) und hoher spezifischer Aktivität (> 70 GBq/µmol) ^{11}C- bzw. ^{18}F-markierten Produkte [N-Methyl-^{11}C]Clozapin, "5-[N-Methyl-^{11}C]Clozapin", [N-Methyl-^{11}C]Clozapin-N-oxid und "[N-(1-[^{18}F]Fluorethyl)]Clozapin" konnten im multi-MBq Maßstab automatisiert dargestellt und für pharmakokinetische PET Messungen zur Verfügung gestellt werden.

Anhang

A Chromatographische Daten der Referenzverbindungen

Im folgendem sind die k'-Werte der Referenzsubstanzen für die verschiedenen chromatographischen Systeme aufgelistet.

Tab. A.1: k'-Werte der gaschromatographisch an Triton X-100 auf Volaspher A1 bei 100°C getrennten Verbindungen.

Verbindung	k'
Luft	0,2
Methyliodid	2,1
Tetrahydrofuran	5,6
Methanol	7,3
Wasser	19,7

Tab. A.2: k'-Werte der bei Raumtemperatur mittels HPLC an LiChrospher Si 60 Select B 5 (125 x 4,6 mm) getrennten Verbindungen

Verbindung	Eluens	k'
Methyliodid	CH_3CN : 0,01 M NH_4OAc 90 : 10	0,1
	CH_3OH : H_2O 70 : 30	0,2
Clozapin	CH_3CN : 0,01 M NH_4OAc 90 : 10	3,3
	CH_3OH : H_2O 70 : 30	16,8
Norclozapin	CH_3CN : 0,01 M NH_4OAc 90 : 10	6,7
	CH_3OH : H_2O 70 : 30	36,3

"N-Dimethylclozapin Iodid"	CH_3CN : 0,01 M NH_4OAc 90 : 10	0,3
Clozapin-N-oxid	CH_3CN : 0,01 M NH_4OAc 90 : 10	0,1
	CH_3OH : H_2O 70 : 30	3,7
"Peroxybenzoylclozapin"	CH_3OH : H_2O 70 : 30	1,1
"BOC-Clozapin"	CH_3CN : 0,01 M NH_4OAc 90 : 10	0,44
"5-N-Methylclozapin"	CH_3CN : 0,01 M NH_4OAc 90 : 10	8,4
3-Chlorbenzoesäure	CH_3OH : H_2O 70 : 30	1
Trimethyliodsilan	CH_3CN : 0,01 M NH_4OAc 90 : 10	0,1
"N-(1-Fluorethyl)clozapin"	CH_3OH : H_2O 70 : 30	2,33
1-Fluor-2-tosyloxyethan	CH_3OH : H_2O 70 : 30	0,37
	CH_3OH : H_2O 50 : 50 0,1% HOAc	2,38
Ethylenglykol-1,2-ditosylat	CH_3OH : H_2O 70 : 30	32,3
	CH_3OH : H_2O 50 : 50 0,1% HOAc	28,5
Toluolsulfonsäure	CH_3OH : H_2O 70 : 30	0,15

Tab. A.3: k'-Werte der bei Raumtemperatur mittels HPLC an Hypersil ODS 100-5 (250 x 4,6 mm) getrennten Verbindungen

Verbindung	Eluens	k'
Methyliodid	CH_3CN : 0,05 M NaOAc 90 : 10 pH 7,8	0,1
Clozapin	CH_3CN : 0,05 M NaOAc 90 : 10 pH 7,8	3,7
	CH_3OH : H_2O 80 : 20	10,2
Norclozapin	CH_3CN : 0,05 M NaOAc 90 : 10 pH 7,8	4,8
	CH_3OH : H_2O 80 : 20	13,1
Clozapin-N-oxid	CH_3OH : H_2O 80 : 20	1,1
3-Chlorbenzoesäure	CH_3OH : H_2O 80 : 20	0,42

Tab. A.4: k'-Werte der bei Raumtemperatur mittels HPLC an LiChrospher Si 100-10 (250 x 4,6 mm) getrennten Verbindungen

Verbindung	Eluens	k'
Methyliodid	CH_2Cl_2 : CH_3OH 93,5 : 6,5	0,1
Clozapin	CH_2Cl_2 : CH_3OH 93,5 : 6,5	8
Norclozapin	CH_2Cl_2 : CH_3OH 93,5 : 6,5	23,4
Clozapin-N-oxid	CH_2Cl_2 : CH_3OH 70 : 30	34,5
"5-N-Methylclozapin"	CH_2Cl_2 : CH_3OH 93,5 : 6,5	24,2

