

Entwicklung und trägerarme ^{18}F -Markierung selektiver Inhibitoren des Serotonin Transporters

Inaugural Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades
der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Universität zu Köln

vorgelegt von Timo Stoll
aus Mayen

Berichtersteller:

Prof. Dr. H.H. Coenen

Prof. Dr. A.G. Griesbeck

Tag der mündlichen Prüfung:

19.05.2004

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit von Februar 2001 bis Februar 2004 am Institut für Nuklearchemie des Forschungszentrums Jülich GmbH unter Anleitung von Herrn Prof. Dr. H.H. Coenen (Abteilung Nuklearchemie der Universität zu Köln) durchgeführt.

Kurzzusammenfassung

Es besteht eine große Nachfrage an Radiotracern für die Positronen-Emissions-Tomographie (PET), mit denen die Dichte der Serotonin Transporter (SERT) im Gehirn von Patienten mit psychiatrischen und neurologischen Krankheitssymptomen *in vivo* dargestellt werden kann. Sie können helfen, Störungen des serotonergen Systems verstehen zu lernen, optimierte Pharmaka zu entwickeln und auch die Behandlungsplanung und Diagnose zu unterstützen. Dank hoher Affinitäten zu SERT und hohen Selektivitäten gegenüber weiteren Monoamintransportern gibt es einige vielversprechende selektive Inhibitoren des Serotonin Transporters aus der Stoffklasse der Diaryl(thio)ether. Aufgrund der Pharmakokinetiken dieser Verbindungen ist eine ^{18}F -Markierung wegen der längeren Halbwertszeit des Radionuklids von 109,6 min gegenüber den bisher in der Literatur beschriebenen ^{11}C -Markierungen zur Visualisierung und Quantifizierung der zerebralen Serotonin Transporter von Vorteil.

Im Rahmen dieser Arbeit wurden vier neue Verbindungen dieser Stoffklasse synthetisiert und dafür trägerarme (n.c.a.) ^{18}F -Markierungsverfahren erarbeitet. Unter Verwendung der kürzlich in der Literatur beschriebenen Darstellung von n.c.a. 4- ^{18}F Fluorphenol wurden 2-(4- ^{18}F Fluorphenyloxy)-N-methylbenzylamin und 2-(4- ^{18}F Fluorphenyloxy)-N,N-dimethylbenzylamin über eine katalytische n.c.a. Diaryletherkopplungssynthese und anschließende Reduktion mit 1 M $\text{BH}_3 \cdot \text{THF}$ in THF trägerarm dargestellt. Die Gesamtsynthese einschließlich Radio-HPLC-Reinigung konnte in weniger als zwei Stunden mit radiochemischen Ausbeuten von $20 \pm 5 \%$ durchgeführt werden.

Nach der Optimierung einer Diarylthioethersynthese wurden ^{18}F -Markierungsvorläufer und Standards für die Darstellung von 2-(2-Cyano-5- ^{18}F fluorphenylthio)-N,N-dimethylbenzylamin und 2-(5- ^{18}F Fluor-2-methylaminthio)-N,N-dimethylbenzylamin synthetisiert. Die n.c.a. ^{18}F -Markierung mittels ^{18}F -für- NO_2 Austausch bzw. die anschließende Reduktion mit 1 M $\text{BH}_3 \cdot \text{THF}$ in THF zur Darstellung dieser beiden Radioliganden wurden optimiert, wie auch radiochromatographische Trennmethode zu ihrer Isolierung ausgearbeitet wurden. Nach einer Gesamtsynthesedauer von unter zwei Stunden wurden radiochemische Ausbeuten von $34 \pm 3 \%$ erhalten.

Zusätzlich wurde für Vergleichsstudien eine abgewandelte Radiosynthese des in der Literatur beschriebenen 2-(2-Amino-5- ^{18}F fluorphenylthio)-N,N-dimethylbenzylamin erarbeitet, womit ein sehr vielversprechender selektiver Radioligand des Serotonin Transporters zur Verfügung steht, der innerhalb von 85 Minuten mit radiochemischen Ausbeuten von $60 \pm 7 \%$ hergestellt werden konnte.

Die durch *in vitro* Membranbindungsstudien bestimmten Bindungseigenschaften der neuen Verbindungen sowie erste Verteilungsstudien empfahlen die neuen Verbindungen sich jedoch nicht für eine *in vivo* Anwendung als Radioligand.

Abstract

There is a great demand for radiotracers for the positron-emission-tomography (PET) to visualise the density of serotonin transporters (SERT) in the living brains of patients with psychiatric and neurological symptoms. They can help to understand the disturbances of the serotonergic system, to develop optimised pharmaceuticals and to support the planning of treatment and diagnosis. Due to high affinities to SERT and high selectivity towards other monoamine transporters there are several promising selective serotonin reuptake inhibitors in the class of Diphenyl(thio)ethers. As a result of slow pharmacokinetics of these compounds the ^{18}F -labelling is more convenient due to the longer half-life of 109,6 min of the nuclide as compared to the so far described ^{11}C -labelling for visualisation and quantification of the cerebral serotonin transporter.

In this work four new compounds of this class were synthesised and for those there were no-carrier-added (n.c.a.) ^{18}F -labellings designed. Using the recently described method for the formation of n.c.a. 4- ^{18}F fluorophenol 2-(4- ^{18}F fluorophenoxy)-N-methylbenzylamine and 2-(4- ^{18}F fluorophenoxy)-N,N-dimethylbenzylamine were synthesised via a catalytic n.c.a. diaryl ether coupling and a subsequent reduction using 1 M $\text{BH}_3 \cdot \text{THF}$ in THF. The whole synthesis including radio-HPLC purification could be accomplished in less than 2 hours with radiochemical yields of $20 \pm 5 \%$.

After optimisation of the diarylthioether synthesis the ^{18}F -labelling precursors and standards for the formation of 2-(2-cyano-5- ^{18}F fluorophenylthio)-N,N-dimethylbenzylamine and 2-(5- ^{18}F fluoro-2-methylaminophenylthio)-N,N-dimethylbenzylamine were obtained. The n.c.a. ^{18}F -labelling via ^{18}F -for- NO_2 substitution and the subsequent reduction with 1 M $\text{BH}_3 \cdot \text{THF}$ in THF for the formation of these two radioligands were optimised, as well as the radio chromatographic isolation. In less than 2 hours the whole synthesis was completed and radiochemical yields of $34 \pm 3 \%$ could be obtained.

For comparative studies additionally a modified radiosynthesis of the recently described 2-(2-amino-5- ^{18}F fluorophenylthio)-N,N-dimethylbenzylamine was developed, wherewith a promising selective serotonin reuptake inhibitor is available after a total synthesis time of 85 min with radiochemical yields of $60 \pm 7 \%$.

By *in vitro* membrane binding studies as well as the first distribution studies the binding characteristics of the newly synthesised compounds were determined, which did not recommend their use for *in vivo* application as radioligand.

