



Institut für Nuklearchemie

***Untersuchungen zur n.c.a. ^{18}F - und
 ^{123}I -Markierung Subtyp-selektiver
Derivate des 5-HT_{1A} Rezeptorliganden
WAY 100635***

Carsten Hocke

**Untersuchungen zur n.c.a. ^{18}F - und ^{123}I -
Markierung Subtyp-selektiver
Derivate des 5-HT_{1A} Rezeptorliganden
WAY 100635**

Carsten Hocke

Berichte des Forschungszentrums Jülich ; 3895
ISSN 0944-2952
Institut für Nuklearchemie Jül-3895
D 38 (Diss., Köln, Univ., 2001)

Zu beziehen durch: Forschungszentrum Jülich GmbH · Zentralbibliothek
52425 Jülich · Bundesrepublik Deutschland
☎ 02461/61-5220 · Telefax: 02461/61-6103 · e-mail: zb-publikation@fz-juelich.de

Neue Derivate des 5-HT_{1A} Rezeptorliganden WAY 100635

Das serotonerge System ist mit seinen verschiedenen Rezeptor-Subtypen eines der wichtigen Neurotransmittersysteme im zentralen Nervensystem. Depression und Schizophrenie sind Krankheitsbilder, die auf eine Veränderung des serotonerge System hinweisen. ¹¹C-markiertes WAY-100635 ([¹¹C]N-[2-[4-(2-methoxyphenyl)-1-piperazinyl]ethyl)-N-(2-pyridinyl)-cyclohexancarboxamid wurde bereits erfolgreich als Subtyp-selektiver 5-HT_{1A} Antagonist in vivo angewendet. Ziel der Arbeit war die Herstellung in vivo stabiler ¹⁸F-Analoga.

Eine Derivatisierung des WAY 100635 erfolgte zuerst durch n.c.a. ¹⁸F-Markierung in 4-Position an der Cyclohexylgruppe. Am Diastereomerenpaar cis/trans-Ethyl-4-tosylcyclohexancarboxylat als Modellverbindungen wurde der Einfluß der Reaktionsparameter Temperatur, Lösungsmittel und Reaktionszeit überprüft, um maximale radiochemische Ausbeuten (RCA) zu erhalten. Die optimierten Reaktionsbedingungen wurden anschließend auf die WAY-Derivate übertragen. Die besten Ergebnisse der n.c.a. ¹⁸F-Fluorierung ergaben sich in DMSO bei 100°C. Für das cis-Diastereomer konnten ca. 25% und für das trans-Diastereomer ca. 5% RCA an 4-[¹⁸F]Fluor-(N-[2-[4-(2-methoxyphenyl)-1-piperazinyl]-ethyl)-N-(2-pyridinyl)cyclohexancarboxamid erhalten werden. Weiterhin erfolgte die Synthese von Sulfonamiden bzw. Sulfinamiden als neuen Derivaten des 5-HT_{1A} Antagonisten WAY 100635. Geeignete Markierungsvorläufer wurden anschließend mit [¹⁸F]Fluorid und [¹²³I]Iodid zu den entsprechenden 4-[¹²³I]Iod- bzw. 4-[¹⁸F]Fluor-N-{2-[4-(2-methoxyphenyl)-piperazin-1-yl]-ethyl}-N-pyridin-2-yl-benzolsulfon- bzw. -sulfinamiden umgesetzt. Für die nukleophile aromatische Substitution mit n.c.a. [¹⁸F]Fluorid und der Sulfonamidgruppe als aktivierendem Substituent wurde der Einfluß verschiedener Abgangsgruppen (X = F, Cl, Br, I and NO₂) untersucht. Auch hier wurden an geeigneten Modellverbindungen die verschiedenen Reaktionsparameter der Markierungsreaktion optimiert und auf die Zielverbindungen übertragen. Für die ¹⁸F-Markierung der Sulfonamide ergaben sich die höchsten radio-chemischen Ausbeuten von ca. 65% unter Verwendung von Bromid als Abgangsgruppe innerhalb einer Reaktionszeit von 15 min im Lösungsmittel DMSO bei 160°C. Die entsprechenden ¹⁸F-markierten Sulfinamide konnten aufgrund ihrer thermischen Instabilität nicht dargestellt werden. Durch Cu(I)-assistierten Radioiod-für-Brom Austausch konnte in Eisessig das 4-[¹²³I]iod-N-{2-[4-(2-methoxyphenyl)-piperazin-1-yl]-ethyl}-N-pyridin-2-yl-benzolsulfonamid mit über 90% RCA dargestellt werden. Die ¹²³I-markierten Sulfinamide wurden durch elektrophile Destannylierung dargestellt. Hierbei betrug die radiochemische Ausbeute mit Chloramin-T als in-situ Oxidans nach 2 min in Methanol/Essigsäure bei Raumtemperatur ca. 80%. Die Affinitäten der Fluor- und Iod-Sulfonamide bzw. Sulfinamide wurden durch in vitro Verdrängungsstudien gegen den selektiven 5-HT_{1A} Rezeptorligand [³H]8-OH-DPAT gemessen. Die K_i Werte lagen zwischen 36 und 112 nM. Erste Metabolitenstudien mit dem [¹⁸F]Fluorsulfonamid an Mäuseblut belegten eine erhöhte in vivo Stabilität.

New Derivatives of the 5-HT_{1A} antagonist WAY 100635

The serotonergic system with its different receptor subtypes is one of the most important neuronal transmitter systems in the brain. It is involved in the regulation of various physiological functions and states of mind such as fear, depression and schizophrenia. The radioligand [¹¹C]WAY-100635 ([¹¹C]N-[2-[4-(2-methoxyphenyl)-1-piperazinyl]ethyl]-N-(2-pyridinyl)-cyclohexanecarboxamide) was successfully used in vivo as 5-HT_{1A} antagonist. The aim of the study was to prepare in vivo stable ¹⁸F-analogues.

New derivatization of WAY 100635 was at first performed by n.c.a. ¹⁸F-labelling in 4-position of the cyclohexyl group in a one-step reaction. With the diastereomeric model compounds cis/trans ethyl-4-tosylcyclohexanecarboxylate the dependence of various reaction parameters, like temperature, solvent and reaction time, on the radiochemical yield (RCY) was tested. The results were transferred to the WAY derivatives. The best results of n.c.a. ¹⁸F-fluorination were obtained at 100°C using DMSO as solvent. The radiochemical yield was about 25% for the cis-diastereomer and 5% for the trans-diastereomer of 4-[¹⁸F]fluoro-(N-[2-[4-(2-methoxyphenyl)-1-piperazinyl]ethyl]-N-(2-pyridinyl)-cyclohexanecarboxamide.

Subsequently, the syntheses of stabilized sulfonamides and sulfinamides as new analogues of the 5-HT_{1A} antagonist WAY 100635 were performed. The derivatives were radiolabelled with [¹⁸F]fluoride and [¹²³I]iodide for in vivo applications; namely 4-iodo- and 4-fluoro-N-{2-[4-(2-methoxyphenyl)-piperazin-1-yl]-ethyl}-N-pyridin-2-yl-benzenesulfonamide as well as the corresponding sulfinamide analogues. With the activating sulfonamide substituent different leaving groups (X = F, Cl, Br, I and NO₂) were investigated for no-carrier-added aromatic ¹⁸F-substitution. Again the effect of various reaction parameters, like temperature, solvent and leaving groups, on the maximum radiochemical yield was tested in model compounds. The results were transferred to the compounds of interest. The ¹⁸F-labelled sulfonamides were prepared by nucleophilic aromatic substitution in high RCY of 65% within 15 min using bromine as leaving group at 160°C and DMSO as solvent. The corresponding ¹⁸F-labelled sulfinamides were not stable under the labelling conditions tested. The formation of [¹²³I]iodo-analogues of sulfonamides was accomplished by Cu(I)-assisted radioiodo-for-bromo substitution in acetic acid with over 90% RCY. Finally, the ¹²³I-labelled sulfinamide was prepared via electrophilic destannylation. The RCY of 4-[¹²³I]iodo-N-{2-[4-(2-methoxyphenyl)-piperazin-1-yl]-ethyl}-N-pyridin-2-yl-benzenesulfinamide was ca. 80% after 2 min in methanol/acetic acid at ambient temperature with chloramine-T as in-situ oxidizing agent. In vitro competition studies with the fluoro- and iodo-sulfonamides and -sulfinamides versus the highly selective 5-HT_{1A} receptor ligand [³H]8-OH-DPAT lead to K_i values of 36 to 112 nM. First biodistribution studies in mice of [¹⁸F]fluoro-sulfonamide proved the increased in vivo stability.

1	EINLEITUNG	1
1.1	Radionuklide in den Lebenswissenschaften	1
1.2	Bedeutung kurzlebiger Strahler für die bio-medizinische Forschung und klinische Anwendung	2
1.2.1	Photonen-Emissions-Tomographie (PET)	3
1.2.2	Einzel-Photonen-Emissions-Tomographie (SPET)	4
1.3	Chemische und kinetische Effekte von Reaktionen trägerarmer Radionuklide	6
1.4	Produktion, Eigenschaften und Verwendung von Fluor- bzw. Iod-Radioisotopen	9
1.4.1	Produktion von Fluor-18	9
1.4.2	Produktion medizinisch wichtiger Radioisotope des Iod	10
1.5	Markierungsverfahren zur Radiofluorierung und Radioiodierung	14
1.5.1	Elektrophile Substitutionen	14
1.5.2	Nukleophile Substitutionen	18
1.5.3	Radiohalogenierungen über prosthetische Gruppen	23
1.5.4	Radiomarkierungen durch Dediazonierung	24
1.6	Entwicklung von Radioliganden für 5-HT Rezeptoren	24
1.6.1	Das serotonerge Neurotransmissionssystem	24
1.6.2	Verwendung und Entwicklung selektiver markierter 5-HT _{1A} Rezeptorliganden	28
2.	PROBLEMSTELLUNG	32
3	ERGEBNISSE UND DISKUSSION	34
3.1	Darstellung von ¹⁸F-markierten Cyclohexylderivaten des WAY 100635	34
3.1.1	Darstellung der Modellverbindungen cis/trans 4-Tosyloxycyclohexan-carbonsäure-ethylester für die nukleophile aliphatische Substitution am Cyclohexyrling	36
3.1.2	Abhängigkeit der radiochemischen Ausbeute von 4-[¹⁸ F]Fluorcyclohexan-carbonsäureethylester in Abhängigkeit von der Reaktionszeit	37
3.1.3	Abhängigkeit der radiochemischen Ausbeute des 4-[¹⁸ F]Fluorcyclohexan-carbonsäureethylester in Abhängigkeit von der Reaktionstemperatur	38
3.1.4	Einfluß des Lösungsmittels auf die radiochemische Ausbeute von 4-[¹⁸ F]Fluor-cyclohexancarbonsäureethylester	39
3.1.5	Abhängigkeit der radiochemischen Ausbeute für 4-[¹⁸ F]Fluorcyclohexancarbonsäureethylester von der Eduktkonzentration	42
3.1.6	Radiosynthese des cis/trans 4-[¹⁸ F]Fluor-N-4-({2-[4-(2-methoxyphenyl)-piperazin-1-yl]-ethyl}-pyridin-2-yl-cyclohexylcarboxamid	43
3.2	Darstellung von ¹⁸F- und ¹²³I-markierten Sulfonamidderivaten des WAY 100635	47
3.2.1	Abhängigkeit der radiochemischen Ausbeute an para-[¹⁸ F]Fluor-N-methyl-N-phenylbenzolsulfonamid vom Reaktionslösungsmittel	50
3.2.2	Abhängigkeit der radiochemischen Ausbeute der para-[¹⁸ F]Fluorbenzolsulfon-Verbindungen von der Reaktionstemperatur	51

3.2.3	Vergleich unterschiedlich aktivierender Sulfonamid-Gruppen auf die nukleophile aromatische Substitution an Modellverbindungen	52
3.2.4	Vergleich verschiedener nukleofuger Gruppen bei der nukleophilen aromatischen Substitution an Modellverbindungen bzw. den WAY-Derivaten	54
3.2.5	Vergleich verschiedener aktivierender Gruppen bei der nukleophilen aromatischen Substitution an Sulfonamid-Derivaten des WAY 100635	56
3.2.6	Abhängigkeit der radiochemischen Ausbeuten an 4-[¹⁸ F]Fluor-N-{2-[4-(2-methoxyphenyl)-piperazin-1-yl]-ethyl}-N-pyridin-2-yl-benzolsulfonamid ([¹⁸ F]FMPBS) in Abhängigkeit von der Eduktkonzentration	59
3.2.7	Aktivitätsbilanz der präparativen Darstellung von [¹⁸ F]FMPBS	60
3.2.8	Radioiodierung von 4-Brom-N-{2-[4-(2-methoxyphenyl)-piperazin-1-yl]-ethyl}-N-pyridin-2-yl-benzolsulfonamid mit Hilfe der Cu(I)-assistierten nukleophilen aromatischen Substitution	61
3.3	Herstellung von ¹⁸F- und ¹²³I-markierten Sulfinamid-Derivaten des WAY 100635	64
3.3.1	Abhängigkeit der radiochemischen Ausbeute der Radiofluorierung (R,S) para substituierter N-methyl-phenyl-benzolsulfinamide von der nukleofugen Gruppe	65
3.3.2	Abhängigkeit der radiochemischen Ausbeute der Radiofluorierung para-substituierter Benzolsulfinamid-Derivate des WAY 100635 von den Reaktionsbedingungen bei der S _N 2-Reaktion	66
3.3.3	Synthese radioiodierter Sulfinamid-Derivate von WAY 100635	67
3.3.4	Einfluß der Reaktionszeit auf die radiochemische Ausbeute des [¹³¹ I]Iod-sulfinamid-Derivates von WAY 100635	68
3.3.5	Einfluß der Eduktkonzentration auf die radiochemische Ausbeute des [¹³¹ I]Iod-sulfinamid-Derivates von WAY 100635	69
3.3.6	Abhängigkeit der radiochemischen Ausbeute des (R,S) 4-[¹³¹ I]Iod-N-{2-[4-(2-methoxyphenyl)-piperazin-1-yl]-ethyl}-pyridin-2-yl-benzolsulfinamids vom Lösungsmittel	70
3.3.7	Abhängigkeit der radiochemischen Ausbeute an (R,S) 4-[¹³¹ I]Iod-N-{2-[4-(2-methoxyphenyl)-piperazin-1-yl]-ethyl}-pyridin-2-yl-benzolsulfinamid vom pH-Wert	71
3.4	Radiopharmakologische Untersuchungen der ¹⁸F- und ¹³¹I-markierten Sulfon bzw. Sulfinamid-Derivate des WAY 100635	73
3.4.1	Bestimmung der Lipophilie der radioaktiv markierten Sulfon- bzw. Sulfinamid-Derivate des WAY 100635	73
3.4.2	Metabolitenuntersuchungen und Bestimmung der Bioverteilungen ausgewählter markierter WAY-Derivate an der Maus	75
3.4.3	Autoradiographische Untersuchungen radioaktiv markierter Sulfon- bzw. Sulfinamid-Derivate des WAY 100635	79
4	EXPERIMENTELLER TEIL	82
4.1	Verwendete Chemikalien und Charakterisierungsmethoden	82
4.2	Darstellung der Vorläufer und Zwischenstufen	84
4.3	Trägerarme Radiosynthesen	103
4.3.1	Bezug der Radionuklide Iod 120, Iod 123 und Iod 131	103
4.3.2	Produktion von n.c.a. [¹⁸ F]Fluorid	103
4.3.3	Nukleophile Substitutionen mit n.c.a. [¹⁸ F]Fluorid	104

4.3.4	Synthesen mit Radioiod	104
4.4	Radioanalytische Verfahren	105
4.4.1	Riodünnschichtchromatographie (Radio-DC)	106
4.4.2	Radiohochdruckflüssigkeitschromatographie	107
4.4.3	Bestimmung der spezifischen Aktivitäten	108
4.5	Radiopharmakologische Untersuchungen	110
4.5.1	Bestimmung der Lipophilie von Derivaten des WAY 100635	110
4.5.2	Bestimmung der Bioverteilung und metabolischen Stabilität einiger WAY Derivate bei NMRI Mäusen	111
5	ZUSAMMENFASSUNG	112
6	LITERATUR	115

1 Einleitung

1.1 Radionuklide in den Lebenswissenschaften

Mit der Entdeckung der Radioaktivität 1896 durch Henri Becquerel etablierte sich die Nuklearchemie als Teilgebiet der Naturwissenschaften innerhalb kurzer Zeit. Aufgrund der Untersuchungen und Isolierung des in der Natur vorkommenden Radioisotops ^{210}Pb durch den Chemiker Georg von Hevesy, wurden erstmals Radiotracer für chemische und biochemische Prozesse in lebenden Organismen eingesetzt (Nobelpreis für Medizin 1943) [1]. Die Verwendung von Verbindungen als Radiotracer beruht auf der Nichtunterscheidbarkeit der isotonen Nuklide in ihrem chemischen oder physiologischen Verhalten.

Die Herstellung künstlicher Radioisotope für die Lebenswissenschaften wurde durch die Entwicklung eines Teilchenbeschleunigers durch Lawrence und Livingstone 1930 möglich. Weiterhin konnten durch die Entdeckung der neutroneninduzierten Kernspaltung durch Hahn und Strassmann 1938/39 und dem Bau des ersten Kernreaktors 1942 durch Fermi weitere Produktionsprozesse für künstliche Radioisotope zur Verfügung gestellt werden [2, 3].

Die so erzeugten künstlichen Radionuklide werden für verschiedene analytische, diagnostische sowie therapeutische Anwendungen eingesetzt. So finden sie beispielsweise Anwendung bei der Altersbestimmung und der Untersuchung chemischer oder biologischer Reaktionsabläufe [4, 5]. Hervorzuheben sind die Möglichkeiten der Verwendung von Radioisotopen bei analytischen Methoden. Hierbei werden die Autoradiographie in präklinischen Studien zur Entwicklung neuer Radiopharmaka sowie Untersuchungen mittels Radioimmunoassay als Nachweismethode von Stoffen mit antigenem Charakter gezielt eingesetzt [6, 7]. Besonders Radioisotope, welche γ -Quanten im Energiebereich von 100-300 keV emittieren, oder Positronenstrahler, welche 511 keV Anihilationsstrahlung aussenden, finden Anwendung, um nichtinvasive Untersuchungen durchführen zu können. Dadurch können pathophysiologische Prozesse analysiert, diagnostiziert und therapiert werden. Weiterhin werden α - oder β^- -Strahler zur Tumortherapie eingesetzt, da sie aufgrund ihres hohen LET-Wertes (Linearer-Energie-Transfer) im Körpergewebe beispielsweise durch Doppelstrangbrüche der DNA, gewollte Schäden anrichten [8, 9, 10].

Die Produktion von kurzlebigen, neutronenarmen Radionukliden erfolgt meist am Zyklotron. Die allgemein in hohen spezifischen Aktivitäten hergestellten Zyklotronnuklide erlauben ein Arbeiten im subnanomolaren Bereich. In der Nuklearmedizin besteht daher die Möglichkeit, toxische oder zentralwirksame radioaktiv markierte Verbindungen für *in vivo* Anwendungen einzusetzen, ohne toxikologische oder immunologische Reaktionen befürchten zu müssen [11].

1.2 Bedeutung kurzlebiger Strahler für die bio-medizinische Forschung und klinische Anwendung

Zur Erfassung regionaler Funktionen in bestimmten Organen und Geweben werden unter Verwendung körpereigener Substrate oder deren Analoga sowie von bekannten Pharmaka radioaktive Arzneimittel (Radiopharmaka) entwickelt. Da diese Stoffe spezifische biochemische Wechselwirkungen eingehen, reichern sie sich in einzelnen Organen des Körpers unterschiedlich stark an und können somit über Funktion oder Dysfunktion Auskunft geben [12]. So werden z.B. Antikörper-Antigen Systeme und Stoffwechselsubstrate wie Glucose, Fettsäuren oder Aminosäuren zum Studium von Herz- bzw. Hirnfunktionen eingesetzt. Daneben finden rezeptorbindende Radiopharmaka bei der Erfassung von Rezeptordichten und -besetzungen Anwendung.

Unter Verwendung von positronenemittierenden Isotopen wie ^{11}C , ^{13}N , ^{15}O oder ^{32}P im Radiopharmakon können physiologisch wirksame Substanzen unter Erhaltung der physiologischen und chemischen Eigenschaften als „echte Tracer“ eingesetzt werden. Durch den Austausch von z.B. Hydroxylgruppen durch ^{18}F Fluorid und von Methyl-Resten durch radioaktives Brom oder Iod sind sogenannte Analogtracer erhältlich. Hierbei finden vor allem Radionuklide mit einer grösseren Halbwertszeit, wie z.B. ^{18}F , $^{75,76}\text{Br}$, $^{120,123,125,131}\text{I}$ oder ^{73}Se (siehe Tabellen 1.1 und 1.2) Anwendung [13]. Diese Fremdmarkierungen erfüllen durch die nur geringfügigen sterischen Veränderungen im Molekül das Struktur-Analogie-Prinzip, so daß das physiologische Verhalten oft erhalten bleibt.

Anzuführen ist hierbei allerdings auch, daß bestimmte Folgeprozesse im Verlauf der Metabolisierung des Radiopharmakons durch diese Fremdmarkierungen gewünschte Veränderungen der physiologischen Eigenschaften zur Folge haben. Wichtigstes Beispiel ist das metabolische „Trapping“ von 2- ^{18}F Fluor-2-deoxy-D-glucose, welches zur Untersuchung des regionalen Glucosestoffwechsels eingesetzt wird [14, 15, 16].

Da der hohe Produktionsaufwand und die notwendige Nähe von Meßeinrichtungen eine geringe Verfügbarkeit einiger der genannten Radionuklide mit sich bringen, finden meist metallische Radioisotope wie $^{99\text{m}}\text{Tc}$, ^{82}Rb , ^{68}Ga , ^{86}Y oder $^{186,188}\text{Re}$ Verwendung in der bio-medizinischen Forschung und klinischen Anwendung. Sie besitzen ebenfalls günstige Zerfalleigenschaften und sind teilweise als Generatorkern leicht zugänglich [17]. Dabei spielt $^{99\text{m}}\text{Tc}$ als bekanntestes Generatorkern in der nuklearmedizinischen Routineanwendung die wichtigste Rolle. $^{99\text{m}}\text{Tc}$, das durch Zerfall von ^{99}Mo gebildet wird, kann durch einfache Elution (Melken) von einer Säule erhalten werden und wird heute für etwa 80 % aller nuklearmedizinischen Untersuchungen eingesetzt. Da Metalle nur selten stabile

Kohlenstoffbindungen ausbilden, müssen sie über Komplexbildung an Biomoleküle gebunden werden, um eine *in vivo* Freisetzung des Radionuklids zu vermeiden.

Die Entwicklung der bildgebenden Verfahren hat in den letzten 20 Jahren die Möglichkeiten eröffnet, neue physiologische Erkenntnisse über Krankheitsprozesse zu untersuchen. Durch die Verwendung von Radiopharmaka und dem gleichzeitigen Einsatz bildgebender Verfahren ist es möglich, neue Wege der medizinischen Diagnostik zu eröffnen. Man unterscheidet generell bei nicht-invasiven bildgebenden Verfahren solche, die morphologische Strukturen darstellen können und solche, die es ermöglichen, regional ablaufende physiologische Prozesse auf molekularer Ebene *in vivo* zu erfassen [18, 19, 20]. Zu den Erstgenannten zählen die Computer-Tomographie (CT) und die Magnetresonanztomographie (MRT). Zu den letzteren gehören die Einzel-Photonen-Emissions-Tomographie (SPET) und die Positronen-Emissions-Tomographie (PET). Bei Rezeptor- bzw. Antikörper-Bindungen sowie Akkumulationen durch Metabolisierungsprozesse kommt es zur Anreicherung des applizierten Radiopharmakons. Diese Anreicherung im Zielorgan kann durch die emittierende Strahlung des Radionuklids von außen detektiert werden. Dies erlaubt eine Registrierung durch PET- oder SPET-Geräte je nach Strahlungsart.

1.2.1 Photonen-Emissions-Tomographie (PET)

Das Prinzip der PET basiert auf der Positronenvernichtung. Positronenstrahler (β^+ -Strahler siehe Tabelle 1.1) sind neutronenarme instabile Atomkerne, die durch Konversion eines Protons in ein Neutron unter gleichzeitiger Abgabe eines Positrons (β^+) und eines Neutrinos (ν) zerfallen. Die von Positronenstrahlern ausgesandten Positronen werden nach Verlust ihrer kinetischen Energie nach einem Bremsweg von einigen Millimetern im umgebenden Medium durch Reaktion mit einem Elektron (ihrem Antiteilchen) vernichtet [21]. Dabei werden zwei γ -Quanten mit je 0,511 MeV Energie (Anihilationsstrahlung) bevorzugt unter einem Winkel von 180° ausgesandt [22]. Die γ -Strahlung ist Gewebe-durchdringend und kann extern mit Hilfe zweier in Koinzidenz geschalteter BGO- (Bismutgermanat) bzw. LSO- (Luthetiumsilicat) Kristalldetektorpaare, die ringförmig und in mehreren Schichten angeordnet sind, ortsabhängig erfaßt werden. Dazu wird ein Zerfallsereignis nur dann als Positronenzerfall registriert, wenn die beiden γ -Quanten innerhalb der Koinzidenzauflösungszeit von wenigen Nanosekunden auf zwei gegenüberliegende Detektoren treffen. Da die Zählausbeute eines Koinzidenzereignisses tiefenunabhängig ist, können die Streu- und Absorptionsverluste durch vorhergehende externe Messungen exakt bestimmt und korrigiert werden. Somit besteht mittels bio-mathematischer Modelle und dynamischer Messung der

Pharmakokinetik die Möglichkeit der Quantifizierung regionaler physiologischer Funktionen. Regionale Aktivitätskonzentrationen können im nanomolaren Bereich quantitativ erfasst werden. Moderne PET-Kameras, besitzen eine räumliche Auflösung zwischen 3–5 mm [19, 23].

Tabelle 1.1: Nukleare Daten der wichtigsten PET-Radionuklide [aus 24, 25, 26, 27]

Radionuklid	Halbwertszeit	Zerfallsart (%)	$E_{\beta^+_{\max}}$ [keV]
<i>Organische</i>			
^{11}C	20,4 min	β^+ (99,8); EC (0,2)	960
^{13}N	9,96 min	β^+ (100)	1190
^{15}O	2,03 min	β^+ (99,9); EC (0,1)	1720
^{30}P	2,5 min	β^+ (99,8)	3250
<i>Analoge</i>			
^{18}F	109,6 min	β^+ (97); EC (3)	635
^{75}Br	98 min	β^+ (75,5); EC (24,5)	1740
^{76}Br	16,1 h	β^+ (57); EC (43)	3900
^{73}Se	7,1 h	β^+ (65); EC (35)	1320
^{120}I	1,35 h	β^+ (64); EC (36)	4100
^{124}I	4,15 d	β^+ (25); EC (75)	2140
<i>Metallische</i>			
^{62}Cu	9,7 min	β^+ (98); EC (2)	2930
^{68}Ga	68,3 min	β^+ (90); EC (10)	1900
^{82}Rb	1,3 min	β^+ (96); EC (4)	3350
^{86}Y	14,7 h	β^+ (34); EC (66)	1300
$^{94\text{m}}\text{Tc}$	52 min	β^+ (72); EC (28)	2470

1.2.2 Einzel-Photonen-Emissions-Tomographie (SPET)

SPET ist ein verbreiteteres und wesentlich kostengünstigeres Verfahren zur Untersuchung mit Radiopharmaka. Hierbei werden Radionuklide mit einer dominanten γ -Linie zwischen 50-300 keV bevorzugt verwendet, da die Ansprechwahrscheinlichkeit der verwendeten NaI(Tl)-Detektoren in diesem Bereich am größten ist. Die beim SPET-Verfahren verwendeten Radionuklide emittieren die γ -Strahlung statistisch in alle Raumrichtungen. Genauere Angaben zum Herkunftsort der emittierten γ -Quanten können, zusätzlich erschwert durch die

Schwächung der Strahlung im Körper, nicht gemacht werden, wodurch quantitative Aussagen nur eingeschränkt möglich sind [28]. Zur Richtungszuordnung sind die γ -Kameras mit einem Kollimator ausgestattet. Bei den SPET-Untersuchungen des zu untersuchenden Körperbereichs werden Schichtaufnahmen aufgenommen, welche durch eine Rotationsbewegung der γ -Kameras um die Körperachse des Patienten ermöglicht werden. Aus den so erhaltenen Meßdaten werden mit Hilfe von Computersystemen Bilder mit räumlicher und zeitlicher Auflösung ermittelt, wobei mit einer Auflösung von 7 – 8 mm im Vergleich zu PET Bilder eine geringere Qualität erhalten wird. Schnell ablaufende Stoffwechselfvorgänge lassen sich daher bei herkömmlichen SPET-Untersuchungen schlechter verfolgen, da zwischen der ersten und der letzten Aufnahme 40 Minuten vergehen. Durch die Verwendung modernerer ringförmiger bzw. Dreikopf-Kameras kann allerdings die Aufnahmezeit erheblich verkürzt werden.

Tabelle 1.2: Nukleare Daten der wichtigsten SPET-Radionuklide [aus 3]

Radionuklid	Halbwertszeit	Zerfallsart (%)	γ -Linie [keV] (%)
<i>Analoge</i>			
^{123}I	13,02 h	EC (100)	159 (83)
^{77}Br	56 h	EC (99,3)	239 (22,4) 521 (20,3)
<i>Metallische</i>			
^{67}Ga	78,3 h	EC (100)	93 (37) 185 (20)
^{97}Ru	69,2 h	EC (100)	216 (86) 325 (10)
$^{99\text{m}}\text{Tc}$	6,02 h	IT (>95)	141 (87)
^{111}In	67,9 h	EC (100)	171 (91) 247 (94)
^{201}Tl	73,1 h	EC (100)	166 (10,2)

Aufgrund der guten Verfügbarkeit geeigneter γ -Strahler wie $^{99\text{m}}\text{Tc}$, ^{123}I und ^{201}Tl (siehe Tabelle 1.2) hat sich die SPET-Methode als bildgebendes Verfahren in der medizinischen Diagnostik etabliert, obwohl die Qualität der Bilder im Vergleich zu PET geringer ist und nur relative quantitative Aussagen durch die Schwächung und Streuung der Strahlung im Körper möglich sind [8]. Anhand der Tabelle 1.2 ist zu erkennen, daß ein ideales SPET-Radionuklid bis auf seine γ -Quanten keine Partikel emittiert und somit unnötige Strahlenbelastungen des Patienten vermieden werden. [$^{99\text{m}}\text{Tc}$]Technetium nimmt in der nuklear-medizinischen Diagnostik eine Sonderstellung ein, da es als Generatorkern relativ kostengünstig an jedem

Ort verfügbar ist. Moderne, weitentwickelte Technetiumradiopharmaka zeigen eine spezifische Anreicherung in verschiedensten Organen und werden in Form von leicht darstellbaren Komplexverbindungen eingesetzt.

1.3 Chemische und kinetische Effekte von Reaktionen trägerarmer Radionuklide

Da Radiopharmaka in praktisch trägerfreien Mengen (Subnanomolbereich) appliziert werden können, sind aufgrund von fehlenden pharmakodynamischen Effekten toxische und immunologische Reaktionen ausgeschlossen. Hohe spezifische Aktivitäten sind in der präparativen organischen Radiochemie ein wichtiges Kriterium für die Qualität der dargestellten Markierungsprodukte. Das Vorhandensein von Träger (Beimengungen stabiler Isotope des verwendeten Radionuklids) verringert die spezifische Aktivität des Produktes, was vor allem bei Rezeptorbindungsstudien von großem Nachteil ist [29]. Daher werden bei der Radiomarkierung folgende Fälle unterschieden:

- trägerfreie oder carrier-free (c.f.) Synthesen,
- trägerarme oder non-carrier-added (n.c.a.) Synthesen,
- geträgerte oder carrier-added (c.a.) Synthesen.

Trägerfreie Systeme stellen Idealfälle bei der Radiomarkierung dar, welche nur bei Verwendung von „Radioelementen“ wie Technetium und Astat erreicht werden können. Bei allen anderen Radioisotopen finden sich immer Spuren des entsprechend stabilen Isotops, man spricht daher von trägerarmen (*n.c.a.*) Synthesen, d.h. man arbeitet ohne Trägerzusatz in Abhängigkeit von der natürlichen Häufigkeit des Elements. Man sollte deshalb auf eine sorgfältige Arbeitsweise achten, um Kontamination mit stabilen Isotopen aus der Atmosphäre oder durch Kontakt mit Chemikalien zu vermeiden. Die spezifischen Aktivitäten sind bei *n.c.a.* Synthesen dementsprechend geringer, so daß die theoretischen, maximalen spezifischen Aktivitäten nicht erreicht werden. Durch die Verwendung der geringen Massen können Effekte beobachtet werden, die in der makroskopischen Synthesechemie keine oder nur eine unwesentliche Rolle spielen. Es können beispielsweise Adsorptionseffekte an Glasoberflächen oder unerwünschte Nebenreaktionen mit Spuren von Verunreinigungen selbst hochreiner Reagenzien beobachtet werden. Aus diesem Grund setzt man in manchen Fällen chemisch ähnliche Verbindungen zu, wie Bromid zur Verdünnung von [¹³¹I]Iodid (*geträgerte Synthese* mit nicht-isotopem Träger), um diese Effekte zu verringern.

Die spezifische Radioaktivität A_S ist definiert als die auf die Masse bezogene Aktivität einer radioaktiv markierten Verbindung [21].

$$A_S = \frac{A}{m} \text{ [Bq / g]}$$

A_S = spezifische Radioaktivität

A = Radioaktivität

m = Masse

A_S läßt sich aus den Gleichungen für den radioaktiven Zerfall berechnen, wobei die Aktivität von der Zerfallsrate und der Halbwertszeit des radioaktiven Nuklids abhängig ist. Wird $t_{1/2} = \ln 2 / \lambda$ gesetzt lautet das radioaktive Zerfallsgesetz:

$$A = - \frac{dN}{dt} = N \lambda = N \frac{\ln 2}{t_{1/2}} \text{ [Bq]}$$

A = Radioaktivität

N = Anzahl der Atome

λ = Zerfallskonstante [s^{-1}]

$t_{1/2}$ = Halbwertszeit [s]

Unter Verwendung molarer Größen ergibt sich aus der oben angegebenen Gleichung eine maximale molare Radioaktivität $A_{S,max}$, (alle Moleküle sind radioaktiv markiert bzw. es liegen ausschließlich Radionuklide vor):

$$A_{S,max} = N_A \lambda \text{ [Bq / mol]}$$

$A_{S,max}$ = maximale A_S

N_A = Avogadro'sche Konstante

Die maximale theoretische molare Radioaktivität (meist, wie in der Arbeit *spezifische Aktivität* genannt) ist somit durch die Zerfallskonstante bzw. durch die Halbwertszeit des jeweiligen Nuklids vorgegeben. Sie liegt je nach Halbwertszeit in der Größenordnung von $10^9 - 10^{11}$ [GBq/mol].

Das Arbeiten in subnanomolaren Bereichen hat bei n.c.a. Synthesen wegen der nicht stöchiometrischen Mengenverhältnisse sowie der chemischen Ungleichgewichtsbedingungen auf die jeweiligen Reaktionsabläufe einen entscheidenden Einfluß. Folglich kann sich der Reaktionsverlauf zum Teil erheblich vom makroskopischen Fall unterscheiden.

Die Markierungssynthesen verlaufen daher unter n.c.a. Bedingungen nach einer Kinetik „pseudo-erster Ordnung“. Da die Konzentration des eingesetzten Markierungsvorläufers [E] sehr groß ist gegenüber der des Radionuklids, kann diese während des Reaktionsverlaufs als konstant angesehen werden. Für bimolekulare Reaktionen der Form $[E] + [R] \rightarrow [P]$ gilt bei konstanter Stoffmenge des Eduktes [E] für die Zunahme des Produktes [P] folgende Gleichung:

$$[P] = [R_0] (1 - e^{-k't})$$

[P] = Konzentration an Produkt

[R_0] = Anfangskonzentration des Radionuklids

k' = messbare Geschwindigkeitskonstante

t = Reaktionszeit

Die messbare Geschwindigkeitskonstante k' ist das Produkt aus der tatsächlichen Geschwindigkeitskonstante k und der Eduktkonzentration.

Aus der oben genannten Gleichung ist erkennbar, daß die radiochemische Produktausbeute mit zunehmender Reaktionszeit einen exponentiellen Verlauf gegen einen Sättigungswert annimmt.

Werden bei Markierungen mit konstanter Reaktionszeit t die Eduktkonzentration $[E]$ variiert, läßt sich t mit in die Geschwindigkeitskonstante einbeziehen und es ergibt sich:

$$[P] = [R_0] (1 - e^{-k''[E]})$$

$[E]$ = Konzentration Edukt
 k'' = messbare Geschwindigkeitskonstante

k'' ergibt sich hierbei als messbare Geschwindigkeitskonstante als Produkt aus der tatsächlichen Geschwindigkeitskonstante k und der Reaktionszeit t .

Aus der genannten Gleichung folgt, daß die Produktkonzentration $[P]$ mit zunehmender Reaktionszeit t ebenfalls einen Sättigungswert erreicht. Diese entspricht bei Abwesenheit von Nebenreaktionen (z.B. mit Verunreinigungen) gerade der Anfangskonzentration $[R_0]$ des Radionuklids, d.h. es können theoretisch 100% Reaktionsausbeute erzielt werden. Die Sättigungsausbeute wird aufgrund des hohen Eduktüberschusses $[E]$ meist innerhalb weniger Minuten erreicht. Bei allen n.c.a. Markierungen oder Synthesen liegt das Produkt wie das Ausgangsnuklid bzw. Markierungsreagenz nur in geringen Konzentrationen vor, so daß Folgereaktionen des markierten Produktes mit dem Radionuklid (Doppelmarkierungen) aus statistischen Gründen auszuschließen sind. Auch aufgrund der geringen Produktkonzentrationen ergeben sich Vorteile im weiteren Umgang des Markierungsproduktes nach der n.c.a. Synthese. Hierbei ist die Abtrennung aufgrund der sehr geringen Masse schnell und einfach möglich, falls ein geeignetes Trennsystem verfügbar ist. Verwendet werden hierbei meist säulenchromatographische Methoden wie HPLC, GC oder Kartuschensysteme.

Für das Arbeiten im n.c.a. Bereich im Gegensatz zur präparativen organischen Chemie ist eine spezielle Synthesepaltung erforderlich, um Produkte mit hohen spezifischen Aktivitäten zu erhalten. Für Routineproduktionen sollte darüber hinaus darauf geachtet werden, daß die Gesamtsynthesezeit drei Halbwertszeiten nicht überschreitet. Eine schnelle und unkomplizierte Analysetechnik zur Identifizierung der Radiopharmaka, sowie eine schnelle Isolierung und Qualitätskontrolle der Radioverbindungen stellen essentielle Voraussetzungen dar. Dabei werden Eintopfreaktionen angestrebt, bei denen die Einführung des Radionuklids erst im letzten Schritt stattfindet, um längere Aufarbeitungen von Zwischenprodukten und Radioprodukten aus Nebenreaktionen zu vermeiden. Außerdem sollten aus Strahlenschutz- sowie Kostengründen möglichst wenig Reaktionsschritte mit radioaktivem Material durchgeführt werden.

1.4 Produktion, Eigenschaften und Verwendung von Fluor- bzw. Iod-Radioisotopen

1.4.1 Produktion von Fluor-18

Der kurzlebige Positronenstrahler Fluor-18 besitzt eine Halbwertszeit von 109,7 min und zerfällt zu 96,9 % unter Positronenemission und zu 3,1 % unter Elektroneneinfang. An einem kleinen Zyklotron kann schon mit relativ kleinen Teilchenenergien (17 MeV Protonen) [^{18}F]Fluorid hergestellt werden. Dabei wird beispielsweise von der $^{18}\text{O}(\text{p},\text{n})^{18}\text{F}$ Kernreaktion ausgegangen, welche schon bei 10 MeV einen großen Wirkungsquerschnitt für die Bildung von Fluor-18 besitzt. Die wichtigsten Kernreaktionen zur Darstellung von Fluor-18 am Zyklotron sind in Tabelle 1.3 zusammengestellt.

Tabelle 1.3: Wichtige ^{18}F -Produktionsprozesse am Zyklotron [aus 30, 31, 32]

Targetfüllung	Kernreaktion	Energie [MeV]	Produkt
Ne+0,1% F ₂ , 18-24 bar	$^{20}\text{Ne}(\text{d},\alpha)^{18}\text{F}$	11,2 → 0	[^{18}F]F ₂
[^{18}O]H ₂ O	$^{18}\text{O}(\text{p},\text{n})^{18}\text{F}$	16 → 0	[^{18}F]F _{aq} ⁻
[^{18}O]O ₂ , 13 bar	$^{18}\text{O}(\text{p},\text{n})^{18}\text{F}$	10 → 0	[^{18}F]F ₂
[^{18}O]H ₂ O	$^{16}\text{O}(\text{}^3\text{He},\text{p})^{18}\text{F}$	36 → 0	[^{18}F]F _{aq} ⁻

Die Art der verwendeten Kernreaktion und des Targetmaterials bei der Produktion ist entscheidend für die chemische Form, die spezifische Aktivität und die maximal erreichbare Radioaktivitätsmenge des Radiofluors. Über die oben aufgeführten Kernreaktionen besteht die Möglichkeit [^{18}F]F_{aq}⁻, [^{18}F]HF und [^{18}F]F₂ als primäre Vorläufer im Target darzustellen, dadurch wird der Einsatz nukleophiler wie auch elektrophiler Fluorierungsreagenzien möglich. Bei der Herstellung von [^{18}F]F₂ sind aufgrund des unumgänglichen Zusatzes an F₂ bei der Extraktion des gebildeten Fluor-18 aus dem Target nur trägerhaltige Fluorierungsprodukte mit spezifischen Aktivitäten von < 50 GBq/mmol zugänglich. Daraus folgt eine relativ geringe spezifische Aktivität möglicher Zielverbindungen. Im Gegensatz dazu kann mit Hilfe des [^{18}F]Fluorids auf nukleophilem Wege ein markiertes Produkt erhalten werden, das ohne Zusatz von Träger gebildet wird.

Fluor-18 ist aufgrund seiner Halbwertszeit optimal geeignet bezüglich der Synthese, Reinigung und der Qualitätskontrolle. Die mittlere Positronenenergie liegt bei Fluor-18 sehr günstig und ermöglicht so die physikalisch beste Ortsauflösung und eine geringe β^+ -Dosis, daher ist die Strahlenbelastung für den Patienten relativ gering. Die Fluor-Kohlenstoffbindung ist die stabilste innerhalb der Halogenreihe und besitzt somit beste Voraussetzung für die

Markierung von Radiopharmaka. Dehalogenierungsverluste des Pharmakons traten bei in vivo Untersuchungen nur in geringem Maße auf.

1.4.2 Produktion medizinisch wichtiger Radioisotope des Iod

Die am häufigsten in den Lebenswissenschaften angewendeten radioaktive Iodisotope sind ^{123}I , ^{125}I , ^{131}I [33, 34]. Neuerdings gewinnen auch die Positronen-emittierenden Nuklide ^{120}I und ^{124}I für PET-Untersuchungen an Bedeutung. Bei der Produktion der Radioiodnuklide wird wie im Fall des Radiofluors bevorzugt die Kernreaktion angewendet, welche zu leicht abtrennbaren Produkten mit hohen spezifischen Aktivitäten führt.

[^{123}I]Iod. Besondere Bedeutung kommt dem ^{123}I zu, welches ein ideales Nuklid für SPET-Untersuchungen ist. Es besitzt eine Halbwertszeit von 13,2 Stunden und zerfällt zu 100 % durch Elektroneneinfang (EC) mit einer Haupt-Gamma-Linie von 159 keV [24, 35]. Aufgrund der relativ hohen Halbwertszeit sind komplexere Synthesen durchführbar und physiologische Prozesse über einen längeren Zeitraum beobachtbar. Die Strahlenbelastung für Patienten ist beim Einsatz von ^{123}I entsprechend gering. Abgesehen von Konversions- und Augerelektronen tritt beim Zerfall von ^{123}I keine gewebsschädigende Strahlung auf. ^{123}I gehört zu den neutronenarmen Nukliden und muß daher am Zyklotron produziert werden [36, 37].

Tabelle 1.4: Wichtige Kernreaktionen zur Erzeugung von [^{123}I]Iod [aus30, 38]

Direkte Methoden		Indirekte Methoden	
Kernreaktion	Energie [MeV]	Kernreaktion	Energie [MeV]
$^{124}\text{Te}(p, 2n)^{123}\text{I}$	25 → 20	$^{122}\text{Te}(^4\text{He}, 3n)^{123}\text{Xe} \rightarrow ^{123}\text{I}$	43 → 34
$^{123}\text{Te}(p, n)^{123}\text{I}$	15 → 9	$^{123}\text{Te}(^3\text{He}, 3n)^{123}\text{Xe} \rightarrow ^{123}\text{I}$	38 → 20
$^{122}\text{Te}(d, n)^{123}\text{I}$	14 → 6	$^{127}\text{I}(p, 5n)^{123}\text{Xe} \rightarrow ^{123}\text{I}$	160 → 20
$^{121}\text{Sb}(^4\text{He}, 2n)^{123}\text{I}$	28 → 9	$^{127}\text{I}(d, 6n)^{123}\text{Xe} \rightarrow ^{123}\text{I}$	90 → 45
$^{\text{nat}}\text{Sb}(^3\text{He}, xn)^{123}\text{I}$	26 → 12	$^{124}\text{Xe}(p, 2n)^{123}\text{Cs} \rightarrow ^{123}\text{Xe} \rightarrow ^{123}\text{I}$	40 → 17
		$^{124}\text{Xe}(p, pn)^{123}\text{Xe} \rightarrow ^{123}\text{I}$	44 → 20

$T_{1/2} (^{123}\text{Cs}): 5,9 \text{ min}, T_{1/2} (^{123}\text{Xe}): 2,08 \text{ h}$

Bei den Herstellungsmethoden unterscheidet man den :

direkten Weg: [^{123}I]Iod entsteht als unmittelbares Produkt der Kernreaktion
 und indirekten Weg: [^{123}I]Iod wird durch Zerfall aus einem über eine Kernreaktion erzeugten instabilen Mutternuklid gebildet.

Die entsprechenden Kernreaktionen sind in Tabelle 1.4 zusammengestellt.

Direkte Methode:

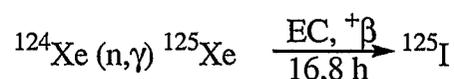
Bei der direkten Methode bestrahlt man Antimon- oder Tellurtargets. Besonders gut eignen sich die Kernreaktionen, bei welchen Tellur als Targetmaterial verwendet wird. Hierbei können Protonen mit einer Energie bis 24 MeV für die $^{124}\text{Te}(p,2n)^{123}\text{I}$ Reaktion verwendet werden, die schon an einem Zyklotron < 20 MeV erzeugt werden können. Ausgegangen wird von einem hoch angereicherten metallischen Tellurtarget, aus dem man über einen naßchemischen Weg das ^{123}I nach der Bestrahlung abtrennen kann. Alternativ ist es möglich, aufgeschmolzenes TeO_2 auf einer Platinmatrix zu verwenden, aus dem das Radioiodid nach der Bestrahlung durch trockene Destillation abgetrennt wird [24, 39]. Bei der direkten Methode kommt es jedoch zu radionuklidischen Verunreinigungen längerlebiger Iodisotope, insbesondere von ^{124}I und ^{125}I , worin ein grosser Nachteil besteht. Zur Darstellung von isotopenreinem ^{123}I für medizinische Anwendungen ist daher in Deutschland nach der „Richtlinie Strahlenschutz in der Medizin“ nur die indirekte Methode erlaubt.

Indirekte Methode:

Bei der indirekten Methode wird ^{123}Xe erzeugt, welches leicht abtrennbar ist. ^{123}Xe zerfällt durch EC- bzw. β^+ -Zerfall in ^{123}I mit einer Halbwertszeit von 2,08 h. Bei der Produktion des ^{123}Xe -Vorläufers haben sich vor allem die $^{127}\text{I}(p,5n)^{123}\text{Xe}$ und die $^{127}\text{I}(d,6n)^{123}\text{Xe}$ Kernreaktionen bewährt. Der Vorteil der indirekten Methode liegt in der hohen chemischen und radiochemischen Reinheit des ^{123}I unter Nutzung des Generatorprinzips. Zur Routineproduktion werden hochenergetische Projektile ($E > 60$ MeV) und damit große Beschleuniger benötigt.

Die am häufigsten genutzte Methode ist die Bestrahlung von hochangereicherten ^{124}Xe Targetgas, wobei durch eine (p,pn)-Reaktion direkt ^{123}Xe bzw. durch eine (p,2n)-Reaktion erst ^{123}Cs erzeugt wird, das mit einer Halbwertszeit von 5,9 min in ^{123}Xe zerfällt. Diese Methode erfordert Protonenenergien von 30 MeV und ist somit nur an größeren Mittelenergie-Teilchenbeschleunigern anwendbar [38, 40].

[^{125}I]Iod. Durch Bestrahlung an natürlichen Xenon mit Reaktorneutronen ((n, γ)-Reaktion) läßt sich Radioxenon ^{125}Xe darstellen, das durch EC- und Positronenzerfall mit einer Halbwertszeit von 16,8 Stunden in ^{125}I übergeht [41].



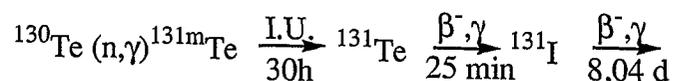
^{124}Xe , das nur zu 0,1 % in natürlichem Xenon enthalten ist, hat mit 128 barn einen höheren Einfangwirkungsquerschnitt gegenüber Neutronen als alle anderen Xe-Isotope. Dabei werden

Gastargets unter hohem Druck mit hohen Neutronenflußdichten in einem Kernreaktor bestrahlt. Die Bestrahlungsdauer sollte 60 Tage nicht überschreiten, da bereits gebildetes ^{125}I wieder zerfällt oder zu unerwünschten Nebenprodukten (^{126}I , $T_{1/2} = 13 \text{ d}$) weiterreagiert. Nach Beendigung der Bestrahlung wird eine Wartezeit von einigen Wochen eingehalten, um Verunreinigungen an ^{126}I durch Zerfall abklingen zu lassen [8].

^{125}I ist mit einer Halbwertszeit von 60 Tagen und seiner schwachen γ -Strahlung (K_{α}) von 35 keV sehr gut für autoradiographische Studien geeignet. Häufig ersetzt ^{125}I bei *in vitro* Experimenten die langlebigen β^- -Strahler Kohlenstoff-14 und Tritium, wobei größere Nachweisempfindlichkeiten unter Einsatz geringerer radioaktiver Mengen und eine hohe Auflösung bei der Autoradiographie erreicht wird [37]. Die durch EC-Zerfall entstehenden niederenergetischen Konversions- und Augerelektronen werden bevorzugt für therapeutische Zwecke genutzt, da die kurze Reichweite der Elektronen nur gezielt Gewebe in näherer Umgebung zerstört.

[^{131}I]Iod. ^{131}I ist ein neutronenreiches Reaktornuklid, welches sowohl durch Neutroneneinfangreaktionen als auch zu 2,9 % als Spaltprodukt der Kernspaltung gebildet wird. ^{131}I zerfällt als β^- -Strahler mit einer Halbwertszeit von 8,02 Tagen. Die γ -Strahlung besitzt zu 85,5 % eine Energie von 364 keV. Wegen der energiereichen γ - sowie der β^- -Strahlung wird aufgrund der hohen Strahlenbelastung ^{131}I fast nur noch für die Therapie eingesetzt. ^{131}I findet allerdings in der Nuklearchemie aufgrund seiner relativ langen Halbwertszeit und der gut detektierbaren γ -Linie Anwendung als Modellisotop zur Entwicklung neuer iodierter Tracer bzw. neuer Markierungstechniken [42, 43, 44].

Man gewinnt heute ^{131}I fast ausschließlich über Neutroneneinfangreaktionen an ^{130}Te :



Durch die Bestrahlung von reinem Tellurmaterial, das zu über 33 % aus Tellur-130 besteht, erhält man durch Neutroneneinfang überwiegend [^{131}Te]Tellur im Grundzustand, das mit einer Halbwertszeit von 25 min zu [^{131}I]Iod zerfällt. Mit etwa 7 % wird das metastabile [$^{131\text{m}}\text{Te}$]Tellur gebildet, welches durch Isomerenumwandlung (I.U.) zu 18% in den Grundzustand (^{131}Te) und zu 82 % mit einer Halbwertszeit von 30 h direkt zum ^{131}I zerfällt. Das Radioiod wird anschließend durch naßchemisches Aufarbeiten des Targetmaterials destillativ isoliert.

[¹²⁴I]Iod. In Analogie zum ¹²³I wird zur Herstellung des ¹²⁴I hochangereichertes ¹²⁴Te mit Protonen oder Deuteronen über eine (d, 2n) oder eine (p, n) Reaktion bestrahlt. Bei der (d, 2n) Reaktion können hohe Nuklidausbeuten erreicht werden. Bei diesem Produktionsprozeß kommt es jedoch zu Verunreinigungen wie ¹²³I ($t_{1/2} = 13,2$ h) und ¹²⁵I ($t_{1/2} = 60$ d). Nach Bestrahlungsende wird hierbei wie auch bei der [¹²⁵I]Iod-Produktion eine Wartezeit von etwa 40h eingehalten, um unerwünschtes ¹²³I zerfallen zu lassen. Die (p, n)-Reaktion an [¹²⁴Te]Tellur liefern eine etwas geringere Ausbeute für ¹²⁴I. Die Abtrennung des ¹²⁴I vom Tellurdioxid-Target erfolgt durch trockene Destillation [45, 46 und 47]. ¹²⁴I, das eine Halbwertszeit von 4,15 Tagen aufweist, ist als PET-Nuklid nur bedingt einsetzbar, da es nur über einen Positronenanteil von 25 % verfügt. Aufgrund des EC-Zerfalls kommt es zu hohen Strahlenbelastungen für den Patienten und durch die energiereiche Haupt-Gamma-Linie von 603 keV zu zufälligen Koinzidenzen bei der PET-Messung. Trotzdem wurden ¹²⁴I zur Markierung neuer Tracer erfolgreich für therapeutische und diagnostische PET-Untersuchungen eingesetzt [48, 49 und 50].

[¹²⁰I]Iod. Für PET-Messungen besser geeignet ist ¹²⁰I mit einem β^+ -Anteil von ca. 56 % und einer Halbwertszeit von 81 Minuten [26]. Nachteilig ist allerdings die hohe kinetische Energie der Positronen von maximal 4,0 MeV, was zu einer geringen Auflösung bei PET-Messungen führt, da diese hochenergetischen Positronen nicht an ihrem eigentlichen Entstehungsort vernichtet werden. Erste Phantom-Messungen haben jedoch gezeigt, daß trotz hoher β^+ -Energien ¹²⁰I als PET-Nuklid geeignet ist [26].