1-Fluor-2-tosyloxyethan	CH_2Cl_2 : CH_3OH 70 : 30	12,8
"N-(1-Fluorethyl)clozapin"	CH_2Cl_2 : CH_3OH 70 : 30	31,3

Tab. A.5: k'-Werte der bei Raumtemperatur mittels HPLC an LiChrosorb RP 18 100-7 (250 x 8 mm) getrennten Verbindungen

Verbindung	Eluens	k'
Methyliodid	CH_3CN : 0,05 M NaOAc 90 : 10 pH 7,8	0,2
Clozapin	CH_3CN : 0,05 M NaOAc 90 : 10 pH 7,8	10,5
	CH_3OH : H_2O 80 : 20	8,5
Norclozapin	CH_3CN : 0,05 M NaOAc 90 : 10 pH 7,8	16,8
	CH_3OH : H_2O 80 : 20	15,7
Clozapin-N-oxid	CH_3OH : H_2O 80 : 20	2,8
3-Chlorbenzoesäure	CH_3OH : H_2O 80 : 20	1,1

Tab. A.6: k'-Werte der bei Raumtemperatur mittels HPLC an LiChrosorb Si 100-7 (250 x 10 mm) getrennten Verbindungen

Verbindung	Eluens	k'
Methyliodid	CH_2Cl_2 : CH_3OH 93 : 7	0,1
Clozapin	CH_2Cl_2 : CH_3OH 93 : 7	3,5
Norclozapin	CH_2Cl_2 : CH_3OH 93 : 7	7,9

Tab. A.7: k'-Werte der bei Raumtemperatur mittels HPLC an Nucleosil RP 18 100-10 (250 x 10 mm) getrennten Verbindungen

Verbindung	Eluens	k'
Methyliodid	$CH_3OH : H_2O$ 75 : 25	0,1
Clozapin-N-oxid	$CH_3OH : H_2O$ 75 : 25	5,5
Clozapin	$CH_3OH : H_2O$ 75 : 25	8,2
Norclozapin	$CH_3OH : H_2O$ 75 : 25	16,3
3-Chlorbenzoesäure	$CH_3OH : H_2O$ 75 : 25	1,5

Tab. A.8: Rf-Werte der bei Raumtemperatur mittels Silicagel Si 60 beschichteten Folien getrennten Verbindungen

Verbindung	Eluens	Rf
Clozapin	$CH_3OH : H_2O$ 80 : 20	0,9
	$CH_2Cl_2 : CH_3OH$ 90 : 10	0,7
Norclozapin	$CH_3OH : H_2O$ 80 : 20	0,9
	$CH_2Cl_2 : CH_3OH$ 90 : 10	0,4
"N-Dimethylclozapin Iodid"	$CH_3OH : H_2O$ 80 : 20	0,3
	$CH_2Cl_2 : CH_3OH$ 90 : 10	0

Abkürzungsverzeichnis

BOC:	tert.Butyloxycarbonyl
"BOC-Clozapin":	8-Chloro-11-(4-tert.butyloxycarbonyl-1-piperazinyl)-5H-dibenzo[b,e]-[1,4]-diazepin
Clozapin:	8-Chloro-11-(4-methyl-1-piperazinyl)-5H-dibenzo[b,e]-[1,4]-diazepin
Clozapin-N-oxid:	8-Chloro-11-(4-methyl-4-oxo-1-piperazinyl)-5H-dibenzo[b,e]-[1,4]-diazepin
DMAP:	4-Dimethylaminopyridin
DMF:	N,N-Dimethylformamid
DMPU:	1,3-Dimethyl-3,4,5,6-tetrahydro-2(1H)-pyrimidinon
DMSO:	Dimethylsulfoxid
EC:	Electron capture (Elektroneneinfang)
EI:	Elektronenstoßionisierung
EOB:	End of bombardement (Bestrahlungsende)
EOS:	End of synthesis (Syntheseende)
FID:	Flammenionisationsdetektor
HMPT:	Hexamethylphosphorsäuretriamid
Kryptofix 222	4,7,13,16,21,24-Hexaoxa-1,10-diazabicyclo[8.8.8]hexacosan
MCPBA:	3-Chlorperoxybenzoesäure
Methyltriflat:	Trifluormethansulfonsäuremethylester
n.c.a.:	no-carrier-added (ohne Trägerzusatz)
"N-Dimethylclozapin Iodid":	8-Chloro-11-(4-dimethyl-1-piperazinium)-5H-dibenzo[b,e]-[1,4]-diazepin Iodid
"[N-(1-Fluorethyl)]Clozapin":	8-Chloro-11-(4-(1-fluorethyl)-1-piperazinyl-5H-dibenzo[b,e]-[1,4]-diazepin
"5-(N-Methyl)Clozapin":	8-Chloro-11-piperazinyl-5-methyl-dibenzo[b,e]-[1,4]-diazepin
Norclozapin:	8-Chloro-11-piperazinyl-5H-dibenzo[b,e]-[1,4]-diazepin
"Peroxybenzoylclozapin":	8-Chloro-11-(4-peroxybenzoyl-1-piperazinyl)-5H-dibenzo[b,e]-[1,4]-diazepin