Inhaltsverzeichnis

1.	Einleitung.....	1
1.1.	Das Radiotracerprinzip und die Emissions-Tomographie.....	2
1.2.	Grundlegende Aspekte zum Arbeiten mit kurzlebigen Radionukliden.....	3
1.3.	Radiotracer für die Positronen-Emissions-Tomographie.....	6
1.3.1.	Grundlagen der Positronen-Emissions-Tomographie - Methode.....	6
1.3.2.	Radionuklide für PET und Nuklidproduktion von Fluor-18.....	9
1.4.	Entwicklung und radiopharmakologische Bewertung von Radiotracern und Radioliganden.....	11
1.4.1.	Wahl des Radionuklids und des Tracerkonzepts aufgrund pharmakologischer Prinzipien.....	11
1.4.2.	Evaluierung von Radioliganden.....	13
1.5.	Markierungsmethoden mit [¹⁸ F]Fluor.....	18
1.5.1.	Elektrophile ¹⁸ F-Markierung.....	18
1.5.2.	Nukleophile ¹⁸ F-Markierung.....	20
1.5.3.	¹⁸ F-Markierung über prosthetische Gruppen.....	23
1.6.	Das serotonerge Rezeptorsystem.....	26
1.7.	Radioliganden als selektive Inhibitoren des Serotonin Transporters.....	29
1.7.1.	Radioliganden auf der Basis von Cocain-Derivaten.....	30
1.7.2.	Radioliganden auf der Basis von 6-Nitroquipazin-Derivaten.....	32
1.7.3.	Radioliganden auf der Basis von Diphenyl(thio)ethern.....	32
2.	Problemstellung.....	36
3.	Ergebnisse und Diskussion.....	38
3.1.	Synthesepanung ausgewählter Verbindungen.....	38
3.1.1.	2-(4-Fluorphenyloxy)-N-methylamin und 2-(4-Fluorphenyloxy)-N,N-dimethylamin.....	39
3.1.2.	2-(2-Cyano-5-fluorphenylthio)-N,N-dimethylbenzylamin und 2-(5-Fluor-2-methylamin-phenylthio)-N,N-dimethylamin.....	41
3.1.3.	2-(2-Amino-5-fluorphenylthio)-N,N-dimethylamin.....	42
3.2.	Synthese von Ausgangsverbindungen der Kopplungsreaktionen.....	43
3.3.	Diphenyl(thio)ether-Kopplungen.....	45
3.3.1.	Diaryletherkopplungen mit 4-Fluorphenol als Ausgangsverbindung.....	45

3.3.2.	Thioetherkopplungen zur Darstellung von Markierungsvorläufern und Standards..	48
3.4.	N.c.a. ^{18}F -Markierungssynthesen zur Darstellung der Zielverbindungen	55
3.4.1.	Darstellung von n.c.a. 2-(4- ^{18}F Fluorphenoxy)-N-methylbenzylamin und n.c.a. 2-(4- ^{18}F Fluorphenoxy)-N,N-dimethylbenzylamin	55
3.4.2.	Darstellung von n.c.a. 2-(2-Cyano-5- ^{18}F fluorphenylthio)-N,N-dimethylbenzylamin und n.c.a. 2-(5- ^{18}F Fluor-2-methylaminphenylthio)-N,N-dimethyl-benzylamin.....	58
3.4.3.	Darstellung von n.c.a. 2-(5- ^{18}F Fluor-2-nitrophenylthio)-N,N-dimethyl- benzoesäureamid	64
3.5.	Radiopharmakologische Bewertung der neuen Verbindungen	69
4.	Experimenteller Teil.....	71
4.1.	Generelles	71
4.2.	Synthesen der Ausgangsverbindungen, Standards und Markierungsvorläufer.....	72
4.3.	Radiosynthesen mit n.c.a. ^{18}F Fluorid.....	84
4.3.1.	Produktion von n.c.a. ^{18}F Fluorid	84
4.3.2.	Nukleophile Substitutionen mit n.c.a. ^{18}F Fluorid.....	84
4.3.3.	Diarylethersynthesen mit n.c.a. 4- ^{18}F Fluorphenol	85
4.3.4.	Radiosynthesen von n.c.a. ^{18}F Fluordiarylthioethern.....	86
4.4.	Radioanalytik	88
4.4.1.	Radiodünnschichtchromatographie	88
4.4.2.	Radio-Hochleistungsflüssigkeitschromatographie	89
4.4.3.	Bestimmung der spezifischen Aktivität	90
4.5.	Membranbindungs- und Autoradiographiestudien.....	92
5.	Zusammenfassung	95
6.	Literatur	99

1. Einleitung

Das Prinzip, Radioaktivität in den Lebenswissenschaften zu nutzen, geht auf den ungarischen Chemiker Georg de Hevesy zurück. Mit seinen Arbeiten über Stoffwechselfvorgänge in Pflanzen demonstrierte er 1923 erstmals die Möglichkeit der Anwendung von Radiotracern bei biologischen Vorgängen [1]. Die *in vivo* Anwendung dieses Tracerkonzeptes nutzte er auch kurz danach an Säugetieren bei der Untersuchung des Phosphorstoffwechsels im Körper von Ratten [2]. Dabei diente ihm das mittels Neutronenbestrahlung von Schwefelkohlenstoff gewonnene Radionuklid ^{32}P ($t_{1/2} = 14,3 \text{ d}$; β^- -Strahler) als Radioindikator.

Das Tracerprinzip hat fundamentale Bedeutung sowohl für die Aufklärung chemischer, biochemischer und pharmakologischer Prozesse sowie insbesondere für die diagnostische Nuklearmedizin. Hevesy gilt daher als Vater der Nuklearmedizin und erhielt den Nobelpreis für Chemie im Jahr 1943 für die „Anwendung der Isotope als Indikatoren bei der Erforschung chemischer Prozesse“.



Georg de Hevesy (1885 – 1966)

„Vater der Nuklearmedizin“ – Nobelpreis für Chemie 1943

1.1. Das Radiotracerprinzip und die Emissions-Tomographie

Als Radioindikator oder Radiotracer bezeichnet man radioaktive Atome bzw. radioaktiv markierte Moleküle, die dazu Verwendung finden, chemische oder biologische Prozesse mittels der radioaktiven Strahlung zu verfolgen und zu verstehen [3, 4]. Optimale Nutzbarkeit ergibt sich bei chemisch identischen, isotoopenmarkierten Verbindungen, deren Schicksal im Körper verfolgt werden kann. Weitere Möglichkeiten bieten Verbindungen, die sich chemisch und biologisch ähnlich verhalten, jedoch keinen identischen Aufbau aufweisen. Solche Verbindungen müssen im Vorfeld der Untersuchungen unter anderem auf ihr metabolisches Verhalten und ihre spezifischen Eigenschaften geprüft werden. Das Radiotracerprinzip wird heute in fast allen Bereichen der Lebenswissenschaften, speziell aber in der Radiopharmazie, als Grundlage verschiedener analytischer und diagnostischer Verfahren genutzt. Für dieses Verfahren werden Nuklide verwendet, die vorwiegend γ -Strahlen emittieren, da dies eine körperdurchdringende Strahlung ist, die eine relativ geringe ionisierende Wirkung in organischem Gewebe ausübt. Bei α - und β -Strahlung handelt es sich dagegen um eine korpuskuläre Strahlung, die eine starke Wechselwirkung mit organischem Gewebe eingeht und außerhalb des Körpers nicht mehr detektierbar ist. γ -Strahlung geeigneter Energie ist mit sehr hoher Sensitivität messbar, und somit lassen sich geringste Mengen an *in vivo* applizierten Tracern mit externen Detektoren nachweisen. Mit Konzentrationen von kurzlebigen Radiotracern im subnanomolarem Bereich können daher biologische Abläufe untersucht werden, ohne deren physiologische Fließgleichgewichte zu stören. Es können unter Umständen sogar toxische Verbindungen appliziert werden, ohne eine physiologische Wirkung zu erzielen. Eine Vielzahl von Anwendungen basieren auf Tracern für die Bestimmung des Transports von Glucose, Fett- und Aminosäuren, des zerebralen und kardialen Blutflusses, von Immunreaktionen, der Biochemie neuronaler und hormoneller Transmitter und der Messung von Rezeptordichten (zur Übersicht siehe [5]).