Bei der Herstellung wird angereichertes Tellur-Material verwendet, das über die ¹²²Te (p,3n)-Kernreaktion mit Projektilenergien von mehr als 30 MeV zu [¹²⁰I]Iod führt. Dies setzt die Bestrahlung an grösseren Beschleunigern voraus. Hierbei entsteht z.B. zu 25 % unerwünschtes ^{120m}I als isomeres Nebenprodukt, das mit einer Halbwertszeit von 53 Minuten und einem β^+ -Anteil von etwa 50 % zerfällt. Die Auswertungen von PET-Messungen werden daher erschwert, und es kommt zu einer unnötigen Strahlenbelastung des Patienten. Die Protonen induzierte Kernreaktion ¹²⁰Te (p, n) ¹²⁰I ist besser geeignet, da hier mit Energien von unter 15 MeV auch an kleineren Beschleunigern bestrahlt werden kann. Außerdem werden hierbei nur etwa 5 % an ^{120m}I erhalten. Nachteilig wirkt sich jedoch der Kostenfaktor für das hochangereicherte Targetmaterial aus. ¹²⁰I wird nach der Bestrahlung durch trockene Destillation von einem TeO₂-Target getrennt [51, 52].

1.5 Markierungsverfahren zur Radiofluorierung und Radioiodierung

Fluor-18 ist aufgrund seiner sehr günstigen physikalischen und chemischen Eigenschaften das am häufigsten verwendete PET-Radioisotop.

Für die Einführung von [^{18}F]Fluor in die Zielverbindungen stehen bislang mehrere Methoden zur Verfügung:

- elektrophile Substitution
- direkte nukleophile Fluorierung
- Fluordediazonierung
- Fluorierung über prosthetische Gruppen.

Bei der Verwendung von Radioiodpharmaka für *in vivo* Anwendungen haben sich generell Verbindungen mit aromatisch und vinyllisch gebundenem Radioiod als stabil erwiesen. Aliphatische Iodtracer, die ausschließlich durch nukleophile Substitution markiert werden, spielen nur eine untergeordnete Rolle [106]. Vor allem Radioiodarylverbindungen finden Anwendung, wobei sich speziell drei Methoden für die n.c.a.-Darstellung durchgesetzt haben [33, 34]:

- direkte elektrophile Radioiodierung
- elektrophile Demetallierung
- nicht-isotope nukleophile Substitution.

1.5.1 Elektrophile Substitutionen

Radiofluorierung durch elektrophile Substitution

Die elektrophile Substitution geht von dem Vorläufer [^{18}F]F₂ aus, mit dessen Hilfe direkte Markierungen an elektronenreichen Reaktanden (Alkene, Aromaten, Carbanionen) möglich sind, oder unter Verwendung der etwas mildereren elektrophilen Fluorierungsagenzien, wie etwa Acetylhypofluorit [^{18}F]CH₃COOF oder Xenondifluorid [^{18}F]XeF₂ [53]. Bedingt durch den notwendigen Trägerzusatz bei der Herstellung von [^{18}F]F₂ werden radiochemische Ausbeuten von maximal 50 % erzielt, da bei jedem [^{18}F]F₂-Molekül nur ein Fluoratom substituiert wird. Bei der elektrophilen Substitution mit den verschiedenen ^{18}F -Fluorierungsagentien an aromatischen Systemen kommt es fast immer zu Isomerengemischen, die anschließend in aufwendigen Trennverfahren isoliert werden müssen. So werden bei der Umsetzung von L-DOPA mit [^{18}F]F₂ Isomerengemische von 2-,5- und 6-[^{18}F]Fluordopa erhalten, wobei nur letzteres zur Erkennung von Erkrankungen der

Basalganglien mittels PET Verwendung findet [54]. Durch die Wahl an Substituenten kann diese Isomerenverteilung beeinflusst und die Reaktion regioselektiver gestaltet werden [55].

Um eine möglichst regiospezifische elektrophile ^{18}F -Fluorierung durchführen zu können, sind Demetallierungsreaktionen an organometallischen Derivaten der jeweiligen Vorläufermoleküle erforderlich. Hierzu werden Silicium-, Germanium-, Zinn- oder auch Quecksilberorganyle als Markierungsvorläufer eingesetzt, die ihrerseits meist in aufwendigen Synthesen dargestellt werden müssen [56, 57]. So kann beispielsweise 4- ^{18}F Fluor-L-phenylalanin über die Reaktion eines geschützten Trimethylzinnvorläufers mit ^{18}F CH₃COOF bei 0°C in CCl₄ mit 100%iger Regioselektivität in 25% radiochemischer Ausbeute dargestellt werden [58]. Im Allgemeinen werden bei dieser Methode mit Zinn oder Quecksilber die höchsten radiochemischen Ausbeuten realisiert, wobei sich die relativ geringe spezifische Aktivität nachteilig auswirkt. Sie liegt für die meist angewendeten Verbindungen bei 370-3700 MBq/mmol (10-100 mCi/mmol). Zur Markierung von Rezeptorliganden bzw. toxikologisch wirksamen Verbindungen sind aber sehr hohe spezifische Aktivitäten erforderlich, damit keine pharmakodynamischen Wirkungen beim Patienten auftreten. Somit ist die elektrophile Radiofluorierung für die Herstellung z.B. von Rezeptorliganden ungeeignet.

Radioiodierung durch direkte elektrophile Radioiodierung

Die am häufigsten angewendete Methode, welche sich aber auf Aromaten beschränkt, ist die elektrophile Substitution. Es wurden eine große Anzahl von unterschiedlichen Techniken entwickelt. Man erhält mittels einer einfachen Reaktionsführung hohe radiochemische Ausbeuten. Allerdings muß hierbei betont werden, daß diese Reaktionsführung nicht positionsselektiv ist und daher Isomerengemische, die oft schwierig zu trennen sind, erhalten werden. Molekulares, radioaktiv markiertes Iod (I₂) eignet sich aufgrund seiner hohen Flüchtigkeit, seiner Reaktionsträgheit, seiner fehlenden Trägerfreiheit und der damit verbundenen radiochemischen Ausbeute von maximal 50 % (siehe elektrophile Fluorierung) nicht zum Arbeiten im n.c.a. Bereich.

Bei der Iodmonochlorid Methode wird inaktives Iodmonochlorid mit einer radioaktiven Natriumiodidlösung versetzt und führt zu einem Radioiod für Iod Austausch. Der Elektronegativitätsunterschied zwischen Chlor und Iod sorgt für eine Polarisierung der kovalenten Iod-Chlorbindung, wodurch das Iod einen stark elektrophilen Charakter erhält. Durch den Einsatz von inaktivem Iodmonochlorid ist hierbei kein Arbeiten unter n.c.a. Bedingungen möglich. Trägerfreies ^{123}I ICl läßt sich sehr aufwendig durch Zerfall von ^{123}Xe Xenon in ^{123}I Iod in einem Chlorgasstrom erzeugen und ist daher für eine Routineproduktion unpraktikabel [33, 59, 60]. Eine Weiterentwicklung dieser Methode

besteht in der Verwendung von Iodmonofluorid, das trägerarm durch Oxidation von Radioiodid mit F_2 entsteht [61, 62].

Iodid selbst besitzt ein relativ niedriges Oxidationspotential ($\frac{1}{2} I_2 \leftrightarrow I + e^-$; $E = -0,28 \text{ V}$, H_2O , RT, pH 7 [63]) und kann daher auf einfache Weise *in situ* zum formal positiv einwertigen Zustand oxidiert werden. Als Oxidationsmittel finden z.B. Chloramin-T (CAT), Chloramin-B (CAB), Dichloramin-T (DCT), Iodogen und N-Halogensuccinimide Anwendung. Bei Verwendung von CAT wird in wässriger, stark saurer Lösung Hypoiodit (H_2OI^+) und in wässriger, neutraler und basischer Lösung das Iodanalogon des CAT als reagierende Spezies angenommen [64, 65]. Dichloramin-T (N,N-Dichlor-p-Toluolsulfonsäureamid) wird vor allem in organischen Solventien verwendet, da es in diesen gut löslich ist und sich in der Oxidationskraft wenig vom CAT unterscheidet [66]. Das wasserunlösliche IodogenTM (1,3,4,6-Tetrachloro-3 α ,6 α -diphenylglycouril) ist in seinen Markierungsausbeuten mit CAT vergleichbar.

Die N-Halogensuccinimide N-Chlortetrafluorsuccinimid (NCTFS), N-Chlorsuccinimid (NCS) und, weniger geeignet, N-Bromsuccinimid (NBS) finden zur *in situ* Oxidation von Radioiodid ebenfalls Anwendung [66, 67, 68]. Unter Verwendung von NCS in Trifluormethansulfonsäure lassen sich selbst deaktivierte Aromaten in sehr hohen radiochemischen Ausbeuten erhalten [69].

Die Verwendung von Persäuren ist eine sehr schonende Methode zur Oxidation des Radioiodids [71, 70]. Hierbei werden keine chlorierten Nebenprodukte erhalten. Mit Hilfe dieser Methode ist die Markierung empfindlicher Edukte möglich, da auch die Bildung oxidativer Nebenprodukte stark eingeschränkt ist [34, 71].

Seit langer Zeit werden auch sporadisch Metallsalze als Oxidationsmittel für die Radioiodierungen untersucht [72]. Hierbei werden anorganische Metallionen (Ag^+ , Tl^{3+} , Pb^{4+} , Ce^{4+}) verwendet. Cer(IV)-Salze bieten den Vorteil, eventuell anwesendes Chlorid nicht zu oxidieren und damit keine chlorierten Nebenprodukte zu bilden [34]. Die Radioiodierungen nicht aktivierter und deaktivierter Benzolderivate in Trifluoressigsäure mit Metallsalzen als Oxidationsmittel führen zu hohen radiochemischen Ausbeuten. Dies wird auf die *in situ* Bildung von [^{131}I]Trifluoracetylhypoiodit, einer stark elektrophilen Iodierungsspezies, zurückgeführt [73].

Weitere kaum genutzte elektrophile Markierungsmethoden, bei welchen Iodid *in situ* oxidiert wird, sind:

- die Iodat-Methode [74, 75],
- enzymatische Methoden [76, 77] und
- elektrochemische Methoden [78, 79, 80].

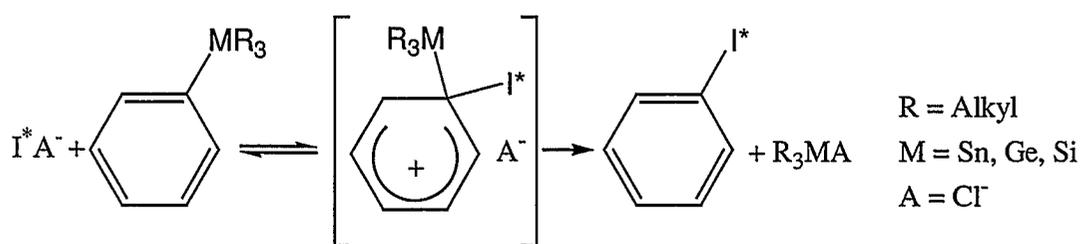
Radioiodierung durch elektrophile Demetallierung

Wie bei der elektrophilen Fluorierung beschrieben, liegt der Vorteil dieser Methode in der Regioselektivität. Allerdings werden hierbei ebenfalls die aufwendig zu synthetisierenden Organometallvorläufer benötigt. Aufgrund des elektropositiven Charakters der Metalle und der daraus resultierenden Polarisierung der Kohlenstoff-Metallbindung, wird diese gegenüber dem elektrophilen Angriff des Radioiods aktiviert, was kurze Reaktionszeiten und milde Reaktionsbedingungen ermöglicht [34, 71]. Anwendung als Vorläufer finden:

- Organoborverbindungen,
- Organometallverbindungen der IV-Hauptgruppe,
- Organothalliumverbindungen
- sowie aromatische Quecksilberverbindungen.

Organoborverbindungen nehmen bei der elektrophiler Demetallierung eine Sonderstellung ein. Aufgrund des leeren 2p-Orbitals des Borkomplexes ist ein Angriff des Iodierungsagens möglich. Weiterhin führt der kleine Kovalenzradius des Bors zu einem großen sterischen Einfluß der Substituenten bei der Markierungsreaktion [34, 81, 82].

Wie bei der Radiofluorierung finden die Elemente der IV. Hauptgruppe, Silicium, Germanium und Zinn, Anwendung bei der Darstellung von Organometallvorläufern, welche zur Radioiodierung dienen.



Schema 1.1: Mechanismus der Halodemetallierung

Durch den induktiven Effekt der Alkylreste (R) am Metall wird die Elektronendichte am benachbarten Kohlenstoffatom erhöht und dadurch die Bildung eines Übergangszustands erleichtert. Das Anion [A⁻] trägt zur Stabilisierung der Abgangsgruppe bei und erleichtert somit die Bildung des radioiodierten Produktes.

Die Reaktionsbedingungen für die n.c.a. Radioiodierung über die Demetallierungsreaktion wurden für alle drei Metalle genau untersucht. Hierbei wurden unter Verwendung der Trimethylzinnverbindungen in Essigsäure oder Methanol die höchsten radiochemischen Ausbeuten für aktivierte und deaktiverte aromatische Verbindungen um 90 % erzielt. Unpolare Lösungsmittel wie Tetrachlormethan erwiesen sich als weniger gut geeignet. Unter

Verwendung von Organosilicium- und Organogermaniumverbindungen werden verglichen mit Zinnverbindungen niedrigere radiochemische Ausbeuten erhalten, was auf die stärkere Kohlenstoff-Metallbindung zurückzuführen ist. Bei der Radioiodierung von Organogermaniumverbindungen erhält man noch für schwach aktivierte Aromaten hohe radiochemische Ausbeuten, im Falle von Organosiliciumverbindungen werden jedoch nur für stark aktivierte aromatische Verbindungen hohe radiochemische Ausbeuten erzielt [34, 71 und 83]. Diese Markierungsmethode ist in vielen Punkten überlegen und findet breite Anwendung bei der regioselektiven n.c.a. Radioiodierung komplexer Tracer, obwohl die Synthese der Vorläuferverbindungen sehr aufwendig ist [84, 85,86].

Quecksilberderivate weisen gegenüber Thalliumderivaten eine etwas höhere Stabilität auf. Bei der Synthese aromatischer Quecksilberverbindungen geht man von einfach zugänglichen aromatischen Chlorquecksilberverbindungen aus [82, 87]. Hierbei wird durch Zugabe von Iodid-Träger unter Verdrängung des Quecksilberhalogenids das markierte Produkt erhalten [34].

Bei der Dethallierung findet vor allem Thallium(III)trifluoracetat (TTFA) in Trifluoressigsäure Anwendung. Unter Verwendung von aromatischen Verbindungen lassen sich hohe Ausbeuten über Arylthallium(III)bistrifluoracetate als Zwischenstufe erzielen [88, 89]. Die Isomerenverteilung der thallierten Produkte wird durch die Substituenten am Aromaten beeinflusst. Bei Substituenten mit freien Elektronenpaaren (CO_2H , CO_2Me , OH , OR , etc.), entstehen ausschließlich die entsprechenden ortho-Produkte, da diese durch Übergangskomplexe TTFA koordinieren können [90]. Für Substituenten, welche keine freien Elektronenpaare aufweisen, wird meist die para-Position bevorzugt (keine regiospezifische Radioiodierung). Die Arylthallium(III)bistrifluoracetate können anschließend durch Zugabe von geträgertem Radioiodid über einen Thallium-Iod-Komplex in die iodierten Aromaten umgewandelt werden [91].

1.5.2 Nukleophile Substitutionen

Radiofluorierung durch nukleophile Substitution

Die wichtigste Synthesevariante zur Darstellung trägerarmer ^{18}F -fluorierter Verbindungen ist die nukleophile Substitution mit $[^{18}\text{F}]\text{Fluorid}$. Eine direkte nukleophile Fluorierung ist wegen der geringen Nukleophilie des Fluoridions aufgrund seiner hohen Ladungsdichte schwierig. Es sind aus diesem Grund folgende Punkte beim Umgang speziell mit Fluor-18 zu beachten [92]:

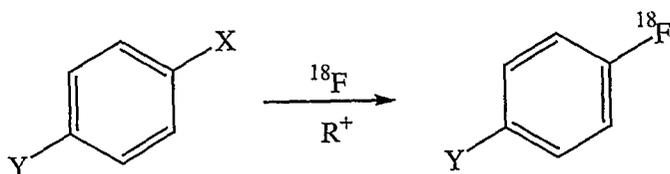
- Aktivierung des Fluoridions zur Steigerung der Nukleophilie und Löslichkeit,
- Verwendung von dipolar aprotischen Lösungsmitteln,
- Ausschluß von Substanzen mit aciden Protonen,
- Minimierung von Adsorptions- und Abdampfverlusten durch Erhöhung der Reaktivität,
- Einsatz von nicht-isotopem Träger und geeigneten Gefäßmaterialien,
- Vermeidung von Nebenreaktionen durch Einsatz hochreiner Chemikalien, Markierungsvorläufer und Lösungsmittel.

Zur Anionenaktivierung und zur Fixierung des Fluoridions bei der nukleophilen Substitution werden Phasentransferkatalysatoren (PTK), wie Tetraalkylammoniumsalze oder Aminopolyether (APE) 2.2.2. in Verbindung mit K_2CO_3 eingesetzt. Außerdem empfiehlt sich die Zugabe eines nicht-isotopem Trägers, wie z.B. Karbonate oder Oxalat/Karbonat-Gemische zur Absättigung freier unerwünschter Adsorptionsstellen und als Hilfsbasen. Besonders gut geeignete Lösungsmittel zur Markierung sind Acetonitril (AcCN), Dimethylsulfoxid (DMSO), N,N-Dimethylformamid (DMF) sowie N,N-Dimethylacetamid (DMAA). In der Praxis wird die [^{18}F]Fluorid-Lösung mit dem jeweiligen Aktivator sowie einer definierten Menge an nicht-isotopem Träger und Hilfsbase (Karbonat) zugesetzt und in Gegenwart von Acetonitril mehrere Male eingedampft. Das über die wäßrige [^{18}F]Fluoridlösung eingebrachte Wasser wird somit durch azeotrope Destillation und mit Hilfe von Argon als Trägergasstrom entfernt. Durch den Aminopolyether (Kryptofix[®] 2.2.2.) wird die Löslichkeit von wenig solvatisiertem hochreaktivem Fluorid über die Komplexbildung des Alkali-Kations erhöht. Somit liegt das [^{18}F]Fluorid-ion in „nackter“ Form in der organischen Phase vor.

Aliphatische, nukleophile Substitutionen mit [^{18}F]Fluorid verlaufen in Reaktionsmedien wie Acetonitril oder DMF nach einem S_N2 -Mechanismus unter Inversion der Konfiguration am chiralen Zentrum. Als Abgangsgruppen für den nukleophilen Austausch finden vor allem Brom, Iod, Sulfonsäureester primärer oder sekundärer Alkohole (Tosylat, Mesylat, Triflat, etc.) Einsatz. Beispielsweise wird das für die Positronen-Emissions-Tomographie zur Messung des regionalen Glukosestoffwechsels verwendete Radiopharmakon 2-[^{18}F]Fluor-2-deoxy-D-glucose (2-FDG) stereospezifisch aus dem korrespondierenden Vorläufer in sehr guten radiochemischen Ausbeuten erhalten [93].

Die nukleophile aromatische Substitution ist ebenfalls für die Darstellung von Radiopharmaka als PET-Tracer von grosser Bedeutung, da unter anderem auf die meist hohe metabolische Stabilität ^{18}F -markierter aromatischer Verbindungen hingewiesen werden muß. Diese gewährleistet über den Zeitraum der Beobachtung eine maximale Stabilität unter

physiologischen Bedingungen. Bei der Substitution an Aromaten können bei geeigneter Wahl der Abgangsgruppen und in den meisten Fällen bei entsprechender Aktivierung des Kerns mit elektronenziehenden Substituenten in ortho- oder para-Stellung hohe radiochemische Ausbeuten erzielt werden.



Schema 1.2: Nukleophile Substitution an aktivierten Aromaten mit n.c.a. [^{18}F]Fluorid [aus 12]
 $\text{X} = \text{F}, \text{NO}_2, \text{N}(\text{CH}_3)_3, \text{Br}, \text{Cl}, \text{I}$
 $\text{Y} = \text{NO}_2, \text{CN}, \text{CHO}, \text{COR}, \text{COOR}$
 $\text{R}^+ = [\text{K}^+ \cdot 2.2.2. \text{I}_2\text{CO}_3^{2-}; (\text{K}^+ \cdot 2.2.2. \text{I}_2\text{C}_2\text{O}_4^{2-}, \text{CO}_3^{2-}) \text{R}_4\text{N}^+, \text{Cs}^+, \text{Rb}^+$

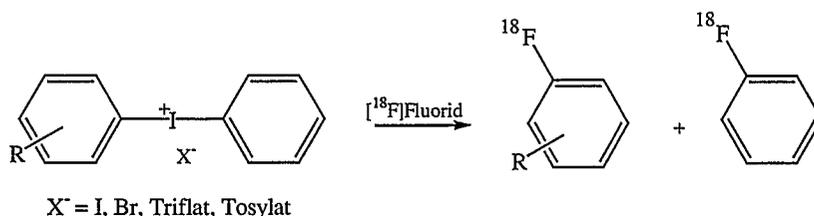
Besonders die Nitro-, Cyano- und Carbonylgruppen mit hohen Hammett-Konstanten haben sich als aktivierende Gruppen bewährt. Als gute Abgangsgruppen eignen sich insbesondere Fluor, Brom, die Nitrogruppe sowie erschöpfend methylierte Ammoniumverbindungen [94, 95]. Die Verwendung von Fluor als Abgangsgruppe führt jedoch zu geträgerten Produkten und hat deshalb zur Darstellung von Radiopharmaka, die in hohen spezifischen Aktivitäten benötigt werden, keine Bedeutung. Die radiochemischen Ausbeuten kleinerer Modellverbindungen (siehe Schema 1.2) liegen meist über 80 %. Nimmt jedoch die Komplexität der Radiopharmaka zu, kommt es häufiger zu Ausbeuteverlusten. Hierbei treten vor allem Zersetzungsprozesse der Vorläufermoleküle aufgrund der hoher Reaktionstemperaturen sowie der stark basischen Reaktionsbedingungen auf. Als gut geeignet erwiesen sich in diesem Zusammenhang weniger basische Systeme, wie beispielsweise Kryptofix/Oxalat bzw. Kryptofix/Hydrogenkarbonat [96]. Bei der Verwendung von erschöpfend methylierten Ammoniumverbindungen kann jedoch die radiochemische Ausbeute durch den Verlust an Fluor-18 aufgrund der Konkurrenzbildung von [^{18}F]Methylfluorid stark verringert werden [97]. Die Bildung von [^{18}F]Methylfluorid ist in starkem Maße von dem aktivierenden Substituenten am aromatischen Ring und von dessen Position zur Trimethylammoniumgruppe abhängig. Beispielsweise wurde 2-Acetyl-N,N,N-trimethylanilin Triflat verwendet, um [^{18}F]Methylfluorid in hohen radiochemischen Ausbeuten darzustellen, da [^{18}F]Methylfluorid als Tracer zur Blutflußbestimmung in der PET-Technik Anwendung finden kann [98].

Weiterhin können unter Verwendung der Trimethylammonium-Abgangsgruppe bei der nukleophilen aromatischen ^{18}F -für- $\text{N}(\text{CH}_3)_3$ Substitution mittels Aktivierung durch Halogensubstituenten die entsprechenden 1- [^{18}F]Fluor-4-haloarenderivate dargestellt werden

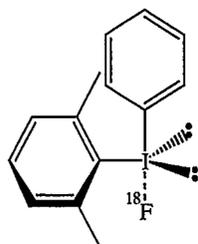
[99, 100]. Mit diesen 1- ^{18}F Fluor-4-haloarenderivaten werden 1- ^{18}F Fluorphenyllithiumverbindungen dargestellt, welche eine ^{18}F -Fluorarylierung geeigneter Verbindungen ermöglichen [101].

Die Möglichkeit deaktivierte Aromaten zu fluorieren besteht darin, eine nukleophile aromatische Substitution an einem aktivierten Aromaten durchzuführen und in einem nachfolgenden Reaktionsschritt die aktivierende Gruppe (z.B. Aldehydfunktion) mit geeigneten Katalysatoren zu reduzieren [102, 103].

Seit kurzem finden asymmetrisch substituierte Diaryliodoniumsalze bei der nukleophilen Substitution nicht- bzw. deaktivierter Arene Anwendung. Das Verhältnis der dabei entstehenden Produkte ist hier stark von der Art der Substituenten abhängig. So liegt die Verteilung auf der Seite der substituierten ^{18}F Fluorarene, wenn Substituenten mit schwach aktivierendem Charakter (Halogenatome) in para-Position substituiert sind.



Schema 1.3: ^{18}F -Fluorierung von Diphenyliodonium salzen



Aromaten mit Methylgruppen, die sich in ortho-Position befinden, ordnen sich bei der Ausbildung des monomeren Übergangskomplexes (trigonal-bipyramidal) bevorzugt in äquatorialer Position an. Dadurch erfolgt der Angriff des ^{18}F Fluorid-Ions bevorzugt am „nähergelegenen“ substituierten Aromaten, was erstmals zur Darstellung stark deaktivierter ^{18}F Fluorarene in einem Reaktionsschritt führte. Methoxygruppen haben aufgrund ihres mesomeren Effektes einen gegenteiligen Einfluß auf die Radioproduktverteilung [104, 105].

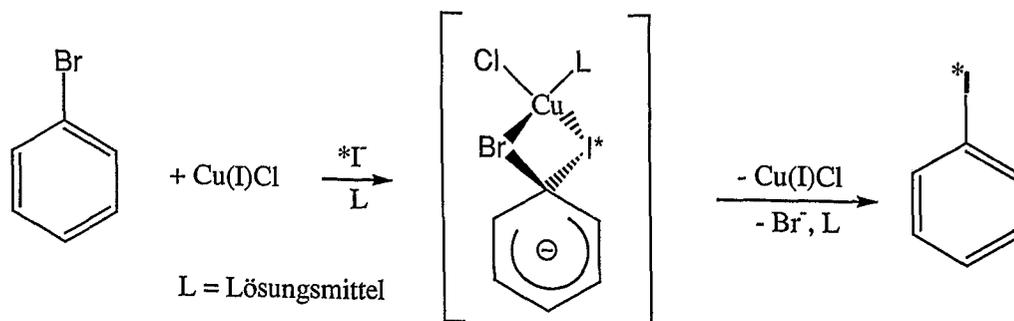
Radioiodierung durch nicht-isotope nukleophile Substitution

Unter Einsatz von Radioiodid läßt sich die in der präparativen organischen Chemie häufig genutzte nicht-isotope nukleophile Substitution zur Markierung vor allem von aliphatischen Verbindungen nutzen. In Analogie zur gut bekannten Finkelstein Reaktion erfolgt die Radioiodierung des eingesetzten Halogenvorläufers durch Halogenaustausch. Neben dem nukleophilen Radioiod-für-Iod Isotopenaustausch läßt sich Radioiod auch durch Ersatz einer guten nukleofugen Abgangsgruppe einführen. Unter Einsatz von Tosylat als Abgangsgruppe

konnten z.B. die Glucosetransport-Tracer 4-Deoxy-4-iod-D-glucose und 6-Deoxy-6-iod-D-glucose radioiodiert werden [106, 107].

Nukleophile aromatische Ioddehalogenierungen erfordern relativ drastische Reaktionsbedingungen an nukleophil aktivierten Substraten. Man arbeitet in geschlossenen Gefäßen mit Lösungsmitteln, wie z.B. Wasser, Essigsäure oder Aceton oberhalb ihrer Siedepunkte. Die Umsetzung des Reaktionsgemisches in der Schmelze des Eduktes oder von $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ist ebenfalls durchführbar. Allerdings ist eine thermische Stabilität des Vorläufers Grundvoraussetzung. Ein Vorteil dieser Methode ist ihre Regiospezifität.

Durch die schon seit längerem bekannte Cu(I)-unterstützte isotope und nicht-isotope Radioiodierung kann ein nukleophiler, regiospezifischer Halogenaustausch auch an deaktivierten Aromaten unter milderen Bedingungen erfolgen [108, 109]. Dabei sind hohe spezifische Aktivitäten möglich [63, 110]. Durch den Einsatz von Cu^+ -Kationen wird die Aktivierungsenergie der Austauschreaktion durch die Komplexbildung erniedrigt. Dadurch wird der nukleophile Angriff des Radioiodids als Eintrittsgruppe möglich. Jedoch ist ein radikalischer Reaktionsmechanismus in diesem Zusammenhang ebenfalls denkbar und wird diskutiert. Die Fähigkeit zum nukleophilen Angriff sinkt theoretisch in der Reihe $\text{Cl} > \text{Br} > \text{I}$. Unter Verwendung von Brom als Abgangsgruppe zeigte sich die schnellste Reaktionsgeschwindigkeit des nicht-isotopen Austausches. Zur Radioiodierung kann Cu(I) *in situ* durch Reduktion von Cu(II) mit verschiedenen Reduktionsmitteln (Zinn(II), Bisulfit, Ascorbinsäure oder Gentsinsäure) in saurer Lösung erzeugt werden [111, 112]. Ein direkter Einsatz von Cu(I)-Salzen ist ebenfalls möglich, wobei die Konzentration an Cu(I) sehr gering gehalten werden muß, da es leicht in störendes Cu(0) und Cu(II) disproportioniert [63]. Unter Verwendung von Cu_2SO_4 anstelle von CuCl können die radiochemischen Ausbeuten erhöht werden, da es nicht zur Bildung von Chlorarenen als Nebenprodukten kommt [113] und auf Reduktionsmittel verzichtet werden kann. Dies ist vor allem bei empfindlichen Substanzen von Vorteil.



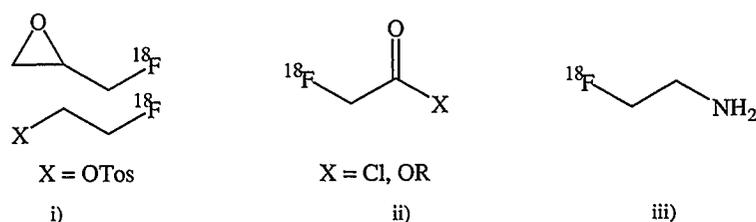
Schema 1.4: Hypothetischer Kupfer (I) assistierter nukleophiler Halogenaustausch [aus 34]

Die Radiomarkierung erfolgt bei drastischen Reaktionstemperaturen von 120-180°C in Wasser, DMSO, DMF oder Essigsäure, was thermisch stabile Substrate voraussetzt. Als besonders günstig hat sich das System aus Cu(I)Cl in Essigsäure bei Temperaturen von 180°C bewährt [114].

Die Methode wird häufig zur Synthese von Radiotracern verwendet, da man im Gegensatz zur elektrophilen Demetallierung von einfach zugänglichen Bromverbindungen ausgehen kann. Allerdings müssen diese thermisch sehr stabil sein. Auch hier ist die Regiospezifität des Verfahrens von großem Vorteil.

1.5.3 Radiohalogenierungen über prosthetische Gruppen

Bei einigen Markierungsmethoden werden prosthetische Gruppen zur ^{18}F -Markierung verwendet. Diese Markierungsmethode findet vor allem dort Anwendung, wo eine direkte ^{18}F -Fluorierung nicht möglich ist.



Schema 1.5: Agenzien zur i) Fluoralkylierung, ii) Fluoracylierung und iii) Fluoramidierung

Hierbei handelt es sich um kleine Gruppen (siehe Schema 1.5), mit Hilfe derer über eine nachfolgende Substitution Fluor-18 eingeführt werden kann. Anwendung finden hierbei die ^{18}F -Fluoralkylierung [115, 116], die ^{18}F -Fluoracylierung [117, 118] und die ^{18}F -Fluoramidierung [119], wobei ^{18}F -Fluoralkylreste mit Amino-, Hydroxy- oder Thioestern gekoppelt werden. Bei der ^{18}F -Fluoracylierung wird der ^{18}F -Fluoralkylrest z.B. mit Carbonylgruppen umgesetzt [120].

Die ^{18}F -Fluorierung der prosthetischen Gruppe sowie die nachfolgende nukleophile Substitution kann in einer „Eintopfreaktion“ durchgeführt werden, wodurch der Syntheseaufwand wesentlich erleichtert wird.

Fluoralkylierungen finden z.B. bei der Markierung von Rezeptorliganden oder Aminosäuren Anwendung [121, 122, 123 und 124]. Speziell Fluoracylierungen eignen sich zur Markierung von Peptiden und Proteinen, da hier in wässrigen Systemen gearbeitet werden kann. Hierbei werden vor allem Aktivester an die entsprechenden nukleophilen Gruppen (-OH, -NH und -SH) der zu markierenden Verbindungen gekoppelt [125, 126].

Radioiodierungen mit prosthetischen Gruppen werden ebenfalls zur Markierung von Peptiden und Proteinen genutzt, wobei vor allem das [^{131}I]-N-succinimidyl-3-(4-hydroxy-3-iodophenyl)-propanoat (Bolton-Hunter-Reagenz) Anwendung findet [33].

1.5.4 Radiomarkierungen durch Dediazonierung

Bei dieser Methode wird das Radionuklid in aromatische Systeme über eine Diazoniumverbindung (Balz-Schiemann- bzw. Sandmeyer-Reaktion) eingeführt. Diese Reaktion erlaubt eine regiospezifische Radiomarkierung, wobei das entsprechende Amin durch Synthese zugänglich sein muß [127, 128]. Trägerarme Radiosynthesen laufen aber allgemein mit geringen radiochemischen Ausbeuten ab, da bei der Balz-Schiemann-Reaktion Tetrahaloboratanionen als Gegenionen zum Diazoniumion Verwendung finden. Hierbei beträgt die maximale radiochemische Ausbeute 25 %. Bei der Dediazonierungsreaktion reagieren die Substrate mit den Nukleophilen gemäß dem S_{N}^1 -Typ. Hierbei läuft die Zwischenstufe über ein Carbenium-Ion, wobei diese reaktive Zwischenstufe unselektiv abreagiert. Der geschwindigkeitsbestimmende Schritt ist in diesem Fall die Abtrennung der Abgangsgruppe.

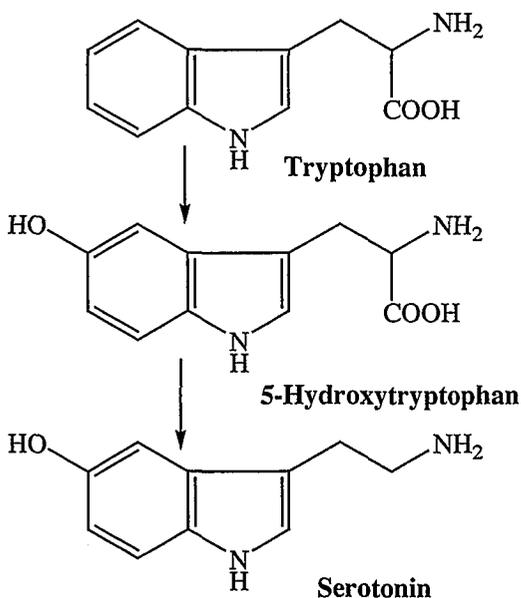
Früher wurde diese Markierungsmethode zur Synthese von Radioiodpharmaka genutzt, jedoch konnten nur in wenigen Fällen trägerarme Produkte erhalten werden [129]. Eine Variante dieser Reaktion ist die säurekatalysierte Zersetzung von Triazenen über die „Wallach-Reaktion“. Triazene sind isolierbare stabile Feststoffe, welche durch Zugabe von sekundären Aminen zu den entsprechenden Diazoniumverbindungen erhalten werden können. Aufgrund der Isolierbarkeit der Triazene werden Nebenprodukte und Reagentien aus dem ersten Syntheseschritt unter inaktiven Bedingungen abgetrennt und führen somit nicht zu störenden Nebenreaktionen unter den stark oxidierenden Bedingungen bei der Markierung.

1.6 Entwicklung von Radioliganden für 5-HT Rezeptoren

1.6.1 Das serotonerge Neurotransmissionssystem

Rezeptoren sind intrazelluläre oder membranständige Proteine, an welche Signalmoleküle (Neurotransmitter, Peptid, Hormon) spezifisch binden und damit eine Reizweiterleitung ermöglichen. Diese Signalmoleküle sind bereits bei sehr niedrigen Konzentrationen wirksam (typisch $< 10^{-8}$ M). In der Entwicklung von Radiopharmaka sind nicht-invasive in vivo Untersuchungen von Rezeptoren eine der z.Z. attraktivsten Forschungsbereiche. Durch neue Radioliganden können essentielle Informationen zur Physiologie bzw. Pathophysiologie von

unterschiedlichen Geweben gewonnen werden. So werden mit Hilfe von PET- und SPET-Messungen die Rezeptordichten und Lokalisierung von Rezeptorsubtypen erforscht oder bereits routinemäßig durchgeführt [130]. Dadurch sollen grundlegende physiologische und pathophysiologische Funktionen von Neurotransmittern und ihren Rezeptoren aufgeklärt werden.



Schema 1.6: Biosynthese von Serotonin

Serotonin (5-Hydroxytryptamin, 5-HT), eines der bekanntesten endogenen Neurotransmittermoleküle, wird im Organismus aus der essentiellen Aminosäure Tryptophan durch Hydroxylierung zu 5-Hydroxytryptophan und anschließender Decarboxylierung gebildet. Das neuronal gespeicherte Serotonin befindet sich vor allem im Hypothalamus, im Frontalen Cortex, im Mittelhirn und in den Raphekernen. Die Speicherung erfolgt in präsynaptischen Vesikeln, aus denen das biogene Amin bei Stimulation in den synaptischen Spalt freigesetzt wird. Serotonin bindet an verschiedene Zellmembranrezeptoren, welche pharmakologisch

in 7 Gruppen (5-HT₁₋₇) und zusätzlich in Subtypen untergliedert sind. Erkenntnisse über diesen Typ der zellulären Kommunikation und deren Konsequenzen für die Diagnose und Behandlung von Krankheiten wurden durch die Entdeckung von biologisch aktiven Substanzen (Agonisten bzw. Antagonisten) stark gefördert [131]. Solche Wirkstoffe können die Wirkung endogener Moleküle an den entsprechenden Rezeptoren imitieren bzw. inhibieren. Neurotransmitter-Rezeptoren stellen daher eine besonders interessante Gruppe für therapeutische Eingriffsmöglichkeiten dar. Um den Einsatz eines Rezeptorliganden zu gewährleisten, muß er eine hohe Lipophilie aufweisen, um die Blut-Hirn-Schranke zu überbrücken. Des weiteren muß der Ligand eine hohe Affinität zum Rezeptor sowie eine hohe Typ- bzw. Subtypselektivität zur jeweiligen Rezeptorklasse besitzen. Eine weitere Anforderung für die Anwendbarkeit „künstlicher Liganden“ ist ihre erwünschte Resistenz gegenüber Metabolisierung im direkten sowie peripheren Untersuchungsgebiet. Durch den Einsatz radioaktiv markierter Rezeptorliganden eröffnet sich die Möglichkeit, Wechselwirkungen mit den meist in subnanomolarer Konzentration vorliegenden Rezeptoren zu untersuchen, was zum Verständnis der ablaufenden molekularen Prozesse in den Targetgeweben beiträgt.

Solche Untersuchungen an Rezeptoren haben zum Ziel,

- die subzelluläre Rezeptorverteilung und Konzentration in verschiedenen Geweben,
- die Rezeptor-Ligand-Wechselwirkung sowie
- die molekulare Pharmakologie des Rezeptors

zu untersuchen [132]. Die heute verfügbaren Autoradiographiemethoden gestatten es, in vitro Radioligand-Bindungsexperimente an Gewebspräparationen auf einfache Weise durchzuführen.

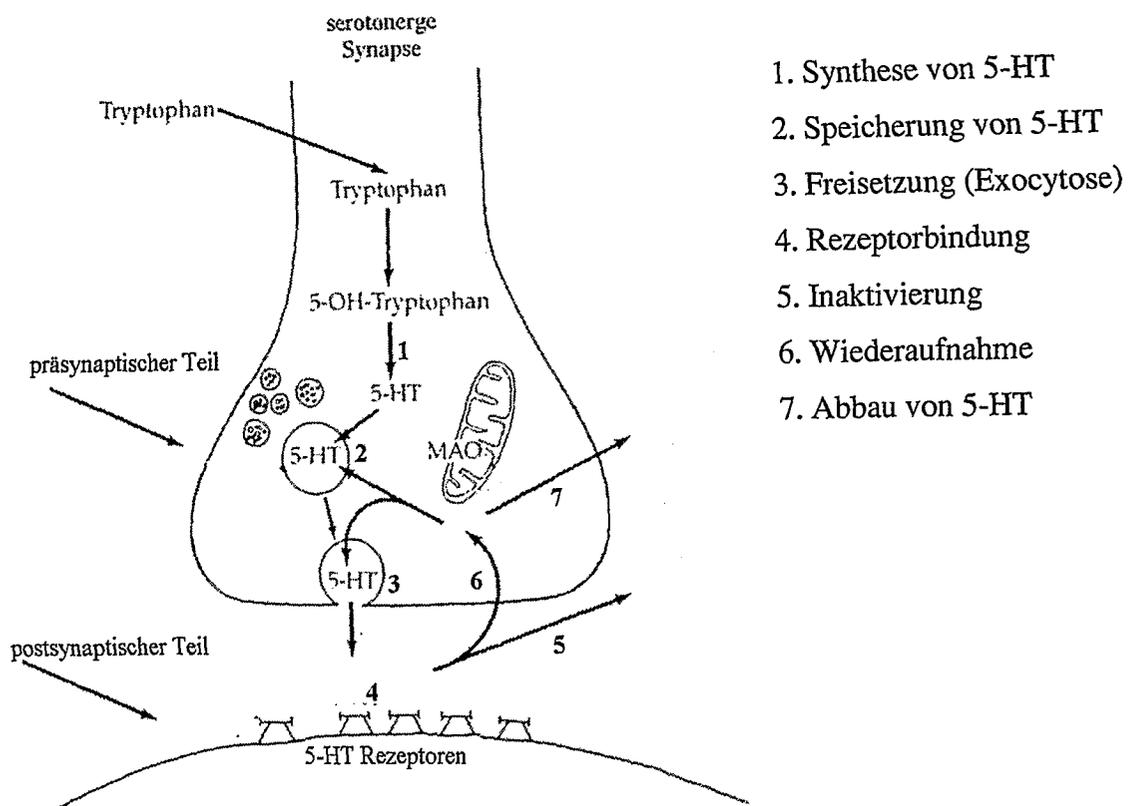


Abb. 1: Schematische Darstellung einer serotonergen Synapse

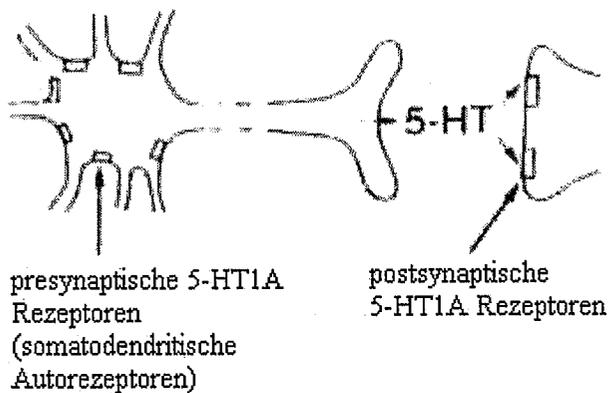
Das serotonerge Neurotransmissionssystem reguliert eine Vielzahl von physiologischen Funktionen. Eine veränderte Biosynthese von Neurotransmittern wie dem Serotonin, kann zu degenerativen Zuständen führen. Störungen des serotonergen Systems werden mit neurologischen bzw. psychiatrischen Erkrankungen, wie z.B. Depression, Migräne, Angst, Panikzuständen oder Schizophrenie in Verbindung gebracht [133, 134, 135].

Die einzelnen Schritte bei der Signalübertragung an der Synapse sind in Abbildung 1. dargestellt.

Störende Veränderungen dieser schematisch dargestellten Schritte bei der synaptischen Reizweiterleitung können zu den oben genannten Krankheitsbildern führen. Die Prozesse 1-7 (vergl. Abb. 1) bilden mögliche Angriffspunkte für verschiedene Medikamente.

Beispielsweise kann die enzymatische Synthese von 5-HT durch die Gabe von p-Chlorphenylalanin gehemmt werden. Die Speicherung des Neurotransmitters kann durch Gabe von Reserpin® behindert werden [131]. Die Konzentration im synaptischem Spalt kann durch Wiederaufnahmememmer erhöht werden und die Wechselwirkung mit dem Rezeptor durch die Gabe von Agonisten (z.B. Lysergsäurediethylamid „LSD“) oder Antagonisten (z.B. Clozapin) beeinflusst werden [136].

Die Entwicklung verschiedener selektiver Radioliganden bietet die Möglichkeit, die genannten Krankheitsbilder gezielter zu diagnostizieren und zu therapieren. In der Gruppe der 5-HT₁-Rezeptoren kennt man derzeit 5 Subtypen [137]. Es handelt sich um die Rezeptoren 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B}, 5-HT_{1D}, 5-HT_{1E} und 5-HT_{1F}. Jeder 5-HT₁-Rezeptor kommt in den



verschiedenen Zellen an ganz bestimmten Regionen der Zellmembran vor. So wird z.B. der 5-HT_{1A}-Rezeptor an Neuronen der Raphekerne, im Hippocampus und Septum aufgefunden. Hierbei kommt der Rezeptor als somatodendritischer Autorezeptor sowie als postsynaptischer Rezeptor auf den Zielzellen vor [138].

Verschiedene Studien konnten zeigen, daß 5-HT_{1A} Antagonisten durch die Blockade des entsprechenden Rezeptors Angstzustände hervorrufen können. Eine hohe Dichte an postsynaptischen 5-HT_{1A} Rezeptoren ist im Vorderhirn lokalisiert. Unter Verwendung geeigneter Tiermodellexperimente im Zusammenhang mit Angstzuständen konnten durch die verminderte Serotonin-Freisetzung ebenfalls Angstzustände hervorgerufen werden. Daher kann dieses Krankheitsbild entweder durch eine verminderte postsynaptischen 5-HT_{1A} Rezeptordichte oder durch verminderte Freisetzung von Serotonin (5-HT) auftreten [138, 139]. Eine erhöhte 5-HT_{1A} Rezeptoranzahl wurde im Frontalen Cortex von post-mortem Gewebe schizophrener Patienten gefunden, woraus gefolgert werden kann, daß 5-HT_{1A} Antagonisten potentielle antipsychotische Wirkungen haben könnten [138, 140]. 5-HT_{1A} Rezeptorliganden mit partiell agonistischer Wirkung (z.B. Buspirone) konnten bereits erfolgreich als Antidepressiva eingesetzt werden [141, 142].

1.6.2 Verwendung und Entwicklung selektiver markierter 5-HT_{1A} Rezeptorliganden

Im Vordergrund des Interesses stehen die Synthesen geeigneter Liganden zur Erfassung von Prozessschritt 4 und 6 (siehe Abb. 1). Endogene Neurotransmitter wurden in der Vergangenheit bereits erfolgreich markiert und für PET-Untersuchungen eingesetzt. Da es aber zu einer starken Verdünnung der markierten Verbindung durch körpereigene inaktive Liganden kommt, ist eine Erniedrigung der spezifischen Aktivität die Folge. Aus diesem Grund spielen exogene Agonisten und Antagonisten, welche ebenfalls wie der natürliche Neurotransmitter eine starke Affinität zu den Rezeptoren aufweisen, eine wichtige Rolle.

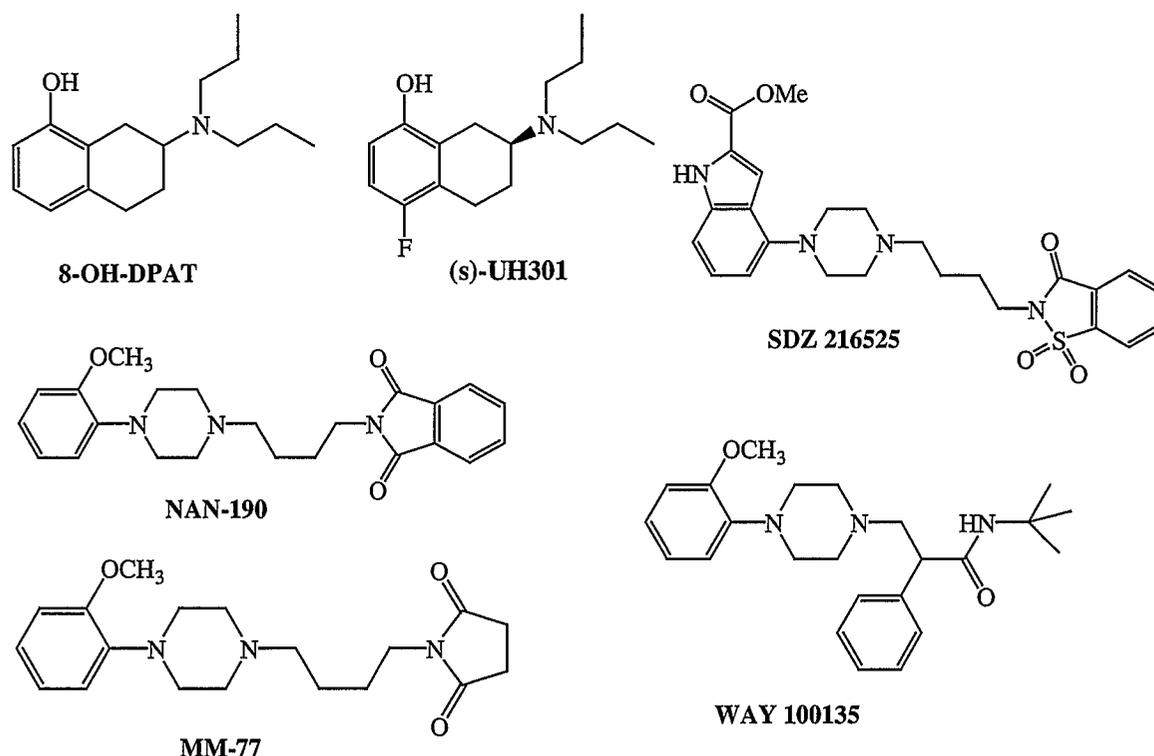
Tabelle 1.5: Eine Auswahl von Liganden für PET- bzw. SPET-Untersuchungen am serotonergen Neurotransmissionssystem

Verbindung	Anwendungsbereich
[¹¹ C-carbonyl]WAY 100635	5-HT _{1A} Antagonist für PET [138, 143].
[¹⁸ F]Altanserin	5-HT _{2A} Agonist für PET [144]
[¹²³ I]-5-I-R91150	5-HT _{2A} Antagonist für SPET [145]
[¹¹ C] MDL 72222	5-HT ₃ Antagonist für PET [146]
[¹¹ C](+)McN-5652	5-HT Re-uptake Ligand [147]
[¹²³ I]β-CIT	5-HT Re-uptake Ligand [148]

Der erste selektive Ligand mit dem der 5-HT_{1A} Rezeptor-Subtyp nachgewiesen wurde, war der Agonist 8-Hydroxy-2-[di-n-propylamino]tetralin (8-OH-DPAT) [149, 150]. Da 5-HT_{1A} Agonisten ein *serotonerges Syndrom* ausüben können (Erregung und Verwirrtheit aufgrund der Autorezeptorfunktion), sucht man vor allem nach selektiven Antagonisten.

Eine große Anzahl von Rezeptorliganden wurden synthetisiert, welche alle auf den postsynaptischen Rezeptor antagonistisch aber auf den präsynaptischen Autorezeptor partiell agonistische Wirkungen ausübten (z.B. SDZ 216525, NAN 190 und MM 77) [151, 152, 153].

In weiterführenden Untersuchungen konnte die antagonistische Wirkung auf den postsynaptischen bzw. autorezeptorischen Bereich des (s)-UH301 (ein Fluoranalogen des 8-OH-DPAT) beim 5-HT_{1A} Rezeptor-Subtyp nachgewiesen werden, während das (r)-UH301 Enantiomere eine agonistische Wirkung zeigt. Allerdings weist die Verbindung auch eine agonistische Wirkung auf D₂ Rezeptoren auf und ist somit nicht selektiv genug [154].

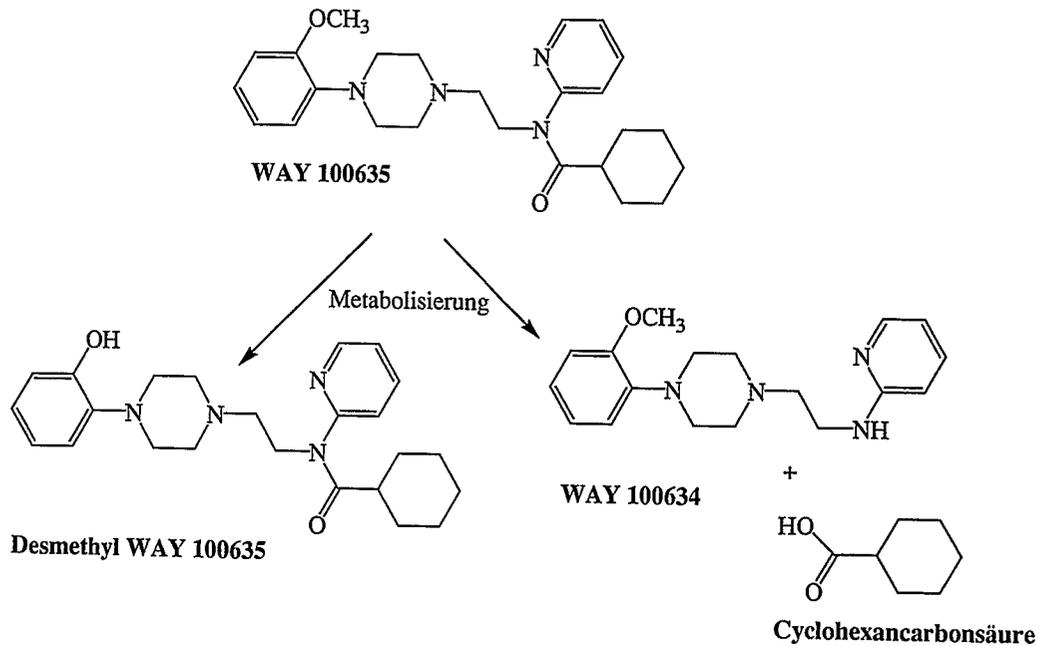


Schema 1.7: Rezeptorliganden für den 5-HT_{1A} Subtyp

Ein weiterer Rezeptorligand, welcher antagonistische Wirkung auf den postsynaptischen bzw. autorezeptorischen Bereich ausübt, ist die Verbindung WAY 100135. Dabei kommt dem (S)-Enantiomer die größere Bedeutung in bezug auf die Selektivität zu [155]. Jedoch kann auch eine Wirkung auf α_1 Rezeptoren beobachtet werden. Zu den derzeit intensiv untersuchten 5-HT_{1A} Subtyp selektiven Liganden für das serotonerge Rezeptorsystem zählt WAY-100635. Dieser Rezeptorligand wirkt antagonistisch auf die postsynaptischen bzw. präsynaptischen Rezeptoren und besitzt nur sehr geringe Affinität zu artverwandten Rezeptoren, wie z.B. dopaminerge- (D_1 , D_2) bzw. adrenerge- (α_1 , α_2 und β) Systeme und kann somit als erster „silent“ Antagonist bezeichnet werden [156]. Bei in vivo Bindungsstudien konnten eine hohe Ligand-Rezeptor-Wechselwirkung im rezeptorreichen Gebiet (Cortex/Cerebellum 3/1) beobachtet werden ($K_i = 0,3$ nM gegen [³H]OH-DPAT) [157]. Erste Markierungen mit dem Positronenstrahler [¹¹C]Kohlenstoff erfolgten in der Methoxyfunktion des WAY 100635 [158].