PET:	Positronen-Emissionstomographie
p.i.:	post injectionem
RP:	Reversed Phase (Umkehrphase)
RY:	Radiochemical Yield (radiochemische Ausbeute)
Silbertriflat:	Silber-trifluormethansulfonat
$TBAHCO_3$:	Tetra(n-butyl)ammoniumhydrogencarbonat
TFA:	Trifluoressigsäure
THF:	Tetrahydrofuran
$TMAHCO_3$:	Tetramethylammoniumhydrogencarbonat
TMSI:	Iodtrimethylsilan
WLD:	Wärmeleitfähigkeitsdetektor

Literaturverzeichnis

1. Stöcklin G. in: Handbuch der medizinischen Radiologie, Band XV/1 B Springer Verlag Berlin, Heidelberg, New York 1988
2. Phelps M. E. , Mariotta J. C. , Schelbert H. R. (eds.): Positron Emission Tomographie and Autoradiographie, Raven Press, New York 1986
3. Ter-Pogossian M. M. , Spekt. der Wissenschaft 12 (1980), 121
4. Wienhard K. , Wagner R. , Heiss W. D. PET - Grundlagen und Anwendungen der Positronen-Emissions-Tomographie, Springer Verlag Berlin, Heidelberg, New York, (1989)
5. Stöcklin G., Pike V. W. (eds.): Radiopharmaceuticals for Positron Emission Tomographie, Methodological Aspects, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Boston, London, 1993
6. Raichle M. E., Eichling J. O., Straatman M. G., Welch M. J., Larson K. B., Ter-Pogossian M. M. Am. J. Physiol. 230 (1976), 543
7. Kabalka G. W., Lambrecht R. M., Sajjad M., Fowler J. S., Kunda S. A., McCollum G. W., McGregor R. Appl. Rad Isot. 36 (1985), 853
8. Gelbard A. S., Cooper A. J. L., Reiman R. E., Benua R. S. J. Nucl. Med. 22 (1981), 74
9. Gelbard A. S., Cooper A. J. L. J. Label. Compds. Radiopharm. 16 (1979), 94
10. Schöllkopf U., Gorth U. Liebigs Ann. Chem. 97 (1967), 709
11. Böhme H., Haake M. Chem. Ber. 100 (1967), 3609
12. Lieser K. H. Einführung in die Kernchemie, Verlag Chemie, Weinheim 1980
13. Eckelman W. C., Reba R. C., Gibson R. E., Rzeszotarski W. J., Vieras F., Mazaitis J. K., Francis B. J. Nucl. Med. 20 (1979), 350
14. Seferis J. C. Polym. Comp. 7 (1986), 158
15. Jones D. P., Heach D. C., Moore D. R. Polymer 26 (1985), 1385
16. Lauritzen C. C., Crane H. R., Harper W. W. Science 79 (1934), 234
17. Ferrieri A., Wolf A. P. Radiochimica Acta 34 (1983), 69
18. Stöcklin G. in: Ullmann's Encyklopädie der techn. Chemie, Band 20, Verlag Chemie, Weinheim 1981
19. Stöcklin G.: Chemie heißer Atome, Verlag Chemie, Weinheim 1969