Die Positronen-Emissions-Tomographie (PET) stellt dabei das bildgebende Verfahren der Wahl dar. Mit ihr kann der Positronenzerfall durch Detektion der nur mit geringer Verzögerung resultierenden γ -Quanten in hoher räumlicher Auflösung dargestellt und vor allem quantifiziert werden und somit die eben genannten biologischen Prozesse *in vivo* gemessen werden. Eine gute zeitliche Auflösung bei der Messung dynamischer Prozesse wird mit geeigneten kurzlebigen Positronenemittern erreicht, mit denen auch in kurzen Zeitfenstern genügend radioaktive Strahlung zur Quantifizierung detektiert werden kann. Die Quantifizierung der Aufnahmen erfolgt durch Zerfalls-, Streu- und Absorptionskorrekturen

und erlaubt mit Hilfe biomathematischer Modelle die Berechnung physiologischer oder pharmakologischer Parameter durchzuführen.

Weiterhin ist auch die weitverbreitete Einzel-Photonen-Emissions-Computertomographie (SPECT) zu erwähnen. Hierbei werden qualitative Bilder mit γ -Strahlern wie dem Nuklid ^{99m}Tc ($t_{1/2} = 6,0 \text{ h}$; $E_{\gamma} = 141 \text{ keV}$) erhalten. Der Erfolg von SPECT in der routinemäßigen Anwendung ist mit diesem Radioelement eng verknüpft, da es eine gut detektierbare monoenergetische γ -Strahlung emittiert und durch ein kostengünstiges, kommerziell erhältliches Generatorsystem leicht zugänglich ist. Diese Systeme sind Bestandteil des täglichen nuklearmedizinischen Gebrauchs geworden und es gibt eine Vielzahl an ebenfalls kommerziell erhältlichen Kitts, mit denen ^{99m}Tc -Radiopharmaka für eine Vielzahl von Anwendungen einfach dargestellt werden können. Außerdem werden Nuklide wie ^{123}I ($t_{1/2} = 13,2 \text{ h}$; Elektronen-Einfang (electron capture; EC); $E_{\gamma} = 159 \text{ keV}$) oder ^{201}Tl ($t_{1/2} = 73,1 \text{ h}$; $E_{\gamma} = 167 \text{ keV}$) ebenfalls routinemäßig in der SPECT verwendet.

1.2. Grundlegende Aspekte zum Arbeiten mit kurzlebigen Radionukliden

Nuklearchemisches Arbeiten mit kurzlebigen Nukliden unterscheidet sich hauptsächlich von der makroskopischen Chemie hinsichtlich der zu handhabenden Stoffmengen. Die Stoffkonzentrationen dieser Radionuklide sowie markierter Verbindungen bewegen sich im nanomolaren- bis subnanomolaren Bereich. Die Angabe der Stoffmenge erfolgt in der Nuklearchemie indirekt über die Anzahl der Zerfälle pro Zeiteinheit, wobei die Einheit Becquerel (Bq) einem Zerfall pro Sekunde entspricht. Eine durchschnittliche Produktionsmenge an ^{18}F Fluorid von 55 GBq an einem Babyzyklotron entsprechen etwa $8,8 \cdot 10^{-10} \text{ Mol}$ Fluor-18. Bei der Produktion von Fluor-18 sind „Verdünnungen“ mit stabilem Fluor-19 nicht zu verhindern, weshalb das Radionuklid nicht isotopenrein herstellbar ist. Eine solche Verunreinigung tritt z.B. bei der Produktion durch Verwendung von Teflonmaterialien für den Transport des bestrahlten ^{18}O Wassers auf, wobei ein Isotopenaustausch mit dem stabilen Fluor-19 stattfindet. Für radiochemisches Arbeiten ist daher die auf die Masse bezogene Aktivität, die molare Aktivität A_s , entscheidend [6].

$$A_s = \frac{A}{m} \quad \left[\frac{\text{Bq}}{\text{g}} \right]$$

Die theoretische molare Aktivität $A_{S,max}$ lässt sich aus der Definition für den radioaktiven Zerfall berechnen. Die Aktivität A ergibt sich ausgehend vom Zerfallsgesetz, aus der Zerfallskonstanten λ und der Anzahl der radioaktiven Atome N :

$$A = -\frac{dN}{dt} = N \cdot \lambda \text{ [Bq]}$$

mit $n = \frac{N}{N_A}$ (n = Molzahl; N_A = Avogadrokonstante) folgt:

$$\frac{A}{n} = \lambda \cdot N_A \left[\frac{\text{Bq}}{\text{mol}} \right]$$

Für ein Mol ergibt sich somit für $A_{S,max}$:

$$A_{s,max} = \lambda \cdot N_A \left[\frac{\text{Bq}}{\text{mol}} \right]$$

Obwohl meist „molare“ Aktivitäten angegeben werden, wird dafür der Begriff „spezifische“ Aktivität wie hier im weiteren verwendet. Die theoretisch maximalen spezifischen Aktivitäten für die wichtigsten Positronenstrahler und zum Vergleich für Kohlenstoff-14 sind in Tabelle 1 aufgelistet.

Tabelle 1: Maximale spezifische Aktivitäten für einige Radionuklide

Isotop	spezifische Aktivität	
	[TBq/ μ mol]	[Ci/mol]
^{11}C	340	$9,2 \cdot 10^9$
^{13}N	480	$1,9 \cdot 10^{10}$
^{15}O	3400	$9,2 \cdot 10^{10}$
^{18}F	63	$1,7 \cdot 10^9$
^{14}C	0,0023	$6,2 \cdot 10^1$

Der Begriff „Träger“ bezieht sich allgemein auf isotope Verunreinigungen oder Beimengungen. Kommen also stabile Nuklide des gleichen Elements zu den radioaktiven hinzu, erhöht sich die Stoffmenge und somit sinkt die spezifische Aktivität.

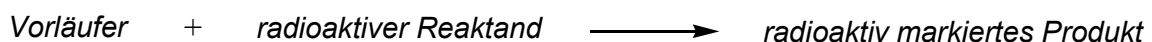
Man unterscheidet in der Radiochemie folgende Fälle:

- trägerfreie, (carrier-free; c.f.) Synthesen
- trägerarme, (no-carrier-added; n.c.a.) Synthesen
- geträgerte, (carrier-added, c.a.) Synthesen.

Trägerfreie Systeme oder Synthesen stellen den Idealfall dar und können praktisch nur mit Nukliden von Radioelementen, wie z.B. ^{99m}Tc , erreicht werden.

Als trägerarme Synthesen bezeichnet man das Arbeiten unter größtmöglicher Vermeidung der Kontamination von isotopen Verunreinigungen. Die „Verdünnung“ mit Träger lässt sich jedoch beim Kontakt mit Gefäßwänden, der Atmosphäre oder Chemikalien nicht vermeiden und ist außerdem noch von der natürlichen Häufigkeit der Elemente abhängig. Deshalb können die theoretischen maximalen spezifischen Aktivitäten mit Radioisotopen stabiler Elemente praktisch nicht erreicht werden. Trotzdem sind die Stoffkonzentrationen bei der Verwendung kurzlebiger Radionuklide so gering, dass sie im Zeitgesetz für die Reaktionsgeschwindigkeit im Vergleich zu denen des Reaktionspartners vernachlässigt werden können.