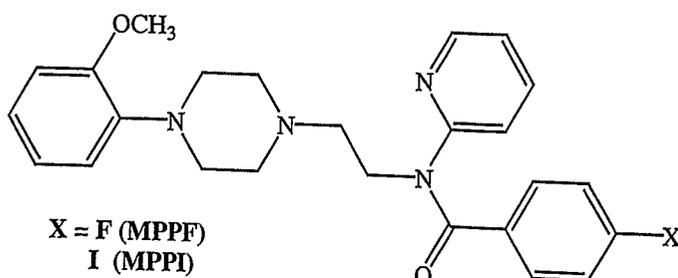
Bei in vivo Untersuchungen zeigte sich aber ein schneller Metabolisierungsprozeß im Blutplasma, bei dem [O-Methyl-¹¹C]WAY 100634 als radioaktiver Metabolit auftritt, welcher ebenfalls die Blut-Hirn-Schranke durchdringt, aber keine spezifische Bindung zum 5-HT_{1A} Rezeptor eingeht [143]. Ausgehend vom Desmethyl-WAY 100635 wurden mittels prosthetischer Gruppen [¹⁸F]Fluoralkyl-Analoga des WAY 100635 als potentielle 5-HT_{1A}

Antagonisten für in vivo Studien dargestellt ($K_i = 0,9 \text{ nM}$ gegen $[^3\text{H}]\text{OH-DPAT}$). Auch hierbei konnten ähnlich gute Anreicherungen in den 5-HT rezeptoreichen Arealen festgestellt werden. Allerdings erfolgte eine gleich schnelle Metabolisierung der Amidfunktion, was zum Auftreten des ^{18}F -fluoralkylierten Metaboliten WAY 100634 führte, welcher eine hohe unspezifische Bindung im Gewebe aufweist [159, 160].



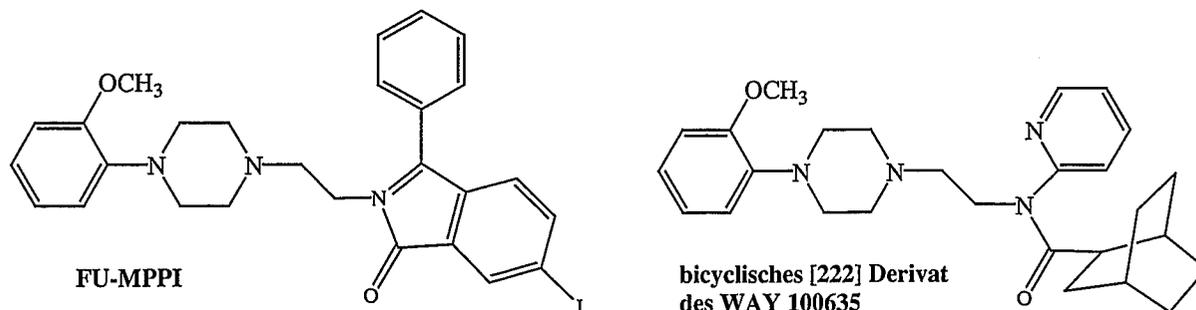
Schema 1.8: Metabolisierungsmöglichkeiten des WAY 100635

Aufgrund dieser Ergebnisse erfolgte auch eine Markierung an der Carbonylfunktion. Hierbei trat lediglich $[^{11}\text{C}]$ Cyclohexancarbonsäure als radioaktiver Metabolit auf. In vivo Studien zeigten die typische Verteilung der 5-HT Rezeptoren, aber eine sehr schnelle Metabolisierung der Amidfunktion im Blutplasma (ca. 80 % nach 30 min) [161, 162]. Durch verschiedene strukturelle Veränderungen an der Amidfunktion der Leitverbindung konnten weitere



Derivate des WAY 100635 dargestellt werden. Hierbei sind vor allem die aromatischen $[^{18}\text{F}]$ Fluorbenzoyl- ($[^{18}\text{F}]\text{MPPF}$, $K_i = 3,3 \text{ nM}$) bzw. $[^{123}\text{I}]\text{Iodbenzoyl-}$ ($[^{123}\text{I}]\text{MPPI}$, $K_i = 2,6 \text{ nM}$) WAY Derivate hervorzuheben [163, 164]. Die Affinitäten zum 5-HT_{1A} Rezeptorsystem fielen etwas geringer aus, es konnte jedoch eine Stabilisierung der Amidfunktion gegenüber der möglichen Metabolisierung erreicht werden. So konnten nach 30 min im Blutplasma 50-75 % der eingesetzten Verbindung wiedergefunden werden [165]. Weitere strukturelle Veränderungen

an der Leitverbindung zur Stabilisierung der Amidfunktion erfolgten durch die Synthese cyclischer Amidderivate (FU-MPPI, $K_d = 0,2 \text{ nM}$) sowie bicyclischer Derivate des WAY 100635 ($IC_{50} = 4,2 \text{ nM}$) [166, 167].



Die letztgenannte Verbindung zeigte ähnlich gute Anreicherungen in rezeptorreichen Arealen wie die Leitstruktur (WAY 100635) selbst und es konnte nach 30 min noch mehr als 50 % der eingesetzten Verbindung im Blutplasma unverändert wiedergefunden werden.

Bei beiden Derivaten erfolgte die Stabilisierung offensichtlich durch die zunehmende Abschirmung der Amidfunktion gegenüber angreifenden Enzymen (Amidasen) im Blutplasma.

Zusammenfassend ist zu sagen, daß Rezeptorliganden, die für PET- bzw SPET-Messungen entwickelt werden, folgende Kriterien unbedingt erfüllen müssen:

- der Rezeptorligand muß in ausreichender chemischer und radiochemischer Reinheit vorliegen sowie isomeren- bzw. enantiomerenrein sein,
- er sollte eine hohe spezifische Aktivität aufweisen,
- sein Lipophiliewert ($\log P$) sollte sich zwischen 2-3 bewegen, um ausreichend die Blut-Hirn-Schranke zu durchdringen,
- er sollte eine hohe Affinität zum Rezeptor besitzen (K_i im nanomolarem Bereich).
- er sollte eine hohe Subtyp-Selektivität aufweisen und nicht sehr affin zu artverwandten Rezeptorsystemen sein (α , β , D) und
- metabolische Stabilität aufweisen.

2. Problemstellung

Zur Untersuchung des Zusammenhangs zwischen neuronalen Erkrankungen, den damit assoziierten Symptomen und dem serotonergen Neurotransmissionssystem mittels der nicht-invasiven bildgebenden Verfahren der Positronen-Emissions-Tomographie (PET) und Einzel-Photonen-Emissions-Tomographie (SPET) sollen neue Subtyp-selektive 5-HT_{1A} Rezeptorliganden, die sich vom Antagonisten WAY-100635 (N-[2-[4-(2-methoxyphenyl)-1-piperazinyl]ethyl]-N-(2-pyridinyl)cyclohexylcarboxamid) ableiten, dargestellt werden. Hierbei sollte eine Derivatisierung am pharmakologisch weniger relevanten Teil des Liganden, der Acylamidgruppe, durchgeführt werden, um somit stärkere Affinitätsänderungen des Radioliganden zu vermeiden.

Ausgehend von der Leitstruktur des 5-HT_{1A} Rezeptorliganden WAY-100635 sollten radiofluorierte und radioiodierte Derivate synthetisiert und anschließend deren Affinität und Subtyp-Selektivität sowie gegebenenfalls deren metabolische Stabilität untersucht werden.

Zunächst erfolgt eine Derivatisierung des originären Rezeptorliganden durch die Einführung von [¹⁸F]Fluor in 4-Position zur Carbonylfunktion am Cyclohexyrling. Die durch eine entsprechende Aufbausynthese des Markierungsvorläufers erhaltenen Diastereomere müssen isoliert und separiert werden. Der Einfluß verschiedener Reaktionsbedingungen, wie Reaktionstemperatur, Lösungsmittel und Basenzusatz, bei der aliphatischen, nukleophilen Substitution mit n.c.a. [¹⁸F]Fluorid am Cyclohexyrling muß im Detail studiert werden; dazu werden diese an Modellverbindungen optimiert und auf die Markierungsvorläufer der WAY-Derivate übertragen.

Weiterhin soll aufgrund bekannter Probleme des WAY 100635 gegenüber Metabolisierung ein Austausch der Cyclohexylcarboxamidgruppe durch eine para-substituierte Benzolsulfon- bzw. Benzolsulfinamidgruppe vorgenommen werden, um deren in vivo Stabilität zu erzielen. Dazu waren die Synthese und Isolierung der entsprechenden potentiellen Rezeptorliganden und geeigneter Vorläufer notwendig, welche markiert werden sollen. Für die aromatisch-nukleophile Substitution mit n.c.a. [¹⁸F]Fluorid sollen dazu Reaktionsparameter wie nukleofuge Gruppe, Reaktionstemperatur, Lösungsmittel usw. an Modellverbindungen optimiert und anschließend auf die Zielverbindungen übertragen werden. Von besonderem Interesse sind Untersuchungen über die Verwendungsmöglichkeit von Sulfon- bzw. Sulfinamidgruppen als aktivierende Gruppen bei der nukleophilen aromatischen Substitution.

Für mögliche SPET-Anwendungen der potentiellen Rezeptorliganden sollen ebenfalls radioiodierte WAY-Derivate synthetisiert werden. Hierbei empfehlen sich vor allem regiospezifische Radioiodierungsmethoden, wie die elektrophile Demetallierung oder die Cu(I)-assistierte, nicht-isotope Halogensubstitution. Die dazu notwendigen Markierungsvorläufer müssen ebenfalls synthetisiert und mit geeigneten spektroskopischen Methoden charakterisiert werden. Entsprechend bedingt die notwendige hohe radiochemische Ausbeute sowie hohe spezifische Aktivität der darzustellenden potentiellen Rezeptorliganden eine Optimierung der Reaktionsparameter.

Darüber hinaus muß die Stabilität geeigneter Verbindungen gegenüber Metabolisierung durch in vivo Untersuchungen überprüft werden. Auch sollen die neu synthetisierten Derivate des WAY 100635 für die Überprüfung ihrer pharmakinetischen Eignung bereitgestellt werden. Dabei sollen ihre K_i -Werte gegenüber [^3H]OH-DPAT vermessen werden, welche im nanomolaren Bereich liegen sollten, um eine relativ hohe Affinität zum Rezeptorsubtyp zu gewährleisten.

Zur Identifizierung der Reaktionsprodukte müssen geeignete radioanalytische Trennbedingungen für die HPL-Chromatographie und Dünnschichtchromatographie erarbeitet sowie entsprechende Standardverbindungen synthetisiert werden.

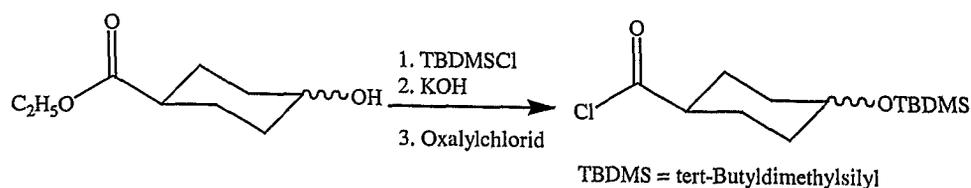
3 Ergebnisse und Diskussion

3.1 Darstellung von ^{18}F -markierten Cyclohexylderivaten des WAY 100635

Mit Hilfe einer radioaktiven Markierung konnte ein schneller Metabolismus des für das serotonerge Neurotransmissionsystem Subtyp-selektiven Rezeptorliganden WAY 100635 in in vivo Untersuchungen beobachtet werden [143]. Die hierbei auftretenden, radioaktiv markierten Metabolite, insbesondere die Cyclohexancarbonsäure wie auch das Amin WAY 100634, welche beide die Blut-Hirn-Schranke überwinden können, führten zu Schwierigkeiten bei der Auswertung von PET-Aufnahmen. Es wurde notwendig, mit Mehrkompartimentmodellen zu rechnen. Des weiteren führte die vermehrte Untergrundaktivität zu einer negativen Beeinflussung der PET-Aufnahmen.

Bei der Entwicklung neuer $5\text{HT}_{1\text{A}}$ -Liganden als Derivate des WAY 100635 wurde zunächst eine Markierung des Pharmakons mit Fluor-18 geplant. Durch die Einführung von Fluor-18 am Cyclohexylring sollte unter anderem eine Absenkung der Lipophilie des Rezeptorliganden erreicht und somit auch Einfluß auf das Anreicherungsverhalten des Radiopharmakons in der Leber genommen werden. Eine interessante Markierungsposition befindet sich am Cyclohexylring, dem pharmakologisch weniger relevanten Teil des Moleküls [168, 169]. Die durch mögliche Metabolisierung auftretende 4- ^{18}F Fluorcyclohexylcarbonsäure besitzt durch den Fluor-Substituenten am Cyclohexylring einen weitaus grösseren hydrophilen Charakter, welcher gleichzeitig den Übergang über die Blut-Hirn-Schranke erschwert.

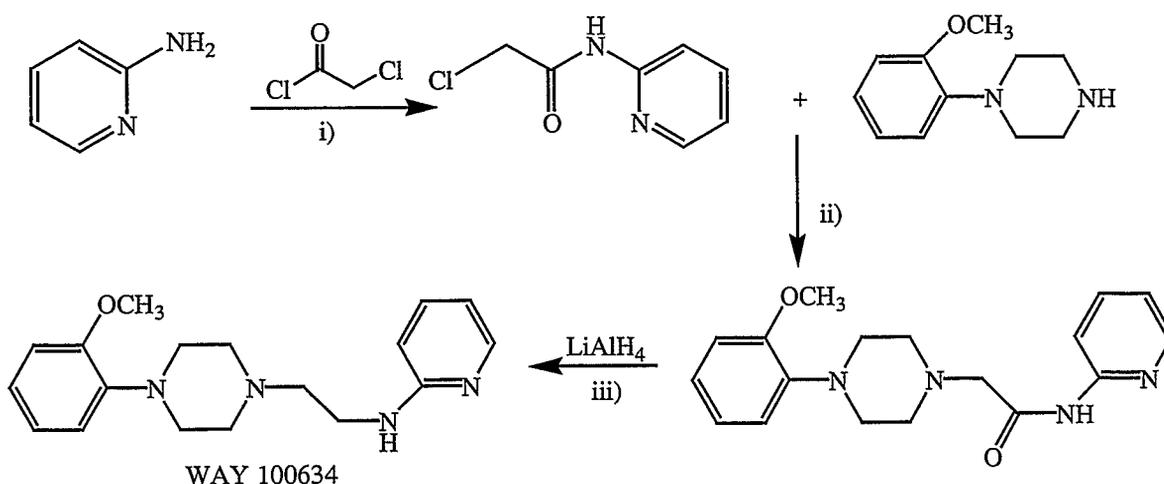
Bei der Synthese geeigneter Markierungsvorläufer ist die Einführung einer entsprechend für die nukleophile aliphatische Substitution geeignete Abgangsgruppe am Cyclohexylring in 4-Position erforderlich. Ausgehend von einem in 4-Position substituierten Cyclohexylcarbonsäureethylester, sollte über einen geeigneten Syntheseweg eine Kopplung mit dem Amin WAY 100634 zum gewünschten Zielmolekül erfolgen.



Schema 3.1: Syntheschema zur Herstellung von 4-tert.-Butyldimethylsilyloxycyclohexylcarbonsäurechlorid

Die Einführung einer Abgangsgruppe in 4-Position am Cyclohexylring führt jedoch zu einem Diastereomengemisch, welches rationellerweise vor der Markierung zu trennen ist.

Zur Umsetzung dieses Konzeptes wurde zunächst ausgehend von cis/trans 4-Hydroxycyclohexylcarbonsäureethylester die OH-Funktion mit Hilfe von tert.-Butyldimethylchlorsilan geschützt. Anschließend erfolgte die Verseifung des Esters mit Kaliumhydroxyd in Methanol. Die in sehr guten Ausbeuten erhaltene 4-tert.-Butyldimethylsiloxycyclohexylcarbonsäure wurde nachfolgend mit Oxalylchlorid in Dichlormethan unter Eiskühlung ins Säurechlorid überführt (siehe Schema 3.1)



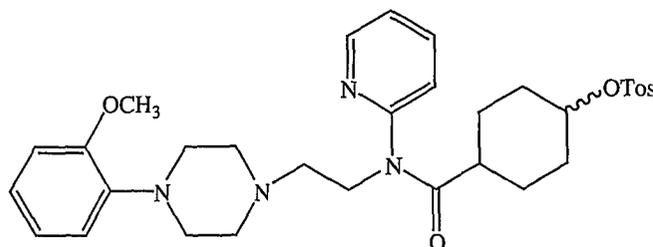
Schema 3.2: Syntheschema des 1-(2-Methoxyphenyl)-4-(2-(2-pyridylamino)ethyl)-piperazin (WAY 100634)

i) CH_2Cl_2 , K_2CO_3 ; ii) DMF, Na_2CO_3 ; iii) THF

Die Synthese des Amins WAY 100634 erfolgte durch Reaktion von 2-Aminopyridin mit Chloroacetylchlorid. Das erhaltene 2-Chlor-N-(2-pyridyl)acetamid wurde anschließend mit 1-(2-Methoxyphenyl)-piperazin zum 2-(1-(4-(2-Methoxyphenyl)piperazinyl))-N-(2-pyridyl)-acetamid umgesetzt. Durch nachfolgende Reduktion des Amids wurde dann das 1-(2-Methoxyphenyl)-4-(2-(2-pyridylamino)-ethyl)piperazin (WAY 100634) erhalten (siehe Schema 3.2).

Davon ausgehend erfolgte die Herstellung neuer Derivate des WAY 100635 durch Acylierungsreaktionen an der sekundären Aminfunktion des WAY 100634 durch die entsprechenden Carbonsäurechloride in Dichlormethan und durch Zusatz von Triethylamin oder anderer tertiärer Aminbasen unter Eiskühlung. Mittels anschließender Abspaltung der

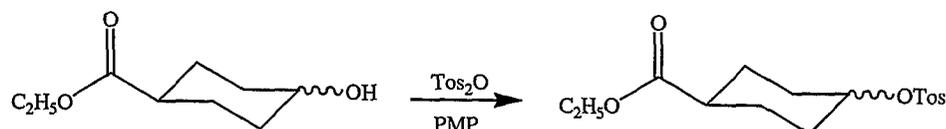
TBDMS-Schutzgruppe mit Tetrabutylammoniumfluorid und nachfolgender Tosylierung der freien OH-Funktion am Cyclohexylring konnte der gewünschte Markierungsvorläufer erhalten werden (siehe Schema 3.3). Vor der nukleophilen aliphatischen Substitution mit [^{18}F]Fluorid erfolgte die Trennung der Diastereomeren über Säulenchromatographie auf Kieselgel.



Schema 3.3: Strukturformel des cis/trans Diastereomerenpaares 4-Tosyloxy-N-4-((2-[4-(2-methoxyphenyl)-piperazin-1-yl]-ethyl)-pyridin-2-yl)-cyclohexylcarboxamid

3.1.1 Darstellung der Modellverbindungen cis/trans 4-Tosyloxycyclohexancarbonsäureethylester für die nukleophile aliphatische Substitution am Cyclohexylring

Als Grundlage für die trägerarme Radiofluorierung des WAY Derivates, wurden zunächst die verschiedenen Einflüsse der Reaktionsbedingungen der ^{18}F -Substitution an der Modellverbindung cis/trans 4-Tosyloxycyclohexancarbonsäureethylester untersucht. Hierbei wurde die zu untersuchende Modellverbindung durch Tosylierung der entsprechenden cis/trans 4-Hydroxycyclohexylcarbonsäureethylester mit Hilfe von Toluolsulfonsäureanhydrid und Pentamethylpiperidin (PMP) als Base synthetisiert (siehe Schema 3.4).



Schema 3.4: Syntheschema der Darstellung von cis/trans 4-Tosyloxycyclohexancarbonsäureethylester als Modellverbindung

Da es bei der nukleophilen aliphatischen Substitution auch zur Eliminierung als Konkurrenzreaktion kommen kann, wurden die folgenden Parameter für die Substitution am cis/trans 4-Tosyloxycyclohexancarbonsäureethylester und die Stabilität des Eduktes untersucht und optimiert:

- Reaktionszeit,
- Reaktionstemperatur,
- Lösungsmittel und
- Eduktkonzentration

Die radiochemischen Ausbeuten wurden stets auf die in Lösung befindliche Aktivität bezogen. Dazu wurden, wie im experimentellen Teil Kapitel 4.3.3 im Detail beschrieben, jeweils nach 2, 5, 10, 15 und 20 min eine Probe aus der Reaktionslösung entnommen und in Acetonitril aufgenommen. Proben dieser Lösung wurden dann mittels Radio-HPLC bzw. Radiodünnschichtchromatographie analysiert.

3.1.2 Abhängigkeit der radiochemischen Ausbeute von 4- ^{18}F Fluorocyclohexancarbonsäureethylester in Abhängigkeit von der Reaktionszeit

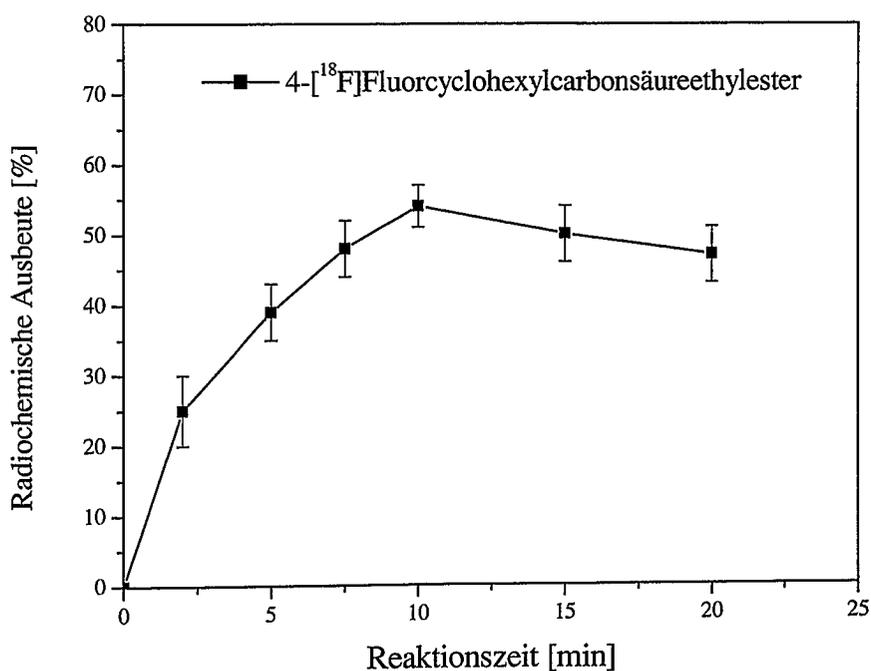


Abb. 3.1: Einfluß der Reaktionszeit auf die radiochemische Ausbeute des cis-4- ^{18}F Fluorocyclohexancarbonsäureethylester
 [Edukt] = 50 mmol/l, [2.2.2.] = 50 mmol/l, K_2CO_3 = 25 mmol/l, 0,5 ml DMSO bei 90°C, n.c.a. ^{18}F Fluorid

Die Abhängigkeit der radiochemischen Ausbeute von der Reaktionszeit der nukleophilen aliphatischen Substitution an 4-Tosyloxycyclohexancarbonsäureethylester mit n.c.a. ^{18}F Fluorid in DMSO bei 90°C ist in Abbildung 3.1 dargestellt. Man erkennt zunächst einen

steilen Anstieg der radiochemischen Ausbeute, welche nach etwa 10 Minuten ein Ausbeutemaximum von ca. $54 \pm 5\%$ erreicht. Nachfolgende Messungen ergeben eine stetige Abnahme der radiochemischen Ausbeute des 4- ^{18}F Fluorcylohexancarbonsäureethylesters, wobei nach 20 minütiger Reaktionszeit nur noch 45 % RCA erreicht werden. Wahrscheinlich kommt es hier zu einer Zersetzung des Aktivproduktes z.B. durch Eliminationsreaktionen.

3.1.3 Abhängigkeit der radiochemischen Ausbeute des 4- ^{18}F Fluorcylohexancarbonsäureethylester in Abhängigkeit von der Reaktionstemperatur

In Abbildung 3.2 sind die Ergebnisse der Temperaturabhängigkeit der radiochemischen Ausbeute für das Diastereomerenpaar cis/trans 4- ^{18}F Fluorcylohexancarbonsäureethylester aus der Reaktion von n.c.a. ^{18}F Fluorid mit cis/trans 4-Tosyloxycyclohexancarbonsäureethylester graphisch dargestellt.

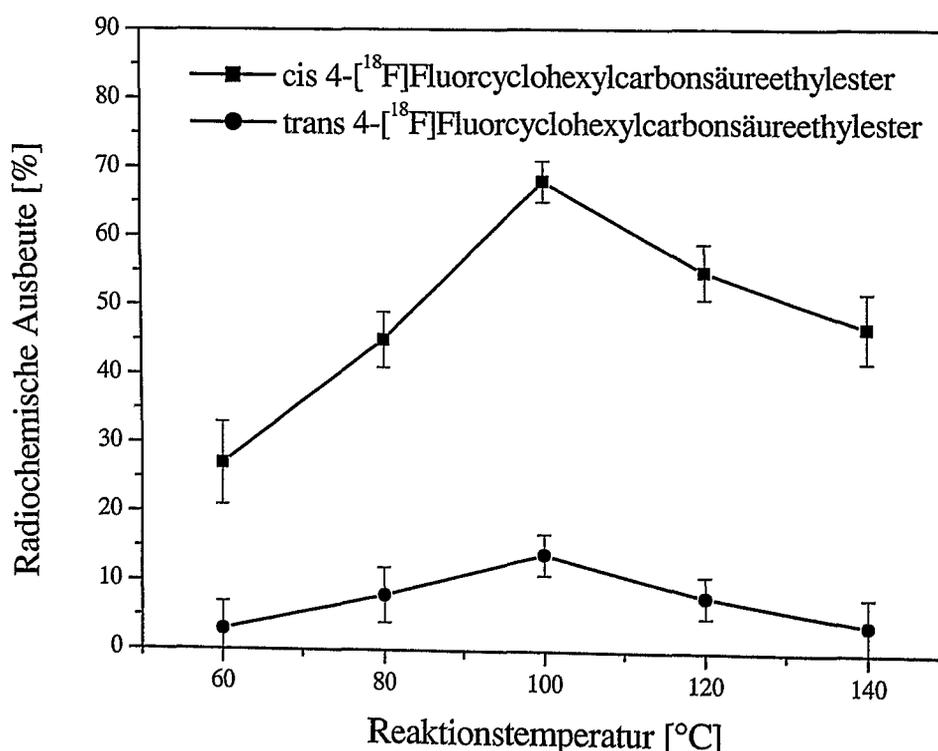
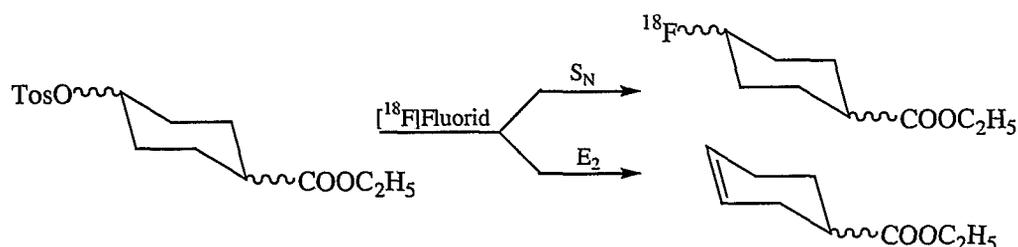


Abb. 3.2: Einfluß der Reaktionstemperatur auf die radiochemische Ausbeute an cis/trans 4- ^{18}F Fluorcylohexancarbonsäureethylester:
[Edukte] = 50 mmol/l, [2.2.2.] = 50 mmol/l, K_2CO_3 = 25 mmol/l, 0,5 ml DMSO, 10 min, n.c.a. ^{18}F Fluorid

Die Probenentnahme erfolgte nach Reaktionszeiten von jeweils ca. 10 min, da hiernach die maximal mögliche radiochemische Ausbeute erhalten werden konnte (vergl. Abb. 3.1). Auch

bei diesen Untersuchungen waren nach späteren Zeitintervallen keine wesentlichen Steigerungen der radiochemischen Ausbeute erkennbar.

In Abbildung 3.2 ist unabhängig vom Diastereomer ein zunächst steiler Anstieg der radiochemischen Ausbeute erkennbar, welche bei etwa 100°C ein Maximum erreicht. Der Kurvenverlauf zeigt nach Erreichen der maximalen Ausbeute von ca. 68 % für das cis- sowie 14 % für das trans-Diastereomerenprodukt eine stetige Abnahme der gewünschten Produktausbeute. Als Ursache für den Rückgang der radiochemischen Ausbeute ist sicherlich die thermische Instabilität des Eduktes bei noch höheren Temperaturen zu nennen. Die Reaktionstemperatur bei dieser bimolekularen Reaktion ist daher ein wesentlicher Faktor für das Verhältnis der Produkte aus Substitution und Eliminierung. Da bei der E₂-Eliminierung weitgehendere Bindungsänderungen auftreten als bei der S_N2-Substitution, haben Eliminierungen höhere Aktivierungsenergien, weshalb ihr Anteil mit steigender Temperatur zunimmt. Hierbei ist die Bildung des Cyclohex-3-encarbonsäureethylesters, welches isoliert und nachgewiesen wurde, ein wesentlicher Faktor für die stattfindende Ausbeuteminimierung (siehe Schema 3.5).



Schema 3.5: Reaktionswege der nukleophilen aliphatischen Substitution am cis/trans 4-Tosyloxycyclohexancarbonsäureethylester

3.1.4 Einfluß des Lösungsmittels auf die radiochemische Ausbeute von 4-[¹⁸F]Fluor-cyclohexancarbonsäureethylester

Wie in der Einleitung (Kapitel 1.5.2) ausgeführt, haben sich bei der ¹⁸F-Markierung generell dipolar aprotische Lösungsmittel, wie z.B. Acetonitril (AcCN), Dioxan, Tetrahydrofuran (THF), N,N-Dimethylformamid (DMF), N,N-Dimethylacetamid (DMAA) sowie Dimethylsulfoxid (DMSO) als gut geeignet erwiesen. Bei den genannten Lösungsmitteln ist die Ausbildung von Wasserstoffbrücken ausgeschlossen und der zur Anionen-Stabilisierung entscheidende positive Pol liegt abgeschirmt im Inneren des Moleküls. Vor allem bei DMF, DMAA sowie DMSO wird die Nukleophilie des Anions durch eine schwächere Solvation gegenüber protischen Lösungsmitteln aufgrund ihrer hohen Dielektrizitätskonstante und ihres hohen Dipolmoments [170] erhöht. Im Fall von DMSO ist das Zentralatom verhältnismäßig

weich und somit zur Solvatisierung harter Anionen ungeeignet. Aus diesem Grund wurde die nukleophile Substitution mit ^{18}F Fluorid in den dipolar aprotischen Lösungsmitteln DMSO, DMF, DMAA, AcCN sowie THF durchgeführt.

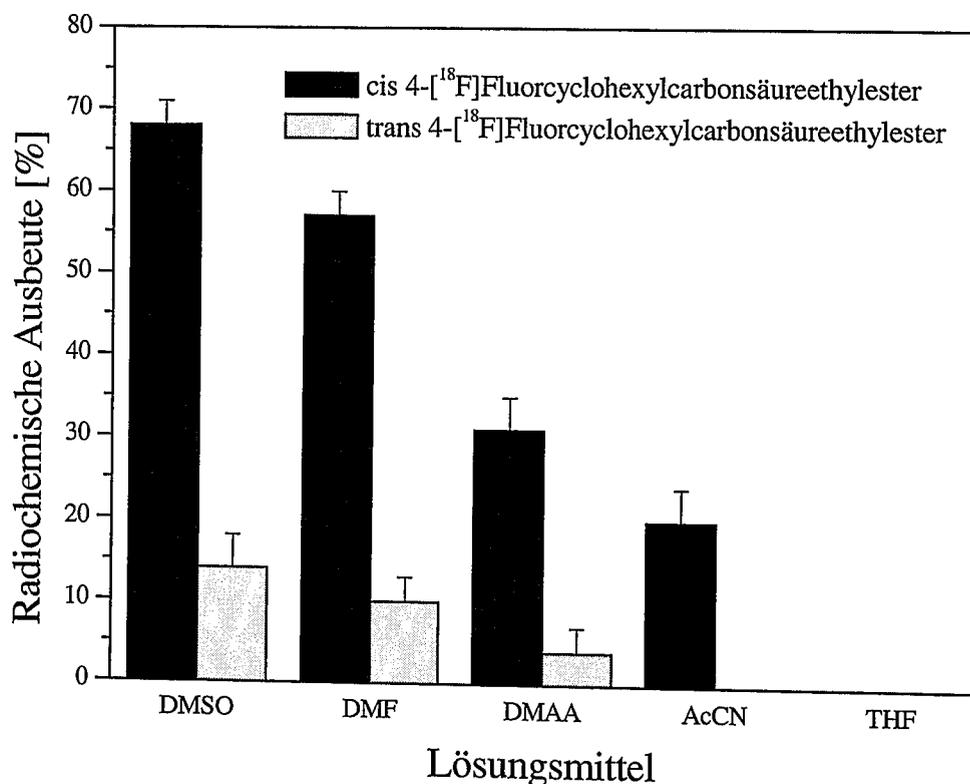


Abb. 3.3: Einfluß verschiedener Lösungsmittel auf die radiochemische Ausbeute an cis/trans 4- ^{18}F Fluorocyclohexancarbonsäureethylester
 cis/trans 4-Tosyloxy-cyclohexancarbonsäureethylester = 50 mmol/l, [2.2.2.] = 50 mmol/l, K_2CO_3 = 25 mmol/l, 0,5 ml Lösungsmittel, 10 min, n.c.a.
 ^{18}F Fluorid

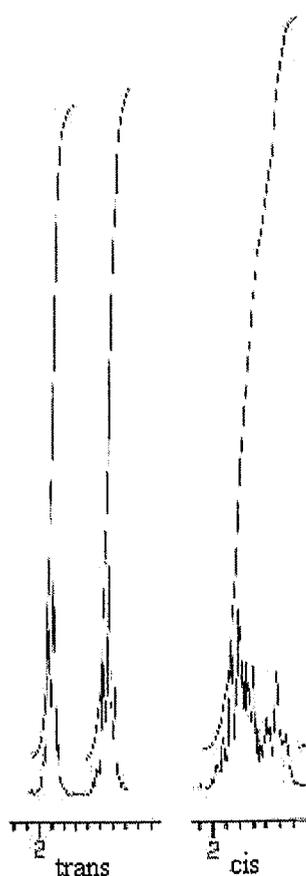
In Abbildung 3.3 sind die radiochemischen Ausbeuten an cis und trans 4- ^{18}F Fluorocyclohexancarbonsäureethylester aus der Umsetzung von cis/trans 4-Tosyloxy-cyclohexancarbonsäureethylester mit n.c.a. ^{18}F Fluorid in verschiedenen Lösungsmitteln dargestellt.

Bei dem Vergleich der untersuchten Lösungsmittel zur Darstellung der gewünschten Zielverbindung über den nukleophilen Austausch mit n.c.a. ^{18}F Fluorid erwies sich DMSO als das am besten geeignete Lösungsmittel. Hierbei konnten radiochemische Ausbeuten an cis 4- ^{18}F Fluorocyclohexancarbonsäureethylester von 68 % \pm 4 % erhalten werden. Im Falle von DMF konnte ebenfalls noch eine gute RCA in Höhe von 57 % \pm 4 % für die cis-Verbindung beobachtet werden. Unter Verwendung von DMAA ist eine Absenkung der radiochemischen Ausbeute auf im Mittel 30 % für die cis-Verbindung erkennbar, trotz ähnlicher Strukturen und Werten der Dielektrizitätskonstante sowie des Dipolmoments im Vergleich zum DMF. Ungeeignet erscheinen vor allem die Verwendung der Lösungsmittel Acetonitril sowie THF.

In AcCN konnte überraschenderweise lediglich die cis-Verbindung mit einer RCA von 20 % erhalten werden. Im allgemeinen ist AcCN sehr gut als Lösungsmittel bei der nukleophilen aliphatischen Substitution geeignet. In diesem Fall wird wahrscheinlich die Reaktionsgeschwindigkeit der S_N2 -Substitution in DMSO und DMF durch eine stärkere Polarisierung des Übergangszustandes erhöht, so daß höhere radiochemischen Ausbeuten erhalten werden. Bei Verwendung von THF konnten keine Aktivprodukte beobachtet werden.

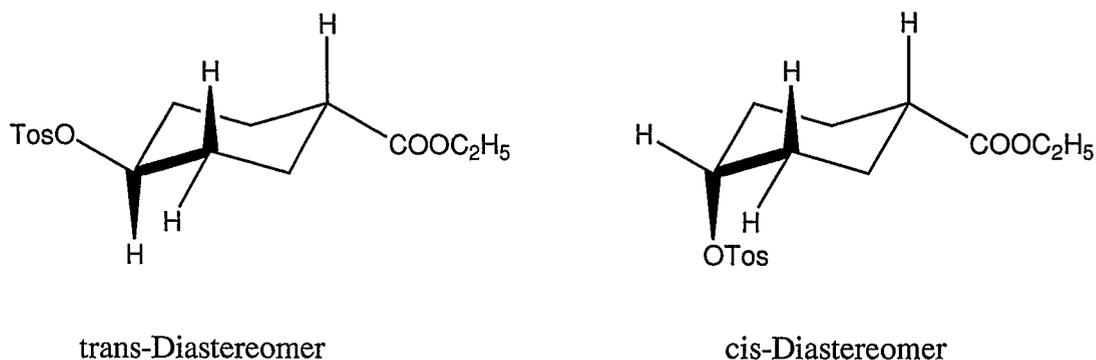
Am auffälligsten hierbei war der große Unterschied der radiochemischen Ausbeuten der beiden Diastereomeren untereinander. Bei Verwendung des geeignetsten Lösungsmittels DMSO konnten lediglich $14\% \pm 5\%$ RCA an trans-4-[^{18}F]Fluorocyclohexancarbonsäureethylester erhalten werden.

Bei der Betrachtung der NMR-Spektren (Abb. 3.4) der Protonen am Cyclohexyrling (ausgenommen Brückenprotonen) erhält man für die trans-Verbindung eine J_2 -Kopplung von ca. 4-5 Hz; im Gegensatz zur cis-Verbindung, bei welcher eine



J_2 -Kopplung von < 1 Hz erhalten wird (siehe Schema 3.6). In diesem Schema sind die cis- und trans-Diastereomere dargestellt. Hierbei ist für das trans-Diastereomer die anti-periplanare Stellung der Protonen am Cyclohexyrling zu erkennen, welche sich auch im Protonenspektrum durch die oben genannte größere J_2 -Kopplung ausdrückt. Im Fall des cis-Diastereomeren steht die Tosylat-Abgangsgruppe anti-periplanar zum α -Proton. Durch diesen konformativen Effekt ist die in Konkurrenz zur S_N2 -Substitutionsreaktion (stärkere sterische Hinderung) stattfindende E_2 -Eliminierung somit bei dem cis-Edukt bevorzugt, da hierbei alle beteiligten Reaktionszentren in einer Ebene liegen (Ingold-Regel [171]). Das Edukt mit der cis-Tosylat-Abgangsgruppe eliminiert daher unter den basischen Bedingungen schneller unter Ausbildung einer Doppelbindung. Das cis-Edukt steht somit für eine Substitution mit n.c.a. [^{18}F]Fluorid, die zum trans-Produkt führt, nicht mehr zur Verfügung.

Abb 3.4: Teilausschnitt der Protonenspektren der cis- und trans-4-Tosyloxycyclohexancarbonsäureethylester



Schema 3.6: wahrscheinliche Konformationen der Diastereomere des 4-Tosyloxy-cyclohexancarbonsäureethylesters

3.1.5 Abhängigkeit der radiochemischen Ausbeute für 4- ^{18}F Fluorocyclohexancarbonsäureethylester von der Eduktkonzentration

Aufgrund des offensichtlich konkurrierenden Eliminierungsprozesses wurde der Reaktionsverlauf der ^{18}F -Fluorierung des trans 4-Tosyloxy-cyclohexancarbonsäureethylester im Konzentrationsbereich von 8-70 mmol/l eingehender untersucht.

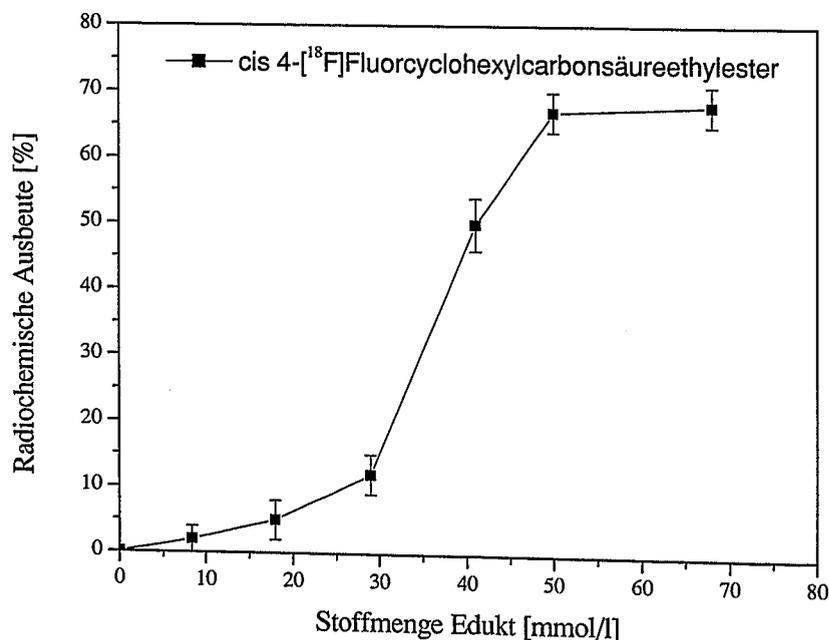


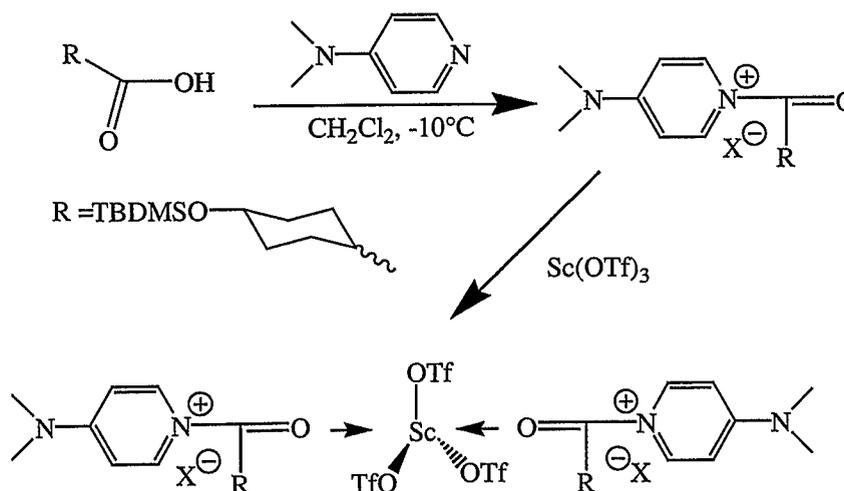
Abb. 3.5: Radiochemische Ausbeute des cis 4- ^{18}F Fluorocyclohexancarbonsäureethylester als Funktion der Eduktkonzentration; [Edukt] = 50 mmol/l, [2.2.2.] = 50 mmol/l, K_2CO_3 = 25 mmol/l, 0,5 ml DMSO, 10 min, n.c.a. ^{18}F Fluorid

Der in Abbildung 3.5 graphisch dargestellte Verlauf der Messdaten zeigt für die nukleophile Substitution eine stetige Zunahme des markierten Produktes mit steigender

Eduktkonzentration. Eine maximale radiochemische Ausbeute an cis 4-[^{18}F]Fluor-cyclohexancarbonsäureethylester von ca. $68\% \pm 4\%$ ist bei einer Eduktkonzentration von ca. 48 mmol/l zu erkennen. Wie die weitere Erhöhung der Eduktkonzentration auf 70 mmol/l zeigt, führt eine weitere Erhöhung der Eduktkonzentration nicht zu einer weiteren Steigerung der RCA.

3.1.6 Radiosynthese des cis/trans 4-[^{18}F]Fluor-N-4-((2-[4-(2-methoxyphenyl)-piperazin-1-yl]-ethyl)-pyridin-2-yl)-cyclohexylcarboxamid

Eine der Zielstellungen dieser Arbeit war, die Acylierungsreaktion mit in 4-Position substituierten Cyclohexylcarbonsäure-Derivaten am Amin WAY 100634 vorzunehmen. Dazu wurde die oben genannte 4-tert.-Butyldimethylsilyl (TBDMS)-geschützte 4-OH-Cyclohexylcarbonsäure als potentiell Kopplungsagenz verwendet. Zur Darstellung des entsprechenden Markierungsvorläufers wurde zum einen vom 4-OH-geschützten Cyclohexylcarbonsäurechlorid ausgegangen, welches durch Umsetzung der freien Säure mit Oxalylchlorid dargestellt wurde. Dabei erfolgte die anschließende Acylierung zum Amid mit einer Ausbeute von 56%. Um das Amid in höheren Ausbeuten zu erhalten, wurden weitergehende Untersuchungen, welche den Einfluß eines Kopplungsagenz beinhalteten, durchgeführt.



Schema 3.7: Bildung des aktivierten Scandium-Komplexes

Die in Schema 3.7 skizzierte Reaktion wurde in der Vergangenheit bereits erfolgreich zur Acylierung von ternären Alkoholen eingesetzt und kommt grundsätzlich auch für die

Acylierung des sekundären Amins WAY 100634 in Betracht. Die 4-OH-geschützte Cyclohexylcarbonsäure (siehe Schema 3.7) wurde mit DMAP unter Ausbildung eines Acyl-Pyridinium Intermedat umgesetzt. Unter Verwendung von Scandiumtriflat bildet sich nachfolgend eine hochreaktiver Scandium-Komplex, welcher in Dichlormethan ausfällt. Anschließend wird dieser Komplex mit dem Amin (WAY 100634) in Gegenwart von Dicyclohexylcarbodiimid (DCC) umgesetzt.

Bei dieser Acylierungsmethode konnten jedoch nur ähnlich hohe Ausbeuteergebnisse wie bei der Säurechlorid Kopplung für 4-tert.-Butyldimethylsilyl-(N-[2-[4-(2-methoxyphenyl)-1-piperazinyl]ethyl]-N-(2-pyridinyl)cyclohexylcarboxamid von ca. 51 % erzielt werden.

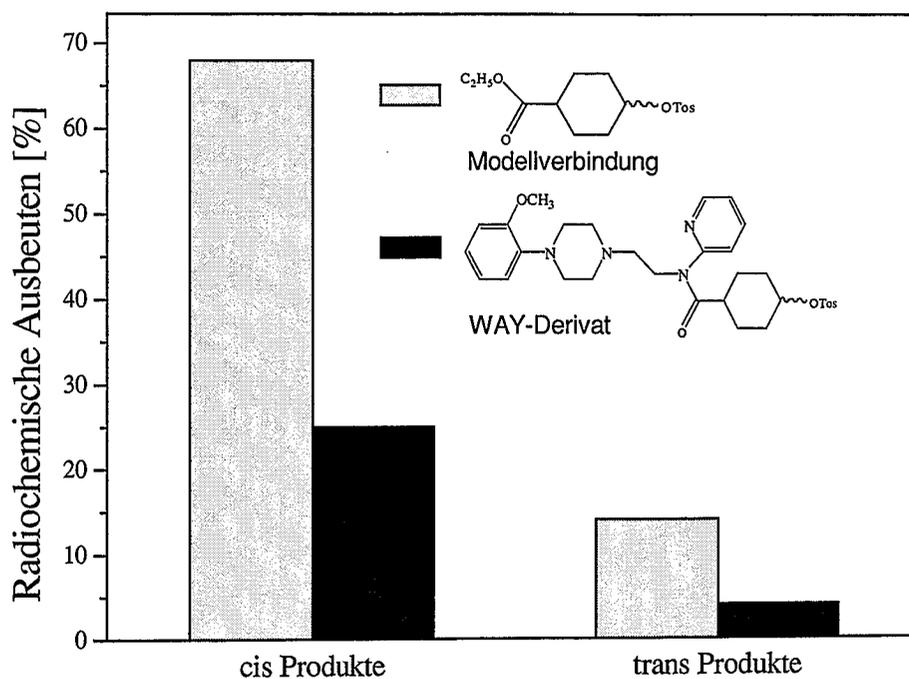
Daneben wurden direkte Kopplungsversuche der mit TBDMS geschützten 4-OH-Cyclohexylcarbonsäure und dem Amin WAY 100634 mit DCC untersucht, ohne daß dabei eine Scandiumaktivierung ausgenutzt wurde. Hierbei konnten jedoch nur weitaus geringere chemische Ausbeuten für das Amid erhalten werden, so daß dieser Syntheseweg zur Darstellung des WAY 100635 nicht geeignet erscheint.

Nach der Kopplungsreaktion wurde in einem nachfolgenden Syntheseschritt die TBDMS-Schutzgruppe mit Hilfe von Tetrabutylammoniumfluorid im Rückfluß in THF abgespalten. Die anschließende Tosylierung der freien OH-Funktion am Cyclohexylring erfolgte in gleicher Weise wie bei der Modellverbindung mit Hilfe von Toluolsulfonsäureanhydrid und Pentamethylpiperidin als Base. Die sich anschließende Säulenchromatographie mittels MPLC führte schließlich zur Trennung des Diastereomerenpaares.

Die anhand der Modellverbindungen optimierten Reaktionsparameter wurden auf den tosylierten WAY-Vorläufer (s.u.) übertragen. Ein Vergleich der erhaltenen radiochemischen Ausbeuten für die cis/trans 4-[¹⁸F]Fluor-N-{2-[4-(2-methoxyphenyl)-piperazin-1-yl]-ethyl}-pyridin-2-yl-cyclohexylcarboxamide mit den oben genannten RCA der Modellverbindungen sind in Abbildung 3.6 dargestellt.

Sie zeigt, daß die erhaltene radiochemische Ausbeute für das cis-4-[¹⁸F]Fluor-N-{2-[4-(2-methoxyphenyl)-piperazin-1-yl]-ethyl}-pyridin-2-yl-cyclohexylcarboxamid über die S_N2 Substitution mit n.c.a. [¹⁸F]Fluorid zu einer maximalen RCA von ca. 25 % ± 4 % führt. Bei der Verwendung des cis-Eduktes wurden hierbei wie im Fall der Modellverbindung wesentlich geringere Ausbeuten für das trans-4-[¹⁸F]Fluor-N-{2-[4-(2-methoxyphenyl)-piperazin-1-yl]-ethyl}-pyridin-2-yl-cyclohexylcarboxamid von ca. 4 % ± 2 % erhalten. Daher muß auch in diesem Fall von einer stärkeren Tendenz zur konkurrierenden Eliminierungsreaktion ausgegangen werden. Vergleicht man die radiochemischen Ausbeuten beider Diastereomerenpaare miteinander, so folgen für die WAY-Derivate generell ca. 2/3

geringere Ausbeuten als im Fall der entsprechenden Modellverbindungen. Bei dieser Reaktion ist die größere Instabilität des WAY-Derivates insbesondere bei höheren Reaktionstemperaturen von Bedeutung, die sich in Untersuchungen zur Stabilität in DMSO bei 100°C gezeigt hat. Durch Umsetzung des Markierungsvorläufers im Lösungsmittel ohne Zusatz von n.c.a. [^{18}F]Fluorid unter gleichzeitiger chromatographischer Kontrolle des Reaktionsverlaufes, konnte innerhalb von 25 min ein vollständiger Abbau des WAY-Derivates durch Amidspaltung oder Eliminierung beobachtet werden.



Vergleich der Diastereomerenausbeuten der Modellverbindung sowie der neuen WAY-Derivate

Abb. 3.6: Vergleich der erreichbaren RCA der diastereomeren WAY-Derivate mit denen der Modellverbindungen
 [Edukt] = 80 mmol/l, [2.2.2.] = 50 mmol/l, K_2CO_3 = 25 mmol/l, 0,5 ml DMSO, 10 min, 120°C, n.c.a. [^{18}F]Fluorid

Die beiden neu entwickelten Derivate des WAY 100635, cis- und trans-4- ^{18}F Fluor-N-{2-[4-(2-methoxyphenyl)-piperazin-1-yl]-ethyl}-pyridin-2-yl-cyclohexylcarboxamid, stehen somit zur Bewertung ihrer Subtyp-selektivität und Affinität zum Rezeptor zur Verfügung. Die Synthese des trans-Diastereomers für z.B. in vivo Anwendungen, gestaltet sich jedoch aufgrund der relativ schlechten radiochemischen Ausbeute als schwierig.

Zwischenzeitlich konnten durch eine konkurrierende Arbeitsgruppe bereits ^{18}F -markierte Cyclohexyl-Derivate des WAY 100635 klinisch getestet werden [172]. Allerdings wurden die

Verbindungen in diesem Fall über einen zweistufigen Syntheseweg (^{18}F -Markierung von Cyclohexylderivaten und anschließender Amin-Kopplung) dargestellt, der sich gegenüber dem hier beschriebenen Konzept durch einen größeren Zeitaufwand auszeichnet. Die dabei beschriebenen radiochemischen Ausbeuten liegen nach Aussagen der Autoren zwischen 10-20 %. Eine genauere Aussage über die Diastereomerenverteilung erfolgte nicht.