20. Welch M. J. (Editor): Radiopharmaceuticals and other compounds labelled with short lived radionuclides, Pergamon Press, Oxford 1977
21. Wolf A. P., Redvanly C. S. Appl. Rad. Isot. 28 (1977), 29
22. Ache H. J., Wolf A. P. J. Phys. Chem. 72 (1968), 1988
23. Anderson A. R., Best J. V. F, Willet M. J. Trans. Farad. Soc. 62 (1966), 595
24. Nebeling B. et al. (1990), KFA Jülich, unveröffentlichte Ergebnisse
25. Buckingham P. D., Forse G. R. Appl. Rad. Isot. 14 (1963), 439
26. Welch M. J., Ter-Pogossian M. M. Radiat. Res. 36 (1968), 580
27. Christman D. R., Finn R. D., Karlstrom K. I., Wolf A. P. Appl. Rad. Isot. 26 (1975), 435
28. Wagner R., Stöcklin G., Schaak W. J. Label. Compds. Radiopharm. 18 (1981), 1557
29. Marazano C., Maziere M., Berger G., Comar D. Appl. Rad. Isot. 28 (1977), 49
30. Cramer R. D., Kristiakowsky G. B. J. Biol. Chem. 137 (1941), 549
31. Crouzel C., Sejourne C., Comar D. Appl. Rad. Isot. 30 (1979), 566
32. Roeda D., Crouzel C., van Zanten B. Radiochem. Radioanalyt. Letters 33 (1978), 157
33. Roeda D., Westera G. Appl. Rad. Isot. 32 (1981), 931
34. Schoeps K. O. Dissertation, Universität Stockholm 1992
35. Nystrom R. F., Yanko W. H., Brown W. G. J. Am. Chem. Soc. 70 (1948), 441
36. Crouzel C., Langström B., Pike V. W., Coenen H. H. Appl. Rad. Isot. 38 (1987), 601
37. Holschbach M., Schüller M. Appl. Rad. Isot. 44 (1993), 779
38. Suzuki K., Inoue O., Tamate K., Mikado F. Appl. Rad. Isot. 41 (1990), 593
39. Langström B., Halldin C., Antoni G., Gullberg P., Malmborg P., Nagren K., Rimland A., Svärd H. J. Nucl. Med. 28 (1987), 1037
40. Halldin C., Stone-Elander S., Thorell J. O., Persson A., Sedvall G. Appl. Rad. Isot. 39 (1988), 993
41. MacGregor R. R., Halldin C., Fowler J. S., Wolf A. P., Arnett C. D., Langström B. Biochem. Pharmacol. 34 (1985), 3207
42. Ehrin E., Gawell L., Hägberg T., dePaulis T., Ström P. J. Label. Compg. Radiopharm. 24 (1987), 931
43. Holschbach M., Schüller M. Appl. Rad. Isot. 44 (1993), 1129
44. Jewett D. M. Appl. Rad. Isot. 43 (1992), 1383
45. Hansen R. L. J. Org. Chem. 30 (1965), 4322