Die Kinetiken solcher radiochemischer Reaktionen sind meist pseudo-erster Ordnung, da die makroskopische Konzentration des Reaktionspartners im Zeitverlauf der Reaktion als konstant angesehen werden kann. Die auf die Anfangsaktivität zerfallskorrigierte Ausbeute, die radiochemische Ausbeute (RCA), nimmt somit mit steigender Reaktionszeit einen exponentiellen Verlauf gegen einen Sättigungswert an. Dies bedeutet, dass ohne auftretende Nebenreaktionen theoretisch 100 % Reaktionsausbeute erzielt werden können.



Für die Bildung des radioaktiv markierten Produktes P aus dem Vorläufer V und dem radioaktivem Reaktanden R gilt dann folgendes Geschwindigkeitsgesetz:

$$-\frac{d[R]}{dt} = k' \cdot [R]$$

mit $k' = k \cdot [V]$; ($[V] \gg [R]$).

Die beobachtbare Geschwindigkeitskonstante k' der Reaktion pseudo-erster Ordnung ist das Produkt aus der Vorläuferkonzentration $[V]$, die als konstant angenommen wird, und der wahren Geschwindigkeitskonstante k . Nach Integration über die Reaktionszeit ergibt sich folgende Gleichung:

$$[P] = [R]_0 \cdot (1 - e^{-k't})$$

mit $[R]_0 =$ Konzentration von R bei $t = 0$.

Bei konstant gehaltener Reaktionszeit t , erhält man nach gleichen Überlegungen für die Abhängigkeit der Bildung des radioaktiven Produktes von $[V]$:

$$[P] = [R]_0 \cdot (1 - e^{-k \cdot [V]})$$

Die Abhängigkeit des Umsatzes von der Vorläuferkonzentration entspricht theoretisch also ebenfalls einem hyperbolischen Kurvenverlauf. Hier ist man bemüht, den Grenzwert der Sättigung zu bestimmen, da möglichst geringe makroskopische Konzentrationen des Vorläufers eine chromatographische Abtrennung des Markierungsproduktes vereinfachen.

1.3. Radiotracer für die Positronen-Emissions-Tomographie

1.3.1. Grundlagen der Positronen-Emissions-Tomographie - Methode

Die Idee, biologische und/oder biochemische Prozesse mittels Positronen-Emissions-Tomographie (PET) zu untersuchen, kam schon in den 30iger Jahren des letzten Jahrhunderts auf, als biologisch relevante Radionuklide, wie Kohlenstoff-11, Stickstoff-13 und Sauerstoff-15 an den damals neu entwickelten Zyklotronen künstlich hergestellt werden konnten. Die Positronenemission dieser Nuklide resultiert nach Rekombination des Positrons mit einem Elektron in zwei außerhalb des Körpers gut detektierbaren γ -Quanten mit einer jeweiligen Energie von 511 keV. Das Konzept der PET konnte jedoch erst realisiert werden, als anorganische Szintillationsdetektoren zur γ -Spektrometrie, die Elektronik für $\gamma\gamma$ -Koinzidenzmessungen und die Computerkapazität zur Datenverarbeitung und Bildgebung

entwickelt waren. Deshalb liegen die Anfänge der PET als funktionelles, bildgebendes Verfahren bei *in vivo* Anwendungen erst zirka 30 Jahre zurück.

Dazu werden hauptsächlich kurzlebige, neutronenarme Radionuklide eingesetzt, wobei die meistgenutzten ^{15}O ($t_{1/2} = 2,03$ min), ^{13}N ($t_{1/2} = 9,96$ min) und ^{11}C ($t_{1/2} = 20,4$ min) sind. Der instabile Kern der neutronenarmen Nuklide sucht durch Verringerung der positiven Kernladung größere Stabilität zu erlangen. Dies kann durch zwei verschiedene Zerfallsmöglichkeiten erreicht werden, nämlich den Positronenzerfall (β^+) oder den Elektronen-Einfang (EC). Selten und nur bei besonders neutronenarmen Nukliden ist auch die direkte Emission eines Protons aus dem Kern, der Protonenzerfall, möglich.



Abbildung 1: Zerfallskanäle neutronenarmer Nuklide

Der Positronenzerfall ist nur möglich, wenn eine Zerfallsenergie von mehr als zwei Elektronenmassenäquivalenten (1022 keV) zur Verfügung steht, ansonsten wird der Zerfallskanal des EC genutzt. Das bedeutet, dass ein Energieüberschuss nötig ist, um einen möglichst hohen prozentualen Anteil an β^+ -Zerfall in Konkurrenz zum EC zu haben. Das Neutrino (ν) ist ein Partikel mit einer Masse nahe Null und teilt seine kinetische Energie mit einem Neutron (n) oder einem Positron (β^+). Beim Zerfall müssen die Erhaltungssätze der Impulserhaltung, der Paritätserhaltung und der Drehimpulserhaltung eingehalten werden.

Erst nach dem Erreichen einer Mindestgeschwindigkeit kombiniert das Positron mit einem Elektron zu einem wasserstoffartigen Partikel, dem Positronium. Dazu muss das Positron im Gewebe durch Stöße abgebremst werden, wobei es eine bestimmte Strecke von 1 – 8 mm (abhängig von der Positronenenergie) zurücklegen muss. Wie der Wasserstoff kann das Positronium im Singulettzustand (antiparalleler Spin, Drehimpuls Null, mittlere Lebensdauer $1,25 \cdot 10^{-10}$ s) wie auch im Triplettzustand (paralleler Spin, Drehimpuls $\hbar = h/2\pi$, mittlere Lebensdauer $1,39 \cdot 10^{-7}$ s) [7] vorliegen. Der Triplettzustand wird jedoch in Wasser und Gewebe nur zu 0,4 % bevölkert. Durch Kombination von Teilchen (Elektron) und Antiteilchen (Positron) kommt es zur Annihilation und dem Aussenden der charakteristischen Strahlung von zwei γ -Quanten mit je 511 keV. Bei diesem Prozess müssen ebenfalls die Erhaltungssätze Gültigkeit haben, sodass aus dem Singulett-Positronium zwei γ -Quanten (Annihilationsstrahlung) resultieren. Ihre Energie von jeweils 511 keV entspricht der relativen

Masse der beiden Teilchen und sie werden im Winkel von nahezu 180° abgestrahlt. Aus dem Triplettzustand resultieren drei γ -Quanten mit unbestimmter Winkelverteilung.

Zur Darstellung der Annihilation macht man sich diese spezielle Eigenart, die simultane kolineare Aussendung von zwei γ -Quanten, zu Nutze. Dies geschieht bei der $\gamma\gamma$ -Koinzidenzmessung oder Idealerweise der Messung der Zeitverschiebung (time of flight; TOF) zwischen dem Detektieren beider Quanten.