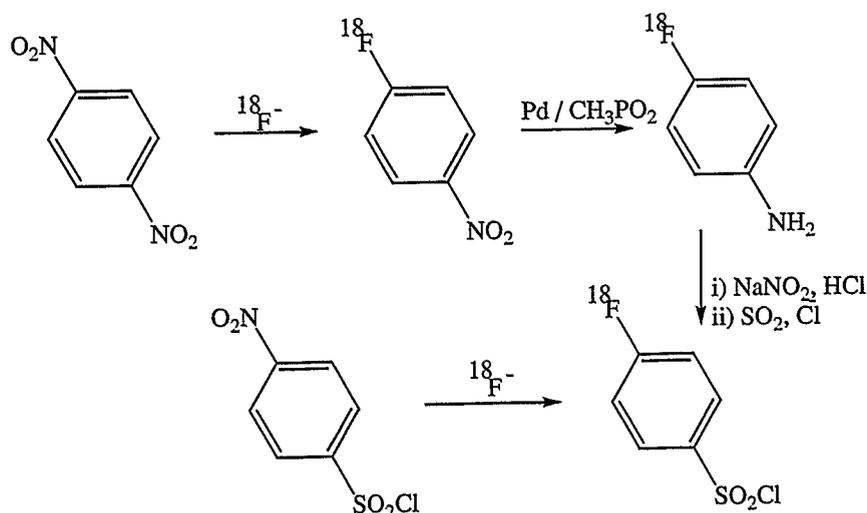
Die K_i -Werte beider Verbindungen sind mit 7 nmol für das cis- bzw. 1 nmol für das trans-Diastereomer bestimmt worden [173]. Bei weiteren präklinischen Untersuchungen wiesen auch diese beiden Verbindungen in vivo eine relativ schnelle Amidspaltung auf. Außerdem durchdringt die entstehende 4- ^{18}F Fluorocyclohexylcarbonsäure trotz ihrer im Vergleich zur ^{11}C Cyclohexylcarbonsäure geringeren Lipophilie die Blut-Hirn-Schranke und erschwert somit die Auswertung von PET-Aufnahmen.

Strukturelle Modifikationen, die zu einer Stabilisierung der Amidbindung in vivo führen, sind somit ein erstrebenswertes Ziel für die diagnostische Anwendung von markierten WAY-Derivaten.

3.2 Darstellung von ^{18}F - und ^{123}I -markierten Sulfonamidderivaten des WAY 100635

Zur Entwicklung neuer Derivate des WAY 100635 für das serotonerge $5\text{-HT}_{1\text{A}}$ System wurden alternativ zu den bisher eingesetzten Carbonsäureamiden Benzolsulfon- und Benzolsulfinsäureamid-Derivate für eine n.c.a. ^{18}F -Markierung synthetisiert, wobei verschiedene Abgangsgruppen X, in para-Position zur Säureamid-Gruppe untersucht wurden. Es wurde angestrebt, neue Möglichkeiten zur Stabilisierung der Amidfunktion zu finden. Kürzlich entwickelte aromatische Amidderivate des WAY 100635, wie 4-Fluor-N-{2-[4-(2-methoxyphenyl)-piperazin-1-yl]-ethyl}-N-pyridin-2-yl-benzamid (p-MPPF), zeigten bereits eine Stabilisierung der Amidfunktion. Hierbei konnten bei Metabolitenuntersuchungen an Ratten, 30 Minuten nach Injektion, im Plasma 50% unzersetztes p-[^{18}F]MPPF identifiziert werden [165].

Die zunächst zur Stabilisierung des WAY 100635 ausgewählte Sulfonamid-Gruppe wurde ausgehend von para-substituierten Benzolsulfonylchloriden und WAY 100634 als Amin-Komponente in Dichlormethan eingeführt. Es wurde erwartet, daß bei dieser Derivatisierung die Affinität zum Rezeptorsystem und die Selektivität zum $5\text{HT}_{1\text{A}}$ Subtyp möglichst erhalten bleiben sollte.



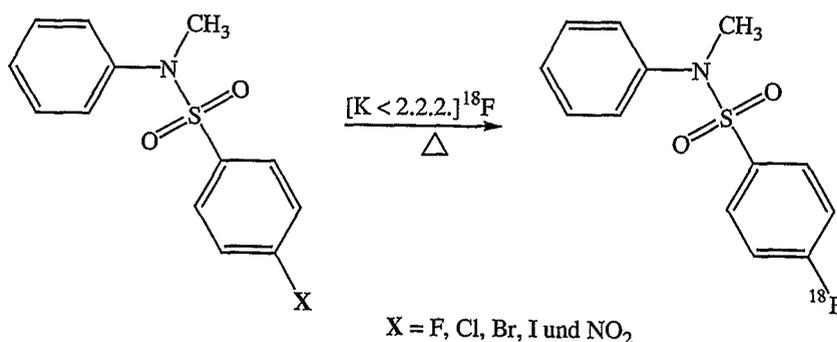
Schema 3.8: Synthesewege zur Darstellung von n.c.a. [^{18}F]Fluorbenzoylchlorid

Bisherige Darstellungen von para-[^{18}F]Fluorbenzoylsulfonamiden erfolgten über Arylsulphonylchloride als Acylierungsagens, welcher als wichtiger Vorläufer zur Darstellung verschiedener schwefelhaltiger Verbindungen wie Sulfonester oder Sulfonamide bekannt sind. Die Darstellung des [^{18}F]Fluorbenzoylchlorid ist je nach Syntheseweg mit

großem Aufwand verbunden und führt über 4-[¹⁸F]Fluoranilin bzw. 4-Nitrobenzolsulfonylchlorid nur zu geringen radiochemischen Ausbeuten von ca. 5 % (siehe Schema 3.8) [174, 175]. Eine Direktmarkierung an primären Sulfonamiden über eine nukleophile aromatische ¹⁸F-für-NO₂ Substitution führt zu radiochemischen Ausbeuten von lediglich 1-2 %, welche für eine präparative Darstellung von Radiopharmaka indiskutabel erscheint [176].

Hinsichtlich einer Optimierung der Direktmarkierung wurden sekundäre Benzolsulfonamide synthetisiert und zur Markierung eingesetzt, um höhere radiochemische Ausbeuten der gewünschten Produkte zu erhalten. Dabei war insbesondere der Einfluß der Sulfonamidgruppe als aktivierende Gruppe bei der aromatischen nukleophilen Substitution prinzipiell von Vorteil, da Sulfonamide allgemein eine relativ große Hammett-Konstante (> 0,5 siehe [177]) aufweisen und somit einen positiven Effekt (Elektronenzug) auf das Reaktionszentrum am Aromaten besitzen.

Zunächst wurden als Modellverbindungen para-substituierte N-Methyl-N-phenylbenzolsulfonamide synthetisiert (siehe Schema 3.9), welche strukturell große Ähnlichkeiten mit der Zielverbindung aufweisen (aliphatisch, aromatisch substituiertes Amid).



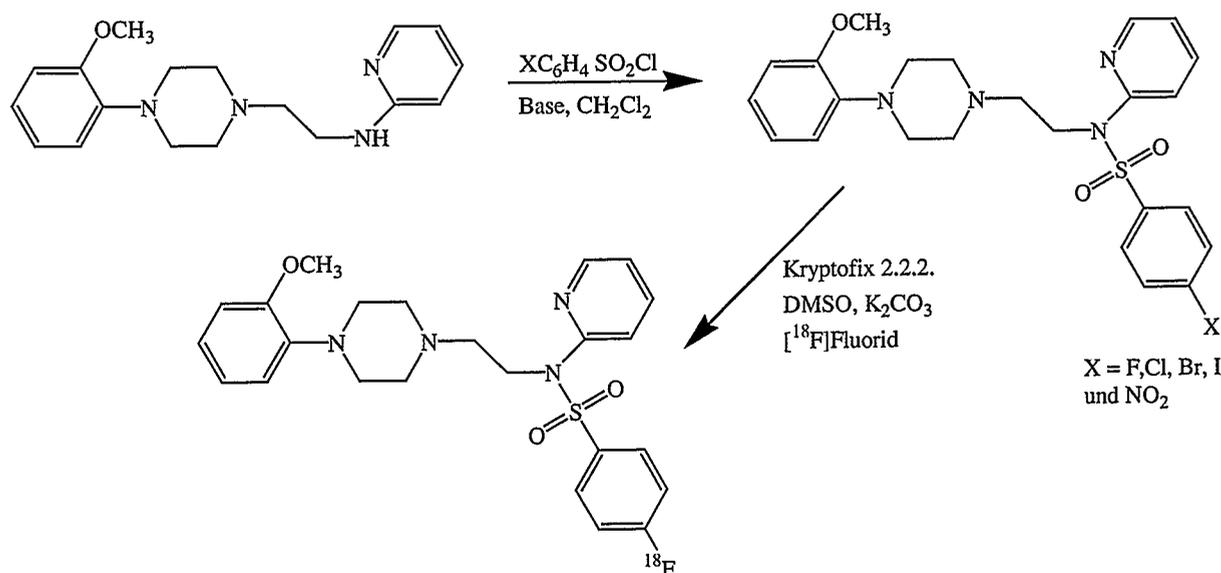
Schema 3.9: Radiosynthese des para-[¹⁸F]Fluor-N-methyl-N-phenyl-benzolsulfonamid als Modellverbindung für die Optimierung der Markierungsparameter

Das Ziel dabei war die Untersuchung verschiedener Einflüsse, wie z.B.

- der Reaktionstemperatur,
- des Lösungsmittels,
- der Art der nukleofugen Gruppe und
- der Art des aktivierenden Substituenten.

Die Modellverbindungen wurden ausgehend von N-Methyl-N-phenylamin über eine Acylierungsreaktion mit den para-substituierten Benzolsulfonylchloriden dargestellt. Als nukleofuge Gruppen wurden die Halogenide (F, Cl, Br und I) sowie die Nitro-Gruppe ausgewählt, da sie sich für die S_N2-Reaktion an Aromaten bisher als besonders potent erwiesen haben [94]. Auf die Verwendung der ebenfalls gut geeigneten Trimethylammonium-Abgangsgruppe mußte hierbei verzichtet werden, da eine Quarternisierung der aromatischen Dimethylamino-Funktion nicht möglich war. Da das Zielmolekül sowohl eine Piperazin- (aliphatischer Stickstoff) als auch eine Pyridin-Gruppe enthält, gestaltet sich eine selektive Quarternisierung als äußerst schwierig.

Schema 3.10 zeigt die Aufbausynthese der Sulfonamid-Derivate des 5-HT_{1A} Antagonisten WAY 100635. Auf diese Substanzen sollten die bei der Optimierung der Reaktionsbedingungen erhaltenen Parameter übertragen und mit den Modellverbindungen verglichen werden.



Schema 3.10: Synthese und Radiosynthese des aromatischen para- ^{18}F Fluorbenzolsulfonamid Derivates des WAY 100635

Wie im Schema 3.10 skizziert, erfolgte die Reaktion des WAY 100634 mit den para-substituierten Benzolsulfonylchloriden unter gleichen Bedingungen wie im Fall der Modellverbindung. Die erhaltenen Sulfonamide konnten über die hier beschriebene Acylierungsreaktion in sehr guten Ausbeuten mit Hilfe von $\text{Me}_3\text{N}^+\text{HCl}$ als Katalysezusatz erhalten werden [205]. Die para-substituierten Sulfonamid-Derivate des WAY 100635

wurden säulenchromatographisch über Kieselgel gereinigt und sofort für die nukleophile aromatische Substitution mit [^{18}F]Fluorid eingesetzt.

3.2.1 Abhängigkeit der radiochemischen Ausbeute an para-[^{18}F]Fluor-N-methyl-N-phenylbenzolsulfonamid vom Reaktionslösungsmittel

In dipolar aprotischen Lösungsmitteln verlaufen nukleophile Substitutionsreaktionen häufig besser ab, da hier das Nukleophil schwächer solvatisiert ist. Die dipolar aprotischen Lösungsmittel sind für Fluorierungsreaktionen mit n.c.a. [^{18}F]Fluorid essentiell.

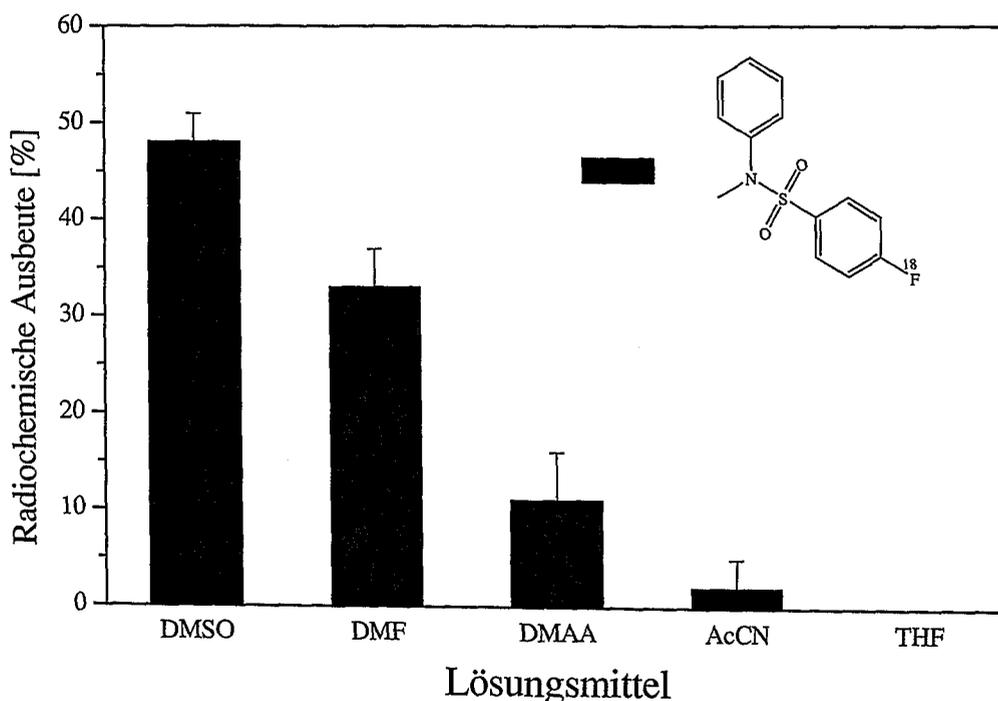


Abb. 3.7: Abhängigkeit der radiochemischen Ausbeute an para-[^{18}F]Fluor-N-methyl-N-phenyl-benzolsulfonamid vom Lösungsmittels
[Edukt] = 50 mmol/l, [2.2.2.] = 50 mmol/l, K_2CO_3 = 25 mmol/l, 15 min, n.c.a. [^{18}F]Fluorid

In Abbildung 3.7 sind die radiochemischen Ausbeuten für die Reaktion von para-Brom-N-methyl-N-phenyl-benzolsulfonamid mit n.c.a. [^{18}F]Fluorid in DMSO, DMF, DMAA, Acetonitril sowie THF wiedergegeben. Die ersten drei Lösungsmittel sollten sich auf Grund ihrer hohen Dielektrizitätskonstante und ihres hohen Dipolmomentes (siehe Abschnitt 3.1.1.3) sowie des hohen Siedepunktes zur nukleophilen aromatischen ^{18}F -Fluorierung sehr gut eignen

[178]. Als Reaktionstemperatur wurden die jeweiligen Siedepunkte der Lösungsmittel gewählt. Die Probenentnahme erfolgte jeweils nach 15 Minuten Reaktionszeit.

Beim Vergleich der verwendeten Lösungsmittel zur Darstellung von n.c.a. para-[^{18}F]Fluor-N-methyl-N-phenyl-benzolsulfonamid durch den nukleophilen Angriff von n.c.a. [^{18}F]Fluorid erwies sich DMSO als am besten geeignet, wobei radiochemische Ausbeuten von $48 \pm 4 \%$ erhalten werden konnten. Auch unter der Verwendung von DMF als Lösungsmittel wurden noch recht gute radiochemische Ausbeuten von $33 \pm 4 \%$ erzielt. Im Vergleich dazu lieferte DMAA schon deutlich geringere RCA, obwohl die Dielektrizitätskonstanten und die Dipolmomente der Lösungsmittel sich nur geringfügig voneinander unterscheiden. In der Vergangenheit wurde DMAA erfolgreich vor allem bei der Halogen-aktivierten ^{18}F -für-N(CH_3)₃ Substitution eingesetzt [100]. Für den Einsatz bei der Sulfonamid-aktivierten ^{18}F -für-Br Substitution hatte es sich jedoch als ungeeignet erwiesen. Gleichfalls wurde Acetonitril und THF als Lösungsmittel zur Markierung untersucht. Hierbei lagen die radiochemischen Ausbeuten für AcCN bei 3 % und für THF bei 0 %, so daß beide Lösungsmittel vollkommen ungeeignet erscheinen. Wie in der Einleitung diskutiert, steht dies im Einklang mit früheren Optimierungen der n.c.a. ^{18}F -Substitution an Aromaten, wobei meist DMSO als günstigstes Lösungsmittel gefunden wurde [94].

3.2.2 Abhängigkeit der radiochemischen Ausbeute der para-[^{18}F]Fluorbenzolsulfon-Verbindungen von der Reaktionstemperatur

Die nachfolgend vorgestellten Markierungen mit [^{18}F]Fluorid wurden im Kryptofix-2.2.2/ K_2CO_3 System in DMSO durchgeführt und der Einfluß der Reaktionstemperatur auf die RCA der nukleophilen aromatischen Substitution untersucht. In Abb. 3.8 sind die radiochemischen Ausbeuten der Modellverbindung para-[^{18}F]Fluor-N-methyl-N-phenyl-benzolsulfonamid sowie des radioaktiv markierten neuen WAY-Derivates 4-[^{18}F]Fluoro-N-{2-[4-(2-methoxyphenyl)-piperazin-1-yl]-ethyl}-N-pyridin-2-yl-benzolsulfonamid dargestellt. Edukte der Markierungsreaktionen waren wiederum die para-Brom-Vorläufer. Im Vergleich zu der oben untersuchten nukleophilen aliphatischen ^{18}F -Fluorierung an Cyclohexyl-derivaten, welche im allgemeinen bei niedrigeren Temperaturen durchgeführt wird, erfordern nukleophile aromatische Substitutionen in der Regel höhere Temperaturen.

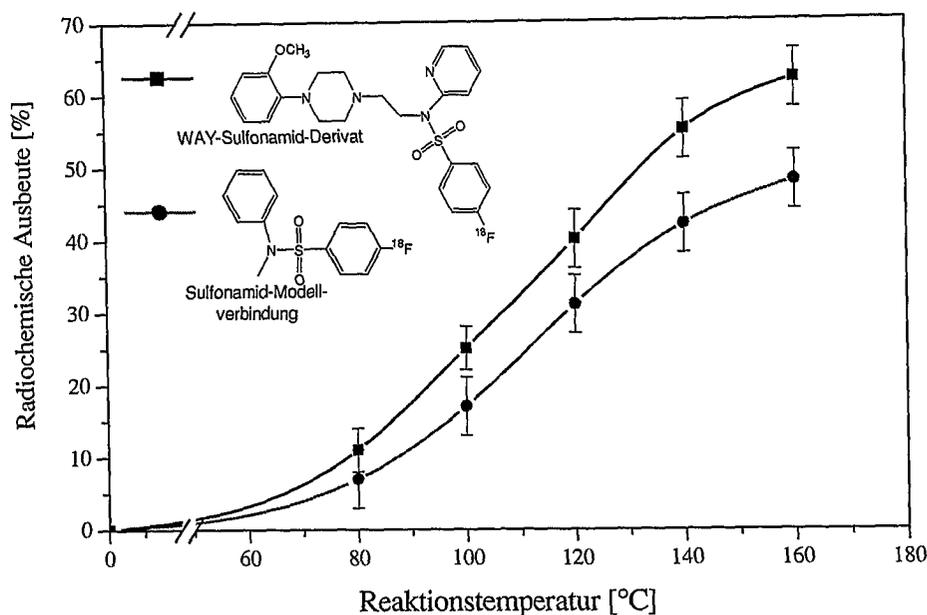


Abb. 3.8: Vergleich der RCA der aromatischen 4- ^{18}F Fluorbenzolsulfonamide in Abhängigkeit von der Reaktionstemperatur
 [Edukte] = 80 mmol/l, [2.2.2.] = 50 mmol/l, K_2CO_3 = 25 mmol/l, 0,5 ml DMSO, 15 min, n.c.a. ^{18}F Fluorid

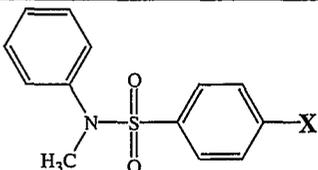
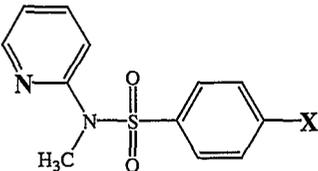
Wie in Abb. 3.8 dargestellt, kommt es mit zunehmender Reaktionstemperatur zu einer stetigen Steigerung der radiochemischen Ausbeute, die für beide Verbindungen bei 160°C in eine Sättigung übergeht. Das entspricht nahezu der Siedetemperatur des Lösungsmittels. Hierbei konnte für para- ^{18}F Fluor-N-methyl-N-phenyl-benzolsulfonamid eine radiochemische Ausbeute von $48 \pm 4\%$ gemessen werden. Die RCA für das n.c.a. 4- ^{18}F Fluoro-N-{2-[4-(2-methoxyphenyl)-piperazin-1-yl]-ethyl}-N-pyridin-2-yl-benzolsulfonamid lag bei dieser Temperatur über 60%. Es ist festzustellen, daß unter Verwendung des WAY-Derivates im Vergleich zur Modellverbindung bessere radiochemische Ausbeuten erhalten werden konnten. Dies ist wahrscheinlich auf den zusätzlichen Elektronenzug des Pyridin-Substituenten auf das Reaktionszentrum zurückzuführen. Damit wird offensichtlich eine noch bessere nukleophile aromatische Substitution gewährleistet. Eine Zersetzung der Modellverbindung während der Reaktion konnte nicht beobachtet werden, so daß im Gegensatz zu den Cyclohexylderivaten (vergl. Kap. 3.1.3) keine Absenkung der Eduktmenge und der daraus folgenden Ausbeuterniedrigung statt fand.

3.2.3 Vergleich unterschiedlich aktivierender Sulfonamid-Gruppen auf die nukleophile aromatische Substitution an Modellverbindungen

Aufgrund der oben beobachteten Ausbeutezunahme bei der nukleophilen aromatischen Substitution mit ^{18}F Fluorid unter Verwendung eines Pyridin-Substituenten an der

Sulfonamidgruppe, wurde eine weitere Modellverbindung synthetisiert. Diese Sulfonamide wurden ausgehend von N-Methyl-N-pyridin-2-yl-amin dargestellt. Untersucht wurden das para-Chlor, para-Nitro- und para-Fluorbenzolsulfonylchlorid, da sich diese Abgangsgruppen als gut geeignet erwiesen haben. Die zusätzliche Aktivierung durch den Pyridylsubstituenten sollte sich durch einen verstärkten Elektronenzug auf den Stickstoff des Sulfonamids und somit auf das Reaktionszentrum am Aromaten über eine Erhöhung der radiochemischen Ausbeute bemerkbar machen. In der nachfolgenden Tabelle 3.1 ist die RCA für die ^{18}F -für- ^{19}F , ^{18}F -für- NO_2 bzw. ^{18}F -für-Cl Substitution der beiden Modellverbindungen gegenübergestellt.

Tab. 3.1 Einfluß verschiedener aktivierender Gruppen auf die radiochemische Ausbeute bei der nukleophilen aromatischen Substitution an Modellverbindungen

Verbindung	^{18}F -für- ^{19}F [%]	^{18}F -für- NO_2 [%]	^{18}F -für-Cl [%]
	84 ± 5	86 ± 5	39 ± 5
	87 ± 5	91 ± 5	57 ± 5

Reaktionsbedingungen: [Edukt] = 50 mmol/l, [2.2.2.] = 50 mmol/l, K_2CO_3 = 25 mmol/l, 0,5 ml DMSO, 15 min, 160°C , n.c.a. [^{18}F]Fluorid

Die phasentransfergestützte n.c.a. ^{18}F -Fluorierung von para-Chlor, para-Fluor- bzw. Nitro-N-methyl-N-phenyl-benzolsulfonamid in Gegenwart des Kryptates (Kryptofix/Kaliumkarbonat) bei 160°C in DMSO, führte bei beiden Substitutionen (^{18}F -für- ^{19}F bzw. ^{18}F -für- NO_2) zu sehr hohen radiochemischen Ausbeuten an para- ^{18}F -Fluor-N-methyl-N-phenyl-benzolsulfonamid von 84 ± 5 % bzw. 86 ± 5 %. Unter gleichen Reaktionsbedingungen erfolgten die ^{18}F -Fluorierungen an para-Fluor- bzw. para-Nitro-N-methyl-N-pyridin-2-yl-benzolsulfonamid, wobei sich radiochemische Ausbeuten an para- ^{18}F -Fluor-N-methyl-N-pyridin-2-yl-benzolsulfonamid von 87 ± 5 % bzw. 91 ± 5 % ergaben. Die Ergebnisse der RCA sind im Bereich des Meßfehlers vergleichbar. Es konnte dennoch tendentiell eine leichte Erhöhung

der radiochemischen Ausbeute beobachtet werden. Wesentlich deutlicher wirkt sich dieser Elektronenzug und die damit verbundene Aktivierung bei weniger guten Abgangsgruppen, wie z.B. der Chlor-Abgangsgruppe aus. Hierbei liegen die Unterschiede der radiochemischen Ausbeuten zwischen den verschiedenen Modellverbindungen um ca. 18%. Für die Substitution am para-Chlor-N-methyl-N-phenyl-benzolsulfonamid konnten ca. 39% RCA und für die Substitution am para-Chlor-N-methyl-N-pyridin-2-yl-benzolsulfonamid konnten RCA von 57% erhalten werden. Die beim Vergleich der Temperaturabhängigkeiten der beiden Modellverbindungen, para-[¹⁸F]Fluor-N-methyl-N-phenyl-benzolsulfonamid und n.c.a. 4-[¹⁸F]Fluoro-N-{2-[4-(2-methoxyphenyl)-piperazin-1-yl]-ethyl}-N-pyridin-2-yl-benzolsulfonamid gemessenen Werte (siehe Abb. 3.8) stehen im Einklang mit einem zusätzlichen Elektronenzug des Pyridinrestes.

Neueste Untersuchungen zur nukleophilen aromatischen Substitution am Aromaten konnten eine direkte Aktivierung des Pyridinstickstoffes in α -Position zeigen. Bei der Substitution unter Verwendung von 2-Nitro-pyridin als Edukt in DMSO konnte bei 180°C nach 20 Minuten 2-[¹⁸F]Fluorpyridin in einer RCA von 89 % erhalten werden, was ebenfalls den Elektronenzug des Pyridin-Stickstoffes verdeutlicht, wenn man berücksichtigt, daß am Nitrobenzol kein Austausch stattfindet [179].

3.2.4 Vergleich verschiedener nukleofuger Gruppen bei der nukleophilen aromatischen Substitution an Modellverbindungen bzw. den WAY-Derivaten

In Abbildung 3.9 sind die radiochemischen Ausbeuten der S_NAr-Substitution für die para-substituierten N-Methyl-N-phenyl-benzolsulfonamide sowie die entsprechenden neu synthetisierten Sulfonamid-WAY Derivate als Funktion der nukleofugen Gruppen wiedergegeben.

Ausgehend von 4-Nitro-N-methyl-N-phenyl-benzolsulfonamid führte die ¹⁸F-Markierung des aromatischen Systems, wie bereits in Abschnitt 3.2.1.3 erwähnt, zu den erwarteten sehr guten radiochemischen Ausbeuten. Hierbei konnten $86 \pm 4 \%$ an N-methyl-N-phenyl-4-[¹⁸F]fluorbenzolsulfonamid als Aktivprodukt erhalten werden. Im Vergleich dazu zeigten die entsprechenden para Halogen-substituierten Modellverbindungen ebenfalls ein typisches Verhalten in Bezug auf die ¹⁸F-für-Halogen-Substitution. Die ¹⁸F-für-¹⁹F Substitution führte dabei zu den höchsten radiochemischen Ausbeuten von ca. $84 \pm 5 \%$, während eine Abnahme der RCA in der Reihe Br: $43 \pm 5 \%$ > Cl: $35 \pm 5 \%$ > I: $32 \pm 5 \%$ erhalten wurde.

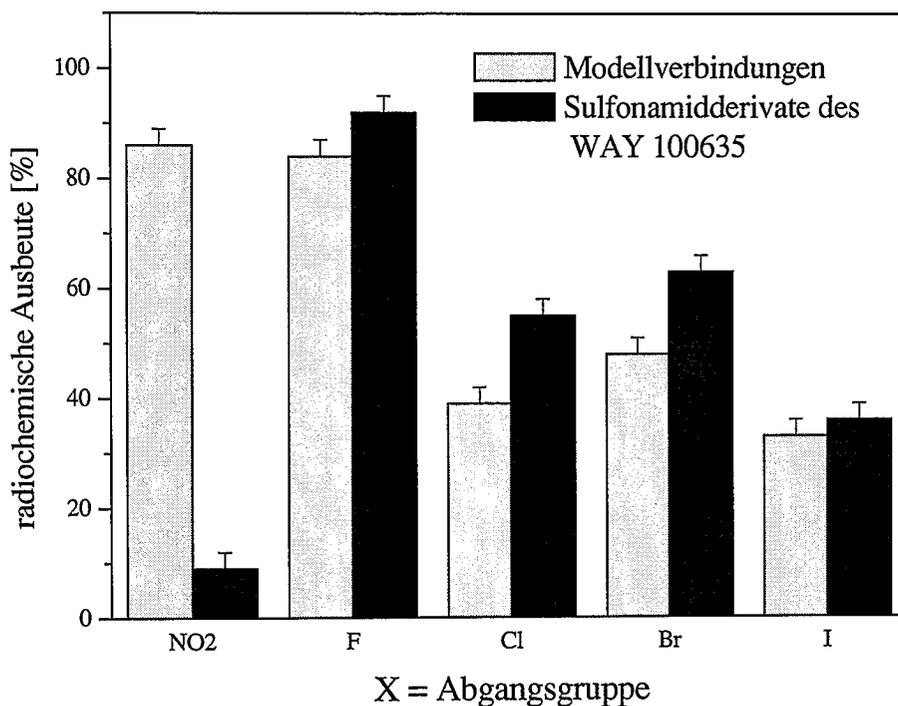
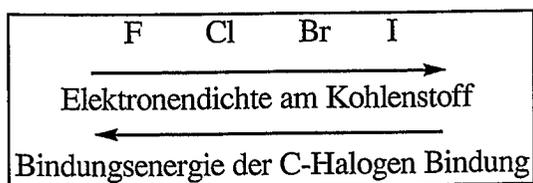


Abb. 3.9: Vergleich der RCA der para-[¹⁸F]Fluorbenzol-Sulfonamide in Abhängigkeit der nukleofugen Gruppe
 [Edukte] = 80 mmol/l, [2.2.2.] = 50 mmol/l, K₂CO₃ = 25 mmol/l, 0,5 ml DMSO, 15 min, 160°C, n.c.a. [¹⁸F]Fluorid

Die Nukleofugie bei S_NAr-Reaktionen der Halogensubstituenten nimmt in der Reihenfolge F > Cl > Br > I ab. Die Elektronendichte am C-Atom, welches an der S_NAr Reaktion beteiligt



ist, nimmt mit abnehmendem Elektronenzug des Halogensubstituenten am aromatischen System ab. Die höhere radiochemische Ausbeute der ¹⁸F-für-Br Substitution im Vergleich zur ¹⁸F-für-Cl

Substitution ist wahrscheinlich auf die abnehmende Bindungsenergie der Kohlenstoff-Halogen-Bindung als gegenläufiger Effekt zur abnehmenden Elektronendichte am Kohlenstoff zurückzuführen. Eine abnehmende RCA der ¹⁸F-für-Halogenid Substitution wird sehr oft in der Reihung F > Br > Cl > I beobachtet [180, 181].

Im weiteren Verlauf der Untersuchungen erfolgte eine Übertragung der an den Modellverbindungen optimierten Reaktionsparameter auf die neuen WAY-Derivate. Bei der ¹⁸F-für-NO₂ Substitution an 4-Nitro-N-{2-[4-(2-methoxyphenyl)-piperazin-1-yl]-ethyl}-N-pyridin-2-yl-benzolsulfonamid zeigte sich ein deutlich abweichendes Verhalten im Vergleich zu den Modellverbindungen. Für die ¹⁸F-Markierung konnte eine nur schlecht reproduzierbare radiochemische Ausbeute von 9 ± 7 % erhalten werden, die unter den verschiedenen

Reaktionsbedingungen stark schwankte und trotz drastischer Reaktionsbedingungen und Reaktionszeiten bis zu 30 Minuten teilweise nicht zu einer messbaren RCA führte. Gleichzeitig wurde die Stabilität des Eduktes im Reaktionsgemisch überprüft. Hierbei konnte selbst nach 30 minütiger Reaktionszeit bei 160°C keine Zersetzung an 4-Nitro-N-{2-[4-(2-methoxyphenyl)-piperazin-1-yl]-ethyl}-N-pyridin-2-yl-benzolsulfonamid beobachtet werden. Diese geringe Reaktivität ist möglicherweise auf intra- bzw. intermolekulare Wechselwirkungen bei der Ausgangsverbindung zurückzuführen.

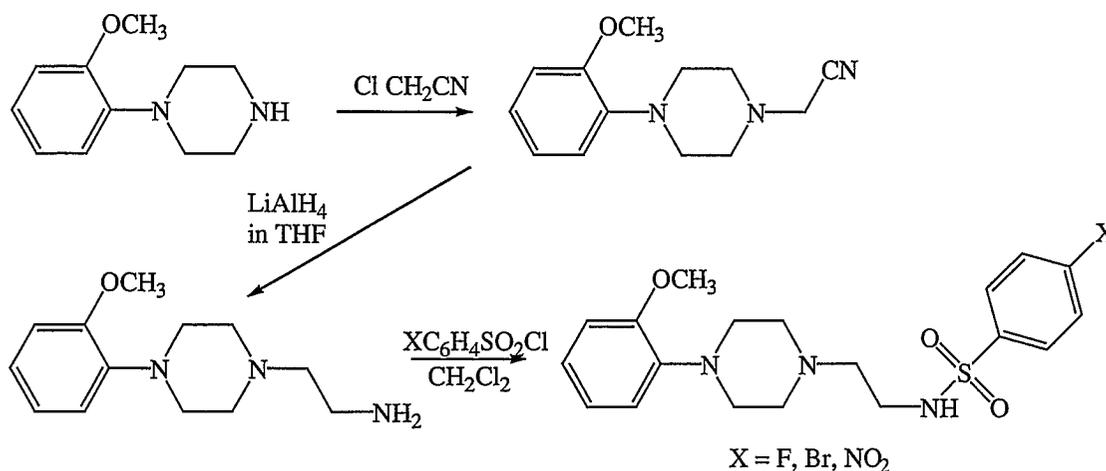
Bei Verwendung der Halogen-Abgangsgruppen konnte wie bei der Modellverbindung in Bezug auf die Halogenid Substitution die gleiche Abstufung der RCA: F ($92 \pm 5 \%$) > Br ($63 \pm 5 \%$) > Cl ($55 \pm 5 \%$) > I ($36 \pm 5 \%$) beobachtet werden. Die erreichten radiochemischen Ausbeuten für die WAY-Halogenderivate liegen etwas höher im Vergleich zur Modellverbindung. Dies kann auf den in Abschnitt 3.2.1.3 diskutierten elektronenziehenden Effekt des Pyridyl-Substituenten zurückgeführt werden.

Für die präparative Darstellung des potentiellen Radioliganden 4-[^{18}F]Fluor-N-{2-[4-(2-methoxyphenyl)-piperazin-1-yl]-ethyl}-N-pyridin-2-yl-benzolsulfonamid empfiehlt sich daher Brom als beste Abgangsgruppe für die ^{18}F -Substitution. Durch diesen nicht-isotopen Austausch kann die Verbindung für weiterführende Studien in hohen radiochemischen Ausbeuten und mit einer hohen spezifischen Aktivität erhalten werden.

3.2.5 Vergleich verschiedener aktivierender Gruppen bei der nukleophilen aromatischen Substitution an Sulfonamid-Derivaten des WAY 100635

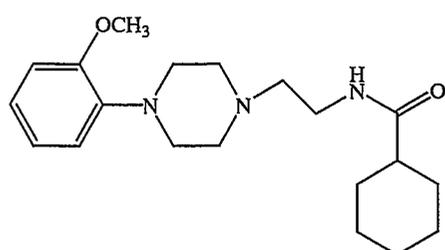
Die bisher erfolgreich durchgeführten Markierungsversuche an sekundären Sulfonamiden (R_2NSO_2 -Aktivierung) ermutigten zur Untersuchung der Markierung an primären Sulfonamiden (Aktivierung durch RNHSO_2), die, wie oben beschrieben, bisher nur mit geringen radiochemischen Ausbeuten erhalten werden konnten [175].

Ausgehend von 2-(Methoxyphenyl)piperazin wurde durch die Reaktion mit Chloracetonitril [4-(2-Methoxyphenyl)-piperazin-1-yl]-acetonitril (siehe Schema 3.11) dargestellt, das nach der Aufreinigung durch eine weitere Reaktion mit Lithium-Aluminium-Hydrid zum 2-[4-(2-Methoxyphenyl)-piperazin-1-yl]-ethylamin umgesetzt wurde. Anschließend erfolgte eine Acylierungsreaktion des primären Amins mit entsprechenden para-substituierten Benzolsulfonylchloriden. Hierbei wurden lediglich die Fluor-, Brom- und Nitro-Abgangsgruppen verwendet, da diese bisher die besten bzw. interessantesten Ergebnisse lieferten.



Schema 3.11: Synthese para-substituierter N-{2-[4-(2-Methoxyphenyl)-piperazin-1-yl]-ethyl}-benzolsulfonamid-Derivate von WAY 100635

Entsprechende einfach N-substituierte alicyclische Carbonsäureamid-Derivate des WAY 100635 (ein Bsp. siehe unten) wurden in der Vergangenheit bereits mit ¹¹C-markiert und auf



ihr pharmakinetisches Verhalten untersucht [167].

Hierbei ergaben sich zwar IC₅₀-Werte, die diese Verbindungen als geeignet erscheinen lassen, jedoch konnte bei diesen Verbindungen in vivo ein schneller Abbau des Radiotracers beobachtet werden. Die in

diesem Abschnitt untersuchte Abhängigkeit der radiochemischen Ausbeute als Funktion der aktivierenden Gruppen bezieht sich lediglich auf eine systematische Untersuchung der nukleophilen aromatischen Substitution bei Sulfonamiden mit (R₂NSO₂- bzw. RNHSO₂-Aktivierung). Die bei der Variation der Abgangsgruppen beobachteten radiochemischen Ausbeuten für die S_NAr-Substitutionen sind in Abbildung 3.10 dargestellt.

Für die ¹⁸F-für-¹⁹F Substitution wurde in DMSO bei 160°C in Gegenwart des Kryptofix[®]/Kaliumkarbonat-Systems eine radiochemische Ausbeute von ca. 25 ± 5 % nach einer Reaktionszeit von 20 min erhalten. Es zeigt sich im Vergleich zur R₂NSO₂-Aktivierung der sekundären Sulfonamid-Derivate eine deutliche Abnahme der RCA. Im Fall der ¹⁸F-für-Br Substitution konnte unter gleichen Reaktionsbedingungen kein Aktivprodukt und bei der ¹⁸F-für-NO₂ Substitution konnte nur 7 % an 4-[¹⁸F]Fluor-N-{2-[4-(2-methoxyphenyl)-piperazin-1-yl]-ethyl}-benzolsulfonamid erhalten werden. Es läßt sich somit feststellen, daß

im Vergleich zum sekundären Sulfonamid mit dem primären Sulfonamid keine bzw. sehr geringe radiochemische Ausbeuten an trägerarmen Produkten erzielt werden.

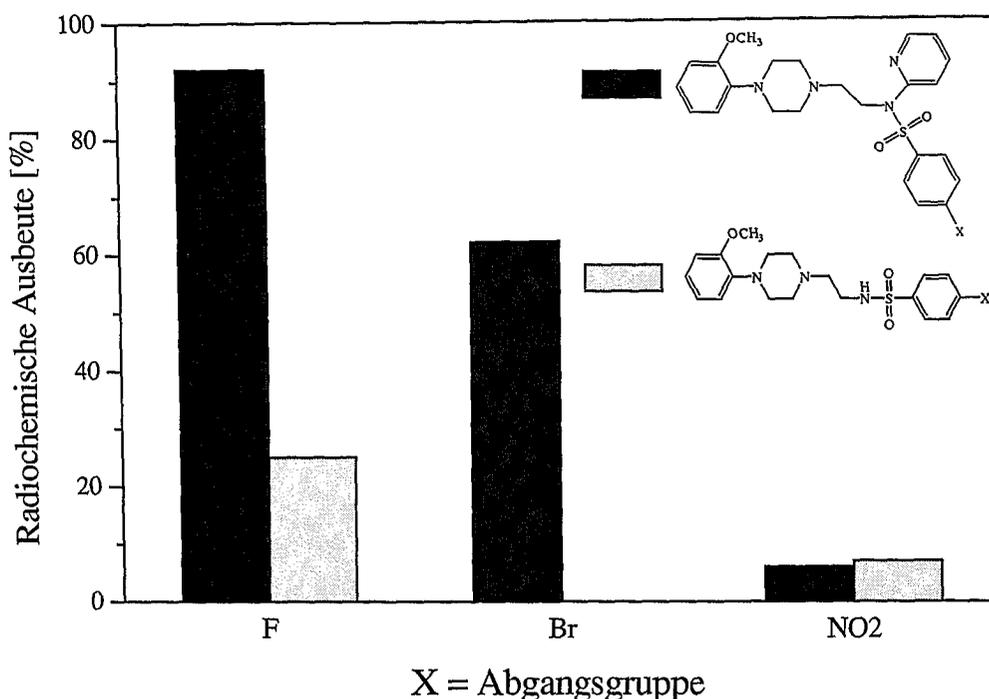


Abb. 3.10: Vergleich der RCA aromatischer para-[¹⁸F]Fluorbenzolsulfonamid WAY-Derivate in Abhängigkeit von der aktivierenden Gruppe
 [Edukt] = 80 mmol/l, [2.2.2.] = 50 mmol/l, K₂CO₃ = 25 mmol/l, 0,5 ml DMSO, 20 min, n.c.a. [¹⁸F]Fluorid

Aufgrund der beobachteten geringen radiochemischen Ausbeuten ist eine Darstellung primärer 4-[¹⁸F]Fluorbenzolsulfonamide in hohen spezifischen Aktivitäten praktisch unmöglich und rechtfertigt auch den in Schema 3.8 zur Darstellung von 4-[¹⁸F]Fluorbenzolsulfonylchlorid skizzierten Syntheseaufwand.

Offensichtlich spielt der saure Charakter der Amidgruppe beim monosubstituierten Sulfonamid eine wesentliche Rolle für die Ausbeuterniedrigung. Es ist davon auszugehen, daß die Basizität des Stickstoffatoms durch den Elektronenzug der SO₂-Gruppe vermindert wird, so daß das Proton mit seinem aciden Charakter die nukleophile aromatische Fluorierung stört; möglicherweise unter Bildung von [¹⁸F]HF.

3.2.6 Abhängigkeit der radiochemischen Ausbeuten an 4- ^{18}F Fluor-N-{2-[4-(2-methoxyphenyl)-piperazin-1-yl]-ethyl}-N-pyridin-2-yl-benzolsulfonamid (^{18}F FMPBS) in Abhängigkeit von der Eduktkonzentration

Der Einfluß der Eduktkonzentration auf die ^{18}F -für-Br Substitution an 4-Brom-N-{2-[4-(2-methoxyphenyl)-piperazin-1-yl]-ethyl}-N-pyridin-2-yl-benzolsulfonamid wurden im Bereich zwischen 10 und 60 mmol/l untersucht. Die Reaktion wurde wiederum in DMSO bei 160°C mit Hilfe des Phasentransferkatalysators durchgeführt. Der Reaktionsabbruch erfolgte jeweils nach 15 Minuten durch eine Quenchlösung aus Acetonitril/Wasser.

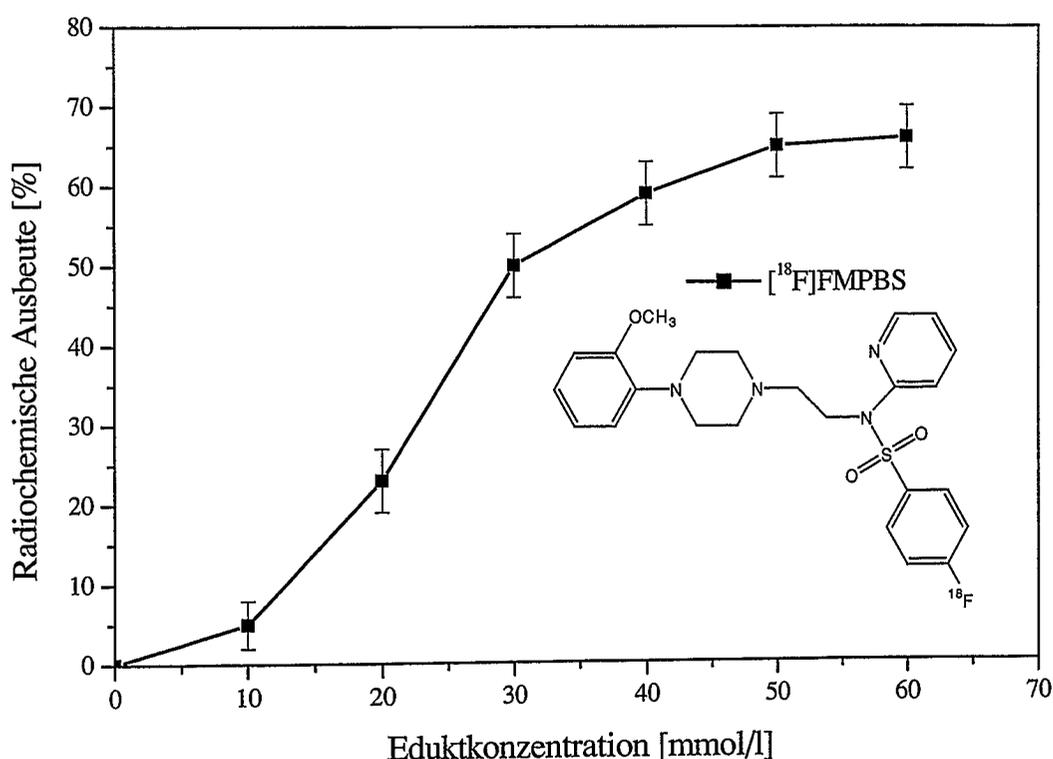


Abb. 3.11: Abhängigkeit der radiochemischen Ausbeute an 4- ^{18}F Fluor-N-{2-[4-(2-methoxyphenyl)-piperazin-1-yl]-ethyl}-N-pyridin-2-yl-benzolsulfonamid (^{18}F FMPBS) von der Eduktkonzentration
[2.2.2.] = 50 mmol/l, K_2CO_3 = 25 mmol/l, 0,5 ml DMSO, 15 min, 160°C, n.c.a.
 ^{18}F Fluorid

Abbildung 3.11 zeigt die Abhängigkeit der RCA an 4- ^{18}F Fluor-N-{2-[4-(2-methoxyphenyl)-piperazin-1-yl]-ethyl}-N-pyridin-2-yl-benzolsulfonamid (^{18}F FMPBS) von der Eduktkonzentration. Hierbei ist bei ca 50 mmol/l ein Übergang in eine Sättigung zu erkennen. Bei Einsatz von 60 mmol/l wird eine RCA von ca. 67 % erreicht. Die Minimierung der eingesetzten Edukt-Konzentration ist vor allem auch im Hinblick auf eine

chromatographische Abtrennung vom ^{18}F -fluorierten Produkt von Interesse, um eine hohe chemische Reinheit zu gewährleisten.

3.2.7 Aktivitätsbilanz der präparativen Darstellung von $[^{18}\text{F}]\text{FMPBS}$

Die präparative Darstellung von n.c.a. 4- $[^{18}\text{F}]$ Fluor-N-{2-[4-(2-methoxyphenyl)-piperazin-1-yl]-ethyl}-N-pyridin-2-yl-benzolsulfonamid ($[^{18}\text{F}]\text{FMPBS}$) ist ausgehend vom entsprechenden Bromvorläufer mit n.c.a. $[^{18}\text{F}]$ Fluorid unter den optimierten Reaktionsbedingungen: DMSO als Lösungsmittel, Reaktionstemperatur von 160°C , Verwendung des Kryptat-Systems $[\text{K} \subset 2.2.2.]_2\text{CO}_3$ und einer Reaktionszeit von 15 min im Fließschema 3.12 anhand der zerfallskorrigierten Aktivitätsbilanz dargestellt.

Syntheseschritt	Zeit [min]	Radiochemische Ausbeute		
		[%]	[MBq]	(mCi)
EOB ($^{18}\text{F}_{\text{aq}}^-$) $[\text{K} \subset 2.2.2.]_2\text{CO}_3$	0	100	1850 MBq	(50 mCi)
↓ BrMPBS				
Darstellung von $[^{18}\text{F}]\text{FMPBS}$ in DMSO	15	68	1258 MBq	(34 mCi)
↓ Abtrennung von Fluorid über eine RP18 Kartusche				
Aufgabe des Reaktionsgemische auf HPLC	25	52	962 MBq	(26 mCi)
↓ Präparative Abtrennung vom Edukt Kartuschenfixierung	60	35	648 MBq	(17,5 mCi)
↓				
Produktisolierung	70	15	278 MBq	(7,5 mCi)

Abb. 3.12: Fließschema zur Darstellung von n.c.a. $[^{18}\text{F}]\text{FMPBS}$

Nach Beendigung der Reaktion wurde das Reaktionsgefäß abgekühlt und die gesamte Reaktionslösung in 10 ml Wasser aufgenommen. Die Fixierung der organischen Reaktionskomponenten auf festen Phasen, vorzugsweise Reversed-Phase Materialien, ist eine häufig angewendete Methode zur Isolierung und Reinigung kleiner Stoffmengen in der

Radiochemie. Dabei können unpolare Substanzen, wie z.B. das 4-[¹⁸F]Fluor-N-{2-[4-(2-methoxyphenyl)-piperazin-1-yl]-ethyl}-N-pyridin-2-yl-benzolsulfonamid sowie das eingesetzte Edukt, auf C-18 alkylierten Kieselgelphasen, z.B. Sep-PakTMC18 Kartuschen, fixiert werden. So wurde mittels der in Abb. 3.12 angegebenen ersten Festphasenfixierung auf einer Sep-Pack Kartusche das n.c.a. [¹⁸F]Fluorid sowie das Lösungsmittel vom eingesetzten Edukt und dem Aktivprodukt getrennt. Durch die nachfolgende HPLC-Reinigung konnte das Aktivprodukt mit hoher radiochemischer Reinheit und hoher spezifischer Aktivität abgetrennt werden. Nach der Abtrennung des Laufmittels durch eine weitere Festphasenfixierung erfolgte die Elution und Sterilfiltration des n.c.a. [¹⁸F]FMPBS mit Ethanol von der Sep-Pack Kartusche. Die Lösung wurde anschließend mit isotonischer Kochsalz-Lösung auf die benötigte Volumenaktivität verdünnt.

Für applikationsfähige Lösungen müssen folgende Punkte beachtet werden:

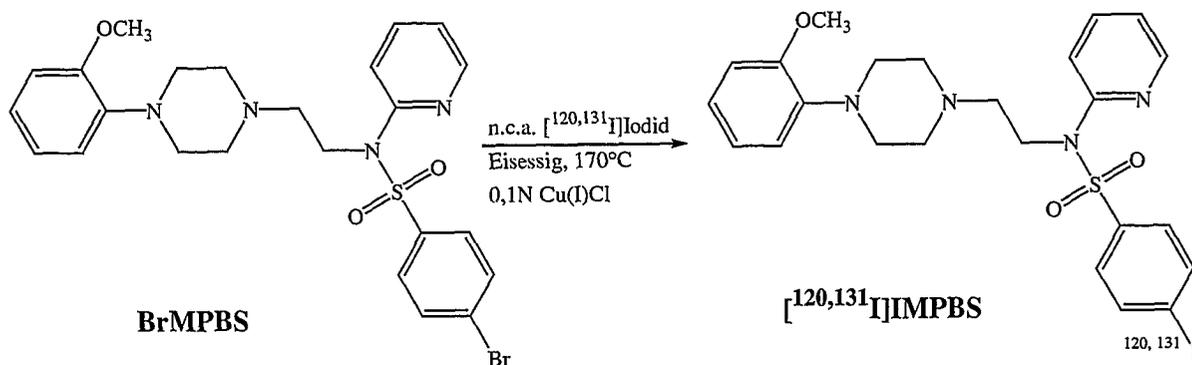
- radiochemische und chemische Reinheit
- ausreichende Sterilität und Pyrogenfreiheit
- Systeme müssen isotonisch zum Blutplasma sein
- Volumenanteil von Ethanol sollte 5 % nicht überschreiten
- hohe Volumenaktivität.

3.2.8 Radioiodierung von 4-Brom-N-{2-[4-(2-methoxyphenyl)-piperazin-1-yl]-ethyl}-N-pyridin-2-yl-benzolsulfonamid mit Hilfe der Cu(I)-assistierten nukleophilen aromatischen Substitution

Die Entwicklung von radioiodierten spezifischen Antagonisten für das 5-HT_{1A} Rezeptor-subsystem sind aufgrund ihrer Anwendbarkeit bei SPECT ebenfalls von Interesse für in vivo pharmakologische Untersuchungen [182, 164]. Durch die Substitution von Iod am Aromaten des Rezeptorliganden wird die Lipophilie im Vergleich zum Fluor gesteigert, was zu einem oft günstigeren Einfluß auf den Transfer über die Blut-Hirn Schranke führt [183, 184].

Im Rahmen der Arbeit sollten daher neben ¹⁸F-Fluorierungen ebenfalls radioiodierte potentielle Rezeptorliganden für das serotonerge 5-HT_{1A} System entwickelt werden. Die Cu(I)-assistierte Radioiodierung an Bromvorläufern findet weitläufige Anwendung bei der Darstellung von Radioiodpharmaka [185, 186 und 187]. Da entsprechende Vorläufer im Rahmen der Arbeit bereits für die ¹⁸F-Markierung Einsatz fanden, bot sich diese Markierungsmethode an. Nachteile hierbei sind jedoch die drastischeren

Reaktionsbedingungen, wie hohe Temperaturen unter reduzierender Umgebung. Aufgrund der chemischen und chromatografischen Ähnlichkeiten zwischen dem Radioiodprodukt und dem bromierten Edukt, gestaltete sich die HPLC-Abtrennung problematisch.



Schema 3.12: Radiosynthese von 4- $[^{120,131}I]$ Iod-N-{2-[4-(2-methoxyphenyl)-piperazin-1-yl]-ethyl}-N-pyridin-2-yl-benzolsulfonamid (IMPBS)

Allgemein wird dabei eine mehr oder weniger starke Überlagerung der Elutionsprofile der Standardverbindungen mit dem Aktivprodukt beobachtet.

Das verwendete Vorläufermolekül 4-Brom-N-{2-[4-(2-methoxyphenyl)-piperazin-1-yl]-ethyl}-N-pyridin-2-yl-benzolsulfonamid (BrMPBS) sollte unter den Reaktionsbedingungen der Cu(I)-assistierten Radioiodierung stabil sein.