46. Pike V. W., Eakins M. N., Allan R. M., Selwyn A. P. Appl. Rad. Isot. 33 (1982), 502
47. Langström B., Antoni G., Gullberg P., Halldin C., Nagren K., Rimland A., Svärd H. Appl. Rad. Isot. 37 (1986), 1141
48. Walsh M. M., Geltman E. M., Brown M. A., Henes C. G., Weinheimer C. J., Sobel B. E., Bergman S. R. J. Nucl. Med. 30 (1989), 1798
49. Ehrin E., Farde L., DePaulis T., Erikson L., Weitz T., Johnström P., Litton J. E., Nilsson J. C. G., Sedvall G., Stone-Elander S., Ögren S. O. Appl. Rad. Isot. 36 (1985), 269
50. Christman D. R., Crawford E. J., Friedkin M., Wolf A. P. Proc. Nat. Acad. Sci. USA 69 (1972), 988
51. Marazano C., Maziere M., Berger G., Comar D. Appl. Rad. Isot. 28 (1977), 49
52. Bonnot-Lours S., Prenant C., Crouzel C., Hinnen F. J. Label. Compds. Radiopharm. 33 (1993), 277
53. Qaim S. M. Radiochimica Acta 30 (1982), 147
54. Qaim S. M., Stöcklin G. Radiochimica Acta 34 (1983), 25
55. Guillaume M., Luxen A., Nebeling B., Argentini M., Clark J. C., Pike V. W. Appl. Rad. Isot. 42 (1991), 749
56. Stöcklin G. Int. J. Nucl. Med. Biol. 13 (1986), 109
57. Coenen H. H. Progress in Radiopharmacology, P. H. Cox (Editor), Martinus Nijhoff Publishers, Dordrecht 1986
58. Coenen H. H., Klatte B., Knöchel A., Schüller M., Stöcklin G. J. Label. Compds. Radiopharm. 23 (1986), 455
59. Korguth M. L., DeGrado D. R., Holden J. E. J. Label. Compds. Radiopharm. 25 (1988), 369
60. Johnson B. L., Maylotte D. H., Sabourin C. L., Finn R., Kathani P. J. Label. Compds. Radiopharm. 32 (1993), 562
61. Gail R., Coenen H. H. Appl. Rad. Isot. (1993) im Druck
62. Block D., Coenen H. H., Stöcklin G. J. Label. Compds. Radiopharm. 24 (1987), 1029
63. Finkelstein H. Chem. Ber. 43 (1910), 1528
64. Shorter J. in: Organic Reaction Mechanisms, A. C. Knipe, W. E. Watt (Eds.) John Wiley & Sons 1984
65. Block D., Klatte B., Knöchel A., Beckman R., Holm K. H. J. Label. Compds. Radiopharm. 23 (1986), 467

66. Block D., Coenen H. H., Laufer P., Stöcklin G. J. Label. Compds. Radiopharm. 23 (1986), 1042
67. Block D., Coenen H. H., Stöcklin G. J. Label. Compds. Radiopharm. 25 (1987), 185
68. Hamacher K., Coenen H. H., Stöcklin G. J. Nucl. Med. 27 (1987), 235
69. Plenevaux A., Lemaire C., Palmer A. J., Damhaut P., Comar D. Appl. Rad. Isot. 43 (1992), 1035
70. Lemaire C., Contineau R. , Guilleame M., Plenevaux A., Christiaens L. J. Nucl. Med. 32 (1991), 2266
71. Hamacher K., Coenen H. H., Stöcklin G. J. Label. Compds. Radiopharm. 23 (1986), 1047
72. Katsifis A., Hamacher K., Schnitter J., Stöcklin G. Appl. Rad. Isot. 44 (1993), 1015
73. Tewson T. J., Welch M. J. J. Chem. Soc. Chem. Comm. (1979), 1149
74. Zwernemann O. Dissertation, Universität Hamburg 1992
75. Solbach M. Diplomarbeit, Universität zu Köln 1992
76. Moerlein S. M., Perlmutter J. S., Banks W. R., Parkinson D. J. Label. Compds. Radiopharm. 32 (1993), 272
77. Guhlke S., Coenen H. H., Stöcklin G. J. Label. Compds. Radiopharm. 32 (1993), 108
78. Guhlke S. , Coenen H. H., Stöcklin G., Biedermann A., Oehr P. J. Nucl. Med. 32 (1991), 1009
79. Luxen A., Perlmutter M., Bida G. T., van Moffaert G., Cook J. S., Satyamurthy N., Phelps M. E., Barrio J. R. Appl. Rad. Isot. 41 (1990), 275
80. Coenen H. H., Kling P., Stöcklin G. J. Nucl. Med. 30 (1987), 1367
81. Ehrenkaufer R. E., Potocki J. F., Jewett D. M. J. Nucl. Med. 25 (1984), 333
82. Naber D., Müller-Spahn F. (Hrsg.): Clozapin: Pharmakologie und Klinik eines atypischen Neuroleptikums, Schattauer Verlag Stuttgart, New York 1992
83. Hunziker F., Künzle F., Schindler O., Schmutz J. Helv. Chim. Acta 47 (1964), 1163
84. Hunziker F., Fischer E., Schmutz J. Helv. Chim. Acta 50 (1967), 1588
85. Schmutz J., Künzle F., Hunziker F., Gauch R. Helv. Chim. Acta. 50 (1967), 245
86. Ullmann F. Liebigs Ann. Chem. 355 (1907), 320