Bis 1983 wurden meist Thallium dotierte Natriumiodid Detektoren genutzt, danach dann Bismutgermanat-Detektoren $\text{Bi}_4\text{Ge}_3\text{O}_{12}$ (BGO) in einer Blockstruktur. Der Vorteil gegenüber NaI war eine höhere Effizienz des Detektors. Ein γ -Quant verursacht im Kristallblock einen Lichtblitz, der mit Photomultiplier Röhren (PMTs) verstärkt wird und ein elektrisches Signal ergibt, welches mit Computern zur Bildgebung genutzt wird. Es werden z.B. 4 PMTs an einen BGO-Block gekoppelt und ca. 70 Blöcke formen einen Ring. Beim Kombinieren vier solcher Ringe erhält man ein axiales Fenster von ca. 15 – 16 cm. So können 31 – 63 Ebenen gleichzeitig mit einer räumlichen Auflösung von 4 – 7 mm Halbwertsbreite, FWHM (full-width half-maximum) gemessen werden [8]. Der Nachteil der BGOs ist die relativ schlechte Lichtausbeute, die bei nur 15 % gegenüber dem NaI-Kristall liegt. Lutetium-Orthosilikat, Lu_2SiO_5 (LSO), ist ein neuerer Szintillator, der mit einer Lichtausbeute von 75 % gegenüber dem NaI-Kristall deutliche Vorteile aufweist. Neue ganzkörper-Tomographen mit diesem Detektortyp und einer Laser getakteten Zeitauflösung erreichen Auflösungen von unter 2 mm FWHM. Dass die natürlich radioaktive Komponente Lutetium nicht von Nachteil ist, liegt daran, dass ausschließlich Koinzidenzmessungen erfolgen. Dazu sind diese Detektoren so verschaltet, dass ein Zerfallsereignis nur dann erfasst wird, wenn die beiden γ -Quanten innerhalb einer Auflösungszeit von wenigen Nanosekunden gleichzeitig von zwei gegenüberliegenden Detektoren registriert werden.

Die Zählausbeute ist aufgrund des 180° Winkels beider ausgesandter γ -Quanten tiefenunabhängig. So können Streu- und Absorptionsverluste durch eine von der eigentlichen PET-Aufnahme unabhängig durchgeführten Transmissions-Messung z.B. mit ^{68}Ga ($t_{1/2} = 68,3$ min; $E_{\beta^+} = 1900$ keV) exakt bestimmt und korrigiert werden. Dadurch ist eine Quantifizierung der Radioaktivität und damit des Tracers im Gewebe möglich. Die Ringe von Detektorenpaaren ermöglichen es, in einer Schnittebene (tomographische Schicht) die Konzentrationen markierter Verbindungen oder ihrer Metabolite im pico- bis nanomolaren Bereich quantitativ zu erfassen. Anhand von computergestützten Bildrekonstruktionsverfahren sind durch Aufnahme von mehreren transversalen Schnittebenen dreidimensionale Bilder der regionalen Traceranreicherung darstellbar. Eine neuere Entwicklung stellen hochauflösende (unter 2 mm FWHM) Tier PET-Geräte dar [9], womit mehrmaliges

Applizieren von Pharmaka möglich ist ohne das Tier zu töten. Dadurch werden auch die Kosten für solche *in vivo* Experimente und zur Radiopharmakaentwicklung reduziert und Tierleben geschont.

Regional ablaufende physiologische Prozesse können durch dynamische Messungen über einen längeren Zeitraum *in vivo* erfasst und mit Hilfe biomathematischer Modelle quantifiziert werden [10 - 13]. Es sind damit auch pharmakokinetische Aussagen über Transport- oder Umsatzraten möglich. Dies ist mit anderen, bildgebenden Verfahren der Medizin, wie der Röntgen-Computer-Tomographie (CT) oder dem „MR-imaging“ (iMRT) nicht möglich. Dort werden morphologische Strukturen abgebildet, indem die Transmission von Strahlung durch den Körper gemessen wird. Die funktionelle Magnet-Resonanz-Tomographie (fMRT) kann physiologische Vorgänge auch nur indirekt über Änderungen der lokalen Perfusion (Durchblutung) erfassen.

1.3.2. Radionuklide für PET und Nuklidproduktion von Fluor-18

Wegen der kurzen Halbwertszeiten der relevanten Radionuklide werden die PET-Radiopharmaka fast ausschließlich im Haus (d.h. in Zyklotronnähe) hergestellt. Die für die PET verwendeten Radioisotope (vgl. Tabelle 2) sind naturgemäß neutronenarme Atome und werden daher im Allgemeinen durch den Beschuss stabiler Atome mit kleinen geladenen Teilchen wie Protonen, Deuteronen oder Heliumkernen in Teilchenbeschleunigern erzeugt. Zur Produktion dieser Nuklide ist die genaue Kenntnis der nuklearen Daten und der Anregungsfunktionen der spezifischen Kernumwandlungen unerlässlich. Die Art der verwendeten Kernreaktion und des Targetmaterials entscheidet hierbei häufig über die chemische Form, die erreichbare spezifische Aktivität und die absolut produzierbare Radioaktivitätsmenge. Zur Übersicht der Produktionsmethoden der in Tabelle 2 dargestellten PET-Nuklide siehe [14 - 17]. Die Verwendung der Radionuklide von Br, Se und I werden in Abschnitt 1.4.1 besprochen.

Im Gegensatz zu den übrigen Nukliden sind einige der metallischen PET-Nuklide (^{82}Rb , ^{62}Cu und ^{68}Ga ; vgl. Tabelle 2) Generatorkern und stehen damit auch Arbeitsgruppen ohne eigenem Zyklotron zur Verfügung [18]. Sie werden *in vivo* in komplexierter Form oder als freie Ionen eingesetzt [19]. Die Quantifizierbarkeit der PET macht man sich bei der Aufklärung der Pharmakokinetiken von ^{90}Y -markierten Therapeutika oder $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -markierten SPECT-Radiotracer durch den Austausch dieser Nuklide mit den PET-Nukliden Y-86 oder Tc-94m zunutze [20].

Tabelle 2: Die wichtigsten PET-Nuklide und deren nukleare Daten [14 - 16]

Nuklid	Halbwertszeit	Zerfallsart (%)	$E_{\beta^+,max}$ [keV]
^{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); EC (0,2)	3250
^{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	4,18 d	β^+ (25); EC (75)	2140
^{38}K	7,6 min	β^+ (100)	2680
^{62}Cu	9,7 min	β^+ (98); EC (2)	2930
^{64}Cu	12,7 h	β^+ (18); β^- (37); EC (45)	655
^{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
^{94m}Tc	52 min	β^+ (72); EC (28)	2470
^{72}As	26 h	β^+ (88); EC (12)	2515

Fluor-18 ist aufgrund seiner günstigen physikalischen und chemischen Eigenschaften ein ideales PET-Nuklid. Die Halbwertszeit von 109,7 Minuten ermöglicht sowohl mehrstufige Synthesen als auch die Studien langsamerer Pharmakokinetiken. Außerdem kann dadurch nach einem so genannten Satellitenkonzept die Versorgung von Kliniken ohne eigenes Zyklotron mit Radiopharmaka sichergestellt werden. Fluor-18 hat mit 635 keV eine sehr geringe maximale Positronenenergie, was eine geringe Strahlenbelastung für den Patienten bei einer hohen Auflösung der PET-Aufnahme bedingt. Außerdem kann es schon an kleinen Zyklotronen in hohen Ausbeuten relativ preiswert hergestellt werden. Für die Herstellung von Fluor-18 gibt es mehr als 20 untersuchte Kernreaktionen, wovon die wichtigsten in Tabelle 3 angegeben sind.