Für dieses Markierungsverfahren stehen mehrere Lösungsmittel (wie z.B. DMSO, H₂O/AcOH, CHCl₃/CH₃CN, AcOH) zur Auswahl, welche unter den jeweiligen Synthesebedingungen recht gute radiochemische Ausbeuten liefern [188, 189 und 190]. Für die Markierung von BrMPBS mit Cu(I)Cl wurde zunächst Eisessig als Lösungsmittel eingesetzt (s. Schema 3.12). Als Radioiodid wurde das Iodisotop ¹³¹I als β⁻-Strahler mit einer Halbwertszeit von 8,02 Tagen, sowie auch [¹²⁰I]Iodid als Positronen-emittierender Strahler mit einer Halbwertszeit von 81 Minuten verwendet. Letzteres wurde zur präparativen Darstellung von [¹²⁰I]IMPBS verwendet, um die Möglichkeit der Nutzung des Rezeptorliganden für PET-Untersuchungen darlegen zu können.

Als wichtiger Parameter wurde der Einfluß der Konzentration an 4-Brom-N-{2-[4-(2-methoxyphenyl)-piperazin-1-yl]-ethyl}-N-pyridin-2-yl-benzolsulfonamid auf die Cu(I)-assistierte Radioiodierung im Bereich zwischen 2 und 30 mmol/l genauer untersucht. Die Reaktion wurde in 0,5 ml Eisessig unter Zusatz von 50 µl einer 1N-Lösung Kupfer(I)chlorid in Eisessig bei 170°C durchgeführt. Der Reaktionsabbruch erfolgte jeweils nach 40 Minuten durch Verdünnen entnommener Proben in einer Quenchlösung von 2N NaOH.

Bei den in Abbildung 3.12 wiedergegebenen Meßwerten der RCA an [^{131}I]IMPBS von der Eduktkonzentration ist bereits bei ca 6 mmol/l ein Übergang in eine Sättigung zu erkennen. Unter Einsatz von 10 mmol/l Eduktkonzentration wird eine maximale RCA von ca. 90 % erreicht. Die Minimierung der Stoffmenge an Edukt ist aufgrund der oben genannten chromatographischen Probleme von Interesse, um eine Verunreinigung des Produktes mit Bromvorläufer zu verhindern. Unter Verwendung von Methanol-Wasser-Gemischen (65 % / 35 % (v/v)) konnte nur noch eine geringfügige Überschneidung der UV-Signalflächen beobachtet werden.

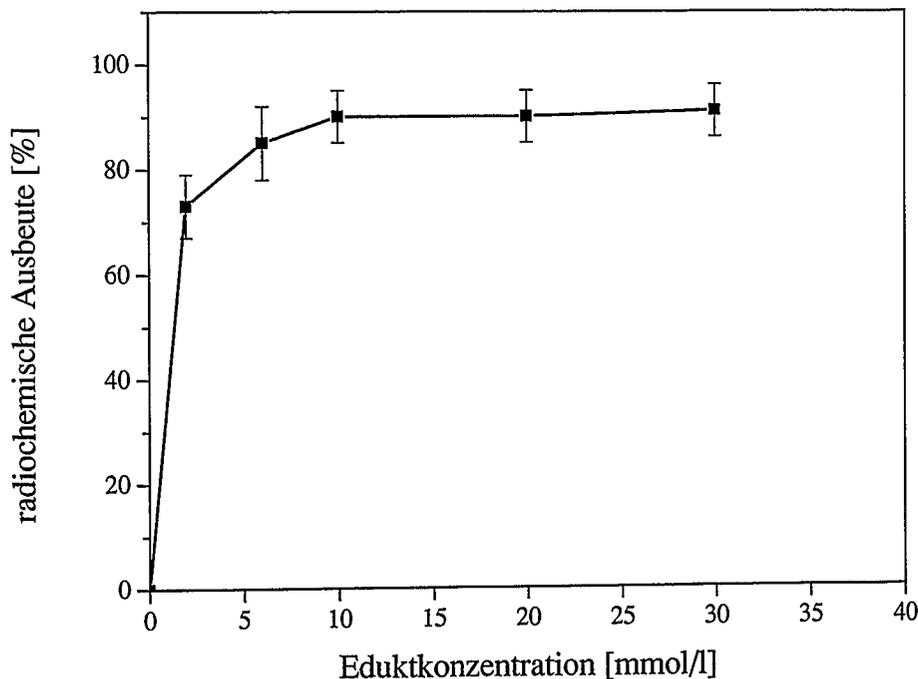
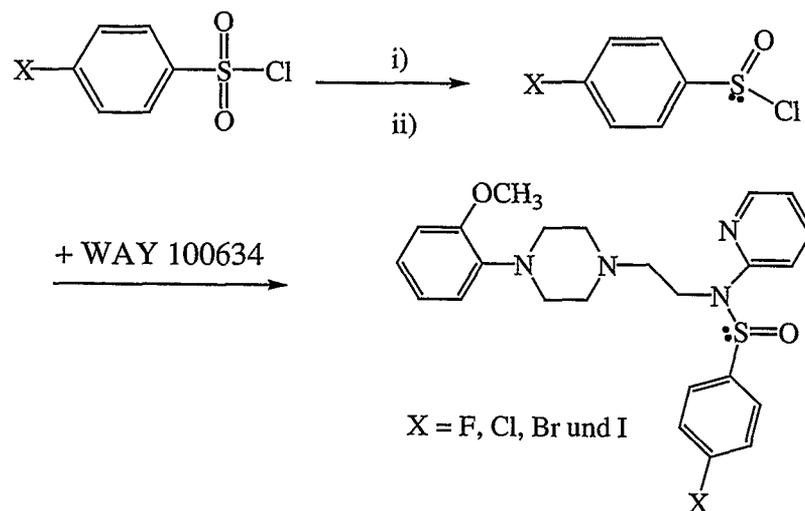


Abb. 3.13: Abhängigkeit der radiochemischen Ausbeute der Cu(I)-assistenten Radioiodierung an 4- ^{131}I Iod-N-{2-[4-(2-methoxyphenyl)-piperazin-1-yl]-ethyl}-N-pyridin-2-yl-benzosulfonamid (^{131}I IMPBS) von der Eduktkonzentration
Cu(I)Cl = 50 μl 1N in AcOH, 0,5 ml AcOH, 40 min bei 170°C

Die präparative Synthese von IMPBS erfolgte unter Verwendung von [^{120}I]Iodid-Lösung. Hierbei konnten unter Einsatz von 74 MBq [^{120}I]Iodid-Lösung nach einer 40-minütigen Reaktionszeit und anschließender HPLC-Reinigung (30 Minuten) mit Festphasenfixierung (10 Minuten) ca. 20,4 MBq [^{120}I]IMPBS in einer Gesamtzeit von 80 Minuten erhalten werden.

3.3 Herstellung von ^{18}F - und ^{131}I -markierten Sulfinamid-Derivaten des WAY 100635

Als weitere neue Radioliganden für das serotonerge $5\text{HT}_{1\text{A}}$ System wurden alternativ zu den Benzolsulfonamiden para-substituierte Benzolsulfinsäureamid-Derivate des WAY 100635 synthetisiert. Neben der in vivo Stabilisierung der Struktur über den Ersatz der Amidfunktion durch eine Sulfonamidfunktion sollte ebenfalls das Potential der Sulfinamidgruppe als aktivierende Gruppe für die nukleophile aromatische Substitution mit n.c.a. [^{18}F]Fluorid untersucht werden. Aufgrund struktureller Ähnlichkeiten zur Amid- bzw. Sulfonamid-Gruppe sollte ebenfalls die Möglichkeit der Aktivierung durch Elektronenzug am Aromaten gegeben sein, um eine nukleophile aromatische Substitution durchführen zu können [191]. Des weiteren sollte das dem IMPBS analoge radioiodierte Derivat der Sulfinverbindung über eine Demetallierung oder Cu(I)-assistierte Radioiodierung dargestellt werden.



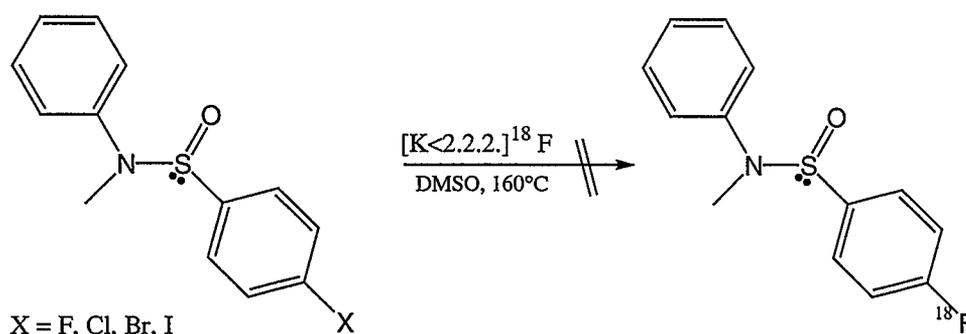
Schema 3.13: Synthese (R,S) para-substituierter N-2-[4-(2-Methoxyphenyl)-piperazin-1-yl]-ethyl}-pyridin-2-yl-benzolsulfinamide

i) Na_2SO_3 in H_2O , ii) Oxalylchlorid in CH_2Cl_2

Die Darstellung der Sulfinsäuren erfolgte, wie in Schema 3.13 gezeigt, über die Reduktion der entsprechenden para-substituierten Benzolsulfonylchloride mit Hilfe von Natriumsulfit im wässrigen Medium. Aus der Sulfinsäure, welche als Enantiomenpaar vorliegt, erhält man durch Umsetzung mit Thionyl- bzw. Oxalylchlorid in Dichlormethan die entsprechenden Sulfinylchloride. Diese wurden dann mit dem Amin WAY 100634, wie bereits bei den Sulfonsäureamid-Derivaten beschrieben, umgesetzt [192, 193].

3.3.1 Abhängigkeit der radiochemischen Ausbeute der Radiofluorierung (R,S) para-substituierter N-methyl-phenyl-benzolsulfinamide von der nukleofugen Gruppe

Ausgehend von den hergestellten Sulfinylchloriden wurden zuerst wiederum para-substituierte N-methyl-N-phenyl-benzolsulfinamide als Modellverbindungen synthetisiert und zur Optimierung der Reaktionsparameter für die Markierungen der entsprechenden WAY-Derivate ^{18}F -markiert. Da grössere strukturelle Ähnlichkeiten zur Substanzklasse der Sulfonamide bestehen, wurden zunächst die oben erarbeiteten Reaktionsparameter (s. Abs. 3.2.1.7) für die ^{18}F -Fluorierung übernommen.



Schema 3.14: Radiofluorierung der para-substituierten Sulfinamid-Modellverbindung

[Edukt] = 80 mmol/l, [2.2.2.] = 50 mmol/l, K_2CO_3 = 25 mmol/l, 0,5 ml DMSO, 15 min, 160°C, n.c.a. [^{18}F]Fluorid

Hierbei konnte jedoch für keine der eingesetzten Modellverbindungen reproduzierbare radiochemische Ausbeuten des entsprechenden (R,S) 4- ^{18}F Fluor-N-methyl-N-phenyl-benzolsulfinamids erhalten werden. Lediglich unter Verwendung des Brom-Vorläufers konnte eine radiochemische Ausbeute von max. 3 % erhalten werden, welche aber nicht oder nur schlecht reproduzierbar war. Bei den Untersuchungen der übrigen Halogen-Abgangsgruppen am Aromaten (Fluor, Chlor und Iod) wurden unter gleichen Reaktionsbedingungen keine radiochemischen Ausbeuten erhalten. Die alternativ eingesetzten Lösungsmittel DMF sowie DMAA, welche ebenfalls sehr gute bis gute radiochemische Ausbeuten im Fall der Sulfonamid-Modellverbindungen lieferten, ließen bei der Reaktion mit den entsprechenden Sulfinamid-Modellverbindungen ebenfalls keine radioaktiv markierten Produkte zu.

Es konnte eine Instabilität des Eduktes insbesondere bei höherer Reaktionstemperatur beobachtet werden, wobei eine Spaltung der Sulfinamidbindung auftrat. Um den Einfluß der Reaktionstemperatur auf die Bildung von (R,S) 4- ^{18}F Fluor-N-methyl-N-phenyl-benzolsulfinamid über die nukleophile aromatische ^{18}F -Fluorierung in DMSO untersuchen zu

können, wurde diese von 160°C auf 140°C und dann auf 120°C verringert. Hierbei sollte eine möglicherweise auftretende Zersetzung des Eduktes verzögert bzw. verhindert werden. Es konnten aber auch für niedrigere Reaktionstemperaturen keine radiomarkierten Aktivprodukte über die [¹⁸F]Fluor-für-Halogen Substitution erhalten werden. Möglicherweise kommt es durch das freie Elektronenpaar am Schwefelatom zu einer auftretenden Delokalisierung des π -Systems am para-substituierten Aromaten, so daß keine genügende Aktivierung für die nukleophile aromatische Substitution stattfindet.

3.3.2 Abhängigkeit der radiochemischen Ausbeute der Radiofluorierung para-substituierter Benzolsulfinamid-Derivate des WAY 100635 von den Reaktionsbedingungen bei der S_N2-Reaktion

Der Syntheseweg der para-substituierten Benzolsulfinamid-Derivate des WAY 100635 ist in Schema 3.16 skizziert. Für systematische Untersuchungen der WAY-Derivate mit [¹⁸F]Fluorid wurden die Halogene F, Cl, Br und I als nukleofuge Gruppen untersucht.

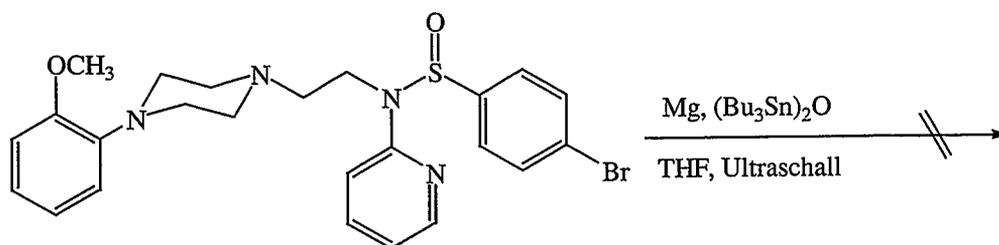
Unter gleichen Reaktionsbedingungen, wie oben beschrieben, konnte bei Verwendung der para-substituierten Sulfinamid-Derivate eine Temperaturinstabilität des Eduktes festgestellt werden. Die vollständige Zersetzung des Eduktes trat bei 160°C innerhalb von 5 Minuten auf. Auch bei Absenkung der Reaktionstemperatur auf 140°C konnte nach 10 Minuten Reaktionszeit kein Edukt in der Reaktionslösung wiedergefunden werden. Bei weiterer Absenkung der Reaktionstemperatur auf 100°C beobachtet man eine Verzögerung des Zersetzungsprozesses um bis zu 20-25 Minuten. Die Analyse der Zersetzungsprodukte erfolgte über die Abnahme der UV-Signalfläche des Eduktes bei gleichzeitiger Zunahme der Peakfläche des WAY 100364 UV-Signals, welches bei der Sulfinamidspaltung wiederzufinden ist.

Ein Einbau von Fluor-18 zu einem Aktivprodukt konnte durch Variation der Reaktionstemperaturen nicht erzielt werden. Es kam weder zu einer Disproportionierung oder Oxidation des Eduktes, welches das entsprechende Sulfonamid als Produkt zur Folge hätte und somit auch nicht zu dessen Weiterreaktion (z.B. [¹⁸F]Fluor-für-Halogen Substitution).

Die thermische Instabilität der Sulfinamidverbindungen zeigt, daß sie für die bislang durchgeführte Methode zur nukleophilen aromatischen Substitution mit n.c.a. [¹⁸F]Fluorid nicht geeignet sind. Die ¹⁸F-Fluorierung von Arylsulfinamidderivaten des WAY 100635 wurde deshalb aufgegeben.

3.3.3 Synthese radioiodierter Sulfinamid-Derivate von WAY 100635

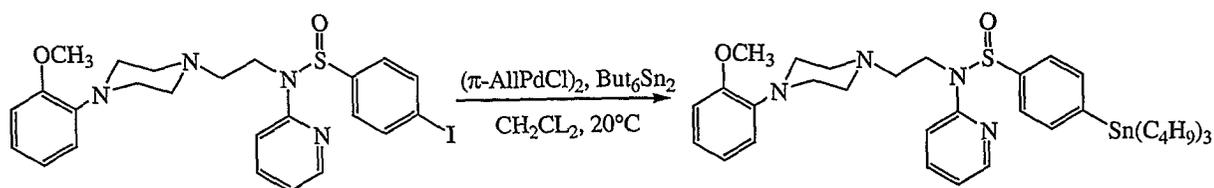
Neben den nukleophilen aromatischen Substitutionsversuchen mit [^{18}F]Fluorid an den Sulfinamidderivaten wurde ebenfalls eine Radioiodierung mit [^{131}I]Iodid über einen Cu(I)-assistierten Radioiod-für-Brom Austausch zum (R,S) [$^{123,131}\text{I}$]Iod-N-{2-[4-(2-methoxyphenyl)-piperazin-1-yl]-ethyl}-N-pyridin-2-yl-benzolsulfinamid versucht. Aufgrund der im vorherigen Kapitel geschilderten Temperaturinstabilität des Vorläufermoleküls konnte unter den hier gewählten Reaktionsbedingungen (AcOH, 170°C, 40 Minuten) entsprechend kein Aktivprodukt beobachtet werden. Aus diesem Grund musste ein zur Radioiodierung geeignetes Vorläufermolekül synthetisiert werden, das für eine Destannylierung unter mildereren Reaktionsbedingungen geeignet ist. Dazu bot sich die Einführung einer Tributylstannyl-Abgangsgruppe in para-Position an. Die Synthese des Vorläufers wurde ausgehend vom entsprechenden (R,S) 4-Brom-N-{2-[4-(2-methoxyphenyl)-piperazin-1-yl]-ethyl}-N-pyridin-2-yl-benzolsulfinamid über eine Grignardreaktion versucht. Hierbei wurde der entsprechende Bromvorläufer vorgelegt und versucht, ihn in Gegenwart von Magnesium durch Umsetzung mit Bis(tributylzinn)oxid in THF im Ultraschallbad umzusetzen (siehe Schema 3.15) [194].



Schema 3.15: Syntheseversuch zur Darstellung des Radioiodierungsvorläufers

Es konnte kein 4-Tributylzinn-N-{2-[4-(2-methoxyphenyl)-piperazin-1-yl]-ethyl}-pyridin-2-yl-benzosulfinamid erhalten werden. Aufgrund dieser Ergebnisse musste die Syntheseplanung umgestellt werden. Die Synthese von organischen Zinnverbindungen gelingt mit Hilfe von Palladiumkatalysatoren aber meist in hoch siedenden Lösungsmitteln. Ausgehend von dem (R,S) 4-Iod-N-{2-[4-(2-methoxyphenyl)-piperazin-1-yl]-ethyl}-pyridin-2-yl-benzosulfinamid ist jedoch mit Hilfe von π -Allylpalladiumchlorid die Umsetzung mit Hexabutyldizinn in Dichlormethan zum 4-Tributylzinn-benzosulfinsäure-{2-[4-(2-methoxyphenyl)-piperazin-1-yl]-ethyl}-pyridin-2-yl-amid bei Raumtemperatur gelungen [195].

Nach der chromatographischen Reinigung konnte dieser Vorläufer für die Radioiod-Destannylierungsreaktionen bei Raumtemperatur umgesetzt werden.



Schema 3.16: Synthese von 4-Tributylzinn-N-{2-[4-(2-methoxyphenyl)-piperazin-1-yl]-ethyl}-pyridin-2-yl-benzolsulfonamid

3.3.4 Einfluß der Reaktionszeit auf die radiochemische Ausbeute des [¹³¹I]Iodsulfonamid-Derivates von WAY 100635

Für die Abhängigkeit der radiochemischen Ausbeute des n.c.a. (R,S) 4-[¹³¹I]Iod-N-{2-[4-(2-methoxyphenyl)-piperazin-1-yl]-ethyl}-pyridin-2-yl-benzolsulfonamid von der Reaktionszeit wurden Methanol/Eisessig-Gemische als Lösungsmittel bei Raumtemperatur verwendet. Als Oxidationsmittel für die elektrophilen Radiomarkierung mit [¹³¹I]Iodid wurde das N-chlorierte Sulfonsäureamid Chloramin-T (CAT) verwendet. Für das Oxidationsmittel CAT wurde eine nicht weiter optimierte Konzentration von 6,6 mmol/l [196] verwendet. Die erhaltenen Ergebnisse sind in Abbildung 3.14 dargestellt.

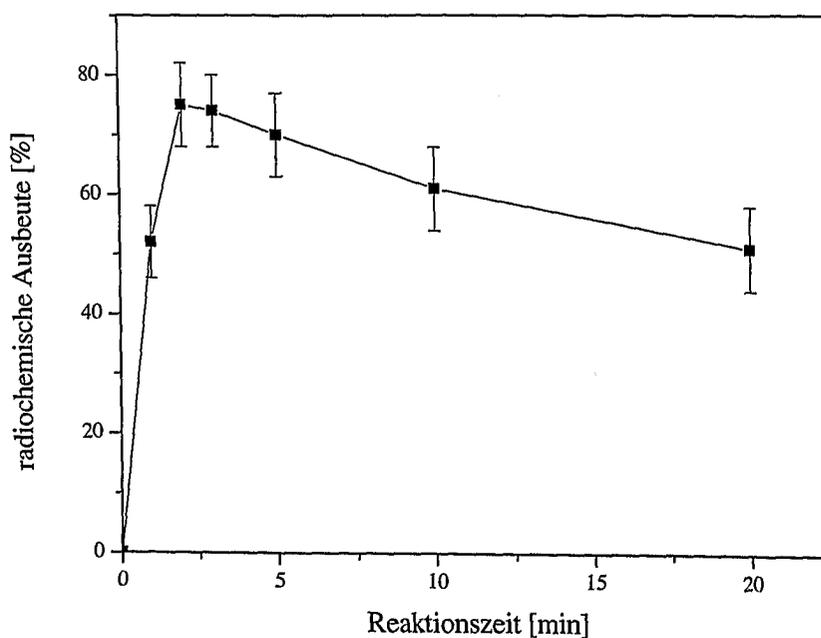


Abb. 3.14: Abhängigkeit der radiochemischen Ausbeute des [¹³¹I]Iodsulfonamidderivates von WAY 100635 von der Reaktionszeit
[Edukt] = 230 nmol, 100 µl Lösungsmittel, 2 min, RT, Chloramin-T = 6,6 mmol/l, n.c.a. [¹³¹I]Iodid

Nach bestimmten Reaktionszeiten wurden Proben aus dem Reaktionsgemisch entnommen und direkt auf die HPLC zur Bestimmung der radiochemischen Ausbeute gegeben. Man erkennt zunächst einen steilen Anstieg der radiochemischen Ausbeute bis zu einem Wert von ca. 78 % nach 2 Minuten.

Längere Reaktionszeiten ergeben eine kontinuierliche Abnahme der radiochemischen Ausbeute des gewünschten Produktes. Hierbei kommt es wahrscheinlich zu einer Deiodierung des Aktivproduktes bis zu 54 % nach ca. 20 Minuten. Die oxidativen Reaktionsbedingungen durch den Einsatz von Chloramin-T tragen möglicherweise auch zu dieser auftretenden Zersetzung bei.

3.3.5 Einfluß der Eduktkonzentration auf die radiochemische Ausbeute des [¹³¹I]Iod-sulfinamid-Derivates von WAY 100635

Neben den Vorteilen der einfach durchzuführenden elektrophilen Substitution zeichnet sich die elektrophile Iod-Destannylierung durch eine positionsspezifische Markierung aus. Auch ist die sehr geringe Menge an Edukt, welches zur Radioiodierung benötigt wird, ein besonderer Vorteil. Die eingesetzte Edukt-Stoffmenge an 4-Tributylzinn-N-{2-[4-(2-methoxyphenyl)-piperazin-1-yl]-ethyl}-pyridin-2-yl-benzolsulfonamid wurde im Bereich von 100 bis 300 nmol variiert.

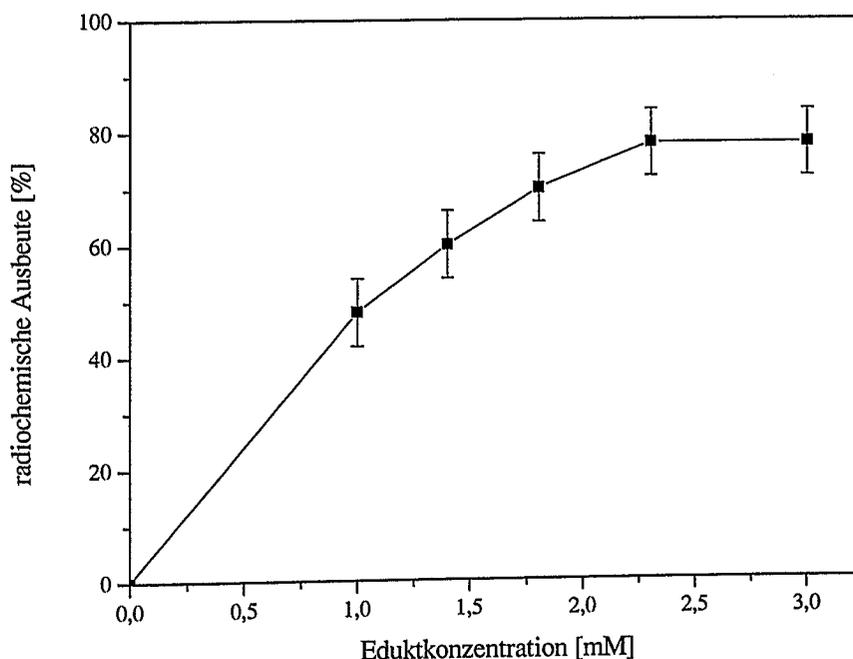


Abb. 3.15: Abhängigkeit der radiochemischen Ausbeute des [¹³¹I]Iodsulfonamid-Derivates von der eingesetzten Eduktkonzentration
100 µl Lösungsmittel, 2 min, RT, [Chloramin-T] = 6,6 mmol/l, n.c.a.
[¹³¹I]Iodid

Wie in Abbildung 3.15 zu erkennen ist, zeigt die Abhängigkeit der RCA von der Eduktstoffmenge den typischen Kurvenverlauf. Man erhält einen kontinuierlichen Anstieg der radiochemischen Ausbeute mit zunehmender Stoffmenge des Eduktes. Zum Erreichen der maximalen radiochemischen Ausbeute von 78 % für das [¹³¹I]Iodsulfinamidderivat des WAY 100635 wird eine Stoffmenge von ca. 250 nmol pro Reaktionsansatz benötigt.

3.3.6 Abhängigkeit der radiochemischen Ausbeute des (R,S) 4-[¹³¹I]Iod-N-{2-[4-(2-methoxyphenyl)-piperazin-1-yl]-ethyl}-pyridin-2-yl-benzolsulfinamids vom Lösungsmittel

N.c.a. Radioiodierungen über Demetallierungsreaktionen sind mit den metallorganischen Verbindungen der IV.Hauptgruppe (Silizium, Germanium und Zinn) in verschiedenen Lösungsmitteln genau untersucht worden. Die höchsten radiochemischen Ausbeuten mit etwa 90 % für aktivierte und deaktivierte aromatische Verbindungen wurden dabei unter Verwendung von Trimethylzinnverbindungen in Essigsäure oder Methanol erzielt. Als weniger gut geeignet haben sich unpolare Lösungsmittel wie Tetrachlormethan erwiesen.

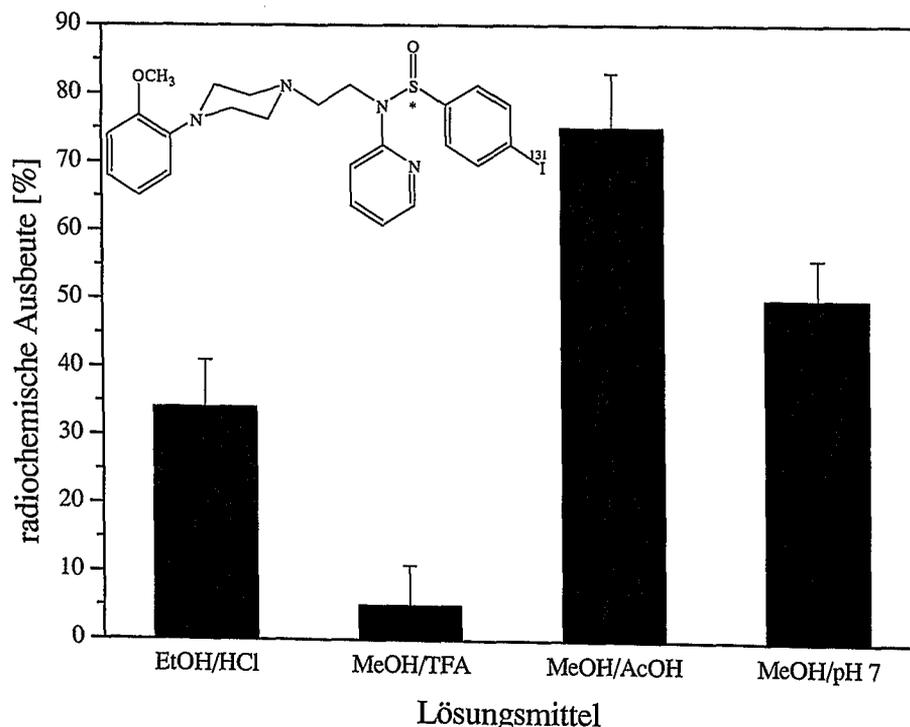


Abb. 3.16: Abhängigkeit der radiochemischen Ausbeute an (R,S) 4-[¹³¹I]Iod-N-{2-[4-(2-methoxyphenyl)-piperazin-1-yl]-ethyl}-pyridin-2-yl-benzosulfonamid vom Lösungsmittel
 [Edukt] = 230 nmol, 100 µl Lösungsmittel, 2 min, RT, [Chloramin-T] = 6,6 mmol/l, n.c.a.[¹³¹I]Iodid

In Abbildung 3.16 ist die über die Destannylierungsreaktion erhaltene radiochemische Ausbeute an (R,S) 4-[¹³¹I]Iod-N-{2-[4-(2-methoxyphenyl)-piperazin-1-yl]-ethyl}-pyridin-2-yl-benzol-sulfinamid in Abhängigkeit vom Lösungsmittel dargestellt.

Hierbei wurden einige der häufig verwendeten Lösungsmittelgemische untersucht. Entnommene Aliquote der Reaktionslösungen wurden direkt auf die HPLC aufgegeben, welche mit einem gepufferten Eluens (MeOH/Wasser, 0,1 N Ammoniumformiat) getrennt werden.

Die Volumenverhältnisse für die eingesetzten Lösungsmittelgemische von jeweils 100 µl Ethanol/HCl, Methanol/Trifluormethansulfonsäure (TFA) sowie Methanol/Eisessig betragen 99/1 (v/v) und für Methanol/Pufferlösung pH7 80/20 (v/v).

Bei dem Vergleich der untersuchten Lösungsmittel zur Darstellung von n.c.a. (R,S) 4-[¹³¹I]Iod-N-{2-[4-(2-methoxyphenyl)-piperazin-1-yl]-ethyl}-pyridin-2-yl-benzolsulfinamid über die Demetallierungsreaktion erwies sich das Methanol/Eisessig-Gemisch am besten geeignet. Hierbei konnten nach einer Reaktionszeit von 2 Minuten maximale radiochemische Ausbeuten von bis zu 78 % erhalten werden. Unter Verwendung von Methanol/Pufferlösung pH7 als Lösungsmittel wurden noch recht gute radiochemische Ausbeuten von bis zu 50 ± 6 % erzielt. Eine deutlich geringere RCA lieferten die Lösungsmittelgemische Ethanol/HCl sowie Methanol/ TFAA mit Werten von 34 ± 6 % bzw. 6 ± 3 %. Der Abbruch der Reaktion erfolgte bei allen Reaktionen nach 2 Minuten. Die Reaktionskinetik wurde nur für das Methanol/Eisessig-Gemisch aufgenommen. Die Reaktionskinetik in den anderen Lösungsmittel-Gemischen könnte abweichend verlaufen, so daß die maximale radiochemische Ausbeute nicht erhalten wurde. Außerdem muß die Instabilität des Eduktes unter Verwendung der stärkeren Säuren (HCl, TFA) in Betracht gezogen werden. Aus diesem Grund wurde im nachfolgenden Abschnitt die Abhängigkeit der Demetallierungsreaktion vom pH-Wert untersucht.

3.3.7 Abhängigkeit der radiochemischen Ausbeute an (R,S) 4-[¹³¹I]Iod-N-{2-[4-(2-methoxyphenyl)-piperazin-1-yl]-ethyl}-pyridin-2-yl-benzolsulfinamid vom pH-Wert

Aufgrund der im vorherigen Abschnitt gefundenen Ergebnisse der radiochemischen Ausbeute in Abhängigkeit vom Lösungsmittel wurde der Einfluß des pH-Wertes auf die Demetallierungsreaktion im Lösungsmittelgemisch Methanol/Puffer 80/20 (v/v) untersucht.

Die erhaltenen radiochemischen Ausbeuten sind in Tabelle 3.2 zusammengestellt. Zum Einstellen der Pufferlösungen wurden Titrisollösungen verwendet.

Tab. 3.2 pH-Abhängigkeit der Radioiodierung von 4-Tributylzinn-N-{2-[4-(2-methoxyphenyl)-piperazin-1-yl]-ethyl}-pyridin-2-yl-benzolsulfinamid

pH-Wert der Methanol/Puffer-Gemische	RCA [%]
2	47 ± 7
3	50 ± 6
4	53 ± 7
5	50 ± 6
6	48 ± 6
7	50 ± 6

Reaktionsbedingungen: [Edukt] = 250 nmol, 100 µl Lösungsmittel, 2 min, RT, 10 µl einer 6,6 mmol/l Chloramin-T Lösung, n.c.a.[¹³¹I]Iodid

Aus den Ergebnissen in Tabelle 3.2 ist zu erkennen, daß die radiochemischen Ausbeuten für alle eingesetzten Puffersysteme bei ca. 50 % liegen. Daraus läßt sich für diese Demetallierungsreaktion auf eine völlige Unabhängigkeit vom pH-Wert schließen, welche aus Abschnitt 3.3.6 nicht zu erkennen war. Die Stoffmenge an eingesetzten Chloramin-T wurde bei allen Umsetzungen nicht variiert.

Zusammenfassend kann gesagt werden, daß sich die Sulfinamid-Derivate des WAY 100635 nicht für eine Radiomarkierung mit n.c.a. [¹⁸F]Fluorid eignen. Bei den für aromatisch, nukleophile ¹⁸F-Substitutionen benötigten drastischen Reaktionsbedingungen haben sie sich als besonders thermisch instabil erwiesen.

Im Gegensatz dazu können Demetallierungsreaktionen zur Darstellung von radioiodierten Sulfinamid-Derivaten des WAY 100635 genutzt werden, da hierzu nur milde Reaktionsbedingungen erforderlich sind. Allerdings ist in diesem Fall eine aufwendigere Synthese des metallorganischen Zinnvorläufers erforderlich.

3.4 Radiopharmakologische Untersuchungen der ¹⁸F- und ¹³¹I-markierten Sulfon bzw. Sulfinamid-Derivate des WAY 100635

Die bildlichen Darstellungsmöglichkeiten von Rezeptorarealen in vivo durch nichtinvasive Untersuchungen zählt mit zu den wichtigen Zielen in der Radiopharmaka-Entwicklung für die PET bzw. SPET Technik. Voraussetzungen hierfür ist die Entwicklung von Radioliganden hoher Affinität und Subtyp-Selektivität für Rezeptoren. Des Weiteren sollten Rezeptorliganden chemisch sehr stabil sein, so daß es während des Transportes zum Gewebe des Interesses nicht zu metabolischen Veränderungen kommt. Für den Einsatz eines Liganden als rezeptor-spezifisches Radiopharmakon müssen neben seiner Markierung mit hoher spezifischer Aktivität eine Reihe von pharmakologischen Kriterien erfüllt sein. Hierbei sind vor allem ein geeigneter Lipophiliewert sowie hohe Rezeptoraffinitäten (K_D - bzw. K_i -Werte im nM Bereich) zu nennen. Für die Ermittlung dieser Parameter stehen in vivo und in vitro Verfahren zur Verfügung.

3.4.1 Bestimmung der Lipophilie der radioaktiv markierten Sulfon- bzw. Sulfinamid-Derivate des WAY 100635

Die Blut-Hirn-Schranke (BHS) verhindert aufgrund der besonderen Morphologie der Endothelzellen weitgehend den unspezifischen Durchtritt von Substanzen aus dem Blut. Ihr kommt somit eine Schutzfunktion des Gehirns zu. Nur Fremdsubstanzen, welche einen geeigneten Lipophiliewert besitzen, können die Lipid-Doppelschicht der Endothelzellen durch passive Diffusion durchdringen. Die Lipophilie einer Substanz wird am genauesten durch Messung der Oberflächenaktivität bestimmt. Weiter verbreitet ist die Messung von Octanol-Wasser-Verteilungskoeffizienten $\log P$ ($= \log(c_{\text{Octanol}}/c_{\text{Wasser}})$) bei Radiopharmaka, um Struktur-Verteilungs-Beziehungen vorhersagen zu können [183, 197].

Die Bestimmung der Lipophilie radiofluorierter bzw. -iodierter Sulfinamid- bzw. Sulfinamid-Derivate des WAY 100635 und deren Vergleich mit der Stammverbindung kann daher zu ersten Abschätzungen des zu erwartenden BHS-Überganges sowie des in vivo Verhaltens dienen.

Die Bestimmung des Verteilungskoeffizienten der radiomarkierten WAY-Derivate erfolgte durch Messung der Radioaktivität in Proben beider Phasen einer Octanol/Puffer-Verteilung (siehe Kapitel 4).

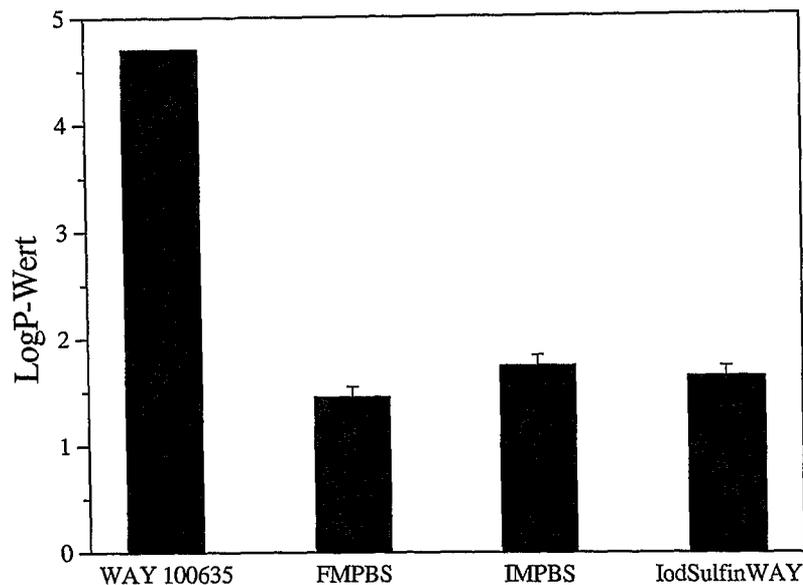


Abb. 3.17: Lipophilie (LogP-Wert) von WAY 100635 und den radiofluorierten bzw. -iodierten Sulfonamid- bzw. Sulfinamid-Derivaten

Der in Abbildung 3.17 angegebene LogP-Wert für die Stammverbindung WAY 100635 wurde aus der Literatur entnommen [167]. Die Lipophilie des 4-[^{18}F]Fluor-N-{2-[4-(2-methoxyphenyl)-piperazin-1-yl]-ethyl}-N-pyridin-2-yl-benzol-sulfonamid (**FMPBS**) ist mit einem LogP-Wert von 1,45 deutlich hydrophiler als die WAY 100635 Verbindung. Für das 4-[^{131}I]Iod-N-{2-[4-(2-methoxyphenyl)-piperazin-1-yl]-ethyl}-N-pyridin-2-yl-benzolsulfonamid (**IMPBS**) konnte ein LogP-Wert von 1,74 gemessen werden. Wie erwartet, kommt es bei der Iodverbindung im Vergleich zur Fluorverbindung zu einer Erhöhung der Lipophilie um 0,29. Für das Iodsulfinderivat (R,S) 4-[^{131}I]Iod-N-{2-[4-(2-methoxyphenyl)-piperazin-1-yl]-ethyl}-N-pyridin-2-yl-benzolsulfinamid liegt der Wert von 1,64 um 0,1 niedriger als die entsprechende Iodsulfonverbindung. Hierbei führt das freie Elektronenpaar am Schwefelatom der Sulfinverbindung zu einer Erniedrigung der Lipophilie und somit zu einer Absenkung des LogP-Wertes, was sich auch deutlich in den R_f bzw. k' -Werten (siehe Tabellen 4.1 und 4.2) widerspiegelt.

Allgemein kann gesagt werden, daß eine 1000fach höhere Anreicherung der Leitverbindung (WAY 100635) im Octanol gegenüber den neu synthetisierten WAY-Derivaten stattfindet. Dieser hohe LogP-Wert für WAY 100635 führt allerdings auch zu einer höheren Leberaufnahme und möglicherweise deswegen auch zu einer schnelleren Metabolisierung des Radiopharmakons.

3.4.2 Metabolitenuntersuchungen und Bestimmung der Bioverteilungen ausgewählter markierter WAY-Derivate an der Maus

Am Tiermodell der Maus wurden das in vivo Verhalten des 4-[¹⁸F]Fluor-N-{2-[4-(2-methoxy-phenyl)-piperazin-1-yl)-ethyl]-N-pyridin-2-yl-benzolsulfonamid bzw. des 4-[¹³¹I]Iod-N-{2-[4-(2-methoxyphenyl)-piperazin-1-yl)-ethyl]-N-pyridin-2-yl-benzolsulfinamid überprüft. Hierbei wurden die Verteilungen der Radiotracer sowie deren in vivo Stabilität im Blut untersucht.

Für die Metabolitenstudien am Blut der Tiere wurden nach 10 bzw. 60 Minuten jeweils die Proteine im Blutplasma gefällt, die Lösungen mit Chloroform versetzt und abzentrifugiert. Mit der Chloroformphase wurden dünnschichtchromatographische Untersuchungen durchgeführt. Hierbei konnte durch Vergleich der R_f-Werte der eingesetzten radioaktiv markierten Verbindung und der auftretenden Metaboliten mit den jeweiligen Referenzverbindungen der Anteil des Metabolismus bestimmt werden. Nach 10 Minuten wurden aus dem Blutplasma ca. 72 % und nach 60 Minuten ca. 38 % der nicht umgesetzten Verbindung wiedergefunden. Anhand der dünnschichtchromatographischen Untersuchungen konnten zwei Metabolite identifiziert werden, bei welchen es sich um Desmethyl-FMPBS sowie die p-[¹⁸F]Fluorbenzolsulfonsäure handelt. Der Anteil an p-[¹⁸F]Fluorbenzolsulfonsäure an der Gesamtmenge der Metaboliten beträgt innerhalb 60 min unter 10 %. Wie in der Einleitung (Kapitel 1.6.2) ausführlich erwähnt, kommt es bei der Verwendung des WAY 100635 nach 60 Minuten im Blutplasma zu einer fast vollständigen Amidspaltung durch Metabolisierung. Somit zeigt sich eindeutig die Stabilisierung der WAY-Verbindung durch die Einführung der Sulfonamidbindung gegenüber der Amidbindung des originären WAY 100635.

Auch für das radioiodierte Sulfinamidderivat erfolgten Metabolitenstudien am Blut, wie oben angegeben. Ein Vergleich der R_f-Werte der eingesetzten radioaktiv markierten Verbindung und der möglicherweise auftretenden Metaboliten mit den jeweiligen Referenzverbindungen zeigte für alle Proben, daß eine Oxidation zum [¹³¹I]IMPBS stattgefunden hat. Die durch eine mögliche Amidspaltung auftretenden Sulfin- bzw. Sulfonsäuren wurden nicht detektiert. Anhand dieser ersten Ergebnisse kann auch von einer Stabilisierung der Sulfinamidbindung gegenüber der Amidbindung des WAY 100635 ausgegangen werden. Diese Stabilisierung der Sulfon- und Sulfinerivate erfolgte wahrscheinlich auch aus sterischen Gründen, wie im Fall des erwähnten FU-MPPI- bzw. der bicyclischen WAY-Derivate (vergl. Kapitel 1.6.2) [166, 167].

Tab. 3.4: Ex vivo Biodistribution von 4-[¹⁸F]Fluor-N-{2-[4-(2-methoxy-phenyl)-piperazin-1-yl]-ethyl}-N-pyridin-2-yl-benzol-sulfonamid in NMRI-Mäusen 10, 30, 60 Minuten p.i. (%iD/g, n = 3)

Organ	10 min	30 min	60 min
Hirn gesamt	7,80 ± 0,20	3,95 ± 0,31	2,83 ± 0,37
Darm gesamt	8,34 ± 0,11	11,72 ± 0,23	13,11 ± 2,37
Fett	3,17 ± 0,42	3,24 ± 0,18	3,76 ± 0,57
Muskel	2,30 ± 0,08	1,94 ± 0,14	1,38 ± 0,14
Leber	14,11 ± 1,13	9,12 ± 1,07	7,06 ± 0,62
Blut	1,84 ± 0,07	1,46 ± 0,18	1,21 ± 0,32
Nieren	6,61 ± 0,17	5,00 ± 0,69	2,97 ± 0,45
Knochen	1,20 ± 0,21	0,95 ± 0,22	0,72 ± 0,08

Zusätzlich zu den Blutuntersuchungen wurden die Körperverteilungen von 4-[¹⁸F]Fluor-N-{2-[4-(2-methoxy-phenyl)-piperazin-1-yl]-ethyl}-N-pyridin-2-yl-benzolsulfonamid und (R,S) 4-[¹³¹I]Iod-N-{2-[4-(2-methoxyphenyl)-piperazin-1-yl]-ethyl}-N-pyridin-2-yl-benzolsulfonamid bestimmt, wobei die erhaltene relative Organverteilung in Prozent der injizierten Dosis pro Gramm (%iD/g) als Mittelwerte (n=3) bestimmt wurde. Wie anhand der Tabelle 3.4 erkennbar ist, kommt es zu einer hohen Anreicherung der applizierten ¹⁸F-Aktivität in Leber, Darm und Nieren. Innerhalb des Untersuchungszeitraumes kommt es dann zu einer Abnahme der Aktivität in der Leber von 14,11 %iD/g nach 10 Minuten auf 7,06 %iD/g nach 60 Minuten. Ebenso ist die Abnahme der ¹⁸F-Aktivität in den Nieren von 6,61 %iD/g nach 10 Minuten auf 2,97 %iD/g nach 60 Minuten zu beobachten. Lediglich im Darm kommt es zu einer Akkumulation der ¹⁸F-Aktivität von 8,34 %iD/g nach 10 min auf 13,11 %iD/g nach 60 Minuten. Der ¹⁸F-Aktivitätswert der Anreicherung für die Knochen liegt mit 1,2 %iD/g nach 10 min bzw. 0,72 %iD/g nach 60 min sehr niedrig, was auf eine sehr geringe metabolische [¹⁸F]Fluorid-Abspaltung des Tracers hindeutet. Die Aktivitätsaufnahme im gesamten Hirn ist mit 7,8 %iD/g nach 10 Minuten sehr hoch. Diese Anreicherung ist allerdings weitgehend auf das im Blut gelöste Radiopharmakon zurückzuführen. Die Aktivitätsmenge nimmt nach 60 Minuten auf 2,83 %iD/g ab. Allerdings ist der Blutaktivitätswert nach 60 Minuten mit 1,21 %iD/g relativ hoch und könnte daher durch eine sehr hohe Untergrundaktivität eine antizipierte PET-Messung stören. Die hohe Anreicherung des Radiopharmakons im Blut, ist sicherlich mit der niedrigen Lipophilie des Radiopharmakons ([¹⁸F]FMPBS) in Verbindung zu bringen.

In Abbildung 3.18 ist die Aktivitätsverteilung innerhalb verschiedener serotonerg innervierter Hirnregionen in Bezug auf das Kleinhirn (Cerebellum) für die verschiedenen Entnahmezeiten angegeben.

Die Verhältnisse der Aufnahmewerte nach 10 min in den Mäusehirnen sind sehr hoch und spiegeln die primäre Verteilung des Radiopharmakons durch den Blutfluß wieder. Hierbei werden relativ hohe Werte für den Fr.Cortex und das Striatum von ca 2,2 bzw. 1,7 erhalten. Das Verhältnis der Anreicherung im Hippocampus ist mit 1,2 relativ niedrig und bleibt auch bei späteren Messungen mit 1,16 bzw. 1,1 relativ gering. Nach 60 Minuten ist im Fr.Cortex das Anreicherungsverhältnis mit 1,48 gegenüber dem im Striatum mit 1 relativ am höchsten. Im Vergleich liegen die Werte der Anreicherung für die Leitverbindung WAY 100635 in Rattenhirnen nach 60 Minuten für den Hippocampus bei 15,8, für den Fr. Cortex bei 6,55 und für das Striatum bei 2,76 [160]. Entsprechend der sehr viel niedrigeren Affinität der Sulfonamid-Derivate weist auch ihre Anreicherung in den Zielgewebe deutliche Nachteile gegenüber der Stammverbindung auf.

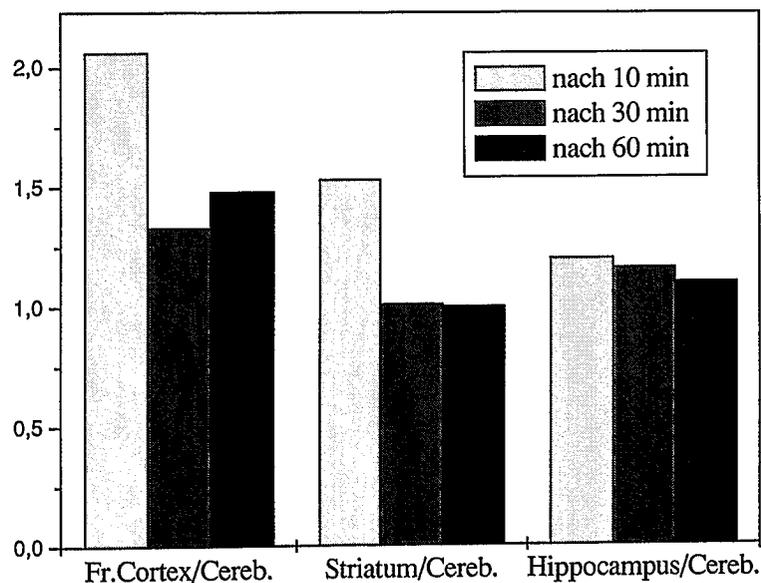


Abb. 3.18: Verhältnisse der Anreicherung des [^{18}F]FMPBS in verschiedenen Hirnregionen von Mäusen relativ zum Cerebellum nach i.V. Injektion

Für die Verbindung (R,S) 4-[^{131}I]Iod-N-{2-[4-(2-methoxyphenyl)-piperazin-1-yl]-ethyl}-N-pyridin-2-yl-benzolsulfonamid wurde ebenfalls das in vivo Verhalten am Tiermodell überprüft, da für diese Verbindung der niedrigste K_i -Wert gemessen wurde und dieser von den neu synthetisierten potentiellen Rezeptorliganden somit die relativ stärkste Affinität zum 5-HT $_{1A}$ Subtyp besitzt. Hierbei wurde ebenfalls die Verteilung des Radiotracers untersucht.

Tab. 3.5: Ex vivo Biodistribution des [^{131}I]Iodsulfinamidderivates des WAY 100635 in NMRI-Mäusen nach 10, 30, 60 Minuten p.i. (%iD/g, n = 3)

Organ	10 min	30 min	60 min
Hirn gesamt	13,50 ± 5,20	5,75 ± 0,40	11,37 ± 2,62
Darm gesamt	10,53 ± 4,20	3,30 ± 0,38	1,86 ± 0,36
Fett	1,72 ± 1,94	8,89 ± 0,25	7,66 ± 0,44
Muskel	2,85 ± 0,90	2,28 ± 0,16	2,08 ± 0,20
Leber	11,51 ± 3,93	6,28 ± 0,24	5,76 ± 0,35
Blut	4,74 ± 1,45	2,77 ± 0,18	2,35 ± 0,14
Nieren	4,21 ± 0,42	3,63 ± 0,23	2,91 ± 0,11
Schilddrüse	2,67 ± 0,58	3,23 ± 0,15	5,03 ± 0,20

Anhand der Daten der Tabelle 3.5 ist erkennbar, daß die Anreicherung der applizierten ^{131}I -Aktivität in Leber, Darm und dem Gesamthirn relativ hoch sind. Während des Untersuchungszeitraumes kommt es, bis auf die Schilddrüse und das Fettgewebe, zu einer Abnahme der Aktivität. Die Aktivitätsaufnahme in der Schilddrüse von 5,03 %iD/g nach 60 Minuten ist jedoch nicht so hoch, daß man von einer nennenswerten Deiodierung am Radiopharmakon und der daraus folgenden Anreicherung von [^{131}I]Iodid im Organ sprechen kann. Die Größenordnungen der Deiodierungsraten vom [^{131}I]IodSulfinWAY sind mit denen von routinemäßig produzierten Radiopharmaka vergleichbar. Innerhalb des Untersuchungszeitraumes kommt es zu einer Abnahme der Aktivität in der Leber von 11,51 %iD/g nach 10 Minuten auf 5,76 %iD/g nach 60 Minuten. Die Aufnahme der Radiopharmaka in der Leber sollte möglichst gering sein, um einen Metabolismus zu vermeiden. Ebenfalls ist eine Abnahme der Anreicherung in den Nieren von 4,21 %iD/g nach 10 Minuten auf 2,91 %iD/g nach 60 Minuten zu beobachten. Gegenüber dem [^{18}F]FMPBS kommt es im Darm nicht zu einer Akkumulation der Aktivität. Hierbei fallen die Werte von 10,53 %iD/g nach 10 min auf 1,86 %iD/g nach 60 Minuten. Die Aktivitätsaufnahme im gesamten Hirn ist mit 13,50 %iD/g nach 10 Minuten sehr hoch. Sie liegt nach 60 Minuten mit 11,37 %iD/g immer noch relativ hoch, was für Studien zur Rezeptorverteilung von Vorteil ist. Die Blutaktivitätswerte liegen etwas höher als beim [^{18}F]FMPBS (nach 60 Minuten bei 2,35 %iD/g) und könnten daher ebenfalls durch die sehr hohe Untergrundaktivität eine PET-Messung stören.

In Abbildung 3.19 ist die Aktivitätsverteilung innerhalb der Hirnregionen der Maus in Bezug auf das Cerebellum für die verschiedenen Inkubationszeiten dargestellt.