87. Burton H., Gibson C. T. J. Chem. Soc. 125 (1924), 2501
88. Clemo G. R., Perkin W. H., Robinson R. J. Chem. Soc. 125 (1924), 1770
89. Hunziker F., Lauener H., Schmutz J. Arzneim. Forsch. 13 (1963), 324
90. Sherman W. R., Taylor E. C. Organic Synthesis 37, 15
91. Sunay B., Talbot K. C., Galullo V. J. Label. Compds. Radiopharm. 31 (1992), 1041
92. Bosshard H. H., Zollinger H. Helv. Chim. Acta 42 (1959), 1659
93. Schmutz J., Hunziker F., Stille G., Lauener H. Chimica Therapeutika Arc. (1967), 424
94. Fryer R. I., Earley J. V., Field G. F., Zally W., Sternbach L. H. J. Org. Chem. 34 (1969), 1143
95. Schneider J. Deutsches Patent P 2316438 (1973), Chem. Abs. 80: 14969 (1974)
96. Schmutz J., Eichenberger E.: Clozapine, in Bindra J. S., Lednicer D. (eds.) Chronicles of Drug Discovery, John Wiley & Sons 1982
97. Sayers A. C., Amsler H. A. in: Pharmacol. & Biochem. Drug Subst., Goldberg M. E. (editor), Am. Pharm. Assoc., Washington D. C. 1977
98. Bürki H. R., Sayers A. C., Reich W., Asper H. Arzneim. Forsch. 27 (II) (1977), 1561
99. Bürki H. R., Fischer R., Hunziker F., Künzle F., Petcher T. J. Eur. J. Med. Chem. 13 (1978), 479
100. Haase H. J. Deut. Med. wöchent. Ztschr. 88 (1963), 505
101. Pakkenberg H., Pakkenberg B. Acta Neurol. Scand. 73 (1986), 295
102. Ackenheil M., Beckmann H., Greil W., Hoffmann G., Markianos E., Raise J. Adv. Biochem. Psychopharmacol. 9 (1974), 647
103. Gauch R., Michaelis W. Farmaco (Ed. prat.) 26 (1971), 667
104. Stock B., Spiteller G., Heipertz R. Arzneim. Forsch. 27 (I) (1977), 982
105. Meier J. Brit. J. Pharmacol. 53 (1975), 44 OP
106. Weisberger J. W., Weisberger E. K. Pharmacological Reviews 25 (1973), 1
107. Daly J. W., Jerina D. M., Witkop B. Experientia 28 (1972), 1129
108. Langström B., Antoni A., Halldin C., Malmborg P., Nagren K., Rimland A., Sjöberg S., Svärd H., Bergson G. J. Label. Compds. Radiopharm. 21 (1984), 1200
109. Hartvig P., Eckernäs S. A., Lindstöm L., Ekblom B., Bondesson U., Lundqvist H., Halldin C., Nagren K., Langström B. Psychopharmacology 89 (1986), 248

110. Hartvig P. , Eckernäs S. A., Ekblom B., Lindström L., Lundqvist H., Axelsson S., Fasth K. J., Gullberg P., Langström B. Acta Neurol. Scand. 77 (1988), 314

111. Lundberg T., Lindström L. H., Hartvig P., Eckernäs S. A., Ekblom B., Lundqvist H., Fasth K. J., Gullberg P., Langström B. Psychopharmacology 94 (1989), 8

112. Farde L., Wiesel F. A., Halldin C., Sedvall G. Arch. Gen Psychiatry 45 (1988), 71

113. Karbe H., Wienhard K., Hamacher K., Huber M., Herholz K., Coenen H. H., Stöcklin G., Lövenich A., Heiss W. D. J. Neural. Transmis. 86 (1991), 163

114. Lange's Handbook of Chemistry, Dean J. A. (editor), 13th Edition, McGraw-Hill Book Company, New York 1985

115. Mukhopadhyay T., Seebach D. Helv. Chim. Acta 65 (1982), 385

116. Seebach D., Henning R., Mukhopadhyay T. Chem. Ber. 115 (1982), 1705

117. Bengtsson M., Liljefors T. Synthesis (1988), 250

118. Howells R. H., McCown J. D. Chem. Rev. 77 (1977), 69

119. Lewis E. S., Douglas T. A., McLaughlin M. L. Israel. J. Chem. 26 (1985), 331

120. Doser K., Hemmer R.: Aminoxide in: Houben-Weyl, Methoden der organischen Chemie, Band E 16a, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York 1990