[^{18}F]Fluorid wird vorteilhaft durch die $^{18}\text{O}(p,n)^{18}\text{F}$ -Reaktion an ^{18}O -angereichertem Wasser gewonnen. Nicht angereichertes Wasser als Targetmaterial wäre finanziell viel günstiger,

Tabelle 3: Kernreaktionen zur Produktion von Fluor-18 [21 - 23].

	$^{18}\text{O}(p,n)^{18}\text{F}$	$^{16}\text{O}(^3\text{He},p)^{18}\text{F}$	$^{20}\text{Ne}(d,\alpha)^{18}\text{F}$	$^{18}\text{O}(p,n)^{18}\text{F}$
Targetmaterial	H_2^{18}O	H_2O	$\text{Ne}/0,2\% \text{F}_2$	$^{18}\text{O}_2$
Teilchenenergie [MeV]	16 → 0	36 → 0	11 → 0	10 → 0
chem. Form	$^{18}\text{F}^-_{\text{aq}}$	$^{18}\text{F}^-_{\text{aq}}$	$[^{18}\text{F}]\text{F}_2$	$[^{18}\text{F}]\text{F}_2$
Targetausbeute [mCi/ μAh]	60	7	10-12	~10
spez. Aktivität [GBq/ μmol]	≤ 3700	≤ 3700	0,037 – 0,37	0,037 – 1,85

jedoch würde die höhere benötigte Geschossteilchenenergie von 36 MeV ein größeres und somit teureres Zyklotron voraussetzen. Außerdem sind die Targetausbeuten bei dieser Reaktion deutlich geringer [24]. Für elektrophile Synthesen benötigtes $[^{18}\text{F}]\text{F}_2$ kann mit Hilfe von Ne- oder $^{18}\text{O}_2$ -Gastargets nur in geträgerter Form durch Zusatz von Fluor produziert werden, weshalb die erreichbaren spezifischen Aktivitäten relativ gering sind. Die meistgenutzte Methode zur direkten $[^{18}\text{F}]\text{F}_2$ Produktion ist die $^{20}\text{Ne}(d,\alpha)^{18}\text{F}$ Kernreaktion [25]. Um die spezifischen Aktivitäten zu erhöhen wurden auch Bestrebungen unternommen, $[^{18}\text{F}]\text{F}_2$ aus $^{18}\text{F}^-_{\text{aq}}$ zu gewinnen. Dazu wurde zunächst trägerarmes $[^{18}\text{F}]\text{CH}_3\text{F}$ synthetisiert, mit Fluorgas in einer inerten Neonmatrix gemischt und durch elektrische Entladung ein Isotopenaustausch von ^{18}F -für- ^{19}F am Fluorgas initiiert. Hierbei wurden jedoch auch nur spezifische Aktivitäten von bis zu 55 GBq/ μmol erreicht [26].

1.4. Entwicklung und radiopharmakologische Bewertung von Radiotracer und Radioliganden

1.4.1. Wahl des Radionuklids und des Tracerkonzepts aufgrund pharmakologischer Prinzipien

Für die Messung von regionalen biochemischen Abläufen ist es notwendig, ein rationales Konzept für Tracer auf der Basis biochemischer oder pharmakologischer Prinzipien zu entwickeln. Mit ^{11}C , ^{15}O , ^{13}N und ^{30}P kann authentisch markiert werden; das heißt die

Radionuklide werden anstelle eines ihrer natürlichen Nuklide in das potenzielle Pharmakon oder das endogene Biomolekül eingebaut. Aufgrund ihrer sehr kurzen Halbwertszeiten von 2 - 20 Minuten (vgl. Tabelle 2) sind die synthetischen und pharmakokinetischen Anwendungsmöglichkeiten dieser Nuklide jedoch eingeschränkt. Einfache Moleküle wie $[^{13}\text{N}]\text{NH}_3$, $[^{15}\text{O}]\text{H}_2\text{O}$ und $[^{15}\text{O}]\text{C}_4\text{H}_9\text{OH}$ werden als Perfusionstracer eingesetzt und erlauben die Messung des Blutflusses sowie mit $[^{11}\text{C}]\text{CO}$ die des Blutvolumens. Die Halbwertszeit von ^{11}C ($t_{1/2} = 20,4$ min) ermöglicht dennoch über die Synthese sekundärer Markierungsvorläufer die Durchführung komplexerer Radiosynthesen zur Darstellung zahlreicher ^{11}C -markierter Substanzen mit entsprechend schnellen Pharmakokinetiken, von denen einige routinemäßig (z.B. $[^{11}\text{C}]\text{Methylmethionin}$, $[^{11}\text{C}]\text{Flumazenil}$, $[^{11}\text{C}]\text{Raclopride}$) in der nuklearmedizinischen Diagnostik eingesetzt werden [19].

Für zeitlich anspruchsvollere Aufbausynthesen und Radiopharmaka mit langsameren Kinetiken werden die längerlebigen Analogtracer ^{18}F , $^{75,76}\text{Br}$, $^{120,124}\text{I}$ und ^{73}Se (vgl. Tabelle 2) eingesetzt. Die Markierungen endogener Substanzen mit diesen Radionukliden basieren auf sterischen und chemischen Analogien zu funktionellen Gruppen. ^{76}Br und ^{124}I stellen Strukturanaloga für Methylgruppen dar [20]. ^{73}Se verhält sich sterisch und chemisch ähnlich seinem Homologen Schwefel und wird beispielsweise zur Markierung von Methionin eingesetzt [27]. Fluor weist einen van-der-Waals-Radius von 1,35 Å auf und ist damit dem Wasserstoff mit einem Atomradius von 1,20 Å ähnlich. Daraus ergibt sich die sterische Analogie von Fluor zu Wasserstoff, auf deren Basis die Entwicklung des weitaus größten Teils aller ^{18}F -markierten Verbindungen beruht. Fluor-18 kann also isoster zum Wasserstoffatom oder isoelektronisch zu einer OH-Gruppe eingeführt werden. Im Gegensatz zu Wasserstoff ist Fluor stark elektronegativer und kann Bindungsstärke und Acidität von Nachbargruppen beeinflussen, was Veränderungen in den Moleküleigenschaften bewirkt. Die Fluor-Kohlenstoff-Bindung hat eine sehr hohe Bindungsenergie von durchschnittlich 440 kJ/mol. Chemisch ist eine geringe Dehalogenierung von Radiopharmaka zu erwarten, jedoch bleibt im Einzelfall das metabolische Verhalten zu prüfen.

Da 2- $[^{18}\text{F}]\text{Fluor}$ tyrosin anstelle des natürlichen Tyrosins metabolisch akzeptiert wird, kann es zur Quantifizierung der regionalen Proteinsyntheserate im Gehirn genutzt werden [28]. Auch bei der 2- $[^{18}\text{F}]\text{Fluor}$ -2-deoxy-D-glucose (FDG), dem gegenwärtig meistgenutzten PET-Radiopharmakon, besteht eine solche F-für-H Analogie. FDG wird als Glucoseanalogon über Transportproteine aktiv in Zellen eingeschleust und dient als Substrat der Hexokinase. Wegen des strukturellen Unterschieds zur Glucose wird die Deoxyglucose dann aber nicht weiter metabolisiert und verbleibt als 2- $[^{18}\text{F}]\text{Fluor}$ deoxyglucose-6-Phosphat in der Zelle. Dies bezeichnet man als „metabolic trapping“ [29]. Dieses einfache biochemische Verhalten

erlaubt somit eine Quantifizierung des Glucoseverbrauchs auf der Basis eines Drei-Kompartimenten-Modells [30], was bei der Diagnose von pathologischen Veränderungen genutzt wird, die einen veränderten Glucoseverbrauch aufweisen [29].