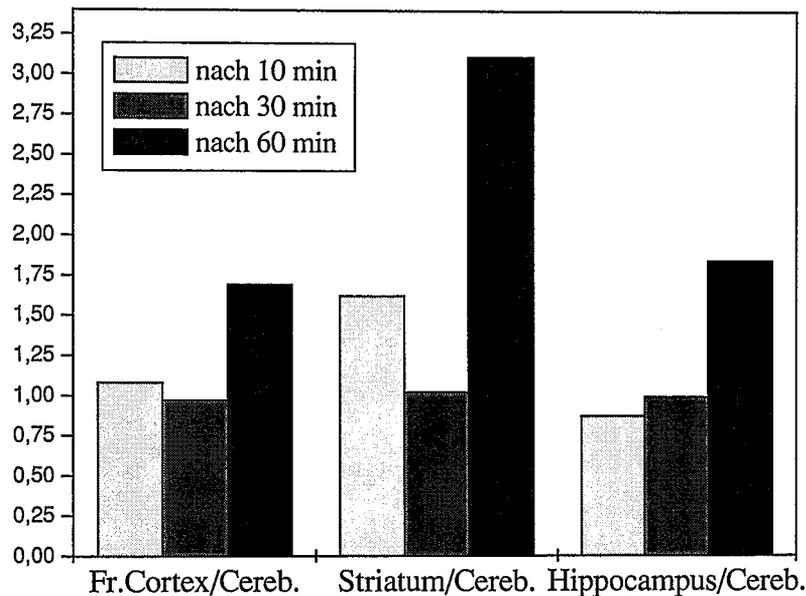


Abb. 3.19: Verhältnisse der Anreicherung des [^{131}I]IodSulfinWAY in den einzelnen Hirnregionen von Mäusen relativ zum Cerebellum nach i.V. Injektion

Aus den erhaltenen Daten wurden wiederum die Verhältnisse der %iD/g Werte zum Cerebellum für die verschiedenen Messzeiten in den Mäusehirnen berechnet. Allgemein ist eine Zunahme der Anreicherung mit zunehmender Inkubationszeit zu erkennen. Die höchsten Anreicherungen wurden nach 60 Minuten in allen untersuchten Hirnregionen erreicht. (Fr.Cortex mit 1,69, Striatum mit 3,11 und Hippocampus mit 1,84). Bei der Betrachtung der Verhältnisse der Anreicherung des [^{131}I]IodSulfinWAY konnte, wie im Fall des [^{18}F]FMPBS, keine Ähnlichkeit zu dem Verhältniss der Anreicherung des WAY 100635 festgestellt werden. Jedoch muß auf die unterschiedlichen Versuchstiere hingewiesen werden, mit denen die Daten verglichen wurden (Mäuse bzw. Ratten).

3.4.3 Autoradiographische Untersuchungen radioaktiv markierter Sulfon- bzw. Sulfinamid-Derivate des WAY 100635

Die markierten Tracer wurden dem Institut für Medizin des FZJ für weitere präklinische Voruntersuchungen zur Verfügung gestellt, deren vorläufige Ergebnisse hier kurz zusammengefaßt sind, da sie für die Bewertung der neuen Verbindungen als in vivo Radioliganden unabdingbar sind. Durch autoradiographische Untersuchungen wurden die Affinitäten der neu synthetisierten Sulfon- bzw. Sulfinamid-Derivate des WAY 100635 untersucht. Dazu wurden in vitro Verdrängungsstudien an vorbehandelten Ratten-

Hirnschnitten durchgeführt, die auf Objektträgern fixiert und mit einem bekannten Tritium markierten Rezeptorliganden für das 5-HT-Systeme, dem 8-³H]OH-DPAT, inkubiert waren. Aus den Kompetitionskurven wurden die K_i-Werte für die neuen Verbindungen mittels der *Cheng-Prusoff-Gleichung* [198] berechnet, die in Tabelle 3.6 angegeben sind.

Tab. 3.6: Verdrängung von [³H]8-OH-DPAT durch verschiedene Sulfonamid- bzw. Sulfinamid-Derivate und des WAY 100635

Kompetitor	K _i -Wert [nM]
WAY 100635	1,7 [aus 165]
FMBPS	112
BrMPBS	184
IMPBS	61
FluorSulfinWAY	42
IodSulfinWAY	36

Hierbei erhält man für 4-Brom-N-{2-[4-(2-methoxyphenyl)-piperazin-1-yl]-ethyl}-N-pyridin-2-yl-benzolsulfonamid (BrMPBS) einen K_i Wert von 184 nM, welcher deutlich über dem des WAY 100635 liegt. Für die weiteren potentiellen Rezeptorliganden liegen die K_i Werte für den 5HT_{1A}-Subtyp in der Reihenfolge IodSulfinWAY (36 nM) < FluorSulfinWAY (42 nM) < IMPBS (61 nM) < FMBPS (112 nM) vor. Alle Werte liegen somit nicht im nanomolaren Bereich und weisen eine relativ geringe Affinität der untersuchten Verbindungen zum interessierenden Rezeptorsubtyp auf.

Darüber hinaus wurde mittels ex vivo Untersuchungen an Ratten-Hirnschnitten eine relative Rezeptordichtevertellung des [¹⁸F]FMPBS durchgeführt und diese mit bereits vorhandenen Daten bestimmter Rezeptor-Subtypen (5-HT ≅ Serotonin, 5-HT_{1A} ≅ OH-DPAT, 5-HT_{2A} ≅ Ketanserin) verglichen, um Aussagen über die Subtyp-Selektivität machen zu können. 15 Minuten nach Injektion des [¹⁸F]FMPBS in Ratten und Opfern der Tiere wurden Schnitte nach Hirnentnahme autoradiographisch vermessen. Beim Vergleich mit der relativen Verteilung der anderen Liganden bzw. Rezeptoren war eine gewisse, wenn auch schwächer ausgeprägte, Ähnlichkeit zum 5-HT_{2A} Subsystem zu erkennen. Offensichtlich ist die Subtyp-Selektivität zum 5-HT_{1A} Rezeptor durch die Einführung der Sulfonamidgruppe verlorengegangen.

Für das (R,S) 4-[¹³¹I]Iod-N-{2-[4-(2-methoxyphenyl)-piperazin-1-yl]-ethyl}-N-pyridin-2-yl-benzolsulfonamid wurde eine Hirnverteilung im Institut für Nuklearchemie des FZJ mittels in vitro Versuche an sagitalen Rattenhirnschnitten mittels Phosphorimager gemessen. Eine Anreicherung des [¹³¹I]IodSulfonamid erfolgte in den für serotonerge Rezeptoren spezifischen Arealen, wie beispielsweise im Fr. Cortex und dem Hippocampus. Allerdings ist ebenfalls eine hohe Anreicherung des Radiotracers im Kleinhirn zu beobachten, was auf eine unspezifische Bindung hinweist.

4 Experimenteller Teil

4.1 Verwendete Chemikalien und Charakterisierungsmethoden

Die benötigten Lösungsmittel wurden entweder in ausreichender Reinheit im Handel erworben oder bei Bedarf nach Standardmethoden gereinigt und getrocknet [199]. Die zur Synthese der Ausgangsverbindungen verwendeten Chemikalien wurden nach den unten angegebenen Synthesevorschriften hergestellt oder waren in geeigneter Qualität über die Firmen Fluka AG bzw. Sigma-Aldrich GmbH erhältlich.

Zur Charakterisierung und Isolierung der synthetisierten Ausgangs- und Referenzverbindungen wurden die nachfolgend aufgeführten Geräte bzw. Materialien verwendet:

NMR-Spektroskopie

¹ H-NMR-Spektroskopie	Bruker Typ WP-80	(80 MHz)
	Bruker Typ Avance 200	(200,1 MHz)
¹³ C-NMR-Spektroskopie	Bruker Typ Avance 200	(50,3 MHz)
¹⁹ F-NMR-Spektroskopie	Bruker Typ Avance 200	(188,3 MHz)

Die chemischen Verschiebungen δ sind in ppm angegeben, wobei relativ zum Standard tieffeld-verschobene Signale ein positives Vorzeichen erhalten. Als interner Standard wurde das jeweilige Lösungsmittel gewählt. Die ¹³C-NMR-Spektren sind unter ¹H-Breitband-Entkopplung (CPD-Verfahren) aufgenommen und die Zuordnung der einzelnen Signale erfolgte mittels 45°-DEPT, 90°-DEPT sowie 135°-DEPT. Die bei der Charakterisierung der Verbindungen angegebenen Information beziehen sich auf die Signalmultiplizitäten und den Wert des Integrals.

IR-Spektroskopie

Zur Aufnahme der IR-Spektren wurde ein Gerät der Firma Shimadzu (Typ IR-460) verwendet. Alle Verbindungen wurden als Kaliumbromid-Preßling oder in Dichlormethan vermessen. Die Absorptionen ν sind in cm^{-1} angegeben.

Elementaranalysen

Die Elementaranalysen wurden von der Zentralabteilung für Chemische Analysen der Forschungszentrum Jülich GmbH durchgeführt.

Schmelzpunkte

Die Bestimmung der Schmelzpunkte erfolgte mit Hilfe eines Schmelzpunktmessgerätes der Firma Mettler (Typ FP 61). Die Angabe der Schmelzpunkte erfolgt unkorrigiert.

Massenspektrometrie

Die Messungen der Massenspektren erfolgten mit einem Gerät der Firma Thermoquest (Typ Automass Multi III). Die Proben wurden entweder mittels gaschromatographischer Kopplung (GC/MS-Mode) durch das Electrospray-Verfahren in die Gasphase überführt und anschließend durch Detektion positiver Ionen vermessen (Cone-Spannung 38V) oder direkt durch Elektronenstoßionisation bei einer Elektronenenergie von 70 eV ionisiert und analysiert.

Säulenchromatographie

Die Reinigung der Syntheseprodukte erfolgte an Kieselgel 60 (Merck), Korngröße 63-200 μm . Die Eluentgemische sind zu den jeweiligen Trennungen angegeben.

Dünnschichtchromatographie

Im Rahmen der dünnschichtchromatographischen Trennungen wurden die Lösungsmittelgemische so gewählt, daß der R_f -Wert der einzelnen Verbindungen zwischen 0,2 und 0,8 lag. Sofern die Substanzen keine UV-Aktivität aufwiesen, erfolgte die Detektion durch Anfärbung mit Iod in der Iodkammer. Als stationäre Phase wurden die nachfolgend beschriebenen beschichteten Aluminiumplatten verwendet:

DC-Platten, Kieselgel, Polygram[®] SIL G/UV₂₅₄ (Macherey-Nagel), 0,2 mm.

DC-Platten, RP-18 Phasen, Polygram[®] AloX N/UV₂₅₄ (Macherey-Nagel), 0,2 mm.

Aktivitätsbestimmungen

Die Radioaktivität wurde in einem Bohrloch-Gammacounter der Firma Packard (Typ Minaxi γ , Auto-Gamma 5000 Series) gemessen.

Die im Rahmen der ^{18}F -bzw. $^{123},^{131}\text{I}$ -Markierungsversuche zu analytischen und präparativen Zwecken eingesetzten Radiochromatographieverfahren sind in Kapitel 4.5 beschrieben.

4.2 Darstellung der Vorläufer und Zwischenstufen

2-Chlor-N-(-2-pyridyl)acetamid [nach 162]

6g (64 mmol) Aminopyridin werden in einem 250 ml Dreihalskolben mit Tropftrichter in 150 ml absolutem Dichlormethan aufgelöst und mit 10,2 g (96 mmol) Natriumcarbonat versetzt. Diese Suspension wird mit Isopropanol/Trockeneis auf -15°C gekühlt. Anschließend werden langsam 7,7 ml (96 mmol) Chloracetylchlorid in 30 ml absolutem Dichlormethan zugetropft. Diese Suspension wird bei Raumtemperatur 24-48 h gerührt (Zweiphasenreaktion). Anschließend wird der Rückstand abfiltriert und die organische Phase zwei mal mit 40 ml gesättigter Ammoniumchloridlösung sowie zwei mal mit 20 ml Wasser gewaschen. Die organische Phase wird über wasserfreiem Magnesiumsulfat getrocknet. Nach dem Entfernen des Lösungsmittels wird 2-Chlor-N-(-2-pyridyl)acetamid als rosafarbender Feststoff erhalten, welcher nicht weiter aufgereinigt wird. Die Ausbeute beträgt 10 g (92 %).

$^1\text{H-NMR}$: (CDCl_3) $\delta = 4,2$ (s, 2H, $-\text{CH}_2-$), 7,1 (t, 1H, Ar-H), 7,8 (t, 1H, Ar-H), 8,2 (d, 1H, Ar-H), 8,4 (d, 1H, Ar-H), 9,0 (w, 1H, $-\text{NH}$)

IR (KBr): $\nu = 3110, 2820, 1681, 1578, 1533, 1430, 1330, 1239, 1195, 962, 774$.

2-(1-(4-(2-Methoxyphenyl)piperazinyl))-N-(2-pyridyl)acetamid [nach 162]

5,7 g (33,4 mmol) 2-Chlor-N-(-2-pyridyl)acetamid werden in 50 ml trockenem DMF aufgelöst und unter Argonathmosphäre mit 5,5 g (40 mmol) K_2CO_3 versetzt. Zu dieser Suspension werden langsam 6,4 g (33,4 mmol) in 50 ml DMF gelöstes 1-(2-Methoxyphenyl)-piperazin zugetropft wobei sich die Lösung sich beim Zutropfen rot färbt.

Das Reaktionsgemisch wird 24 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Nach Ende der Reaktionszeit wird das Reaktionsgemisch mit 300 ml Wasser versetzt. Die Lösung wird zwei mal mit 150 ml Ether ausgeschüttelt. Die vereinigten organischen Phasen werden zwei mal mit Wasser gewaschen und anschließend über Natriumsulfat getrocknet. Nach dem Entfernen des Lösungsmittels wird ein gelber harziger Rückstand erhalten, welcher sich gut in Essigsäureethylester löst. Das Produkt wird durch Säulenchromatographie mit Essigester als Eluent gereinigt. Man erhält 8,7 g (80 %) 2-(1-(4-(2-Methoxyphenyl)piperazinyl))-N-(2-pyridyl)acetamid als gelbes Öl.

$^1\text{H-NMR}$: (CDCl_3) δ = 2,8 (m, 4H, $2x\text{-NCH}_2\text{-}$), 3,1 (m, 4H, $2x\text{-NCH}_2\text{-}$), 3,2 (s, 2H, $\text{-CH}_2\text{-}$), 3,85 (s, 3H, -OCH_3), 6,8-7,1 (m, 5H, Ar-H), 7,7 (t, 2H, Ar-H), 8,3 (m, 3H, Ar-H) 9,6 (w, 1H, Amid)

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3): δ = 51,05; 54,23; 55,81; 62,68; 111,61; 114,27; 118,76; 120,28; 121,44; 123,61; 138,75; 141,33; 144,88; 148,42; 151,43; 152,65; 169,6

IR (KBr): ν = 3055, 2815, 1691, 1591, 1502, 1448, 1299, 1136, 1017, 936, 748.

1-(2-Methoxyphenyl)-4-(2-(2-pyridylamino)ethyl)piperazin (WAY 100634) [nach 162]

2,5 g (7,75 mmol) des Amids 2-(1-(4-(2-Methoxyphenyl)piperazinyl))-N-(2-pyridyl)-acetamid werden in 250 ml absolutem Tetrahydrofuran gelöst und portionsweise mit 0,6 g (15,5 mmol) LiAlH_4 versetzt. Die Lösung schäumt stark auf und verfärbt sich dann zitronengelb. Das Reaktionsgemisch wird anschließend 4 h unter Rückfluß gekocht und gerührt. Zu der abgekühlten Lösung werden vorsichtig ca. 100 g Eis zugegeben. Dabei fallen Aluminiumsalze aus, welche abfiltriert und mehrmals mit Dichlormethan gewaschen werden. Das Filtrat wird mit CH_2Cl_2 ausgeschüttelt und die vereinigten organischen Phasen werden über Natriumsulfat getrocknet. Nach dem Entfernen des Lösungsmittels bleibt 1-(2-Methoxyphenyl)-4-(2-(2-pyridylamino)-ethyl)piperazin (WAY 100634) als ein gelbliches harziges Öl zurück, welches nach einiger Zeit auskristallisiert. Die Ausbeute beträgt 2,21 g (93 %). Smp.: 84,9 °C

$^1\text{H-NMR}$: (CDCl_3) δ = 2,7 (m, 6H, $2x\text{-NCH}_2\text{-}$, $\text{-CH}_2\text{-}$), 3,1 (w, 4H, $2x\text{-NCH}_2\text{-}$), 3,4 (m, 2H, $\text{-CH}_2\text{-}$), 3,9 (s, 3H, -OCH_3), 5,1 (w, 1H, Amin), Ar-H: 6,35 (d, 1H), 6,6 (t, 1H), 6,8-7,1 (m, 5H) 7,4 (t, 1H) 8,15 (d, 1H)

IR (KBr): ν = 3060, 2815, 1602, 1500, 1444, 1239, 1144, 1024, 746.

Cis/trans-4-(tert-Butyldimethylsilyloxy)-cyclohexancarbonsäureethylester

3 ml (18,6 mmol) cis/trans-4-Hydroxycyclohexylcarbonsäureethylester werden in 30 ml DMF gelöst. Dazu werden 1,36 g (20 mmol) Imidazol als Base zugesetzt. Nachfolgend werden unter Eiskühlung 3 g (20 mmol) tert. Butyldimethylchlorsilan zugegeben. Die Lösung wird 4 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach Abbruch der Reaktion durch Zugabe von ca 150 ml Wasser wird das Reaktionsgemisch mehrmals mit Diethylether ausgeschüttelt. Die Etherphasen werden abgetrennt und vereinigt, die wäßrige Phase mehrmals mit 20 ml Diethylether gewaschen. Die vereinigten Etherphasen werden anschließend mit je 50 ml Wasser gewaschen. Nach Trocknung der organischen Phase über Na₂SO₄ wird das Lösungsmittel entfernt. Es werden 5,22 g (98 %) 4-(tert-Butyl-dimethyl-silyloxy)-cyclohexancarbonsäure-ethylester (cis/trans-Gemisch) als farbloses Öl erhalten.

¹H-NMR: (CDCl₃) δ = 0,05 (s, 6H, 2x-SiCH₃), 0,9 (s, 9H, -SiC(CH₃)₃), 1,2 (t, 3H, -CH₃), 1,3-2,3 (w, 9H cyclohexyl), 3,5-3,9 (w, 1H cyclohexyl), 4,15 (q, 2H, -CH₂-)
IR (Film): ν = 2923, 2846, 1684, 1467, 1382, 1273, 1167, 942, 847, 749, 654

4-tert. Butyldimethylsilyloxycyclohexylcarbonsäure

Ein Äquivalent des cis/trans-4-Hydroxycyclohexylcarbonsäureethylester wird in ca. 50 ml Methanol gelöst und mit 1,1 eq. Kaliumhydroxyd zum Kaliumsalz der Säure umgesetzt. Nach ca. 3 h Rühren wird das Lösungsmittel vollständig entfernt. Zurück bleibt ein weißer Feststoff, welcher in Wasser aufgenommen wird und unter Eiskühlung so lange mit 1N Salzsäure versetzt wird, bis sich ein pH-Wert von 7 einstellt. Die wässrige Phase wird mehrmals mit ca. 30 ml Diethylether ausgeschüttelt und die vereinigten organischen Phasen über Na₂SO₄ getrocknet. Es werden 83% 4-tert. Butyldimethylsilyloxycyclohexylcarbonsäure als farbloses Öl erhalten, das später als Feststoff auskristallisiert.

¹H-NMR: (CDCl₃) δ = 0,05 (s, 6H, 2x-SiCH₃), 0,85 (s, 9H, -SiC(CH₃)₃), 1,3-2,3 (w, 9H cyclohexyl), 3,4-3,9 (w, 1H cyclohexyl), 8,2 (w, 1H, -COOH)
IR (Film): ν = 2918, 2705, 1694, 1461, 1386, 1240, 1047, 1054, 935, 836, 767, 667

4-tert. Butyldimethylsilyloxycyclohexylcarbonsäurechlorid

315 mg (1,22 mmol) an 4-tert. Butyldimethylsilyloxycyclohexylcarbonsäure werden in 10 ml absolutem Dichlormethan aufgenommen und mit einer katalytischen Menge DMF versetzt.

Unter Eiskühlung wird langsam eine Lösung aus 0,1 ml (1,2 mmol) Oxalylchlorid in 5 ml absolutem Dichlormethan zugetropft. Die Lösung wird 1 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wird das Reaktionsgemisch mit ca 5 ml Wasser versetzt und mehrmals mit Diethylether ausgeschüttelt. Die gesammelten organischen Phasen werden abgetrennt und über Na₂SO₄ getrocknet. Man erhält 293 mg (87 %) 4-(tert-Butyl-dimethyl-silanyloxy)-cyclohexancarbonsäurechlorid als gelbliches Öl.

¹H-NMR: (CDCl₃) δ = 0,025 (s, 6H, 2x-SiCH₃), 0,83 (s, 9H, -SiC(CH₃)₃), 1,25-2,3 (w, 9H cyclohexyl), 3,4-3,9 (w, 1H cyclohexyl)

IR (Film): ν = 2935, 1726, 1699, 1462, 1305, 1249, 1183, 1050, 835, 774.

4-(tert-Butyldimethylsilanyloxy)-N-{2-[4-(2-methoxyphenyl)-piperazin-1-yl]-ethyl}-pyridin-2-yl-cyclohexylcarboxamid (cis/trans-Gemisch)

Methode A

2,43 g (7,8 mmol) 1-(2-Methoxyphenyl)-4-(2-(2-pyridylamino)ethyl)piperazin (WAY 100634) werden in 25 ml abs. Dichlormethan gelöst und mit 2,67 ml Ethyl(diisopropyl)amin versetzt. Dazu wird unter Eiskühlung eine Lösung aus 2,56 g (9,36 mmol) des 4-tert-Butyldimethylsiloxycyclohexylcarbonsäurechlorids in 10 ml abs. Dichlormethan langsam zugetropft. Nach 3 h wird die organische Phase zweimal mit 40 ml gesättigter Natriumchloridlösung und zweimal mit 20 ml Wasser gewaschen. Die organische Phase wird abgetrennt und über wasserfreiem Magnesiumsulfat getrocknet. Man erhält 2,4 g (56%) an 4-(tert-Butyldimethylsilanyloxy)-N-{2-[4-(2-methoxyphenyl)-piperazin-1-yl]-ethyl}-pyridin-2-yl-cyclohexylcarboxamid als braunes Öl. Das Produkt wird säulenchromatographisch (Hexan/Aceton 1:1 (v:v)) gereinigt.

Methode B [nach 200]

Zu einer Lösung aus 0,624 g (2 mmol) 1-(2-Methoxyphenyl)-4-(2-(2-pyridylamino)-ethyl)piperazin (WAY 100634) in 50 ml abs Dichlormethan werden nacheinander 600 mg (1,2 mmol) fein gepulvertes Scandiumtriflat, 1,29 g (6 mmol) 4-tert-Butyldimethylsiloxycyclohexylcarbonsäure und 740 mg (6 mmol) 4-Dimethylaminopyridin zugegeben. Diese Suspension wird für 30 min bei -8 °C mit Hilfe eines Eis/Viehsalz-Bades gekühlt. Während dieser Zeit bildet sich eine Komplex, welcher ausfällt. Anschließend werden 1,44 g (7 mmol) Dicyclocarbodiimid zugegeben und weitere 30 min bei -8 °C gerührt. Die Lösung

wird über Nacht bei Raumtemperatur weitergerührt. Der Niederschlag wird abfiltriert und die organische Phase mehrmals mit 20 ml gesättigter NaCl-Lösung ausgeschüttelt. Die organische Phase wird abgetrennt und über Natriumsulfat getrocknet. Man erhält 2,18 g (51%) an 4-(tert-Butyldimethylsilanyloxy)-N-{2-[4-(2-methoxyphenyl)-piperazin-1-yl]-ethyl}-pyridin-2-yl-cyclohexylcarboxamid als braunes Öl. Das Produkt wird ebenfalls säulenchromatographisch (Hexan:Aceton 1:1 (v:v)) gereinigt.

$^1\text{H-NMR}$: (CDCl_3) δ = 0,025 (s, 6H, 2x-SiCH₃), 0,8 (s, 9H, -SiC(CH₃)₃), 1,05-2,3 (w, 9H cyclohexyl), 2,7 (m, 6H, 2x-NCH₂-, -CH₂-), 3,05 (w, 4H, 2x-NCH₂-), 3,4-3,6 (w, 1H cyclohexyl), 3,8 (s, 3H, -OCH₃), 4,05 (m, 2H, -CH₂-), Ar-H: 6,8-7,0 (m, 5H), 7,25 (m, 2H), 7,75 (m, 1H), 8,5 (d, 1H)

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3): δ = 18,5; 24,1; 26,30; 27,86; 28,35; 33,36; 41,71; 50,35; 53,36; 55,73; 71,0; 111,61; 118,55; 121,36; 122,43; 123,44; 138,80; 152,58; 176,50; 179,90

IR (Film): ν = 3070, 2905, 1615, 1510, 1420, 1215, 1156, 1037, 741.

4-Hydroxy-N-{2-[4-(2-methoxyphenyl)-piperazin-1-yl]-ethyl}-pyridin-2-yl-cyclohexyl-carboxamid nach [201] (cis/trans-Gemisch)

1,6 g (3,65 mmol) 4-(tert-Butyl-dimethylsilanyloxy)-{2-[4-(2-methoxyphenyl)-piperazin-1-yl]-ethyl}-pyridin-2-yl-cyclohexylcarboxamid werden in 40 ml abs. THF gelöst und zur Abspaltung der Schutzgruppe mit 1,9 g (7,3 mmol) Tetrabutylammoniumfluorid versetzt. Anschließend wird die Reaktionslösung 4 h unter Rückfluß gerührt. Die Reaktion wird durch Zugabe von ca. 50 ml Wasser abgebrochen und das Produkt mit 3 mal 20 ml Essigsäureethylester extrahiert. Die organische Phase wird nachfolgend über Natriumsulfat getrocknet. Nach der Abtrennung des Lösungsmittels wird das Rohprodukt an Kieselgel unter Verwendung von Methanol als Eluens säulenchromatographisch gereinigt. Man erhält 1,25 g (78 %) an cis/trans-4-Hydroxy-N-{2-[4-(2-methoxyphenyl)-piperazin-1-yl]-ethyl}-pyridin-2-yl-cyclohexylcarboxamid als braunes Öl.

$^1\text{H-NMR}$: (CDCl_3) δ = 1,00-2,2 (w, 9H cyclohexyl), 2,7 (m, 6H, 2x-NCH₂-, -CH₂-), 3,05 (w, 4H), 3,4-3,6 (w, 1H cyclohexyl), 3,8 (s, 3H, -OCH₃), 4,1 (m, 2H, 2x-NCH₂-), Ar-H: 6,85-7,05 (m, 5H), 7,25 (m, 2H), 7,7 (m, 1H), 8,5 (d, 1H)

IR (KBr): ν = 3115, 2875, 1607, 1510, 1473, 1241, 1150, 1054, 747.

Cis/trans-4-Tosyloxy-N-4-({2-[4-(2-methoxyphenyl)-piperazin-1-yl]-ethyl}-pyridin-2-yl-cyclohexylcarboxamid [nach 202]

1 g (2,28 mmol) cis/trans-4-Hydroxy-N-{2-[4-(2-methoxyphenyl)-piperazin-1-yl]-ethyl}-pyridin-2-yl-cyclohexylcarboxamid werden in 15 ml Dichlormethan gelöst und mit 0,43 g (2,7 mmol) Pentamethylpiperidin als Base versetzt. Unter Eiskühlung werden 0,82 g (2,5 mmol) Toluolsulfonsäureanhydrid portionsweise zugegeben und über Nacht bei Raumtemperatur weitergerührt. Durch Zugabe von 20 ml Wasser wird die Reaktion beendet und die Phasen getrennt. Die organische Phase wird über Na₂SO₄ getrocknet und das Rohprodukt vom Lösungsmittel befreit.

Das erhaltene cis/trans Diastereomerenmisch wird mit Hilfe der MPLC auf einer RP-18 Säule (250/10) mit dem Eluentengemisch 60 % MeOH / 40 % Wasser (v/v) getrennt. Nach der chromatographischen Trennung erhält man eine Gesamtausbeute von 0,73 g (54 %) an 4-Tosyloxy-N-4-{{2-[4-(2-methoxyphenyl)piperazino]ethyl}-pyridin-2-yl-cyclohexylcarboxamid als gelbliche Öle.

¹H-NMR: (CDCl₃) δ = 1,1-2,1 (w, 9H cyclohexyl), 2,37 (s, 3H, -CH₃), 2,65 (m, 6H, 2x-NCH₂-, -CH₂-), 2,95 (w, 4H, 2x-NCH₂-), 3,75 (s, 3H, -OCH₃), 3,95 (m, 2H, -CH₂-), 4,1-4,3 (w, 1H cyclohexyl), Ar-H: 6,7-7,1 (m, 4H), 7,25 (m, 4H), 7,75 (m, 3H) 8,5 (d, 1H)

IR (KBr): ν = 3112, 2930, 2820, 1612, 1508, 1423, 1238, 1172, 1084, 743.

4-Fluor-{{2-[4-(2-methoxyphenyl)-piperazin-1-yl]-ethyl}-pyridin-2-yl-cyclohexylcarboxamid [nach 203]

Zu einer Lösung von 0,6 g (1,37 mmol) an 4-Hydroxy-N-{2-[4-(2-methoxyphenyl)-piperazin-1-yl]-ethyl}pyridin-2-yl-cyclohexylcarboxamid in 15 ml abs. Dichlormethan werden bei -78 °C 270 µl (2 mmol) Diethylaminoschwefeltrifluorid gegeben. Die Reaktionsmischung wird 2 h unter Argon gerührt und anschließend bei Raumtemperatur mit 15 ml einer gesättigten NaHCO₃-Lösung hydrolysiert. Nach Extraktion der wässrigen Phase mit 20 ml Dichlormethan werden die vereinigten organischen Phasen mit Natriumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wird im Vakuum entfernt und der Rückstand an Kieselgel mit Essigester säulenchromatographisch gereinigt. Hierbei konnten 30 % (0,41 mmol) der fluorierten Verbindungen (4-Fluor-{{2-[4-(2-methoxyphenyl)-piperazin-1-yl]-ethyl}-pyridin-2-yl-cyclohexylcarboxamid) isoliert werden. Die verbleibende Substanz konnte als

Eliminierungsprodukt (Cyclohex-3-en-N-{2-[4-(2-methoxy-phenyl)-piperazin-1-yl]-ethyl}-pyridin-2-yl-carboxamid) identifiziert werden.

$^1\text{H-NMR}$: (CDCl_3) δ = 1,1-2,2 (w, 9H cyclohexyl), 2,7 (m, 6H, 2x-NCH₂-, -CH₂-), 3,05 (w, 4H, 2x-NCH₂-), 3,5 (w, 1H cyclohexyl), 3,85 (s, 3H, -OCH₃), 4,15 (m, 2H, -CH₂-), Ar-H: 6,8-7,0 (m, 4H), 7,25 (m, 2H), 7,75 (m, 1H), 8,5 (d, 1H)

$^{19}\text{F-NMR}$: (CDCl_3) δ = 170.38, 170.62

IR (KBr): ν = 3124, 2876, 1617, 1509, 1442, 1226, 1147, 1038, 745.

Cis/trans 4-Tosyloxy-cyclohexancarbonsäureethylester

Die Herstellung erfolgt wie oben beschrieben mit Hilfe von 1 eq. Edukt (4-Hydroxy-cyclohexancarbonsäureethylester) in 15 ml Dichlormethan mit 1,2 eq. PMP. Unter Eiskühlung werden 1,1 eq. Toluolsulfonsäureanhydrid zugesetzt. Das erhaltene Produkt wird säulenchromatographisch an Kieselgel mit Diethylether/Hexan 1:1 (v:v) aufgereinigt. Man erhält ca 70 % Gesamtausbeute an cis/trans 4-(Tosyloxy-cyclohexancarbonsäureethylester. Das trans Diastereomer kristallisiert nach einiger Zeit aus, während das cis Diastereomer als farbloses Öl vorliegt.

$^1\text{H-NMR}$: (CDCl_3) δ = 1,27 (t, 3H -CH₃), cyclohexyl: {1,54-1,93 (m, 8H, -CH₂-), 2,23-2,28 (m, 1H, -CH-) 4,16-4,65 (m, 1H, -CH-)}, 2,46 (s, 3H, -OCH₃), 4,09 (q, 2H, -CH₂-), Ar-H: 7,30-7,82 (d, 4H)

$^{13}\text{C-NMR}$ trans: (CDCl_3): δ = 14,58; 22,06; 26,78; 31,51; 41,60; 60,85; 80,90; 128,03; 130,24; 134,78; 145,02; 175,12

cis: (CDCl_3): δ = 14,58; 21,98; 23,67; 30,13; 41,34; 60,72; 78,96; 127,93; 130,22; 134,78; 144,96; 175,04

IR (Film): ν = 2924, 2805, 1518, 1437, 1219, 1145, 1035, 745.

4-Fluorcyclohexancarbonsäureethylester

Die Synthese erfolgt wie oben beschrieben mit Hilfe von Diethylaminoschwefeltrifluorid (DAST) als Fluorierungsagens. Ausgehend von 1 g (5,8 mmol) an 4-Hydroxy-cyclohexancarbonsäureethylester sowie 945 μl (7 mmol) DAST werden nach der Isolierung der Rohprodukte und chromatographischer Aufreinigung eine Gesamtausbeute des

Diastereomerenngemisches (cis/trans 4-Fluor-cyclohexancarbonsäureethylester) von 0,83 g (44 %) erhalten.

$^1\text{H-NMR}$: (CDCl_3) $\delta = 1,27$ (t, 3H $-\text{CH}_3$), 1,54-2,3 (w, 9H cyclohexyl), 4,09 (q, 2H, $-\text{CH}_2-$), 4,2-4,65 (w, 1H cyclohexyl)

$^{19}\text{F-NMR}$: (CDCl_3) $\delta = 170,20$; 183,70

IR (Film): $\nu = 2930, 2705, 1695, 1461, 1384, 1253, 1099, 1050, 834, 774, 668$

Para-substituierte (N-methyl-N-phenyl)- bzw. (N-methyl-N-pyridin-2-yl)-benzolsulfonamide

Generell wird zu einer Lösung von N-methyl-N-phenylamin bzw. N-methyl-N-pyridylamin (5 mmol) und 6 mmol Triethylamin als Base in 15 ml CH_2Cl_2 eine Lösung aus 5,5 mmol des entsprechenden para-substituierten Benzolsulfonylchlorids in 5ml CH_2Cl_2 bei 0°C unter Eiskühlung zugetropft. Die Mischung wird für 2 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wird das Reaktionsgemisch mit Wasser versetzt, dann die organische Phase abgetrennt und über Na_2SO_4 getrocknet. Man erhält ein Rohprodukt, welches chromatographisch (Silicagel; Ether/Hexane) gereinigt wird.

4-Nitro-N-methyl-N-phenyl-benzolsulfonamid

Ausbeute: 83%, Smp: $131,4^\circ\text{C}$

$^1\text{H-NMR}$: (CDCl_3) $\delta = 3,27$ (s, 3H, $-\text{CH}_3$), Ar-H: 7,08-7,13 (s, 2H), 7,34-7,37 (s, 3H), 7,73-7,77 (m, 2H), 8,30-8,35 (m, 2H)

$^{13}\text{C-NMR}$: (CDCl_3): $\delta = 38,8$; 124,4; 116,6; 127,0; 128,4; 129,4; 129,6; 141,7; 142,7

IR (KBr): $\nu = 3108, 2970, 1603, 1525, 1490, 1355, 1189, 1153, 1065, 852, 747, 699, 603$.

MS (m/z): $\text{M}^+ = 292, 228 (\text{M}^+ - 64), 187 (\text{M}^+ - 107), 107 (\text{M}^+ - 187), 77 (\text{M}^+ - 107 - 30)$

4-Fluor-N-methyl-N-phenyl-benzolsulfonamid

Ausbeute: 78%, Smp: $64,2^\circ\text{C}$

$^1\text{H-NMR}$: (CDCl_3) $\delta = 3,21$ (s, 3H, $-\text{CH}_3$), Ar-H: 7,10-7,14 (s, 4H), 7,30-7,35 (s, 3H), 7,55-7,62 (m, 2H)

$^{13}\text{C-NMR}$: (CDCl_3) $\delta = 38,5$; 116,1; 116,6; 127,0; 127,9; 129,4; 130,8; 131,0; 132,9; 141,7; 163,0; 168,1

$^{19}\text{F-NMR}$: (CDCl_3) $\delta = 105,46$

IR (KBr): $\nu = 3057, 2929, 1593, 1492, 1352, 1148, 1042, 834, 698$

MS (m/z): $\text{M}^+ = 265, 200 (\text{M}^+ - 65), 107 (\text{M}^+ - 158), 77 (\text{M}^+ - 107 - 30)$

4-Chlor-N-methyl-N-phenyl-benzolsulfonamid

Ausbeute: 82%, Smp: 96,2°C

¹H-NMR: (CDCl₃) δ = 3,21 (s, 3H, -CH₃), Ar-H: 7,10-7,15 (s, 4H), 7,32-7,36 (s, 3H), 7,42-7,54 (m, 2H)

¹³C-NMR: (CDCl₃) δ = 38,6; 127,0; 128,0; 129,44; 129,48; 129,66; 135,4; 139,7; 141,6

IR (KBr): ν = 3135, 2966, 1587, 1474, 1449, 1395, 1351, 1158, 1086, 869, 775, 699, 612.

MS (m/z): M⁺ = 281, 217 (M⁺ - 64), 107 (M⁺ - 174), 77 (M⁺ - 107 - 30)

4-Brom-N-methyl-N-phenyl-benzolsulfonamid

Ausbeute: 85%, Smp: 92,6°C

¹H-NMR: (CDCl₃) δ = 3,20 (s, 3H, -CH₃), Ar-H: 7,09-7,14 (s, 2H), 7,31-7,34 (s, 3H), 7,40-7,44 (m, 2H), 7,59-7,63 (m, 2H)

¹³C-NMR: (CDCl₃) δ = 38,6; 127,0; 128,29; 128,38; 129,44; 129,46; 129,77; 132,48; 135,85; 141,56

IR (KBr): ν = 3130, 2965, 1576, 1487, 1449, 1390, 1352, 1132, 1062, 866, 745, 604.

MS (m/z): M⁺ = 327, 261 (M⁺ - 66), 107 (M⁺ - 220), 77 (M⁺ - 107 - 30)

4-Iod-N-methyl-N-phenyl-benzolsulfonamid

Ausbeute: 85%, Smp: 110,9°C

¹H-NMR: (CDCl₃) δ = 3,22 (s, 3H, -CH₃), Ar-H: 7,10-7,15 (s, 2H), 7,25-7,36 (m, 4H), 7,85-7,86 (m, 2H)

¹³C-NMR: (CDCl₃) δ = 38,61; 100,8; 127,03; 128,02; 129,46; 129,63; 136,49; 138,42; 141,56

IR (KBr): ν = 3085, 2920, 1607, 1564, 1491, 1382, 1350, 1167, 1060, 869, 736, 697, 601.

MS (m/z): M⁺ = 374, 309 (M⁺ - 65), 203 (M⁺ - 107-64)

4-Fluor-N-methyl-N-pyridin-2-yl)-benzolsulfonamid

Ausbeute: 78% einer öligen Substanz

¹H-NMR: (CDCl₃) δ = 3,25 (s, 3H, -CH₃), Ar-H: 6,94-7,13 (m, 3H), 7,55-7,71 (m, 4H), 8,25 (d, 1H)

¹³C-NMR: (CDCl₃) δ = 36,05; 116,33; 116,78; 121,32; 121,84; 130,58; 130,77; 133,55; 138,13; 148,43; 153,91; 163,11; 168,18

¹⁹F-NMR: (CDCl₃) δ = 105,13

IR (KBr): ν = 3075, 2917, 1603, 1558, 1487, 1381, 1347, 1158, 1063, 865, 730, 698.

4-Nitro-N-methyl-N-pyridin-2-yl)-benzolsulfonamid

Ausbeute: 89% Smp:123,7°C

¹H-NMR: (CDCl₃) δ = 3.11 (s, 3H), 7.10-7.15 (s, 2H), 7.25-7.36 (m, 5H), 7.81-7.86 (m, 2H)¹³C-NMR: (CDCl₃) δ = 36,43; 121,54; 122,43; 124,52; 129,33; 138,51; 143,29; 148,71; 150,59; 153,50

IR (KBr): ν = 3043, 2935, 1611, 1556, 1492, 1378, 1349, 1164, 1063, 855, 736, 698.

[4-(2-Methoxyphenyl)-piperazin-1-yl]-acetonitril [nach 167]

3 g (15,6 mmol) 1-(2-Methoxyphenyl)-piperazin werden in 30 ml abs. Dichlormethan gelöst und mit 1,5 eq. Triethylamin und 1,3 g (17,2 mmol) Chloracetonitril versetzt, wobei die Lösung mit Hilfe eines Eisbades auf 0°C gekühlt wird. Anschließend wird die Reaktionslösung über Nacht bei Raumtemperatur weitergerührt. Die Reaktion wird durch Zugabe von 20 ml Wasser beendet, dann die organische Phase abgetrennt und über Natriumsulfat getrocknet. Das erhaltene Rohprodukt wird mit Diethylether/Hexan 1:1 (v:v) als Eluent an Kieselgel chromatographisch gereinigt. Man erhält 2,78 g (93 %) an [4-(2-Methoxyphenyl)-piperazin-1-yl]-acetonitril als ölige Substanz.

¹H-NMR: (CDCl₃) δ = 2,85 (m, 6H, 2x-NCH₂-, -CH₂-), 3,1 (m, 4H, 2x-NCH₂-), 3,86 (s, 3H, -OCH₃), 6,8-7,0 (m, 4H, -ArH)

IR (Film): ν = 3115, 2874, 2110, 1612, 1576, 1459, 1279, 1143, 1060, 866, 746

2-[4-(2-Methoxyphenyl)-piperazin-1-yl]-ethylamin [nach 167]

2,78 g (12 mmol) [4-(2-Methoxyphenyl)-piperazin-1-yl]-acetonitril werden in 60 ml abs. THF gelöst und vorsichtig innerhalb von 10 Minuten portionsweise mit 912 mg (24 mmol) LiAlH₄ versetzt. Die Reaktionslösung wird unter Rückfluß für 2 h gerührt. Anschließend wird die Reaktionslösung zur vollständigen Reduktion zum Amin über Nacht weiter gerührt. Das Reaktionsgemisch wird mit 100 ml Wasser verdünnt und der sich bildende Niederschlag abfiltriert. Das Filtrat wird 3 mal mit 20 ml Dichlormethan ausgeschüttelt und die vereinigten organischen Phasen nacheinander mit je 50 ml gesättigter Natriumchlorid Lösung sowie 50 ml Wasser gewaschen. Die organischen Phasen werden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel entfernt. Das erhaltene Rohprodukt wird mit Essigsäureethylester an

Kieselgel chromatographisch gereinigt. Man erhält 2,37 g (84 %) an 2-[4-(2-Methoxyphenyl)-piperazin-1-yl]-ethylamin als gelbe Kristalle.

Smp: 193°C

¹H-NMR: (CDCl₃) δ = 2,54-2,70 (m, 6H, 2x-NCH₂-, -CH₂-), 3,06-3,25 (m, 6H, 2x-NCH₂-, -CH₂-), 3,81 (s, 3H, -OCH₃), 5,82 (m, 2H, -NH₂), 6,74-7,0 (m, 4H, -ArH)

¹³C-NMR: (CDCl₃) δ = 30,74; 37,13; 50,85; 53,47; 55,75; 111,59; 118,69; 121,41; 123,40; 141,43; 152,60

IR (KBr): ν = 3082, 2938, 2833, 1600, 1548, 1472, 1330, 1154, 1053, 851, 732, 644

Sulfonamid-Analoga des WAY 100635

Die aromatischen Sulfonamide werden in sehr guten Ausbeuten über eine Acylierungsreaktion des Amins WAY 100634 (1-(2-Methoxyphenyl)-4-(2-(2-pyridylamino)-ethyl)piperazin) mit Hilfe der para-substituierten Benzolsulfonylchloride dargestellt [204]. Die Acylierung erfolgt mittels Me₃N*HCl als Katalysator [205]. Zu einer Lösung aus 1 eq. 1-(2-Methoxyphenyl)-4-(2-(2-pyridylamino)-ethyl)piperazin in 25 ml CH₂Cl₂ und 1,5 eq. Triethylamin wird eine Lösung aus 1,1 eq. des entsprechenden para-substituierten Benzolsulfonylchlorides in 10 ml CH₂Cl₂ bei 0°C unter Eiskühlung zugetropft. Die Mischung wird über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wird die Lösung mit Wasser aufgearbeitet, die organische Phase abgetrennt und über Na₂SO₄ getrocknet. Man erhält ein Rohprodukt, welches chromatographisch (Kieselgel; Diethylether/Hexan) gereinigt wird.

4-Nitro-N-{2-[4-(2-methoxyphenyl)-piperazin-1-yl]-ethyl}-N-pyridin-2-yl-benzol-sulfonamid

Ausbeute: 91% einer öligen Substanz

¹H-NMR: (CDCl₃) δ = 2,69-2,73 (m, 6H, 2x-NCH₂-, -CH₂-), 3,02 (m, 4H, 2x-NCH₂-), 3,84 (s, 3H, -OCH₃), 4,20-4,27 (m, 2H, -CH₂-), Ar-H: {6,82-7,06 (w, 6H), 7,24-7,28 (m, 2H), 7,54 (m, 1H), 8,11-8,16 (m, 2H), 8,37 (s, 1H)}

¹³C-NMR: (CDCl₃) δ = 48,55; 50,95; 54,15; 55,75; 56,35; 111,61; 115,20; 118,56; 120,56; 121,40; 125,85; 138,08; 141,60; 148,80; 137,34

IR (Film): ν = 3112, 2815, 1635, 1559, 1491, 1400, 1338, 1236, 1110, 818, 741.

MS (m/z): M⁺ = 497, 433 (M⁺ - 64), 311 (M⁺ - 186), 205 (M⁺ - 186 - 106)

Elementaranalyse: C₂₄H₂₇N₅O₅S; MG: 497,57

Ber.: C 57,93 H 5,47 N 14,08

Gef.: C 57,87 H 5,51 N 14,11

4-Fluor-N-{2-[4-(2-methoxyphenyl)-piperazin-1-yl]-ethyl}-N-pyridin-2-yl-benzol-sulfonamid

Ausbeute: 91%, Smp.: 109,3°C

¹H-NMR: (CDCl₃) δ = 2.58 (m, 6H, 2x-NCH₂-, -CH₂-), 2.9 (m, 4H, 2x-NCH₂-), 3.75 (s, 3H, -OCH₃), 4.0 (m, 2H, -CH₂-), Ar-H: {6.83 (m, 4H), 7.06 (m, 3H), 7.62 (m, 4H), 8.3 (s, 1H)}¹³C-NMR: (CDCl₃) δ = 45.76, 50.94, 53.65, 55.74, 57.42, 111.64, 116.34, 116.79, 118.49, 121.38, 122.27, 123.27, 123.55, 130.56, 130.75, 138.19, 148.52¹⁹F-NMR: (CDCl₃) δ = 105.30

IR (KBr): ν = 3095, 2945, 2805, 1590, 1496, 1466, 1349, 1236, 1153, 1030, 905, 739

MS (m/z): M⁺ = 471, 456 (M⁺ - 15), 312 (M⁺ - 159), 205 (M⁺ - 159 - 107)Elementaranalyse: C₂₄H₂₇FN₄O₃S; MG: 470,56

Ber.: C 61,26 H 5,78 N 11,9

Gef.: C 60,55 H 5,90 N 11,5

4-Chlor-N-{2-[4-(2-methoxyphenyl)-piperazin-1-yl]-ethyl}-N-pyridin-2-yl-benzol-sulfonamid

Ausbeute: 93%, Smp.: 105,4°C

¹H-NMR: (CDCl₃) δ = 2,62 (m, 6H, 2x-NCH₂-, -CH₂-), 2,96 (m, 4H, 2x-NCH₂-), 3,84 (s, 3H, -OCH₃), 4,0 (m, 2H, -CH₂-), Ar-H: {6,83-6,96 (m, 5H), 7,08-7,17 (m, 1H), 7,40-7,44 (m, 2H), 7,59-7,64 (m, 2H), 7,71-7,74 (m, 1H), 8,34 (s, 1H)}¹³C-NMR: (CDCl₃) δ = 45,84; 50,96; 53,66; 55,77; 57,42; 111,61; 118,53; 121,38; 122,34; 123,30; 123,66; 126,29; 129,40; 129,49; 129,62; 137,57; 138,22; 139,70; 141,69; 148,58; 152,63; 152,91

IR (KBr): ν = 3084, 2915, 2846 1603, 1556, 1488, 1320, 1167, 1057, 845, 729, 645.

MS (m/z): M⁺ = 487, 472 (M⁺ - 15), 312 (M⁺ - 175), 205 (M⁺ - 175 - 107)Elementaranalyse: C₂₄H₂₇ClN₄O₃S; MG: 487,02

Ber.: C 59,19 H 5,59 N 11,50

Gef.: C 59,12 H 5,63 N 11,57

4-Brom-N-{2-[4-(2-methoxyphenyl)-piperazin-1-yl]-ethyl}-N-pyridin-2-yl-benzol-sulfonamid

Ausbeute: 96%, Smp.: 124,1°C

¹H-NMR: (CDCl₃) δ = 2,60 (m, 6H, 2x-NCH₂-, -CH₂-), 2,94 (m, 4H, 2x-NCH₂-), 3,82 (s, 3H, -OCH₃), 3,98 (m, 2H, -CH₂-), Ar-H: {6,85-6,89 (m, 4H), 6,93 (s, 1H), 7,48-7,61 (m, 5H), 7,67-7,72 (m, 1H), 8,3 (s, 1H)}

¹³C-NMR: (CDCl₃) δ = 45,83; 50,96; 53,66; 55,77; 57,41; 111,58; 118,53; 121,38; 122,36; 123,31; 123,66; 129,50; 132,61; 138,24; 148,60

IR (KBr): ν = 3124, 2920, 2841, 1613, 1563, 1473, 1382, 1284, 1122, 1054, 843, 742

MS (m/z): M⁺ = 532, 517 (M⁺ - 15), 312 (M⁺ - 220), 205 (M⁺ - 220 - 107)

Elementaranalyse: C₂₄H₂₇BrN₄O₃S; MG: 531,47

Ber.: C 54,24 H 5,12 N 10,54

Gef.: C 54,10 H 5,25 N 10,30

4-Iod-N-{2-[4-(2-methoxyphenyl)-piperazin-1-yl]-ethyl}-N-pyridin-2-yl-benzol-sulfonamid

Ausbeute: 89%, Smp.: 136,5°C

¹H-NMR: (CDCl₃) δ = 2,58-2,65 (m, 6H, 2x-NCH₂-, -CH₂-), 2,97 (m, 4H, 2x-NCH₂-), 3,86 (s, 3H, -OCH₃), 3,86-4,06 (m, 2H, -CH₂-), Ar-H: {6,84-6,97 (m, 5H), 7,11-7,18 (m, 1H), 7,36-7,40 (m, 2H), 7,60-7,715 (w, 2H), 7,79-7,84 (m, 2H), 8,34 (s, 1H)}

¹³C-NMR: (CDCl₃) δ = 45,83; 50,97; 53,66; 55,77; 57,41; 110,87; 111,57; 118,53; 121,37; 122,33; 123,30; 123,68; 129,34; 129,45; 138,22; 138,55; 138,75; 141,68; 148,59; 152,62; 152,88

IR (KBr): ν = 3106, 2914, 2851, 1611, 1573, 1466, 1384, 1249, 1147, 1068, 869, 739

MS (m/z): M⁺ = 578, 563 (M⁺ - 15), 312 (M⁺ - 266), 205 (M⁺ - 266 - 107)

Elementaranalyse: C₂₄H₂₇IN₄O₃S; MG: 578,47

Ber.: C 49,83 H 4,70 N 9,69

Gef.: C 49,80 H 4,80 N 9,58

4-Fluor-N-{2-[4-(2-methoxyphenyl)-piperazin-1-yl]-ethyl}-benzolsulfonamid

Ausbeute: 78% als ölige Substanz

¹H-NMR: (CDCl₃) δ = 2,36-2,54 (m, 6H, 2x-NCH₂-, -CH₂-), 3,03-3,09 (m, 6H, 2x-NCH₂-, -CH₂-), 3,87 (s, 3H, -OCH₃), Ar-H: {6,86-6,97 (m, 4H), 7,18-7,30 (m, 2H), 7,90-7,97 (m, 2H)}

¹³C-NMR: (CDCl₃) δ = 39,64; 50,91; 53,14; 55,77; 56,08; 111,60; 116,51; 116,95; 118,61; 121,42; 123,58; 130,20; 136,15; 141,35; 152,61 167,97

¹⁹F-NMR: (CDCl₃) δ = 105,73

IR (KBr): ν = 3268, 2940, 2820, 1573, 1506, 1332, 1250, 1163, 1046, 838, 739

MS (m/z): M⁺ = 393, 234 (M⁺ - 159), 205 (M⁺ - 159 - 29), 95 (M⁺ - 234 - 64)

4-Brom-N-{2-[4-(2-methoxyphenyl)-piperazin-1-yl]-ethyl}-benzolsulfonamid

Ausbeute: 81%, Smp.: 114,9°C

¹H-NMR: (CDCl₃) δ = 2,49-2,54 (m, 6H, 2x-NCH₂-, -CH₂-), 3,03-3,27 (m, 6H, 2x-NCH₂-, -CH₂-), 3,87 (s, 3H, -OCH₃), Ar-H: {6,83-7,00 (m, 4H), 7,66-7,81 (dd, 4H)}

¹³C-NMR: (CDCl₃) δ = 39,65; 50,90, 53,18; 55,79; 56,11; 111,63; 118,63; 121,44; 123,58; 127,97; 129,10; 132,79; 139,20; 141,37; 152,62

IR (KBr): ν = 3270, 2940, 2820, 1571, 1500, 1327, 1239, 1157, 1024, 936, 835, 741.

MS (m/z): M⁺ = 454, 286 (M⁺ - 168), 205 (M⁺ - 220 -29), 127 (M⁺ - 220 - 107)

4-Nitro-N-{2-[4-(2-methoxyphenyl)-piperazin-1-yl]-ethyl}-benzolsulfonamid

Ausbeute: 73%, Smp.: 201,2°C

¹H-NMR: (CDCl₃) δ = 2,51-2,57 (m, 6H, 2x-NCH₂-, -CH₂-), 2,92-3,03 (m, 4H, 2x-NCH₂-), 3,09-3,15 (m, 2H, -CH₂-), 3,86 (s, 3H, -OCH₃), Ar-H: {6,86-7,00 (m, 4H), 8,08-8,41 (dd, 4H)}

¹³C-NMR: (CDCl₃) δ = 39,74; 50,87; 53,21; 55,78; 56,23; 111,61; 118,58; 121,42; 123,63; 124,80; 128,76; 141,25; 144,88; 146,19; 150,43; 152,58

IR (KBr): ν = 3255, 2830, 1604, 1527, 1500, 1464, 1343, 1238, 1168, 1025, 968, 745.