121. Sheng M. N., Zajacek J. G. J. Org. Chem. 33 (1968), 588

122. Kuhnen L. Chem. Ber. 99 (1966), 3384

123. Shvo Y., Kaufman E. D. J. Org. Chem. 46 (1981), 2148

124. Grehn L., Gunnarsson K., Ragnarsson U. Acta Chem. Scand. B40 (1986), 745

125. Flynn D. L., Zelle R. E., Grieco P. A. J. Org. Chem. 48 (1983), 2424

126. Höfle G., Steglich W., Vorbrüggen H. Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 17 (1978), 569

127. Schnabel E., Klostermeyer H., Berndt H. Liebigs Ann. Chem. 749 (1971), 90

128. Gray G. T., Khoujah A. M. Tetrahedr. Lett. (1969), 2647

129. Felix A. M. J. Org. Chem. 39 (1974), 1427

130. Jung M. E., Lyster M. A. J. Chem. Soc. Chem. Comm. (1978), 315

131. Lott R. S., Chauhan V. S., Stammer C. A. J. Chem. Soc. Chem. Comm. (1979), 495

132. Sommer H. Z., Lipp H. I., Jackson L. L. J. Org. Chem. 36 (1971), 824

133. Igarashi K. Adv. Carbohydr. Chem. Biochem. 34 (1977), 243

134. Wulff G. , Röhle G. Angew. Chemie 86 (1974), 173

135. Pozsgay V., Ohgi T., Hecht S. M. J. Org. Chem. 46 (1981), 3761

136. Koto S., Sato T., Morishima N., Zen S. Bull. Chem. Soc. Jpn. 53 (1980), 1761

137. Organikum, 16. Aufl., VEB Deutscher Verlag der Wissenschaften, Berlin 1986

138. Harada N., Hayashi N. Appl. Rad. Isot. 44 (1993), 629

139. Romanenko V. D., Torstenk V. I., Markowski L. N. Synthesis (1986), 823

140. Tarkanyi G., Qaim S. M., Stöcklin G. Appl. Rad. Isot. 39 (1988), 135

141. Heselius S. J., Linblom P., Solin O. Appl. Rad. Isot. 33 (1982), 653

142. Blessing G., Schüller M. Institut für Nuklearchemie, KFA Jülich, unveröffentlichte Ergebnisse

143. Qaim S. M. Radiochimica Acta 41 (1987), 111

144. Schleyer D. J., Bastos M. A. V., Alexoff D., Wolf A. P. Appl. Rad. Isot. 41 (1990), 531

145. Haring C., Humpel C., Auer B., Saria S., Barnas C., Fleischhacker W., Hinterhuber H. J. Chromatogr. 428 (1988), 160

146. Humpel C., Haring C., Saria A. J. Chromatogr. 491 (1989), 235

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit von August 1991 bis Oktober 1993 im Institut für Nuklearchemie des Forschungszentrums Jülich GmbH unter Anleitung von Herrn Prof. Dr. G. Stöcklin (Lehrstuhl für Nuklearchemie der Universität zu Köln) durchgeführt.

Herrn Prof. Dr. G. Stöcklin bin ich für die Stellung des Themas und die begleitenden konstruktiven Diskussionen zu großem Dank verpflichtet.
Mein besonderer Dank gilt Herrn Dr. M. Holschbach für die Betreuung, die vielfältigen Anregungen und ausführlichen Diskussionen. Für weitere Anregungen und Diskussionen danke ich auch Herrn Dr. K. Hamacher.
Herrn W. Wutz schulde ich für die Durchführung der Tierexperimente und Herrn W. Hamkens für die Bedienung der automatisierten [^{11}C]Methylierungsapparatur großen Dank.
Für die regelmäßige Produktion des ^{11}C und des ^{18}F bedanke ich mich bei der Betriebsgruppe des Babycyclotrons des Institutes für Nuklearchemie des Forschungszentrums Jülich GmbH. Weiterhin danke ich allen Mitarbeitern und Komilitonen des Institutes für Nuklearchemie, die mir immer hilfreich mit Rat und Tat zur Seite gestanden haben.
Schließlich gilt der Dank meinen Eltern, die mir das Studium ermöglichten.

FORSCHUNGSZENTRUM JÜLICH GmbH

KFA

Jül-2858
Dezember 1993
ISSN 0944-2952