Ein weiteres Gebiet, in dem die PET genutzt wird, ist die Erforschung biochemischer Vorgänge im zentralen Nervensystem. Das Nervensystem besteht aus einem Geflecht von Nervenzellen, den Neuronen, die untereinander durch "Verlängerungen", den Axonen und Dendriten verbunden sein können. Axone und Dendrite verschiedener Neuronen interagieren durch spezialisierte Verbindungsstellen, die man Synapsen nennt. Sie teilen sich in einen präsynaptischen und einen postsynaptischen Teil ein, der durch den synaptischen Spalt von 15 - 20 nm räumlich voneinander getrennt ist. Bei fast alle Synapsen findet eine Signalübertragung über den synaptischen Spalt durch chemische Botenstoffe, die Neurotransmitter, statt. Werden die Neurotransmitter in den Spalt ausgeschüttet, können sie z.B. mit Rezeptor- oder Transporterproteinen an den post- und präsynaptischen Membranen Wechselwirkungen eingehen, die Anregung, Inhibition oder Veränderungen in der Zielzelle hervorrufen [31]. Minimale Störungen in diesem komplexen System durch beispielsweise neurodegenerative Erkrankungen können sich durch sehr geringe Konzentrationsänderungen der Rezeptorproteine bemerkbar machen. Radioaktiv markierte Analoga der Neurotransmitter oder rezeptorbindenden Pharmaka nennt man Radioliganden, die wie die biogenen chemischen Botenstoffe Wechselwirkungen mit bestimmten Rezeptorproteinen eingehen sollen, um die Rezeptorproteindichten mit der PET *in vivo* quantifizieren und Aussagen über das Ausmaß der physiologischen Veränderungen bei Patienten machen zu können.

Das physiologische Verhalten der Analogtracer muss unter Anderem auf Toxizität, Mutagenität, pharmakologische Wirkung und Veränderung im metabolischen Verhalten geprüft werden. Hat man die freie Wahl des Radionuklids, so ist zu beachten, dass die physikalische Halbwertszeit der Zeitdauer des betrachteten biologischen Prozesses (Pharmakokinetik) angepasst ist.

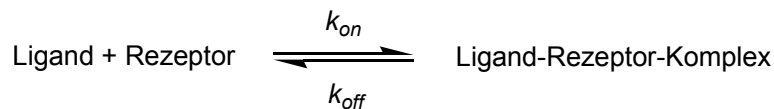
1.4.2. Evaluierung von Radioliganden

Prinzipiell geschieht die Bewertung von Radioliganden vor der Anwendung bei Menschen über verschiedene *in vitro* und *in vivo* Experimente. Die Ergebnisse geben bei *in vitro* Versuchen z.B. Aufschlüsse über sein Bindungsverhalten und die *in vitro* Stabilität der

Verbindung. Bei *in vivo* Versuchen an Versuchstieren können weitere Parameter wie Verteilung des Radioliganden im Körpergewebe oder sein Metabolismus erhalten werden.

Zur Bewertung eines Radioliganden müssen im Wesentlichen die Bindungseigenschaften des Substrats (Ligand) an bestimmte Proteine (Rezeptor, Transporter oder Enzym) und der Metabolismus des Liganden (fate of the label) geprüft werden.

Die Spezifität resultiert aus der Bildung eines Ligand-Rezeptor-Komplexes, was man auch als Schlüssel-Schloss Prinzip bezeichnet.



Pharmakologische Studien beruhen auf dieser Wechselwirkung. Es wird angenommen, dass eine Bindung zustande kommt, wenn Ligand und Rezeptor aufeinander treffen, und dass bei der Dissoziation Ligand und Rezeptor wieder unverändert entstehen. Dadurch ergibt sich die Gleichgewichtsdissoziationskonstante K_D für das Fließgleichgewicht:

$$K_D = \frac{k_{off}}{k_{on}} = \frac{c(\text{Ligand}) \cdot c(\text{Rezeptor})}{c(\text{Ligand} - \text{Rezeptor} - \text{Komplex})}$$

im Gleichgewicht gilt: $c(L-R-K) = B$ (gebundene Fraktion)

$$K_D = \frac{c(L) \cdot c(R)}{B}$$

mit $c(R) = c_0(R) - B$

$$K_D = \frac{c(L) \cdot (c_0(R) - B)}{B}$$

mit $c_0(R) = B_{max}$

$$B \cdot K_D = c(L) \cdot B_{max} - c(L) \cdot B$$

Durch Umstellen ergibt sich daraus folgende Formel, die zur Bestimmung von Bindungsdaten relevant ist:

$$B = \frac{c(L) \cdot B_{max}}{K_D + c(L)} \quad (\text{Bindungsisotherme})$$

Durch *in vitro* Untersuchungen will man zunächst Informationen über die Affinität (Dissoziationskonstanten K_D oder Inhibitionskonstante K_i), die Selektivität (relative Affinität gegenüber weiteren Bindungsstellen) und Anzahl der Bindungsstellen (B_{max}) und deren Verteilung im Gewebe erhalten. Durch Auftragung der Radioligandkonzentration $c(L)$ gegen das Ausmaß der Bindung des Ligands an Rezeptoren (B) ergibt sich eine hyperbolische Funktion (Bindungsisotherme), aus der man aus dem Grenzwert die Sättigungskonzentration B_{max} ablesen kann. Aus der Halbwertssättigung ($\frac{1}{2} B_{max}$) und der zugehörigen Radioligandenkonzentration, ergibt sich K_D des zu prüfenden Liganden. Es ist von Vorteil, wenn B_{max} deutlich größer als K_D ist. Dies bedeutet, dass bei nanomolaren Konzentrationen der Bindungsstellen *in vivo* der K_D eines potenziellen Radioliganden Idealerweise eine subnanomolare Affinität haben sollte [32].

Bei diesen sogenannten Sättigungsexperimenten zur Bestimmung der Gleichgewichtskonstanten wird jedoch bereits der markierte Ligand benötigt. Alternativ geschieht dies anhand von Verdrängungsstudien mit dem unmarkierten Liganden, bei denen die Gleichgewichtskonstante durch Relativ-Messungen bestimmt wird. Dazu wird Zellhomogenat, welches das Zielprotein beinhaltet mit einem Radioligand bekannter Affinität für den betrachteten Rezeptor und bekannter Dissoziationskonstante K_D inkubiert. Man gibt den zu prüfenden Stoff in steigender Konzentration hinzu und beobachtet dessen Verdrängungspotential gegenüber dem eingesetzten Radioliganden. In Abbildung 2 ist das Ergebnis eines solchen Experiments schematische dargestellt.