MS (m/z): M⁺ = 420, 205 (M⁺ - 186 -29), 70 (M⁺ - 220 - 107)

4-Fluor-N-{2-[4-(2-hydroxyphenyl)-piperazin-1-yl]-ethyl}-N-pyridin-2-yl-benzolsulfonamid [nach 206]

Ein Äquivalent an 4-Fluor-N-{2-[4-(2-methoxyphenyl)-piperazin-1-yl]-ethyl}-N-pyridin-2-yl-benzolsulfonamid wird mit 1,2 eq. tetra-n-Butylammoniumiodid in 20 ml abs. Dichlormethan gelöst und in einem Kältebad bei -78°C gerührt. 2 eq. einer 1M Bortrichlorid-Lösung werden vorsichtig innerhalb von 5 Minuten unter Inertgasatmosphäre zugetropft. Die Reaktionslösung wird langsam auf Raumtemperatur aufgewärmt und weitere 1-2 Stunden gerührt. Anschließend wird die Reaktion durch Zugabe von Wasser abgebrochen, die organische Phase abgetrennt und über Na₂SO₄ getrocknet. Man erhält ein Rohprodukt, welches chromatographisch (Silicagel; Essigester) gereinigt wird.

Ausbeute: 43% eines bräunlichen Öls

¹H-NMR: (CDCl₃) δ = 2,52-2,73 (m, 6H, 2x-NCH₂-, -CH₂-), 2,85-3,1 (m, 4H, 2x-NCH₂-), 3,87-4,06 (m, 2H, -CH₂-), Ar-H: {6,85-7,3 (m, 5H), 7,60-7,9 (m, 6H), 8,34 (s, 1H)}

¹⁹F-NMR: (CDCl₃) δ = 105,31

IR (Film): $\nu = 3079, 2873, 1598, 1531, 1496, 1367, 1264, 1163, 1078, 894, 743$

Sulfinamid-Analoga des WAY 100635 nach [207]

Zu einer Lösung von 1 eq. para-substituiertem Benzolsulfonylchlorid in 20 ml Wasser werden 4,8 eq. Na_2SO_3 zugesetzt. Die Lösung wird bei 70°C für 5 h und bei 80°C für 30 min gerührt. Nach dem Abkühlen der Lösung wird mit Hilfe von 32%iger Salzsäure angesäuert. Das Produkt (para-substituierte Benzolsulfinsäure) fällt als weißer Niederschlag aus. Dieser wird abgesaugt und an der Luft getrocknet. 1 eq. der entsprechenden Sulfinsäure wird durch Umsetzung mit 1 eq. Oxalylchlorid in Dichlormethan ins Säurechlorid überführt. Das Lösungsmittel und überschüssiges Oxalylchlorid werden mittels einer Vakuumapparatur entfernt und das Produkt ohne weitere Reinigung weiterverwendet. Unter Eiskühlung werden 1,1 eq. des Säurechlorids in 10 ml CH_2Cl_2 zu einer Lösung aus 1 eq. WAY 100634 und 1,5 eq. Triethylamin in 20 ml CH_2Cl_2 zugetropft. Die Lösung wird über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wird das Reaktionsgemisch wässrig aufgearbeitet, die organische Phase abgetrennt und über Na_2SO_4 getrocknet. Das gewünschte Produkt wird chromatographisch an Kieselgel mit Diethylether/Hexan als Eluens gereinigt.

4-Fluor-N-methyl-N-phenyl-benzolsulfinamid

Ausbeute: 26%

$^1\text{H-NMR}$: (CDCl_3) $\delta = 3,36$ (s, 3H, $-\text{CH}_3$), 7,17-7,48 (m, 9H, Ar-H)

$^{13}\text{C-NMR}$: (CDCl_3) $\delta = 32,48; 112,72; 122,80; 126,83; 129,49; 130,05; 144,88; 142,60; 162,79$

$^{19}\text{F-NMR}$: (CDCl_3) $\delta = 107,22$

IR (KBr): $\nu = 3032, 2985, 1583, 1481, 1347, 1266, 1129, 1050, 845, 765, 683$

4-Chlor-N-methyl-N-phenyl-benzolsulfinamid

Ausbeute: 68%

$^1\text{H-NMR}$: (CDCl_3) $\delta = 2,75$ (s, 3H, $-\text{CH}_3$), 6,59-6,70 (m, 2H, Ar-H), 7,35-7,42 (m, 2H, Ar-H), 7,54-7,63 (m, 5H, Ar-H)

$^{13}\text{C-NMR}$: (CDCl_3) $\delta = 30,13; 112,58; 126,71; 128,14; 128,58; 130,07; 130,47; 146,60; 153,42$

IR (KBr): $\nu = 3041, 2896, 1578, 1490, 1344, 1267, 1141, 1051, 880, 745, 678$

4-Brom-N-methyl-N-phenyl-benzolsulfinamid

Ausbeute: 53%

¹H-NMR: (CDCl₃) δ = 2,88 (s, 3H, -CH₃), 6,63 (dd 2H, Ar-H), 7,42-7,67 (m, 7H, Ar-H)¹³C-NMR: (CDCl₃) δ = 30,61; 112,72; 126,57; 128,47; 131,64; 132,57; 144,88; 145,76; 152,51

IR (KBr): ν = 3065, 2923, 2887, 1575, 1467, 1356, 1278, 1154, 1068, 877, 735

4-Iod-N-methyl-N-phenyl-benzolsulfinamid

Ausbeute: 57%

¹H-NMR: (CDCl₃) δ = 3,37 (s, 3H, -CH₃), 6,58-6,65 (m, 2H, Ar-H), 7,33-7,39 (m, 5H, Ar-H), 7,86-7,92 (m, 2H, Ar-H)¹³C-NMR: (CDCl₃) δ = 30,11; 112,49; 126,79; 128,16; 130,31; 138,73; 144,88; 147,62; 153,48

IR (KBr): ν = 3030, 2924, 1586, 1479, 1368, 1272, 1119, 1063, 745, 680

(R,S) 4-Fluor-N-{2-[4-(2-methoxyphenyl)-piperazin-1-yl]-ethyl}-N-pyridin-2-yl-benzolsulfinamid

Ausbeute: 32% als ölige Substanz

¹H-NMR: (CDCl₃) δ = 2,07 (m, 1H, -CH₂-), 2,54-2,61 (m, 4H, 2x-NCH₂-), 2,63- 2,71 (w 1H, -CH₂-), 3,03 (m, 4H, 2x-NCH₂-), 3,73-3,89 (m, 2H, -CH₂-), 3,87 (s, 3H, -OCH₃), -Ar-H {6,88-7,00 (m, 5H), 7,19-7,30 (m, 3H), 7,63 (w, 1H), 7,77-7,83 (m, 2H), 8,35 (s, 1H)}¹³C-NMR: (CDCl₃) δ = 40,63; 50,86; 53,82; 55,75; 57,24; 111,50; 112,32; 116,50; 116,95; 118,57; 121,35; 123,37; 128,70; 128,88; 138,38; 141,58, 148,61; 152,61; 156,08¹⁹F-NMR: (CDCl₃) δ = 108,64

IR (KBr): ν = 3023, 2913, 1579, 1482, 1356, 1264, 1137, 1057, 871, 741, 684

Elementaranalyse: C₂₄H₂₇FN₄O₂S; MG: 454,56

Ber.:	C 63,41	H 5,99	N 12,33
Gef.:	C 63,22	H 5,87	N 12,37

(R,S) 4-Chlor-N-{2-[4-(2-methoxyphenyl)-piperazin-1-yl]-ethyl}-N-pyridin-2-yl-benzol-sulfinamid

Ausbeute: 76%, als ölige Substanz

¹H-NMR: (CDCl₃) δ = 2,25-2,29 (m, 1H, -CH₂-), 2,53-2,57 (m, 4H, 2x-NCH₂-), 2,59-2,76 (w 1H, -CH₂-), 2,99-3,01 (m, 4H, 2x-NCH₂-), 3,73-3,83 (m, 2H, -CH₂-), 3,85 (s, 3H, -OCH₃), -Ar-H {6,87-6,98 (m, 5H), 7,20 (m, 1H), 7,48-7,76 (m, d 4H), 7,62-7,64 (w, 1H), 8,33 (s, 1H)}

¹³C-NMR: (CDCl₃) δ = 40,95; 50,87; 53,81; 55,76; 57,28; 111,55; 112,39; 118,54; 121,37; 123,34; 127,98; 129,71; 138,06; 141,60; 142,80; 144,88; 148,60; 152,61; 156,01

IR (KBr): ν = 3084, 2917, 2846, 1588, 1442, 1348, 1271, 1155, 1068, 876, 734, 683

Elementaranalyse: C₂₄H₂₇ClN₄O₂S; MG: 471,01

Ber.: C 61,20 H 5,78 N 11,89

Gef.: C 61,09 H 5,81 N 11,92

(R,S) 4-Brom-N-{2-[4-(2-methoxyphenyl)-piperazin-1-yl]-ethyl}-N-pyridin-2-yl-benzol-sulfinamid

Ausbeute: 78%, als ölige Substanz

¹H-NMR: (CDCl₃) δ = 2,28 (m, 1H, -CH₂-), 2,56-2,58 (m, 4H, 2x-NCH₂-), 2,61-2,78 (w 1H, -CH₂-), 2,99-3,01 (m, 4H, 2x-NCH₂-), 3,72-3,92 (m, 2H, -CH₂-), 3,84 (s, 3H, -OCH₃), -Ar-H {6,82-6,99 (m, 5H), 7,19 (m, 1H), 7,60-7,61 (w, 1H), 7,64-7,65 (m, 4H), 8,32-8,35 (s, 1H)}

¹³C-NMR: (CDCl₃) δ = 40,99, 50,87, 53,81, 55,76, 57,28, 111,52, 112,37, 118,55, 121,36, 123,36, 126,45, 128,19, 132,65, 138,41, 141,57, 143,38, 148,60, 152,59, 155,98

IR (KBr): ν = 3053, 2934, 1609, 1559, 1487, 1373, 1354, 1158, 1059, 859, 737, 699.

Elementaranalyse: C₂₄H₂₇BrN₄O₂S; MG: 515,47

Ber.: C 55,92 H 5,28 N 10,87

Gef.: C 55,87 H 5,30 N 10,89

(R,S) 4-Iod-N-{2-[4-(2-methoxyphenyl)-piperazin-1-yl]-ethyl}-N-pyridin-2-yl-benzol-sulfinamid

Ausbeute: 66%, als ölige Substanz

¹H-NMR: (CDCl₃) δ = 2,1-2,25 (m, 1H, -CH₂-), 2,3-2,5 (m, 4H, 2x-NCH₂-), 2,5-2,65 (m, 1H, -CH₂-), 2,8-3,0 (m, 4H, 2x-NCH₂-), 3,6-3,8 (m, 5H, -CH₂-, -OCH₃), -Ar-H {6,7-6,85 (m, 4H), 6,9-8,3 (w, 4H), 7,4-7,8 (dd, 4H)}

$^{13}\text{C-NMR}$: (CDCl_3) $\delta = 15,80; 40,95; 50,83; 53,76; 55,75; 57,27; 66,17; 98,78; 111,57;$
 $112,28; 118,45; 121,36; 123,26; 128,15; 138,40; 141,55; 144,17; 148,51;$
 $152,51; 155,93$

IR (KBr): $\nu = 3072, 2930, 2854, 1553, 1472, 1337, 1280, 1143, 1088, 843, 735, 687$

Elementaranalyse: $\text{C}_{24}\text{H}_{27}\text{IN}_4\text{O}_2\text{S}$; MG: 562,47

Ber.: C 51,25 H 4,84 N 9,69

Gef.: C 50,40 H 5,10 N 9,23

(R,S) 4-Tributylstanyl- -N-{2-[4-(2-methoxy-phenyl)-piperazin-1-yl]-ethyl}-pyridin-2-yl-benzolsulfinamid

Methode A: Barbierreaktion mit bromiertem Edukt [nach 194]

Eine Lösung aus 258 mg (0,5 mmol) 4-Brom-N-{2-[4-(2-methoxyphenyl)-piperazin-1-yl]-ethyl}-N-pyridin-2-yl-benzolsulfinamid 36,5 mg (1,5 mmol) Magnesiumpulver und 47 μl (0,55 mmol) 1,2 Dibromethan in 5 ml abs. THF wird mit Hilfe eines Ultraschallbades für eine Stunde bei 35°C behandelt. Hierbei konnte eine Grignardreaktion beobachtet werden, jedoch keine Barbierreaktion mit 1 eq. Bis(tributylzinn)oxid zum gewünschten Produkt. Die Reaktion wurde über TLC Analyse verfolgt.

Methode B: mit Allyl-Palladiumchlorid Katalysator und iodiertem Edukt [nach 195]

Es werden 202 μl (0,4 mmol) Hexabutyldizinn und 0,22 g (0,38 mmol) 4-Iod-N-{2-[4-(2-methoxyphenyl)-piperazin-1-yl]-ethyl}-N-pyridin-2-yl-benzolsulfinamid in 6 ml Dichlor-methan vorgelegt. Zu dieser Lösung wird bei Raumtemperatur portionsweise 0,02 mmol Bis(π -allylpalladiumchlorid) zugegeben. Die Reaktion wird bei RT weitergerührt und der Reaktionsverlauf über TLC kontrolliert. Nach 10 Minuten ist die Reaktion beendet. Das entstehende Palladium wird abfiltriert und die Reaktionslösung mit Wasser gewaschen. Anschließend wird die organische Phase abgetrennt und über Na_2SO_4 getrocknet. Man erhält nach Säulenchromatographie 120 mg (0,17 mmol) an (R,S) 4-Tributylstanyl-N-{2-[4-(2-methoxyphenyl)-piperazin-1-yl]-ethyl}-pyridin-2-yl-benzolsulfinamid mit einer Ausbeute von 43% als farbloses Öl.

$^1\text{H-NMR}$: (CDCl_3) $\delta = 0,87-1,57$ (w, 27H, $-\text{Sn}(\text{C}_4\text{H}_9)_3$), 2,30 (m, 1H, $-\text{CH}_2-$), 2,58-2,67 (s, 5H, $2x-\text{NCH}_2-$, $-\text{CH}_2-$), 3,00-3,03 (m, 4H, $2x-\text{NCH}_2-$), 3,82-3,90 (m, 5H, $-\text{CH}_2-$, $-\text{OCH}_3$), $-\text{Ar-H}$ {6,88-6,97 (m, 5H), 7,27-7,31 (m, 1H), 7,61-7,73(w, 5H), 8.34 (s, 1H)}

Experimenteller Teil

^{13}C -NMR: (CDCl_3) $\delta = 10,13; 14,05; 27,72; 29,44; 40,64; 50,93; 53,78; 55,73; 57,22;$
 $111,57; 112,26; 118,30; 121,36; 123,24; 125,35; 137,30; 138,22; 141,74;$
 $143,61; 144,88; 147,71; 148,52; 152,66; 156,44$

Elementaranalyse: $\text{C}_{36}\text{H}_{54}\text{N}_4\text{O}_2\text{SSn}$; MG: 725,62

Ber.: C 59,59 H 7,50 N 7,72

Gef.: C 58,30 H 7,62 N 7,45

4.3 Trägerarme Radiosynthesen

4.3.1 Bezug der Radionuklide Iod 120, Iod 123 und Iod 131

Natrium[¹²³I]- und [¹³¹I]iodidlösung (IBS,SO bzw. IBS 30) wurden von Amersham Buchler bezogen. Das Radioisotop wurde als Radioiodid in alkalischer NaOH-Lösung mit einer spezifischen Volumenradioaktivität von $1,84 \cdot 10^6$ [Bq/ml] angeliefert und sofort unter Inertgasatmosphäre gesetzt. Aliquote dieser Lösung werden ohne weitere Behandlung zur Markierung verwendet.

Die Produktion von n.c.a. [¹²⁰I]iodid, das bei einzelnen Markierungen eingesetzt wurde, erfolgte am CV 28 des Instituts für Nuklearchemie der Forschungszentrum Jülich GmbH über die ¹²⁰Te(p,n)¹²⁰I Kernreaktion an einem Festkörpertarget [52].

4.3.2 Produktion von n.c.a. [¹⁸F]Fluorid

Die Produktion des bei den trägerarmen Markierungen eingesetzte n.c.a. [¹⁸F]Fluorid, erfolgte routinemäßig am Babyzyklotron BC 1710 (JSW) des Instituts für Nuklearchemie der Forschungszentrum Jülich GmbH über die ¹⁸O(p,n)¹⁸F Kernreaktion durch Bestrahlung eines [¹⁸O]Wasser-Targets mit 17 MeV-Protonen und einem ¹⁸O-Anreicherungsgrad von >95%. Das zur Produktion des n.c.a. [¹⁸F]Fluorids eingesetzte Titantarget ist in Detail beschrieben [29]. Mit Hilfe des [¹⁸O]Wasser-Targets können bei Strahlströmen von bis zu 25 µA und einer Protonenenergie von 17 MeV innerhalb einer Stunde über 55 GBq (1,5 Ci) n.c.a. [¹⁸F]Fluorid erzeugt werden [25, 30].

Nach Bestrahlungsende wird der Targetinhalt mittels eines Heliumgasstromes aus dem Target herausgedrückt und zur Trennung des n.c.a. [¹⁸F]Fluorids vom Targetmaterial auf ein Anionenaustauscherharz (BioRad AG1X8 in Carbonatform) gegeben. Hierbei werden sowohl Verunreinigungen wie z.B. metallisch Radionuklide (z.B. Vanadium) aus dem Targetwasser abgetrennt wie auch das angereicherte H₂¹⁸O zurückgewonnen. Das H₂¹⁸O kann dann nach oxidativer und destillativer Reinigung erneut verwendet werden. Im Anschluß an die Fixierung wird das [¹⁸F]Fluorid mit 300 µl einer 60 mM Kaliumcarbonat-Lösung desorbiert und in 1 ml Acetonitril aufgenommen. Diese Lösung wird in ein mit einem Septum verschlossenes Bördelgefäß abgefüllt, aus dem das n.c.a. [¹⁸F]Fluorid portionsweise entnommen und nach azeotroper Trocknung zu Markierungsreaktionen eingesetzt wird.

4.3.3 Nukleophile Substitutionen mit n.c.a. [^{18}F]Fluorid

Die wäßrige n.c.a [^{18}F]Fluorid-Lösung (18,5-37 GBq / 0,5-1 mCi) wird mit 10 mg (26,6 μmol) Kryptofix[®]2.2.2, 13,3 μl (13,3 mmol) einer 1 M Kaliumcarbonat-Lösung in 0,8 ml abs. Acetonitril (für DNA-Synthese, Merck) zur Trocknung in ein 3 - 5 ml fassenden Glasreaktor mit Magnetrührstäbchen gegeben. Der Reaktor wird über eine Schraubkappe mit einem Silikonseptum verschlossen, durch das zwei Einmalkanülen für den Vakuum- und Argonanschluß gestochen werden. Die Lösung wird anschließend bei 80 °C mittels eines geringen Argonstromes bei leichtem Vakuum zur Trockene eingedampft. Der azeotrope Trocknungsschritt wird zweimal wiederholt, bevor die Apparatur zur vollständigen Trocknung des [^{18}F]Fluorid 5 min evakuiert wird. Anschließend wird der Reaktor mit Argon begast und das Ölbad auf die gewünschte Reaktionstemperatur erhitzt. Typischerweise werden ca. 20-30 μmol Edukt zur ^{18}F -Markierung in 500 μl des entsprechenden Lösungsmittels aufgenommen und mit einer 1 ml Spritze in das Reaktionsgefäß überführt. Während, sowie nach Beendigung der Reaktion (5-20 min) werden 30-50 μl Proben der Reaktionslösung entnommen, mit 200 μl Acetonitril verdünnt und zur Bestimmung der radiochemischen Ausbeute radiochromatographisch analysiert.

4.3.4 Synthesen mit Radioiod

Alle Radioiodsynthesen werden in Quarzglasgefäßen mit Isogewinde (GL 14) durchgeführt. Die Gefäße sind mit teflonbeschichteten Magnetrührstäbchen versehen und haben einen Innendurchmesser von ca. 11 mm. Die Quarzglasgefäße sind mit einer Schraubkappe mit einem Teflonseptum verschlossen. Für die Cu(I)-assistierte Radioiodsynthese werden konisch zulaufende Reaktionsgefäße, mit einer Höhe von 100-120 mm, verwendet. Die Destannylierungsreaktionen werden in Quarzglasgefäßen mit einer Höhe von ca. 30 mm ausgeführt. Die Reaktionstemperatur wird durch ein Kontaktthermometer-gesteuertes Ölbad eingestellt. Als Inertgas wird Argon verwendet, welches über eine Kanüle zugeführt wird. Aliquots der Reaktionslösung werden über das Septum mit einer Hamiltonspritze entnommen und mittels Radio-HPLC bzw. Radiodünnschichtchromatographie untersucht.

Cu (I) assistierte Radioiodsynthesen

Die Cu(I)-assistierten Radiosynthesen mit n.c.a. [^{131}I]Iodid werden unter wasserfreien Bedingungen in Inertgasathmosphäre ausgeführt. Im ersten Schritt wird die eingesetzte

wässrige [^{131}I]Iodid-Lösung mit 25 μl einer 50 mM Natriumbisulfit Lösung in 200 mM NaOH versetzt und innerhalb von 5 Minuten mit einem Argon-Gasstrom getrocknet. Die alkalische Bisulfitlösung dient während der Trocknung zur Vermeidung von ^{131}I -Verlusten, die einerseits durch die Bildung von flüchtigem $\text{H}[^{131}\text{I}]\text{I}$ und andererseits durch Oxidation des Radioiodids zu ebenfalls flüchtigem $^{131}\text{I}_2$ bedingt sind. Üblicherweise wird mit 2 μl (1 MBq [\cong 27 μCi]) ^{131}I -Radioiodidlösung gearbeitet. Nach dem Trocknungsschritt wird das Reaktionsgefäß mit dem in 500 μl Eisessig gelösten Brom-Vorläufer unter Argonatmosphäre beschickt. Dann werden 50 μl einer unter Inertgas stehenden Lösung aus 1 mg Kupfer(I)-chlorid in 10 ml Eisessig mit Hilfe einer Hamiltonspritze zugegeben. Das Reaktionsgefäß wird anschließend so in das auf Reaktionstemperatur erhitzte Ölbad eingetaucht, daß lediglich das Reaktionsvolumen eintaucht. Zur Bestimmung der radiochemischen Ausbeute werden 20 μl Proben entnommen, mit je 100 μl einer Quenschlössung (AcCN:H₂O 1:1 (v/v), Na₂SO₃: 0,1 M, Titriplex VII: 0,1 M) verdünnt und mittels Radio-HPLC bzw. Radiodünnschichtchromatographie untersucht.

elektrophile Destannylierung mit Radioiodid

Die elektrophile Destannylierung (zur Radiosynthese) mit n.c.a. [^{131}I]Iodid wird im wässrigem System durchgeführt. Der hierbei benötigte metallorganische Vorläufer wird in sehr geringen Stoffmengen (ca. 250 nmol) auf Eppendorfgefäße portioniert. Dieser Vorläufer wird nachfolgend in 100 μl einer Lösung aus Methanol/Eisessig 99:1 (v:v) gelöst und in das Reaktionsgefäß mit Magnetprüher überführt. Anschließend wird die Reaktionslösung mit 2 μl (1 MBq [\cong 27 μCi]) ^{131}I -Radioiodidlösung versetzt und 10 μl einer 6,6 molaren Chloramin-T Lösung zugegeben. Die Reaktionslösung wird dann für ca 1-2 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Zur Bestimmung der radiochemischen Ausbeute werden 20 μl Proben entnommen und direkt mittels Radio-HPLC bzw. Radiodünnschichtchromatographie untersucht.

4.4 Radioanalytische Verfahren

Zur schnellen Analyse und Isolierung der ^{18}F - bzw. $^{123,131}\text{I}$ -Markierungsprodukte wurde sowohl die Radiodünnschicht- als auch die Radiohochdruckflüssigkeitschromatographie angewandt.

4.4.1 Radiodünnschichtchromatographie (Radio-DC)

Diese Verfahren dient der Voruntersuchung zur Bestimmung der radiochemischen Ausbeute (RCA). Die RCA wurde nur in den Fällen über DC bestimmt, wenn aufgrund von Radio-HPLC Untersuchungen des Markierungssystems das Auftreten von radioaktiv markierten Nebenprodukten ausgeschlossen werden konnte. Die gemessenen RCA mittels Radio-HPLC und Radio-DC stimmten bei den verwendeten Trennsystemen zufriedenstellend überein. Zur dünnschichtchromatographischen Analyse der ^{18}F - bzw. $^{123,131}\text{I}$ -Markierungsprodukte werden 1 - 2 μl des Reaktionsgemisches auf mit Fluoreszenzindikator beschichtete DC-Platten, Kieselgel, DC-Alufolien F₂₅₄ s (Merck), 5 x 7,5 cm bzw. DC-Alufolien RP-18 F₂₅₄ s (Merck), 5 x 7,5 cm aufgetragen und diese mit dem entsprechenden Eluens-Gemischen entwickelt. Unter den angewendeten Trennbedingungen verbleiben jeweils anorganisches [^{18}F]Fluorid oder auch [$^{123,131}\text{I}$]Iodid am Startpunkt. Die Dünnschichtchromatogramme werden anschließend mit einem computergestützten Autoradiographiesystem MWPC „Multiwire proportional counter“ (Packard Instrument Company, Model InstantImager™) ausgewertet.

Tab. 4.1: TLC-Daten der untersuchten Verbindungen

<i>Verbindung</i>	<i>Eluens (v/v)</i>	<i>Rf-Wert</i>
4-Nitro-N-methyl-N-phenyl-benzolsulfonamid	Diethylether/Hexan 1/1	0,541
4-Fluor-N-methyl-N-phenyl-benzolsulfonamid	Diethylether/Hexan 1/1	0,615
4-Chlor-N-methyl-N-phenyl-benzolsulfonamid	Diethylether/Hexan 1/1	0,673
4-Brom-N-methyl-N-phenyl-benzolsulfonamid	Diethylether/Hexan 1/1	0,708
4-Iod-N-methyl-N-phenyl-benzolsulfonamid	Diethylether/Hexan 1/1	0,729
4-Fluor-N-methyl-N-pyridinyl-benzolsulfonamid	Diethylether/Hexan 1/1	0,456
4-Nitro-N-methyl-N-pyridinyl-benzolsulfonamid	Diethylether/Hexan 1/1	0,298
4-Tosyl-Cyclohexylcarbonsäureester (cis)	Diethylether/Hexan 1/1	0,905
4-Tosyl-Cyclohexylcarbonsäureester (trans)	Diethylether/Hexan 1/1	0,719
4-Fluor-N-methyl-N-phenyl-benzolsulfinamid	Diethylether/Hexan 6/1	0,404
4-Chlor-N-methyl-N-phenyl-benzolsulfinamid	Diethylether/Hexan 6/1	0,481
4-Brom-N-methyl-N-phenyl-benzolsulfinamid	Diethylether/Hexan 6/1	0,519
4-Iod-N-methyl-N-phenyl-benzolsulfinamid	Diethylether/Hexan 6/1	0,557

4.4.2 Radiohochdruckflüssigkeitschromatographie

Alternativ wurden die analytisch zu trennenden ^{18}F -Markierungsprodukte mit Hilfe der Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC) untersucht. Die HPLC-Anlage bestand aus einer HPLC-Pumpe (Fa. Merck/Hitachi, Typ L-6000), einem UV/VIS-Detektor (Fa. Merck/Hitachi, Typ L-4000) mit variabler Wellenlänge und einem Na(Tl)-Bohrlochkristalldetektor mit Photomultiplier (EG&G Ortec, Model 276 Photomultiplier Base) sowie dazugehörigen Verstärker (EG&G Ortec ACE-MATE™, Model 925 Scint Amplifier and Bias Supply). Zur Meßwerterfassung und -auswertung waren die Detektoren über einen Analog-Digital-Wandler an einen Meßrechner mit dem Softwarepaket Ramona (der Firma Nuklear Interface (Datentechnik für Strahlenmeßgeräte GmbH)) angeschlossen. Zur Probenaufgabe wurde ein Rheodyne-Injektor (Typ 7125) mit einer 100 μl Probenschleife eingesetzt.

Über ein zweites, der analytischen HPLC-Säule nachgeschaltetes Injektionsventil (Rheodyne, Typ 7125) mit der gleichen Probenschleife, wurden zur Bestimmung der radiochemischen Ausbeute die Vergleichsproben (drei Aliquotinjektionen) injiziert. Die radiochemische Ausbeute ließ sich dadurch bestimmen, daß die in der Produktfraktion befindliche Aktivität ins prozentuale Verhältnis zur volumen- und zerfallskorrigierten Gesamt- bzw. Startaktivität in der Vergleichsprobe gesetzt wurde.

Die analytischen HPLC-Trennungen erfolgten unter isokratischen Bedingungen an einer RP-Trennsäule des Typs LiChrosorb RP Select B-5, oder Multisorb RP-18 5μ , je 250×4 mm der Firma CS-Chromatographie Service GmbH. In Tab. 4.1 sind die chromatographischen Bedingungen sowie die k' -Werte der mittels HPLC bei Raumtemperatur getrennten Verbindungen aufgeführt.

Tab. 4.2: HPLC-Daten der untersuchten Verbindungen

<i>Verbindung</i>	<i>Eluens (v/v)</i>	<i>k'-Wert</i>
4-Fluor-N-{2-[4-(2-methoxyphenyl)-piperazin-1-yl]-ethyl}-N-pyridin-2-yl-benzolsulfonamide	$\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ 60:40	5,11*
4-Chlor-N-{2-[4-(2-methoxyphenyl)-piperazin-1-yl]-ethyl}-N-pyridin-2-yl-benzolsulfonamide	$\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$ 60:40	7,45*
4-Brom-N-{2-[4-(2-methoxyphenyl)-piperazin-1-yl]-ethyl}-N-pyridin-2-yl-benzolsulfonamide	$\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ 50:50	4,88**
4-Iod-N-{2-[4-(2-methoxyphenyl)-piperazin-1-yl]-ethyl}-N-pyridin-2-yl-benzolsulfonamid	$\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ 65:35	6,45**

4-Nitro-N-{2-[4-(2-methoxyphenyl)-piperazin-1-yl]-ethyl}-N-pyridin-2-yl-benzolsulfonamid	MeOH/H ₂ O 70:30	2,75*
4-Fluor-N-{2-[4-(2-methoxyphenyl)-piperazin-1-yl]-ethyl}-benzolsulfonamid	MeOH/H ₂ O 60:40	1,53*
4-Brom-N-{2-[4-(2-methoxyphenyl)-piperazin-1-yl]-ethyl}-benzolsulfonamid	MeOH/H ₂ O 60:40	2,74*
4-Nitro-N-{2-[4-(2-methoxyphenyl)-piperazin-1-yl]-ethyl}-benzolsulfonamid	MeOH/H ₂ O 60:40	1,60*
4-Fluor-N-{2-[4-(2-methoxyphenyl)-piperazin-1-yl]-ethyl}-N-pyridin-2-yl-benzolsulfinamid	MeOH/H ₂ O 65:35	4,02*
4-Chlor-N-{2-[4-(2-methoxyphenyl)-piperazin-1-yl]-ethyl}-N-pyridin-2-yl-benzolsulfinamid	MeOH/H ₂ O 65:35	5,87*
4-Brom-N-{2-[4-(2-methoxyphenyl)-piperazin-1-yl]-ethyl}-N-pyridin-2-yl-benzolsulfinamid	MeOH/H ₂ O 65:35	6,67*
4-Iod-N-{2-[4-(2-methoxyphenyl)-piperazin-1-yl]-ethyl}-N-pyridin-2-yl-benzolsulfinamid	MeOH/H ₂ O 60:40	8,16**
Cis 4-Fluor-{2-[4-(2-methoxyphenyl)-piperazino]ethyl}(2-pyridyl) cyclohexancarboxamid	MeOH/H ₂ O 60:40	9,13*
trans 4-Fluor-{2-[4-(2-methoxyphenyl)-piperazino]ethyl}(2-pyridyl) cyclohexancarboxamid	MeOH/H ₂ O 60:40	11,36*

* LiChrosorb RP Select B-5, 250 × 4 mm; Flußrate 1,0 ml/min

** Multisorb RP-18 5 μ , 250 × 4 mm; Flußrate 1,0 ml/min

4.4.3 Bestimmung der spezifischen Aktivitäten

Zur Bestimmung der spezifischen Aktivitäten einiger untersuchter Tracer werden mit Hilfe der HPLC-UV-Technik Eichwerte zu den entsprechenden Referenzverbindungen ermittelt. Die bei geeigneter Wellenlänge aufgenommenen Peakflächen der UV-Signale der Referenzverbindungen bei unterschiedlichen Konzentrationen wurden gegen die im untersuchten Konzentrationsbereich injizierte Stoffmenge aufgetragen. Anschließend wurde durch lineare Regression die jeweiligen Geradengleichungen bestimmt. Anhand der ermittelten UV-Peakflächen von Proben der eingesetzten radioaktiv markierten Tracer wurden dann die spezifischen Aktivitäten in TBq/mmol (bzw. Ci/mmol) bestimmt.

4- ^{18}F Fluor-N-{2-[4-(2-methoxyphenyl)-piperazin-1-yl]-ethyl}-N-pyridin-2-yl-benzol-sulfonamid (^{18}F FMPBS)

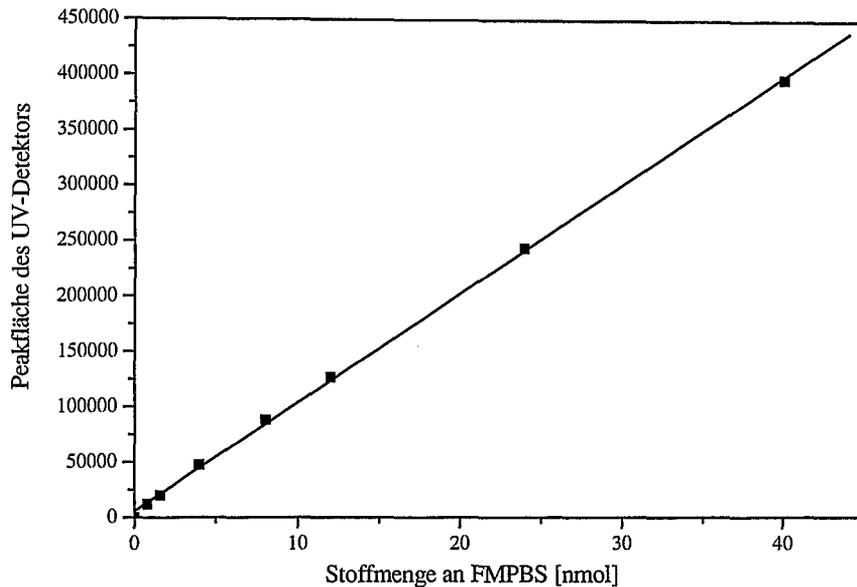


Abb. 4.1: UV-Eichgerade für FMPBS bei 254 nm Wellenlänge

Über das Flächenintegral des UV-Signals für die entsprechende n.c.a. 4- ^{18}F Fluor-N-{2-[4-(2-methoxyphenyl)-piperazin-1-yl]-ethyl}-N-pyridin-2-yl-benzolsulfonamid Präparation der Aktivexperimente und der vorliegenden Eichwerte konnte für die spezifische Aktivität ein Wert von $> 5,5 \cdot 10^2$ TBq/mmol (15000 Ci/mmol) berechnet werden.

4- ^{123}I Iod-N-{2-[4-(2-methoxyphenyl)-piperazin-1-yl]-ethyl}-N-pyridin-2-yl-benzol-sulfonamid (^{123}I IMPBS)

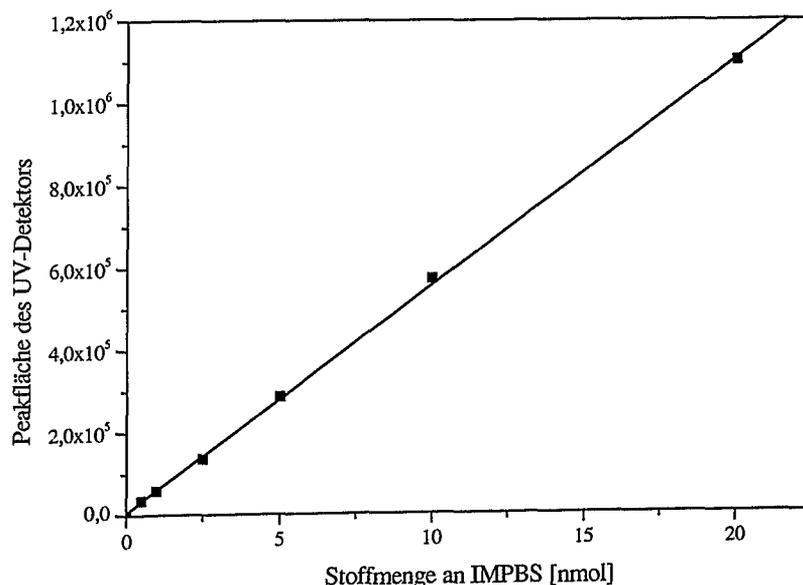


Abb. 4.2: UV-Eichgerade für IMPBS bei 254 nm Wellenlänge

Aus dem Flächenintegral des UV-Signals für die entsprechende n.c.a. 4-[¹²³I]Iod-N-{2-[4-(2-methoxyphenyl)-piperazin-1-yl)-ethyl]-N-pyridin-2-yl-benzolsulfonamid Präparation der Aktivexperimente und der vorliegenden Eichwerte konnte für die spezifische Aktivität ein Wert von $> 4,4 \cdot 10^3$ TBq/mmol (120000 Ci/mmol) berechnet werden.

4-[¹²³I]Iod-N-{2-[4-(2-methoxyphenyl)-piperazin-1-yl)-ethyl]-N-pyridin-2-yl-benzolsulfonamid ([¹²³I]IodSulfinWAY)

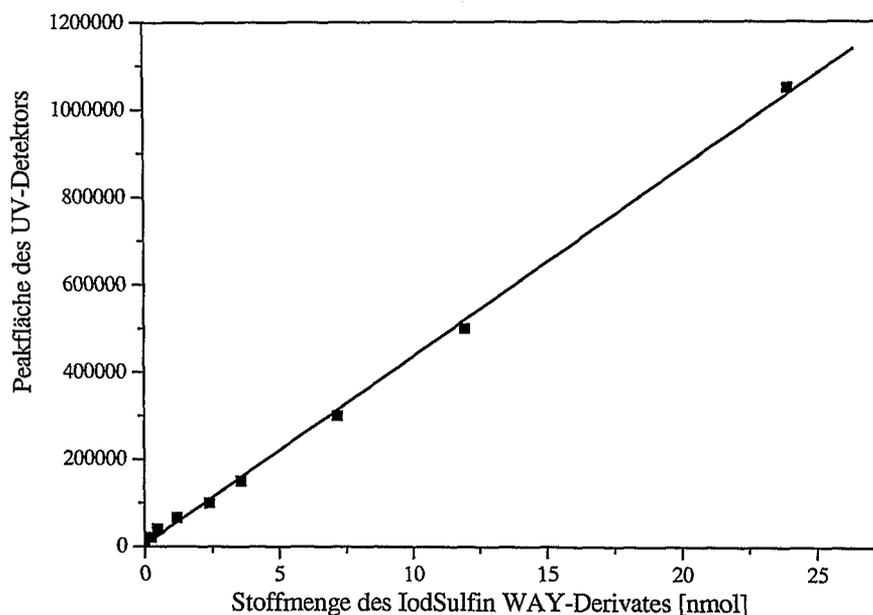


Abb. 4.3: UV-Eichgerade für IodSulfinWAY bei 254 nm Wellenlänge

Aus dem Flächenintegral des UV-Signals für die entsprechende n.c.a. 4-[¹²³I]Iod-N-{2-[4-(2-methoxyphenyl)-piperazin-1-yl)-ethyl]-N-pyridin-2-yl-benzolsulfonamid Präparation des Aktivexperimentes und der vorliegenden Eichwerte konnte für die spezifische Aktivität ein Wert von > 85 TBq/mmol (2300 Ci/mmol) berechnet werden.

4.5 Radiopharmakologische Untersuchungen

4.5.1 Bestimmung der Lipophilie von Derivaten des WAY 100635

Zur Bestimmung der Lipophilie wurden die ¹⁸F- oder ¹²³I-markierten Verbindungen mittels Radio-HPLC chromatographisch gereinigt und etwa 7-10 µl der aufgefundenen Fraktion zu einem Zweiphasengemisch aus je 3 ml isotonischer Kochsalzlösung und n-Octanol in einem

10 ml Spitzkolben mit Magnetrührstäbchen gegeben [208]. Diese Lösung wurde für 5 Minuten gerührt und zur vollständigen Phasentrennung in ein Zentrifugenglas überführt und zentrifugiert. Durch die Bestimmung der Radioaktivität in Proben beider Phasen wurde anschließend der Verteilungskoeffizient bestimmt ($n=3$). Die Bestimmung erfolgte in einem γ -Probenwechsler der Firma Packard (Typ: Minaxi γ , Auto-Gamma 5000 Series).

4.5.2 Bestimmung der Bioverteilung und metabolischen Stabilität einiger WAY Derivate bei NMRI Mäusen

Das in vivo Verhalten einiger, in dieser Arbeit synthetisierten Verbindungen wurden im Institut für Nuklearchemie am Forschungszentrum Jülich GmbH an Mäusen untersucht (Genehmigungs Nr. 23.203.2 KFA 4/92). Hierbei erfolgte eine Injektion des Fluor-18- oder Iod-131-markierten Tracers in die Schwanzvene der Maus. Dazu wurden 27-135 kBq (1-5 μ Ci) der mit Radio-HPLC chromatographisch gereinigten Verbindungen in maximal 100 μ l isotonischer Kochsalz/Ethanol-Lösung 95:5 (v:v) gelöst und injiziert. Die Maus wurde nach entsprechender Inkubationszeit geopfert, und die Organe zur Bestimmung der Bioverteilung entnommen. Das Gewicht und die Radioaktivitätsmenge des jeweiligen Organs wurden ermittelt, so daß die Bioverteilung als % Dosis / g Organ angegeben werden kann. Die Metabolitenanalysen erfolgten an Blutproben von Mäusen, welche nach 10 bzw. 60 Minuten geopfert wurden. Die Proteine im Blutplasma wurden durch Zugabe von Chloroform gefällt und abzentrifugiert. Mit der isolierten Chloroformphase wurden radiodünnschicht-chromatographischen Untersuchungen durchgeführt. Die Bestimmungen der Verbindungen erfolgte durch Vergleich der R_f -Werte mit den jeweiligen Referenzverbindungen.

5 Zusammenfassung

Zur Zeit ergeben sich in der Onkologie, der Kardiologie und der Neurologie drei große medizinische Indikationsbereiche, bei denen Untersuchungen mit der Positronen-Emissions-Tomographie (PET) und der Einzel-Photonen-Emissions-Tomographie (SPET) oft vorteilhafter als alle anderen bildgebenden Verfahren sind. Für diese Anwendungsgebiete müssen geeignete Radiotracer entwickelt werden. Unter anderem werden insbesondere Subtyp-selektive Rezeptorliganden für nicht-invasive in vivo Untersuchungen von Rezeptorarealen benötigt. Zu den wichtigsten Rezeptorliganden für das serotonerge 5-HT_{1A} Subsystem zählt der selektive Antagonist WAY 100635 (2-[4-(2-Methoxyphenyl)-piperazin-1-yl]-ethyl)-pyridin-2-yl-cyclohexylcarboxamid). Er besitzt als einziger Rezeptorligand für das 5-HT_{1A} System eine antagonistische Wirkung auf präsynaptische Autorezeptoren sowie auf postsynaptische Rezeptoren bei nur geringer Affinität zu artverwandten Rezeptorsubtypen. Im Rahmen dieser Arbeit wurden daher neue Derivate des WAY 100635 synthetisiert. Die Synthese der Markierungsvorläufer und der Standardverbindungen der neuen Derivate des WAY 100635 erfolgte durch eine Acylierungsreaktion des Amins WAY 100634 mit entsprechenden para-substituierten Säurechloriden in hohen Ausbeuten.

Zunächst erfolgte eine Derivatisierung des WAY 100635 durch die Einführung von trägerarmen (n.c.a.) [¹⁸F]Fluorid am Cyclohexylring, dem pharmakologisch nicht relevanten Teil des Moleküls. Über eine geeignete Aufbausynthese konnten die Markierungsvorläufer durch die Einführung einer Toluolsulfonsäure-Abgangsgruppe in 4-Position zur Carbonylfunktion am Cyclohexylring synthetisiert werden. Anschließend erfolgte die Trennung des cis- und trans-Diastereomers. Durch aliphatische, nukleophile Substitution mit n.c.a. [¹⁸F]Fluorid konnten die neuen potentiellen Rezeptorliganden cis- und trans-4-[¹⁸F]Fluor-2-[4-(2-methoxyphenyl)-piperazin-1-yl]-ethyl}-pyridin-2-yl-cyclohexylcarboxamid synthetisiert werden. Um den Einfluß verschiedener Reaktionsbedingungen, wie Reaktionstemperatur, Lösungsmittel und Basenzusatz bei der Substitution am Cyclohexylring studieren zu können, wurden zuvor der cis- und trans-4-Tosyloxycyclohexancarbonsäureethylester als Modellverbindungen dargestellt, isoliert und anschließend mit n.c.a. [¹⁸F]Fluorid umgesetzt.

Zur Aktivierung des n.c.a. [¹⁸F]Fluorids wurde das Kryptofix/Kaliumcarbonat-System verwendet. Bei der ¹⁸F-Fluorierung der Modellverbindungen konnte in DMSO bei einer Reaktionstemperatur von 100°C innerhalb von 10 Minuten eine maximale radiochemische Ausbeute von ca. 68 % für den cis- bzw. 14% für den trans-4-[¹⁸F]Fluorocyclohexancarbonsäureethylester erhalten werden. Diese optimierten Reaktionsbedingungen wurden auf die cis- und trans-4-Tosyloxy-2-[4-(2-methoxyphenyl)-piperazin-1-yl]-ethyl}-pyridin-2-yl-cyclohexylcarboxamide übertragen. Bei der Umsetzung dieser Vorläufermoleküle wurden

25 % für das cis- bzw. 4 % für das trans-4-[¹⁸F]Fluor-Derivat des WAY 100635 erhalten. Chromatographische Untersuchungen zeigten aufgrund der antiperiplanaren Stellung der Abgangsgruppe zum α -Proton eine bevorzugt ablaufende Eliminierungsreaktion beim cis-Edukt, was die wesentlich geringeren radiochemischen Ausbeuten für die entsprechenden ¹⁸F-markierten trans-Produkte erklärt.

Eine mögliche in vivo Stabilisierung des WAY 100635 gegenüber Metabolisierung sollte durch den Austausch der Cyclohexylcarboxamidgruppe durch eine para-substituierte Benzolsulfonamidgruppe erreicht werden. Als gut geeignete Abgangsgruppen wurden Halogenide bzw. die Nitrogruppe für eine nukleophile aromatische Substitution untersucht. Bisher gelang die Darstellung von para-[¹⁸F]Fluorbenzolsulfonamidverbindungen nur über eine Acylierungsreaktion von para-[¹⁸F]Fluorbenzolsulphonylchlorid mit NH-Verbindungen mit sehr geringen radiochemischen Ausbeuten. Daher wurde eine Direktmarkierung mit n.c.a. [¹⁸F]Fluorid an para-substituierten N-methyl-N-phenyl-benzolsulfonamiden untersucht.

Dabei konnten an der Modellverbindung mittels ¹⁸F-für-NO₂ Substitution in DMSO als Lösungsmittel bei 160°C nach einer Reaktionszeit von 15 Minuten mit dem Kryptofix/Kaliumkarbonat-System hohe radiochemische Ausbeuten von ca. 86 ± 5 % erhalten werden. Bei Halogenen als nukleofuge Gruppe ergab sich folgende Reihung der RCA: F 84 ± 5 % > Br 43 ± 5 % > Cl 35 ± 5 % > I 32 ± 5 %. Es zeigt sich somit, daß Sulfonamidgruppen für eine direkte nukleophile aromatische Substitution sehr gut geeignet sind. Anschließend erfolgte die Übertragung der optimierten Reaktionsparameter auf die Sulfonamidderivate des WAY 100635. Bei der Verwendung der Halogen-Abgangsgruppen konnte wie bei der Modellverbindung die gleiche Reihenfolge der RCA mit F 92 ± 5 % > Br 63 ± 5 % > Cl 55 ± 5 % > I 36 ± 5 % beobachtet werden. Überraschenderweise erfolgte die ¹⁸F-für-NO₂ Substitution in schlecht reproduzierbarer radiochemischer Ausbeute von nur 9 ± 7 %. Für mögliche SPET-Anwendungen des potentiellen Rezeptorliganden wurde ausgehend von 4-Brom-N-{2-[4-(2-methoxyphenyl)-piperazin-1-yl]-ethyl}-N-pyridin-2-yl-benzolsulfonamid (BrMPBS) mittels regiospezifischer Cu(I)-assistierter Substitution mit [^{120,131}I]Iodid das 4-[^{120,131}I]Iod-benzolsulfonamid (IMPBS) dargestellt. Die Radioiodierung von BrMPBS mit Cu(I)Cl erfolgte in Eisessig als Lösungsmittel bei 170°C. Nach einer Reaktionszeit von 40 Minuten konnte [^{120,131}I]IMPBS mit einer maximalen radiochemischen Ausbeute von ca. 91 ± 4 % erhalten werden.

Weiterhin wurden para-substituierte Benzolsulfonamidgruppen als Ersatz für die Cyclohexylcarboxamidgruppe im WAY 100635 untersucht. Als nukleofuge Gruppen wurden für die nukleophile aromatische Substitution die Halogene (F, Cl, Br und I) untersucht. Für die untersuchten para-substituierten N-methyl-N-phenylbenzolsulfonamide sowie die para-substituierten N-{2-[4-(2-methoxyphenyl)-piperazin-1-yl]-ethyl}-N-pyridin-2-yl-benzol-

sulfonamide konnten bei gleichen Reaktionsbedingungen, welche auch für die ^{18}F -Fluorierung der para-substituierten Benzolsulfonamide-Derivate verwendet wurden, keine nukleophile Substitution mit n.c.a. ^{18}F Fluorid beobachtet werden. Es erfolgte lediglich eine schnelle Zersetzung der Edukte.

Zur Darstellung des (R,S) 4- $^{123,131}\text{I}$ Iod-benzolsulfonamids konnte daher die Cu(I)-assistierte Radioiodierung keine Anwendung finden. Aus diesem Grund wurde als Markierungsvorläufer 4-Tributylzinn-N-{2-[4-(2-methoxy-phenyl)-piperazin-1-yl]-ethyl}-pyridin-2-yl-benzolsulfonamid ausgehend von der entsprechenden Iodverbindung synthetisiert, welches für eine Demetallierungsreaktion unter sehr milden Bedingungen geeignet war. Die Demetallierungsreaktion erfolgte in Methanol/Eisessig mit n.c.a. $^{123,131}\text{I}$ Iodid und Chloamin-T innerhalb von 2 min bei Raumtemperatur, wobei das (R,S) 4- $^{123,131}\text{I}$ Iod-benzolsulfonamid in radiochemischen Ausbeuten von ca. $78 \pm 6 \%$ erhalten werden konnte.

Bei Metabolitenstudien im Blutplasma von Mäusen konnte die angestrebte Stabilisierung der Sulfonamidbindung gegenüber der Amidbindung am WAY 100635 bestätigt werden. Mittels dünnschichtchromatographischer Untersuchungen von Blutplasma wurden 60 Minuten nach i.V. Injektion des Tracers weniger als 10 % para- ^{18}F Fluorsulfonsäure detektiert, während WAY 100635 in dieser Zeit fast vollständig zersetzt wird. Auch beim (R,S) 4- ^{131}I Iod-N-{2-[4-(2-methoxyphenyl)-piperazin-1-yl]-ethyl}-N-pyridin-2-yl-benzolsulfonamid konnte im Blutplasma von Mäusen keine para- ^{131}I Iodsulfonsäure bzw. para- ^{131}I Iodsulfonsäure detektiert werden. Jedoch lagen die K_i Werte, gemessen gegen ^3H OH-DPAT, der neuen Radioliganden nicht im nanomolaren Bereich, wie in ersten präklinischen Studien festgestellt wurde. Anhand weiterer autoradiographischer Untersuchungen sowie Bioverteilungsstudien von ^{18}F FMPBS und dem (R,S) 4- ^{131}I Iod-N-{2-[4-(2-methoxyphenyl)-piperazin-1-yl]-ethyl}-N-pyridin-2-yl-benzolsulfonamid bestätigte sich der Verlust der Subtyp-Selektivität.

Durch Derivatisierung des 5-HT_{1A} Subtyp-selektiven Rezeptorliganden WAY 100635 wurden Fluor-18 bzw. Iod-123 markierte potentielle Rezeptorliganden dargestellt. Unter Verwendung der Sulfonamidgruppe als aktivierende Gruppe für die nukleophile Substitution konnte Fluor-18 am Aromaten in hohen radiochemischen Ausbeuten eingeführt werden. Die Radiosynthese der potentiellen Rezeptorliganden erfolgte in hohen radiochemischen Ausbeuten und mit hoher spezifischer Aktivität ($8,5 \cdot 10^1 - 4,4 \cdot 10^3$ TBq/mmol). Vor allem durch die Derivatisierung der Amidfunktion konnte unter Verwendung der Sulfon- bzw. Sulfonamidfunktion eine Stabilisierung gegenüber Metabolisierungsprozessen im Blutplasma von Mäusen erreicht werden. Die 5-HT_{1A} Subtyp-Selektivität ging aufgrund der Derivatisierung allerdings verloren.

6 Literatur

- [1] Hevesy G.: in: Adventures in radiation research. The collected papers of Georg Hevesy. Pergamon Press, Oxford, 11 (1962).
- [2] Brucer M.: A chronology of nuclear medicine. Mallinckrodt Medical Heritage Publications, Inc., St.Louis (1990).
- [3] Stöcklin G., Qaim S.M., Rösch F.: The impact of radioactivity on medicine. *Radiochimica Acta* **70/71**, 249 (1995).
- [4] Wendt I.: Radiometrische Methoden in der Geochronologie, Clausthaler Tektonische Hefte, Ellen Pilger Verlag, Clausthal-Zellerfeld (1971)
- [5] Hoffmann R. W.: Aufklärung von Reaktionsmechanismen, Theoretische und allgemeine Gebiete; Georg Thieme Verlag Stuttgart (1976)
- [6] Charon Y., Laniece P. und Tricoire H.: Radio-Imaging for quantitative autoradiography in biology; *Nucl. Med. & Biol.* **25**, 699 (1998)
- [7] Chard T.: An introduction to radioimmunoassay and related techniques. In: Laboratory techniques in Biochemistry and Molecular Biology, Ed: Work T.S. und Work E., Vol. 6, Part II, Noth Holland (1978)
- [8] Schicha H.: Kompendium der Nuklearmedizin, Schattenauer Verlag, Stuttgart (1991)
- [9] Stöcklin G.: Erzeugung künstlicher Radionuklide. S.25 in „Ullmanns Encyclopädie der technischen Chemie.“ Bd 20. Erzeugung künstlicher Radionuklide. VCH, Weinheim, 25 (1981).
- [10] Bremer K.H.: Anwendung von Radionukliden in der Medizin. S.59 in „Ullmanns Encyclopädie der technischen Chemie.“ Bd 20. Erzeugung künstlicher Radionuklide. VCH, Weinheim, 25 (1981).
- [11] Coenen H.H.: Radiopharmazeutische Chemie: Grundlagen zur in vivo Untersuchung molekularer Vorgänge mit PET. *Der Nuklearmediziner* **17**, 203 (1994).
- [12] Stöcklin G. in: Handbuch der medizinischen Radiologie, Band XV / 1 B Springer Verlag Berlin, Heidelberg, New York (1988)
- [13] Pagani M., Stone-Elander S., Larsson S.A.: Alternative positron emission tomography with non-conventional positron emitters: Effects of their physical properties on image quality and potential clinical applications. *Eur. J. Nucl. Med.* **24**, 1301 (1997).
- [14] Gallagher B.M., Fowler J.S., Gutterson N.I., McGregor R.R., Wan C.N., Wolf A.P.: Metabolic trapping as a principle of radiopharmaceutical design: Some factors for the biodistribution of [^{18}F]2-fluoro-2-deoxy-D-glucose. *J. Nucl. Med.* **30**, 359 (1978).
- [15] Reivich M., Kuhl D.E., Wolf A.P., Grennberg J., Phelps M.E., Ido T., Casella V., Fowler J.S., Hoffman E.J., Alavi A., Som P., Sokoloff L.: The [^{18}F]fluoro-

- deoxyglucose method for the measurement of local glucose utilization in man. *Circ. Res.* **44**, 127 (1979).
- [16] Phelps M.E., Huang S.C., Hoffman E.J., Selin C., Sokoloff L., Kuhl D.E.: Tomographic measurement of local glucose metabolic rate in humans with [¹⁸F]2-fluoro-2-deoxy-D-glucose: Validation of method. *Ann. Neurol.* **6**, 371 (1979).
- [17] Knapp F.F., Mirzadeh S.: The continuing important role of radionuclide generator systems for nuclear medicine. *Eur. J. Nucl. Med.* **21**, 1151 (1994).
- [18] Phelps M.E., Mazziotta J., Schelbert H.: Positron emission tomography and autoradiography. Raven Press, New York (1986).
- [19] Wienhard K., Wagner R., Heiss W.D.: PET-Grundlagen und Anwendungen der Positronen-Emissions-Tomography. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg (1989).
- [20] McCarthy T.J., Schwarz S.W., Welch M.J.: Nuclear medicine and positron emission tomography: An overview. *J. Chem. Educ.* **71**, 830 (1994).
- [21] Lieser K.H.: Einführung in die Kernchemie, Verlag Chemie, Weinheim 1980
- [22] Ache H.J.: Chemie des Positrons und Positroniums. *Angew. Chem.* **84**, 234 (1972).
- [23] Ter-Pogossian M.M., Raichle M.E., Sobel B.E.: Tomographie mit radioaktiv markierten Substanzen. *Spekt. der Wissenschaften* **12**, 121 (1980).
- [24] Qaim S.M.: Nuclear data relevant to cyclotron produced short-lived medical radioisotopes. *Radiochimica Acta* **30**, 147 (1982).
- [25] Stöcklin G., Pike V.W. (Eds.): Radiopharmaceuticals for positron emission tomography. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Boston, London (1993).
- [26] Hohn A., Herzog H., Qaim S.M., Tellmann L., Coenen H.H.: Comparative studies on the production of ¹²⁰I and phantom measurements with PET. *J. Label. Compds. Radiopharm.* **42**, 25 (1999).
- [27] Anderson C.J., Welch M.J.: Radiometal-labeled agents (non-technetium) for diagnostic imaging. *Chem. Rev.* **99**, 2219 (1999).
- [28] Kupferschläger J., Bilger K., Müller-Schauenburg W., Bares R.: Theorie und Praxis der Abschwächungskorrektur. *Der Nuklearmediziner* **22**, 97 (1999).
- [29] Meyer G.J., Coenen H.H., Waters S., Langström B., Cantineau R., Strijckmans K., Vaalburg W., Halldin C., Crouzel C., Maziere B. und Luxen A.: Quality assurance and quality control of short lived radiopharmaceuticals for PET. In: Radiopharmaceuticals for PET, Methodical aspects. Eds.: Stöcklin G. und Pike V.W. Developments in Nuclear Medicine, Vol 24, 3 91-150, Kuwer Academic Publishers (1993)
- [30] Qaim S.M. und Stöcklin G.: Production of some medically important short-lived neutron deficient radioisotopes of halogenes.; *Radiochimica Acta* **34**, 25 (1983)
- [31] Guillaume M., Luxen A., Nebeling B., Argenti M., Clark J.C. und Pike V.W.: Recommendations for fluorine-18 production.; *Appl. Radiat. Isot.* **42**, 749 (1991)

- [32] Hess E., Blessing G., Coenen H.H. und Qaim S.M.: Improved target system for production of high purity [^{18}F]fluorine via the $^{18}\text{O}(\text{p},\text{n})^{18}\text{F}$ reaction; *Appl. Radiat. Isot.* **52**, 1431 (2000)
- [33] Seevers R.H., Counsell R.E.: Radioiodination techniques for small organic molecules; *Chem. Rev.* **82**, 575 (1982).
- [34] Coenen H.H., Moerlein S.M., Stöcklin G.: No-carrier-added radiohalogenation methods with heavy halogens; *Radiochimica Acta* **34**, 47 (1983).
- [35] Stöcklin G.: Bromine-77 and iodine-123 radiopharmaceuticals; *Appl. Radiat. Isot.* **28**, 131 (1977).
- [36] Bourguignon M.H., Pauwels E.K.J., Loch C., Mazière B.: Iodine-123 labelled radiopharmaceuticals and single-photon-emission-computed tomography: a natural liaison; *Eur. J. Nucl. Med.* **24**, 331 (1997).
- [37] Dewanjee M.K.: Radioiodination: Theory, Practice and Biomedical Applications. Kluwer Academic, Boston. (1991).
- [38] Tárkányi F., Qaim S.M., Stöcklin G., Sajjad M., Lambrecht R.M., Schweickert H.: Excitation functions of (p, 2n) and (p, pn) reactions and differential and integral yields of ^{123}I in proton induced nuclear reactions on highly enriched ^{124}Xe ; *Appl. Radiat. Isot.* **42**, 221 (1991).
- [39] Michael H., Rosezin H., Apelt H., Blessing G., Knieper J., Qaim S.M.: Some technical improvements in the production of Iod-123 via the $^{124}\text{Te}(\text{p}, 2\text{n})^{123}\text{I}$ reaction at a compact cyclotron; *Appl. Radiat. Isot.* **32**, 581 (1981).
- [40] Qaim S.M.: Recent developments in the production of F-18, Br-75,-76 and -77 and I-123; *Appl. Radiat. Isot.* **37**, 803 (1986).
- [41] Muhsen S.F., Garber D.I.: Neutron Cross Sections (BNL 325). Third Edition, Volume I, Brookhaven National Laboratory, (1973).
- [42] Hunter D.H., Zhu X.: Polymer-supported radiopharmaceuticals: [^{131}I]MIBG and [^{123}I]MIBG; *J. Label. Compds. Radiopharm.* **42**, 653 (1999).
- [43] Farah K., Farouk N.: Electrophilic radioiodination of tyrosine derivatives; *J. Label. Compds. Radiopharm.* **41**, 255 (1998).
- [44] Yurt F., Unak P., Ozkilik H., Uluc F., Bagci S. und Tuglular I: Labeling of Zopiclone with Iodine-131; *Nucl. Med. & Biol.* **26**, 827 (1999).
- [45] Kondo K., Lambrecht R.M., Wolf A.P.: ^{123}I production for radiopharmaceuticals-XX. Excitation functions of the $^{124}\text{Te}(\text{d}, 2\text{n})^{123}\text{I}$ and $^{124}\text{Te}(\text{p}, \text{n})^{124}\text{I}$ reactions and effect of target enrichment on radionuclidic purity; *Appl. Radiat. Isot.* **28**, 395 (1977).
- [46] Lambrecht R.M., Sajjad M., Qureshi M.A., Al-Yanbawi S.J.: Production of ^{124}I ; *J. Radioanal. Nucl. Chem. Letts.* **127**, 143 (1988).

- [47] Scholten B., Kovacs Z., Tárkányi F., Qaim S.M.: Excitation functions of $^{124}\text{Te}(p, xn)^{124, 123}\text{I}$ reactions from 6 to 31 MeV with special reference to the production of ^{124}I at a small cyclotron; *Appl. Radiat. Isot.* **46**, 255 (1995).
- [48] Langen K., Coenen H.H., Roosen N., Kling P., Muzik O., Herzog H., Kuvert T., Stöcklin G, Feinendegen L.E.: SPECT studies of brain tumors with L-3- ^{123}I iodo- α -methyltyrosine: Comparison with PET, ^{124}IMT and first clinical results; *J. Nucl. Med.* **31**, 281 (1990).
- [49] Coenen H.H., Dutschka K., Farahati J., Geworski L., Müller S.P., Reiners C.: N.c.a. radiosynthesis of $^{123, 124}\text{I}$ β -CIT, plasma analysis and pharmacokinetic studies with SPECT and PET; *Nucl. Med. Biol.* **22**, 977 (1995).
- [50] Guenther I., Wyer L., Knust E.J., Finn R.D., Kozirowski J., Weinreich R.: Radiosynthesis and quality assurance of 5- ^{124}I iodo-2'-deoxyuridine for functional PET imaging of cell proliferation; *Nucl. Med. Biol.* **25**, 359 (1998).
- [51] Hohn A., Scholten B., Coenen H.H., Qaim S.M.: Excitation functions of (p, xn) reactions on highly enriched ^{122}Te : Relevance to the production of ^{120g}I ; *Appl. Radiat. Isot.* **49**, 93 (1998).
- [52] Hohn A., Coenen H.H., Qaim S.M.: Nuclear data relevant to the production of ^{120g}I via the $^{120}\text{Te}(p, n)$ -process at a small-sized cyclotron; *Appl. Radiat. Isot.* **49**, 1493 (1998).
- [53] Visser G.W.M., Bakker C.N.M., Herscheid J.D.M., Brinkman G. und Hoekstra A.: The Chemical Properties of ^{18}F -Acetylhypofluorite in Acetic Acid Solution; *J. Label. Compds. Radiopharm.* **21**, 1226 (1984)
- [54] Firnau G., Chirakal R. und Garnett E.S.: Aromatic Radiofluorination with ^{18}F F_2 in anhydrous Hydrogen Fluorid; *J. Label. Compds. Radiopharm.* **23**, 1106 (1986)
- [55] Adam M.J., Grierson J.R., Ruth T.J. und Jivan S.: Reaction of ^{18}F acetylhypofluorite with derivatives of dihydroxyphenylalanine. Synthesis of L- ^{18}F 6-fluorodopa; *Appl. Radiat. Isot.* **37**, 877 (1986)
- [56] Coenen H.H., Moerlein S.M.: Regiospecific Aromatic Fluorodemetalation of Group IVb Metalloarenes using Elemental Fluorine or Acetyl Hypofluorite; *J. Fluorine Chem.* **36**, 63 (1987)
- [57] Adam M.J., Abeysekaera B.F., Ruth T.J., Jiwan S., Pate B.D.; Fluorination of Aromatic Compounds by Cleavage of Aryl-Tin Bond with $(\text{F-18})\text{F}_2$ and CH_3COOF ; *J. Label. Compds. Radiopharm.* **21**, 1227 (1984)
- [58] Coenen H.H., Franken K., Metwally S. und Stöcklin G.: Elektrophilic radiofluorination of aromatic compounds with ^{18}F F_2 and ^{18}F $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{F}$ and regioselective preparation of L-p- ^{18}F fluorophenylalanine; *J. Label. Compds. Radiopharm.* **33**, 1179 (1986)

- [59] Doran D.M. und Spar I.L.: Oxidative iodine monochloride iodination technique; *J. Immunol. Methods* **39**, 155 (1980).
- [60] Lambrecht R.M., Mantescu C., Redvanly C. und Wolf A.P.: Preparation of high-purity carrier-free ^{123}I -iodine-monochloride as iodination reagent for synthesis of radiopharmaceuticals, IV; *J. Nucl. Med.* **13**, 266 (1972).
- [61] Coenen H.H., Thinius O. und Dutschka K.: Iodine monofluoride: a new reagent for n.c.a. radioiodination of arenes in comparison to I_2 , IBr , ICl ; *J. Label. Compds. Radiopharm.* **37**, 137 (1995).
- [62] Thinius O., Dutschka K. und Coenen H.H.: Reactivity of iodine monofluoride on sub-micromolar scale with arenes; *Tetrahedron Lett.* **35**, 9701 (1994).
- [63] Moerlein S.M.: Regiospecific aromatic radioiodination via no-carrier-added copper(I) chloride-assisted iododebromination; *Radiochimica Acta* **50**, 55 (1990).
- [64] Jirousek L.: On the chemical nature of iodinating species; *J. Radioanal. Chem.* **65**, 139 (1981).
- [65] Coenen H.H., Petzold G. und Stöcklin G.: Recent studies of radiobromination and -iodination (nca) with chloramine-T and dichloramine-T in aqueous and organic solvents; *J. Label. Compds. Radiopharm.* **19**, 1580 (1982).
- [66] Petzold G.S.: Untersuchungen zur elektrophilen Radiobromierung und -iodierung aromatischer Verbindungen mit N-Halogenverbindungen ohne Trägerzusatz. *Dissertation Universität zu Köln, Berichte der Kernforschungsanlage Jülich, JÜL* 1810 (1982).
- [67] Youfeng H., Coenen H.H., Petzold G. und Stöcklin G.: A comparative study of simple aromatic compounds via N-halosuccinimides and Chloramin-T in TFAA; *J. Label. Compds. Radiopharm.* **19**, 807 (1982).
- [68] Coenen H.H., El-Wetery A.S. und Stöcklin G.: Further studies on practically carrier-free ^{123}I -iodination and $^{75,77}\text{Br}$ -bromination of aromatic substrates; *J. Label. Compds. Radiopharm.* **18**, 114 (1981).
- [69] Mennicke E., Holschbach M. und Coenen H.H.: N.c.a. radioiodination of deactivated arenes with N-chlorosuccinimide in Trifluoromethanesulfonic acid; *J. Label. Compds. Radiopharm.* **42**, 801 (1999)
- [70] Moerlein S.M., Mathis C.A. und Yano Y.: Comparative evaluation of electrophilic aromatic iododemetalation techniques for labeling radiopharmaceuticals with Iodine 122; *Appl. Radiat. Isot.* **38**, 85 (1987).
- [71] Moerlein S.M., Beyer W. und Stöcklin G.: No-carrier-added radiobromination and radioiodination of aromatic rings using *in situ* generated peracetic acid; *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I* 779 (1988).

- [72] Mennicke E., Hennecken H., Holschbach M. und Coenen H.H.: Thallium-tris(trifluoroacetate): A powerful reagent for the n.c.a. radioiodination of weakly activated arenes; *Eur. J. Nucl. Med.* **25**, 843 (1998).
- [73] Mennicke E., Holschbach M. und Coenen H.H.: Direct n.c.a. radioiodination of weakly activated arenes using metal salts; *Radiochimica Acta*, in press
- [74] Machulla H.J., Shanshal A. und Stöcklin G.: $^{123(125)}\text{Xe}$ -exposed KIO_3 , a reagent for iodination with high specific activity; *Radiochimica Acta* **24**, 42 (1977).
- [75] Langen K., Roosen N., Coenen H.H., Kuikka J.T., Kuwert T., Herzog H., Stöcklin G. und Feinendegen L.E.: Brain and brain tumor uptake of L-3- ^{123}I iodo- α -methyl tyrosine: Competition with natural amino acids; *J. Nucl. Med.* **32**, 1225 (1991).
- [76] Biersack H.J., Coenen H.H., Stöcklin G., Reichmann K., Bockisch A., Oehr P., Kashab M. und Rollmann O.: Imaging of brain tumors with L-3- ^{123}I iodo- α -methyl tyrosine and SPECT; *J. Nucl. Med.* **30**, 110 (1989).
- [77] Morrison M. und Bayse G.S.: Catalysis of Iodination by Lactoperoxidase; *Biochemistry* **9**, 2995 (1970)
- [78] Hadi U.A.M., Malcome-Lawes D.J. und Oldham G.: The labelling of small molecules with radioiodine; *Appl. Radiat. Isot.* **29**, 621 (1978).
- [79] Moore D.H. und Wolf W.: Electrochemical Radioiodination of Estradiol; *J. Label. Compds. Radiopharm.* **15**, 443 (1978)
- [80] Teare F.W. und Rosenberg R.A.: Micro-electrolytic radioiodination of of polypeptide hormones to high specific activity; *Appl. Radiat. Isot.* **29**, 567 (1978).
- [81] Kabalka G.W. und Goodmann M.M.: Synthesis of radiopharmaceuticals via organoboranes. S. 289-301 in „New trends in radiopharmaceutical synthesis, quality assurance and regulatory control. A.M. Emran (Ed.), Plenum Press, N.Y. (1991).
- [82] Kabalka G.W. und Varma R.S.: The synthesis of radiolabeled compounds via organometallic intermediates; *Tetrahedron* **45**, 6601 (1989).
- [83] Moerlein S.M. und Coenen H.H.: Regiospecific no-carrier-added radiobromination and radioiodination of aryltrimethyl group IVb organometallics; *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I* 1941 (1985).
- [84] Metwally S.A.M., Gatley S.J., Wolf A.P. und Yu D.W.: Synthesis and Binding to Striatal Membranes of No Carrier Added I-123 Labeled 4'-Iodococaine; *J. Label. Compds. Radiopharm.* **31**, 219 (1992)
- [85] Clanton J.A. de Paulis T., Schmidt D.E., Ansari M.S., Manning R.G., Baldwin R.M. und Kessler R.M.: Preparation of ^{123}I - and ^{125}I Epidepride: A Dopamin D-2 receptor antagonist radioligand; *J. Label. Compds. Radiopharm.* **29**, 745 (1991).
- [86] Emond P., Boazi M., Duchene A., Chalon S., Besnard J.C., Guilloteau D. und Frangin Y.: Synthesis of Iodinated and Radioiodinated (E)-N-(3-Iodoprop-2-enyl)-2 β -

- carbomethoxy-3 β -(3',4'-dichlorophenyl) nortropine (β -CDIT): A Ligand for the Dopamine Transporter; *J. Label. Compds. Radiopharm.* **39**, 757 (1997).
- [87] Flanagan R.J.; The synthesis of halogenated radiopharmaceuticals using organomercurials. S. 279-288 in „New trends in radiopharmaceutical synthesis, quality assurance and regulatory control.“ A.M. Emran (Ed.), Plenum Press, N.Y. (1991).
- [88] McKillop A., Taylor E.C., Fowler J.S., Zelesko M.J., Hunt J.D. und McGillivray G.: Thallium in organic synthesis. X. A one-step synthesis of aryl iodides; *Tetrahedron Lett.* **29**, 2427 (1969).
- [89] McKillop A., Hunt J.D., Zelesko M.J., Fowler J.S., Taylor E.C., McGillivray G. und Kienzle F.: Thallium in organic synthesis. XXII. Electrophilic aromatic thallation using thallium(III) trifluoroacetate. A simple synthesis of aromatic iodides; *J. Am. Chem. Soc.* **93**, 4841 (1971).
- [90] Carruthers W. und Pooranamoorthy R.; 7-, 8-, 9- and 10-methylbenzo[*a*]fluorene. Preparation of *o*-iodotoluic acids *via* thallium(III) bistrifluoroacetates. *J. Chem. Soc. Perkin Trans I* 2405 (1974).
- [91] Ferraz H.M.C., Silva L.F. und Vieira T. O.: Thallium(III) in organic synthesis; *Synthesis*, 2001 (1999).
- [92] Coenen H.H.: No-carrier-added ¹⁸F-chemistry of radiopharmaceuticals. In: Synthesis and application of isotopically labelled compounds, (T.A. Baillie and J.R. Joenes eds.). Elsevier Publ., Amsterdam; 433, (1989)
- [93] Hamacher K., Coenen H.H. und Stöcklin G.: Efficient stereospecific synthesis of no-carrier-added 2-[¹⁸F]Fluor-2-deoxy-D-glucose using aminopolyether supported nucleophilic substitution; *J. Nucl. Med.* **27**, 235 (1986)
- [94] Haka M. S., Kilbourn M.R., Watkins G.L. und Toorongian S.A.: Aryltrimethylammonium Trifluoromethanesulfonates as Precursors to Aryl [¹⁸F]Fluorides: Improved Synthesis of [¹⁸F]GBR-13119; *J. Label. Compds. Radiopharm.* **27**, 823 (1989)
- [95] Angelini G., Speranza M., Wolf A.P., Shiue C.-Y., Fowler J.S. und Watanabe M.: New Developments in the Synthesis of no-Carrier-Added (NCA) ¹⁸F-Labelled Aryl Fluorides Using the Nucleophilic Aromatic Substitution Reaction; *J. Label. Compds. Radiopharm.* **21**, 1223 (1984)
- [96] Hamacher K., Coenen H.H. und Stöcklin G.: N.c.a. radiofluorination of spiperone and N-methylspiperone *via* aminopolyether supported direct nucleophilic substitution; *J. Label. Compds. Radiopharm.* **23**, 1047 (1986)
- [97] Banks W.R., Satter M.R., Hwang D.H.: A new method for the n.c.a. Production of [¹⁸F]Fluoromethane; *Appl. Radiat. Isot.* **45**, 69 (1994)

- [98] Holden J. E., Gatley S. J., Hichwa R. D., Ip W. R., Shaughnessy W. J. and Polcyn R. E.: Cerebral Blood Flow Using PET Measurements of Fluoromethane Kinetics; *J. Nucl. Med.* **22**, 1084 (1981)
- [99] Gail R. und Coenen H.H.: A One Step Preparation of the n.c.a. Fluorine-18 Labelled Synthons; 4-Fluorobromobenzene and 4-Fluoriodobenzene; *Appl. Radiat. Isot.* **45**, 105 (1993)
- [100] Ermert J., Gail R. und Coenen H.H.: Halogen Activation of the aromatic Ring. A new Approach for the Synthesis of 2- and 3-[¹⁸F]Fluoroalkylarenes?; *J. Label. Compds. Radiopharm.* **37**, 581 (1995)
- [101] Gail R., Coenen H.H. und Stöcklin G.: ¹⁸F-Fluoroarylation by 4-[¹⁸F]fluorophenyllithium via 4-[¹⁸F]fluorohalobenzenes; *J. Label. Compds. Radiopharm.* **35**, 197 (1994)
- [102] Hatano K., Ido T. und Iwata R.: The Synthesis of o- and p-[¹⁸F]Fluorobenzyl-Bromides and their Application to the Preparation of Labeled Neuroleptics; *J. Label. Compds. Radiopharm.* **29**, 373 (1991)
- [103] Plenevaux A., Lemaire C., Palmer A. J., Damhaut P. und Comar D.: Synthesis of Non-activated ¹⁸F-Fluorinated Aromatic Compounds through Nucleophilic Substitution and Decarboxylation Reaction; *Appl. Radiat. Isot.* **43**, 1035 (1992)
- [104] Hocke C., Gail R. und Coenen H.H.: Direct n.c.a. ¹⁸F-fluorination of halo- and alkylarenes via corresponding diphenyliodonium salts; *J. Label. Compds. Radiopharm.* **40**, 50 (1997)
- [105] Pike V.W., Aigbirhio F. I.: Reactions of [¹⁸F]Fluorid with Aryliodonium Salts – a Novel Route to No-carrier-added Aryl [¹⁸F]Fluorides; *J. Label. Compds. Radiopharm.* **37**, 120 (1995)
- [106] Abbadi M., Mathieu J.-P. und Morin C.: A synthesis of 4-deoxy-4-iodo-D-glucose suitable for radiolabelling; *J. Label. Compds. Radiopharm.* **39**, 487 (1997).
- [107] Henry C., Koumanov F., Ghezzi C., Morin C., Mathieu J.-P., Vidal M., de Leiris J., Comet M. und Fagret D.: [¹²³I]-6-deoxy-6-iodo-D-glucose (6DIG): A potential tracer of glucose transport; *Nucl. Med. Biol.* **24**, 527 (1997).
- [108] Lindley J.: Copper assisted nucleophilic substitution of aryl halogen; *Tetrahedron* **40**, 1433 (1984).
- [109] Clark J.H. und Jones C.W.: Reverse halogenation using supported copper(I)iodide; *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* 1409 (1987).
- [110] Schirbel A und Coenen H.H.: Comparisation of non-isotopic exchange methods for n.c.a. labelling of 2-iodophenyl-metyrapone; *Nucl. Med. Biol.* **22**, 1075 (1995)
- [111] Mertens J., Gysemans M., Bossuyt-Piron C. und Thomas M.: High Yield Preparation of pure 2-Radioiodo-Ketanserin of high specific Activity, a Serotonin S₂ Receptor Tracer for SPECT; *J. Label. Compds. Radiopharm.* **28**, 731 (1990).

- [112] Mertens J., Vanryckeghem W., Gysemans M., Eesels J., Finda-Panek E. und Carlesen L.: New fast preparation of ^{123}I -labelled radiopharmaceuticals; *Eur. J. Nucl. Med.* **13**, 380 (1987).
- [113] Henneken H.: Zur praktisch trägerfreien (n.c.a.) Markierung von Nitroimidazol-Aminosäure-Konjugaten mit Radioiod zur tomographischen Untersuchung hypoxischer Zellen. *Dissertation Uni Köln, Berichte der Kernforschungsanlage Jülich*, JÜL 3162 (1995).
- [114] Brandau W., Niehoff T., Pulawski P., Jonas M., Dutschka K., Sciuk J, Coenen H.H. und Schober O.: Structure distribution relationship of iodine-123-iodobenzamides as tracers for the detection of melanotic melanoma; *J. Nucl. Med.* **37**, 1865 (1996).
- [115] Block D., Coenen H.H. und Stöcklin G.: N.c.a. ^{18}F -Fluoroalkylation of H-Acidic Compounds; *J. Label. Compds. Radiopharm.* **25**, 201 (1988)
- [116] McCarthy T. J., Dence C.S. und Welch M. J.: Application of Microwave Heating to the Synthesis of [^{18}F]Fluoromisonidazole; *Appl. Radiat. Isot.* **44**, 1129 (1993)
- [117] Kilbourn M. R., Dence C.S., Welch M. J und Mathias C.J.: Fluorine-18 labeling of proteins; *J. Nucl. Med.* **28**, 462 (1987)
- [118] Block D., Coenen H.H. und Stöcklin G.: N.C.A. ^{18}F -Fluoroacylation via Fluorocarboxylic Acid Esters; *J. Label. Compds. Radiopharm.* **25**, 185 (1988)
- [119] Shai Y., Kirk K.L., Channing M.A., Dunn B.B. Lesniak M.A., Eastman R.C., Finn R.D., Roth J. und Jacobson K.A.: ^{18}F -Labelled Insulin: A Prothectic Group Methodology for Incorporation of a Positron Emitter into Peptides and Proteins; *Biochem.* **28**, 4801 (1989)
- [120] Ludwig T., Gail R. und Coenen H.H.: N.c.a. ^{18}F -Fluoroarylation via Organometallic Intermediates; *J. Nucl. Med.* **39**, 21P (1998)
- [121] Chi D.Y., Kilbourn M.R., Katzenellenbogen J.A. und Welch M.J.: A Rapid and Efficient Method for the Fluoroalkylation of Amines and Amides. Development of a Method Suitable for Incorporation of the Short-Lived Positron Emitting Radionuclide Fluorine-18; *J. Org. Chem.* **52**, 658 (1987)
- [122] Coenen H.H., Laufer P., Stöcklin G., Wienhard K., Pawlik G. Böcker-Schwarz H.G. und Heiss W.D.: 3-N-(2- ^{18}F fluoroethyl)spiperone: a new ligand for cerebral dopamine receptor studies with PET; *Life Sci.* **40**, 81 (1987)
- [123] Moerlein S.M., Perlmutter J.S. und Parkinson D: Synthesis and evaluation of fluorine-18 labeled benzodiazepine antagonists as PET tracers; *J. Label. Compds. Radiopharm.* **32**, 272 (1993)
- [124] Wester H.J., Dittmar C., Herz M., Senekowitsch-Schmidtke R, Schwaiger M. und Stöcklin G.: Synthesis and Biological Evaluation of O-(2- ^{18}F Fluoroethyl)-(L)-

- tyrosine (FET): A Potential PET Tracer for Amino Acid Transport; *J. Nucl. Med.* **38**, 175P (1997)
- [125] Guhlke S., Biedermann A., Coenen H.H., Stöcklin G. und Oehr P.: ^{18}F -Labelling of Biotin via prosthetic groups for Tumor Scintigraphy with PET; *Eur. J. Nucl. Med.*, **18**, 527 (1992)
- [126] Guhlke S., Coenen H.H. und Stöcklin G.: ^{18}F -Fluoroacylated Biotin for fast localisation of tumors with PET; *J. Nucl. Med.* **32**, 1009 (1991)
- [127] Tewson T.J. und Welch M.J.: Preparation of Fluorine-18 Aryl Fluorides: Piperidyl Triazenes as a source of Diazonium Salts; *J. Chem. Soc. Chem. Comm.* 1149 (1979)
- [128] Knöchel A. und Zwernemann O.: Aromatic n.c.a. Labelling with ^{18}F by Modified Balz-Schiemann-Decomposition; *Appl. Radiat. Isot.* **42**, 1077 (1991)
- [129] Coenen H.H.: New radiohalogenation: an overview. S. 196 in „Progress in radiopharmacy.“ Cox P.H. (Ed.), Mastinus Nijhoff Publishers, Dordrecht (1986).
- [130] Saudou F. und Hen Rene: 5-HAT Receptor Subtypes: Molecular and Functional Diversity; *Med. Chem. Res.* **4**, 16 (1994)
- [131] Mutschler E.: Arzneimittelwirkungen: Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie; Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart, 7 Auflage (1996)
- [132] Spencer R.P.: Radiopharmaceuticals, Structure-Activity Relationships; Grune & Stratton Rapid Manuscript Reproduction, Kap. 29: Frost und Kuhar: Labeling of Neurotransmitter Receptors (1980)
- [133] van Zwieten P.A., Blauw G.J. und van Brummelen P: Serotonergic Receptors and Drugs in Hypertension; *Pharmacol. & Toxicology* **70**, 17 (1992)
- [134] Hamon M., Gozlan H., El Mestikawy S., Emerit M.B., Bolanos F. und Schechter L.: The Central 5-HT_{1A} Receptors: Pharmacological, Biochemical, Functional, and Regulatory Properties; *Annals of the New York Academy of Sciences*, Vol 600 (1990)
- [135] Broekkamp C.L.E., Leysen D., Peeters B.W.M.M. und Pinder R.M.: Prospects for Improved Antidepressants; *J. Med. Chem.*, **38**, 4615 (1995)
- [136] Hucho F.: Neurotransmitter Receptors; Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam, London, New York, Tokyo (1993)
- [137] Hoyer D. und Martin G.R.: Classification and Nomenclature of 5-HT receptors: a comment on current issues; *Behavioural Brain Research* **73**, 263 (1996)
- [138] Fletcher A., Cliffe I.A. und Dourish C.T.: Silent 5-HT_{1A} receptor antagonists: utility as research tools and therapeutic agents; *Trends Pharmacol. Sci.* **14**, 441 (1993)
- [139] Palacios J.M., Pazos A. und Hoyer D.: Brain 5-HT_{1A} Receptores, Ellis Horwood, Eds.: Dourish C.T., Ahlenius S. und Hutson P.H., S. 67-81 (1987)

- [140] Hashimoto T., Nishino N., Nakai H. und Tanaka C.: Increase in Serotonin 5-HT_{1A} Receptors in Prefrontal and Temporal Cortices of Brains from Patients with Chronic Schizophrenia; *Life Sci.* 48, 355 (1991)
- [141] Yocca F.D.: Neurochemistry and Neuropsychology of buspirone and gepirone: interactions at presynaptic and postsynaptic 5-HT_{1A} receptors; *J. Clin. Psychopharmacol.* 10 (Suppl 3), 6S-12S (1990)
- [142] Kennett G.A., Dourish C.T. und Curzon G.: Antidepressant – like action of 5-HT_{1A} agonists and conventional antidepressants in an animal model of depression; *Eur.J. Pharmacol.* 134, 265 (1987)
- [143] Osman S., Lundkvist C., Pike V.W., Halldin C., McCarron J.A., Swahn C.G., Ginovart N., Luthra S.K., Bench J., Grasby P.M., Wikström H., Barf T., Cliffe I.A., Fletcher A. und Farde L.: Characterization of the Radioactive Metabolites of the 5-HT_{1A} Receptor Radioligand, [O-methyl-¹¹C]WAY-100635, in Monkey and Human Plasma by HPLC; *Nucl. Med. Biol.* 23, 627 (1996)
- [144] Larisch R., Beu M., Klimke A., Hamacher K., Herzog H., Müller-Gärtner H.W. und Coenen H.H.: In Vivo Messungen synaptischer Konzentrationsänderungen des Neurotransmitters Serotonin: erste Ergebnisse mit PET, [¹⁸F]Altanserin und Clomipramin; *NuclearMedicine* 2000 39, V36 (2000)
- [145] Busatto G.F. et al.: Initial evaluation of ¹²³I-5-I-R91150, a selective 5-HT_{2A} ligand for single-photon emission tomography, in healthy human subjects; *Europ. J. Nucl. Med.* 24, 119 (1997)
- [146] Barre L., Lasne M.C., Camsonne R. und Baron J.C.: Synthesis of [¹¹C]MDL 72222 as a potential radiopharmaceutical for the study of the 5-hydroxytryptamine 3 (5-HT₃) receptor; *J. Label. Compds. Radiopharm.* 30, 346 (1991)
- [147] Szabo Z., Kao P.F., Marengo S., Suehiro M., Ravert H.T., Mathews W.B., Kim S.E., Wong D.F., Dannals R.F., Scheffel U. und Wagner H.N.: Imaging 5-HT transporter sites in human brain with carbon-11 McN5652; *J. Nucl. Med.* 35, 85 (1994)
- [148] Coenen H.H., Dutschka K., Müller S.P., Geworski L., Farahati J. und Reiners C.: N.c.a. radiosynthesis of [^{123,124}I]β-CIT, plasma analysis and pharmacokinetic studies with SPECT and PET; *Nucl. Med. Biol.* 22, 977 (1995)
- [149] Mengod G., Palacios J., Wiederhold K., Hoyer D.: 5-Hydroxytryptamine receptor histochemistry: comparison of receptor mRNA distribution and radioligand autoradiography in the brain. In Handbook of Experimental Pharmacology 129: Serotonergic Neurons and 5-HT Receptors in the CNS; 213 (1997)
- [150] Gozlan H., El Mestikawy S., Pichat L., Glowinski J. und Hamon M.: Identification of presynaptic serotonin autoreceptors using a new ligand: ³H-PAT; *Nature* 305, 140 (1983)

- [151] Hoyer D., Schoeffter P., Palacios J.M., Kalkman H.O., Bruinvels A.T., Fozard J.R., Siegel H., Seiler M.P. und Stoll A.: Methyl 4-[4-(4-(1,1,3-trioxo-2H-1,2-benzisothiazol-2-yl)buthyl)-1-piperazinyl]-1H-indole-2-carboxylate [SDZ 216525]: A selective, potent and silent 5-HT_{1A} receptor antagonist; *Br. J. Pharmacol.* **105**, 29 (1992)
- [152] Paluchowska M.H., Mokrosz M.J., Bojarski A., Wesolowska A., Borycz J., Minol S.C. und Wojcik E.C.: On the Bioactive Conformation of NAN-190 (1) and MP3022 (2), 5-HT_{1A} Receptor Antagonists; *J. Med. Chem.* **42**, 4952 (1999)
- [153] Mokrosz M.J., Wojcik E.C., Tatarczynska E., Klodzinska A., Filip M., Boksa J., Minol S.C. und Mokrosz J.L.: 1-(2-Methoxyphenyl)-4-(4-Succinimido)butyl)-piperazine (MM-77): a new, potent, postsynaptic Antagonist of 5-HT_{1A} Receptors; *Med. Chem. Res.* **4**, 161 (1994)
- [154] Hillver S.E., Björk L., Li Y.L., Svensson B., Ross S., Anden N.E. und Hacksell U.: (S)-5-Fluoro-8-hydroxy-2-(dipropylamino)tetralin: a Putative 5-HT_{1A}-Receptor Antagonist; *J. Med. Chem.* **33**, 1541 (1990)
- [155] Cliffe I.A., Brightwell C.I., Fletcher A., Forster E.A., Mansell H.L., Reilly Y., Routledge C und White A.C.: (S)-N-tert.-Butyl-3-(4-(2-methoxyphenyl)-piperazin-1-yl)-2-phenylpropanamide [(S)-WAY-100135]: A Selective Antagonist at Presynaptic and Postsynaptic 5-HT_{1A} Receptors; *J. Med. Chem.* **36**, 1509 (1993)
- [156] Khawaja X., Evans N., Reilly Y., Ennis C. und Minchin M.C.W.: Characterisation of the binding of [³H] WAY 100635, a novel 5-hydroxytryptamine 1A receptor antagonist, to rat brain *J. Neurochem.* **64**, 2716 (1995)
- [157] Pike V.W.: Radioligands for PET Studies of Central 5-HT Receptors and Re-Uptake Sites - Current Status; *Nucl. Med. Biol.* **22**, 1011 (1995)
- [158] Mathis C.A., Simpson N.R., Mahmood K.; Kinahan P.E. und Mintun M.A.: [¹¹C]WAY 100635: A radioligand for imaging 5-HT_{1A} receptors with positron emission tomography; *Life Sci.* **55**, 403 (1994)
- [159] Wilson A.A., DaSilva J.N. und Houle S.: [¹⁸F]Fluoroalkyl Analogues of the Potent 5-HT_{1A} Antagonist WAY 100635: Radiosyntheses and In Vivo Evaluation; *Nucl. Med. Biol.* **23**, 487 (1996)
- [160] Mathis C.A., Mahmood K., Simpson N.R., Huang Y., Gerdes J.M., Price J.C. und Blastos B.P.: ¹¹C- and ¹⁸F-labelled Analogues of WAY 100635: Less Potent Radioligands for 5-HT_{1A} Receptor Studies; *J. Label. Compds. Radiopharm.* **42** 292 (1999)
- [161] Pike V.W., McCarron J.A., Hume S.P., Ashwort S., Opacka-Juffre J., Osman S., Lammertsma A.A., Poole K.G., Fletcher A., White A.C. und Cliffe I. A.: Pre-Clinical Development of a Radioligand for Studies of Central 5-HT_{1A} Receptors In Vivo - [¹¹C]WAY 100635; *Med. Chem. Res.* **5**, 208 (1994)

- [162] Pike V.W., McCarron J.A., Lammertsma A.A., Osman S., Hume S.P., Sargent P.A., Bench C.J., Cliffe I. A., Fletcher A. und Grasby P.M.: Exquisite delineation of 5-HT_{1A} receptors in human brain with PET and [carbonyl-¹¹C]WAY 100635; *Eur. J. Pharmacol.* **301**, R5-R7 (1996)
- [163] LeBars D., Lemaire C., Ginovart N., Plenevaux A., Aerts J., Brihaye C., Hassoun W., Leviel V., Mekhsian P., Weissmann D., Pujol J.F., Luxen A. und Comar D.: High-Yield Radiosynthesis and Preliminary In Vivo Evaluation of p-[¹⁸F]MPPF, a Fluoro Analog of WAY 100635; *Nucl. Med. Chem.* **25**, 343 (1998)
- [164] Zhuang Z.P., Kung M.P. und Kung H.F.: Isoindol-1-one Analogues of 4-(2'-methoxyphenyl)-1-[2'-[N-(2''-pyridyl)-p-iodobenzamido]ethyl]piperazine (p-MPPI) as 5-HT_{1A} Receptor Ligands; *J. Med. Chem.* **41**, 157 (1998)
- [165] Plenevaux A., Aerts J., Lemaire C., Brihaye C., LeBars D., Mekhsian P., Weissmann D., Pujol J.F., Comar D. und Luxen A.: Tissue Distribution, Autoradiography and Metabolism in Rats of p-[¹⁸F]MPPF: 5-HT_{1A} Antagonist; *J. Label. Compds. Radiopharm.* **42**, 148 (1999)
- [166] Zhuang Z.P., Kung M.P. und Kung H.F.: Cyclic Amide Derivatives of 4-(2'-Methoxy)-phenyl-1-[2'-(N-2''-pyridinyl)-(p-iodobenzamido)ethyl]piperazine (p-MPPI) as 5-HT_{1A} Receptor Ligands; *J. Label. Compds. Radiopharm.* **42**, 88 (1999)
- [167] Wilson A.A., Inaba T., Fischer N., Dixon L.M., Nobrega J., DaSilva J.N. und Houle S.: Derivatives of WAY 100635 as Potential Imaging Agents for 5-HT_{1A} Receptors: Syntheses, Radiosyntheses, and in vitro and in vivo Evaluation; *Nucl. Med. & Biol.* **25**, 769 (1998)
- [168] Glennon R.A., Naiman N.A., Lyon R.A. und Titeler M.: Arylpiperazine Derivatives as High-Affinity 5-HT_{1A} Serotonin Ligands; *J. Med. Chem.* **31**, 1968 (1988)
- [169] Martin G.E., Elgin R.J., Mathiasen J.R., Davis C.B., Kesslick J.M., Baldy W.J., Shank R.P., DiStefano D.L., Fedde C.L. und Scott M.K.: Activity of aromatic substituted Phenylpiperazines lacking Affinity for Dopamine Binding Sites in a preclinical Test of Antipsychotic Efficacy; *J. Med. Chem.* **32**, 1052 (1989)
- [170] Reichardt C.: Solvents and Solvent Effects in organic Chemistry; 2. Aufl., VCH-Verlagsgesellschaft, Weinheim, 365 (1990)
- [171] Christen H.R. und Vögtle F.: Grundlagen der organischen Chemie; 1. Aufl., Otto Salle Verlag, Frankfurt am Main (1989)
- [172] Lang L., Jagoda E., Sassaman M.B., Magata Y und Eckelman W.C.: Comparison of F-18 labeled cis and trans 4-Fluorocyclohexane Derivatives of WAY 100635; *J. Nucl. Med.* **39**, 37 (1998)

- [173] Lang L., Jagoda E., Schmall B. Vuong B.K., Adams H.R., Nelson D.L., Carson R.E. und Eckelman W.C.: Development of Fluorine-18-Labeled 5-HT_{1A} Antagonist; *J. Nucl. Med.* **42**, 1576 (1999)
- [174] Wyrick S.D., Mitchell J.A. und Ranga V.: Tritium Labelled 2-Trifluoroacetamidobenzenesulfonyl fluoride; *J. Labelled Compd. Radiopharm.* **21**, 661 (1984)
- [175] Lasne M.C., Brady F. und Pike V.W.: Preparation of n.c.a. [¹⁸F]Fluorobenzene-sulfonylchlorid; *J. Label. Compds. Radiopharm.* **26**, 12 (1989)
- [176] Shiue C.Y., Shiue G.G., Bernard F. und Greenberg J.H.: Comparative Studies of F-18 labeled Benzamides and Arylsulfonamides as sigma Receptor Ligands; *J. Label. Compds. Radiopharm.* **42**, S108 (1999)
- [177] Hansch C., Leo A., Unger S.H., Kim K.H., Nikaitani D. und Lien E.J.: "Aromatic" Substituent Constants for Structure-Activity Correlations; *J. Med. Chem.* **16**, 1207 (1973)
- [178] Parker E.J.: The Use of dipolar aprotic Solvents in Organic Chemistry; *Adv. Org. Chem.* **5**, 1 (1965)
- [179] Dolci L., Dolle F., Jubeau S., Vaupfrey F und Crouzel C.: 2-[¹⁸F]Fluoropyridines by No-Carrier-Added Nukleophilic Aromatic Substitution with [¹⁸F]FK-K₂₂₂ – A Comparative Study; *J. Label. Compds. Radiopharm.* **42**, 975 (1999)
- [180] Hashizume K., Hashimoto N., Cork D.G. und Miyake Y.: High Yield Synthesis of High Purity [¹⁸F]-Labelled Aromatic Compounds by Aryl F-for-X Halogen Exchange Reaktionen; *Chem.Lett.* 835 (1995)
- [181] Lemaire C., Guillaume M., Christiaens L., Palmer A.J. und Cantineau R.: A New Route for the Synthesis of [¹⁸F]Fluoroaromatic substituted Amino Acids: N.c.a- L-p- [¹⁸F]Fluorophenylalanine; *Appl. Radiat. Isot.* **38**, 1033 (1987)
- [182] Zhuang Z.P., Kung M.P. und Kung H.F.: Synthesis of (R,S)trans-8-Hydroxy-2-(N-n-propyl-N-3'-iodo-2'-propenyl)aminotetralin (trans-8-OH-PIPAT), A New 5-HT_{1A} Receptor Ligand; *J. Med. Chem.* **36**, 3161 (1993)
- [183] Aigner A., Wolf S. und Gasser H.G.: Transport und Entgiftung: Grundlagen, Ansätze und Perspektiven für die Erforschung der Blut-Hirn-Schranke; *Angew. Chem.* **109**, 25 (1997)
- [184] Rekker R.F. und Mannhold R: Calculation of Drug Lipophilicity: The Hydrophobic Fragmental Constant Approach; VCH Verlagsgesellschaft mbH, Weinheim, 1. Auflage (1992)
- [185] Dittman H., Coenen H.H., Zölzer F., Dutschka K., Brandau W. und Streffer C.: In vitro studies on the cellular uptake of melanoma imaging aminoalkyl-iodobenzamide derivatives (ABA); *Nucl. Med. Biol.* **26**, 51 (1999)

- [186] Mertens J., Gysemans M., Bossoyt-Piron C. und Thomas M.: High yields preparation of pure 2-radioiodoketanserin of high specific activity, a serotonin S₂ receptor tracer for SPECT; *J. Label. Compds. Radiopharm.* **28**, 731 (1990)
- [187] Musachio J.L., Horti A., London E.D. und Dannals R.F.: Synthesis of a radioiodinated analog of epibatidine: (±)-exo-2-(2-iodo-5-pyridyl)-7-azabicyclo[2.2.1]heptane for in vitro and in vivo studies of nicotinic acetylcholine receptors; *J. Label. Compds. Radiopharm.* **39**, 39 (1997)
- [188] Moerlein S.M.: Regiospecific aromatic radioiodination via no-Carrier-Added copper(I)-assisted iodidebromination; *Radiochim. Acta* **50**, 55 (1990)
- [189] Stanko V.I., Iroshnikova N.G., Volkov A.F., Klimova A.I.: Copper catalysis on isotopic exchange as a novel approach to incorporating iodine and bromine into benzene derivatives; *Int. J. Appl. Radiat. Isot.* **35** 1129 (1984)
- [190] Mertens J., Vanryckeghem W. und Bossuyt A.: High yield preparation of ¹²³I-N-isopropyl-p-iodoamphetamine (IAMP) in presence of Cu(I); *J. Label. Compds. Radiopharm.* **22**, 89 (1985)
- [191] Patai S.: The Chemistry of Sulfinic Acids, Esters and their Derivatives; John Wiley & Sons Ltd, 1. Auflage. (1990)
- [192] Truce W.E. und Murphy A.M.: The Preparation of Sulfinic Acids; *Chemical Reviews* **48**, 69 (1951)
- [193] Beachem M.T., Shaw J.T., Sargent G.D., Fortenbaugh R.B. und Salsbury J.H.: Aliphatic Disulfinic Acids; The Unique Stability of 1,4-Butanedisulfinic Acid; *J. Am. Chem. Soc.* **81**, 5430 (1959)
- [194] Lee A.S.Y. und Dai W.C.: A facile and highly sonochemical synthesis of Organostannane via Barbier Reaction; *Tetrahedron* **53**, 859 (1997)
- [195] Milstein D. und Stille J.K.: Palladium-Catalyzed Coupling of Tetraorganotin Compounds with Aryl and Benzyl Halides. Synthetic Utility and Mechanism; *J. Am. Chem. Soc.* **101**, 4992 (1979)
- [196] Adam M.J., Ponce Y.Z., Berry J.M. und Lu J.: Synthesis of N,N-Dimethyl-[β-(3,4-Diacetoxy-6-¹²³I-Iodophenyl)]-Ethylamine (IDDE): A Potential Radiotracer for the Study of the Dopaminergic System; *J. Label. Compds. Radiopharm.* **31**, 3 (1992)
- [197] Nowotnik D.P.: Quantitative structure-distribution relationships (QSDRs) of Radiopharmaceuticals. in Theobald A.E. (Ed.), Radiopharmaceuticals, using radioactive compounds in pharmaceutical and medicine.; Ellis Howard Limited, Chichester, West Sussex (1989)
- [198] Cheng Y. und Prusoff W.H.: Relationship between the Inhibition constant (K_i) and the Concentration of Inhibitor which causes 50 Percent Inhibition (I₅₀) of an Enzymatic Reaction; *Biochem. Pharmacol.* **22**, 3099 (1973)

- [199] Organikum, Organisch-chemisches Grundpraktikum, Deutscher Verlag der Wissenschaft, Berlin 15. Auflage (1990)
- [200] Zhao H., Pendri A. und Greenwald R.B.: General Procedure for Acylation of 3° Alcohols: Scandium Triflate/DMAP Reagent; *J. Org. Chem.* **63**, 7559 (1998)
- [201] Green T.W. und Wuts P.G.M.: Protective Groups in organic Synthesis; John Wiley & Sons, Inc., New York, Chichester, Brisbane, Toronto, Singapore, 2. Auflage. (1991)
- [202] Fieser L.F. und Fieser M.: Reagents for Organic Synthesis; Wiley, New York, Vol. 1, 1179 (1967)
- [203] Hudlicky M.: Fluorination with Diethylaminosulfur Trifluoride and related Amino-fluorosulfuranes.; *Org. React.* **35**, 513 (1988)
- [204] Zhuang Z.P., Kung M.P. und Kung H.F.: Synthesis and Evaluation of 4-(2'-Methoxyphenyl)-1-[2'-[N-(2''-pyridinyl)-p-iodobenzamido]ethyl]piperazine (p-MPPI), A new Iodinated 5-HT_{1A} Ligand; *J. Med. Chem.* **37**, 1406 (1994)
- [205] Yoshida Y., Sakakura Y., Aso N., Okada s. und Tanabe Y.: Practical and Efficient Methods for Sulfonylation of Alcohols Using Ts(Ms)Cl/Et₃N and catalytic Me₃N·HCl as combined Base: Promising alternative to Traditional Pyridine; *Tetrahedron* **55**, 2183 (1999)
- [206] Brooks P.R., Wirtz M.C., Vetelino M.G., Rescek, Woodworth G.F., Morgan B.P. und Coe J.W.: Boron Trichlorid/Tetra-n-ButylammoniumIodid: A Mild, Selective Combination Reagent for Cleavage of Primary Alkyl Aryl Ethers; *J. Org. Chem.* **64**, 9719 (1999)
- [207] Kurzer F.: Preparation of p-Toluenesulfinylchlorid; *Org. Synth., Coll. Vol. IV*, 937 (1963)
- [208] Leo A.J.; Calculating log P_{oct} from Structures; *Chem. Rev.* **93**, 1281 (1993)

Abkürzungen

(v/v)	Volumenanteile
AcCN	Acetonitril
A _s	spezifische Aktivität
Bq	Becquerel (Zerfall pro Sekunde)
CAT	Chloramin-T
Ci	Curie (1Ci = 3,7*10 ¹⁰ Bq)
c.a.	carrier-added (unter Trägerzusatz)
c.f.	carrier free (trägerfrei)
DC	Dünnschichtchromatographie
DMAA	N,N,-Dimethylacetamid
DMF	N,N,-Dimethylformamid
DMSO	Dimethylsulfoxid
EC	Electron capture (Elektroneneinfang)
HPLC	Hochleistungsflüssigkeitschromatographie
IR	Infrarot
IT	Isomeric transition (Isomerer Übergang)
k	Geschwindigkeitskonstante
n.c.a.	no-carrier-added
NMR	Kernmagnetische Resonanz
PET	Positronen-Emissions-Tomographie
RCA	Radiochemische Ausbeute
RT	Raumtemperatur
SPET	Einzel-Photonen-Emissions-Tomographie
TBDMS	tert.-Butyldimethylsilyl
TFA	Trifluoressigsäure
THF	Tetrahydrofuran

Danksagung

Herrn Prof. Dr. H.H. Coenen gilt mein Dank für die interessante Themenstellung, die begleitenden Diskussionen sowie die Schaffung der guten wissenschaftlichen Rahmenbedingungen.

Herrn Dr. M. Holschbach gilt mein besonderer Dank für die Betreuung der Arbeit und sein engagiertes Interesse, welches durch die konstruktiven und fruchtbaren Anregungen zum Gelingen der Arbeit beitrug.

Für Ihre Hilfsbereitschaft und stets kompetenten Ratschläge möchte ich auch Herrn Dr. K. Hamacher, Herrn Dr. D. Bier und Herrn Dr. J. Ermert danken.

Meinen Freunden, Herrn Dr. A. Hohn, Frau Dr. E. Heß, Herrn Dr. E. Mennicke sowie Herrn Dipl. Chem. P. Reimer danke ich für die schöne Zeit, die wir gemeinsam in Jülich und privat verbracht haben.

Meinen Kommilitonen, Herrn Dipl. Chem. T. Blum, Herrn Dr. C. Dittmar, Herrn Dipl. Chem. T. Hirschfelder †, Frau Dipl. Chem. Jelinski, Herrn Dipl. Chem. T. Ludwig, Herrn Dipl. Chem. O. Prante und Herrn Dipl. Chem. T. Tierling gilt mein Dank für unzählige, produktive Diskussionen und zahlreiche entspannende Gespräche vor allem nach Dienstschluß.

Ein großes Dankeschön gilt Herrn Dr. A. Bauer und Frau Dr. M. Pissareck für die Durchführung der autoradiographischen Untersuchungen. Herrn Wutz schulde ich Dank für die Durchführung der Tierexperimente.

Mein genereller Dank gilt allen nicht genannten technischen und wissenschaftlichen Mitarbeitern des Institutes für Nuklearchemie des Forschungszentrums Jülich GmbH, die durch ihre Hilfsbereitschaft zu einem ausgezeichneten Arbeitsklima beigetragen haben.

Großen Dank schulde ich Herrn Major F. Jakob, der durch sein Verständnis die reibungslose Weiterführung der Arbeit ermöglichte.

Schließlich möchte ich mich bei meinen Eltern bedanken, die mich während meines gesamten Studiums unterstützt haben.

Forschungszentrum Jülich



Jül-3895
August 2001
ISSN 0944-2952