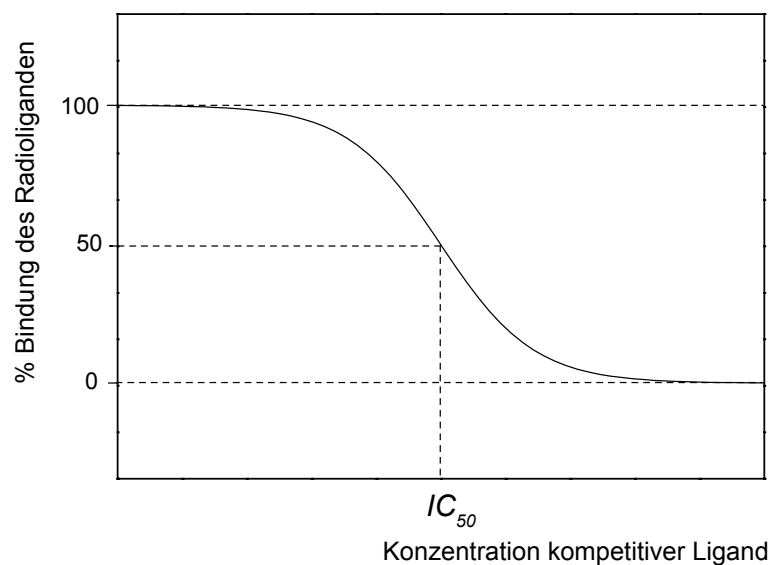


Abbildung 2: Ergebnis einer Verdrängungsstudie schematisch dargestellt

Als IC_{50} -Wert (inhibitory concentration 50 %) bezeichnet man die Konzentration an unmarkiertem Ligand, bei welcher die Hälfte der Bindung des Radioliganden verdrängt wurde (vgl. Abbildung 2). Für die Bindung des unmarkierten Liganden an den Rezeptor ergibt sich für die Inhibitionskonstante K_i :

$$K_i = \frac{c(\text{Ligand}_{\text{unmarkiert}}) \cdot c(\text{Rezeptor})}{c(\text{Ligand}_{\text{unmarkiert}} - \text{Rezeptor} - \text{Komplex})}$$

Die Inhibitionskonstanten K_i ist proportional zum IC_{50} Wert und kann als Vergleichskonstante herangezogen werden, da sie unabhängig von $K_D(\text{Ligand}_{\text{unmarkiert}})$ und der Ligandenkonzentration $c(\text{Ligand}_{\text{unmarkiert}})$ ist. K_i ist somit ein Richtwert, der die Einschätzung der Affinität eines Liganden erlaubt. Nach Cheng und Prusoff [33] gilt folgende Beziehung:

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

Bei hoher Affinität des unmarkierten Liganden an den Rezeptor ist weniger unmarkierter Ligand nötig, um den Radioliganden zu verdrängen. Ist die Dissoziationskonstante $K_D(\text{Radioligand})$ groß, wird der IC_{50} Wert kleiner.

Ein Kriterium für die Bindungsselektivität wäre der Quotient aus Bindungsaffinität eines Liganden zur untersuchten Bindungsstelle und der Affinität dieses Liganden zu einer kompetitiven Bindungsstelle. Eine geringe Selektivität muss sich aber nicht nachteilig auswirken, wenn die unerwünschte Bindung in anatomisch abgetrennten Arealen auftritt. Die Bestimmung der unspezifischen Bindung von Radioliganden ist ein weiterer wichtiger Parameter. Dies ist der nicht-sättigbare Anteil der Aufnahme in das zu untersuchende Gewebe. Meist sind dies unselektive Anlagerungen an Proteine oder Lipide.

Die unspezifische Bindung und die Auswaschung des unspezifisch gebundenen Radioliganden *in vivo* sind nicht genau vorhersehbar und müssen über entsprechende Experimente an Versuchstieren überprüft werden. In einer Stoffklasse von strukturell ähnlichen Verbindungen erhöht sich im allgemeinen aber die unspezifische Bindung mit Zunahme der Lipophilie [34]. Als Index für die Lipophilie einer Verbindung in biologischen Systemen wird häufig der Logarithmus des Verteilungskoeffizienten zwischen Wasser und Octanol (logP-Wert) verwendet. Zu einem gewissen Grad ist eine lipidische Löslichkeit notwendig, damit der Radioligand die Blut-Hirn-Schranke (BHS) überwinden kann und eine

genügend hohe Zählrate erreicht wird. Zum Anderen kann dies eine höhere Bindung zu Plasmaproteinen zur Folge haben; weshalb dann weniger „freie“ Moleküle zur Verfügung stehen, um an das Zielprotein zu gelangen. Es können auch lipophile Moleküle beim Passieren des Lungenkreislaufes in die Lunge extrahiert, dort metabolisiert werden und dadurch nicht mehr das Zielgewebe erreichen. Eine optimale Lipophilie ist wünschenswert, wobei die Aufnahme im Hirn groß sein sollte und die unspezifische Bindung relativ klein [35]. Mit der PET können nur regionale Radioaktivitätskonzentrationen bestimmt werden, wobei nicht die chemischen Formen oder Umgebungen der Verbindungen unterschieden werden können. Um das Signal klar interpretieren zu können, ist es wünschenswert dass radiomarkierte Metabolite nicht zur spezifischen Bindung beitragen. So sollten Radioliganden vorzugsweise resistent gegenüber schneller Metabolisierung sein und sich radiomarkierte Metabolite nicht im Gewebe der Zielregion anreichern. Die metabolische Stabilität ist daher in jedem Einzelfall (Radioligand) in *ex vivo* Tierstudien sowohl im Blut als auch im Zielorgan festzustellen.

Für weitere präklinische Untersuchungen, die durchgeführt werden müssen, bevor Radioliganden am Menschen zum Einsatz kommen, stellt die Autoradiographie ein Hilfsmittel in der Entwicklung von Radiopharmaka dar. Hierbei werden gefrorene Gewebsschnitte (z.B. Hirnschnitte) auf Glasträgern mit einer gepufferten Lösung des Radioliganden für ein bestimmte Zeit inkubiert und dann ein Film mithilfe der Radioaktivität des Liganden belichtet und dieser rechnergestützt ausgewertet. Dadurch sind Aussagen über die Anwendbarkeit der radiomarkierten Verbindung in der PET hinsichtlich der Affinität, der Selektivität, des Bindungsmusters und der unspezifischen Bindung im Zielgewebe möglich. Ein Vorteil gegenüber *in vitro* Bindungssays am Zellhomogenat ist, dass hierbei Versuche an intaktem Gewebe durchgeführt werden und auch Aussagen über anatomische Verteilungen möglich sind.

Einige nützliche Informationen können über *ex vivo* Tierversuche gewonnen werden, wobei typischerweise der Radioligand intravenös einer Reihe von Versuchstieren (Ratten, Mäuse) injiziert wird und diese nach einer gewissen Zeit getötet werden. Die Organe werden entnommen und die jeweilige Radioaktivität gemessen, und damit die Verteilung des Radiotracers in den Geweben zu bestimmten Zeiten nach Applikation erhalten. Zusätzlich können die Auswaschung der Radioaktivität aus dem Plasma und die radiomarkierten Metabolite bestimmt werden. Eine spezifische Bindung kann durch Competition des Radioliganden mit unmarkierten Verbindungen bestimmt werden, die zum selben Zielprotein Selektivität aufweisen. Auch hierzu werden Gehirnschnitte präpariert und *in vitro* nach einer *in vivo* Anwendung (*ex vivo*) analysiert. Dadurch werden indirekt Aussagen über das *in vivo*

Verhalten möglich. Mit der Kleintier-PET werden solche Evaluierungen vereinfacht. Jedoch können Unterschiede der einzelnen Tierspezies zu unterschiedlichen Ergebnissen führen, die dann nicht auf den Menschen extrapoliert werden können.

1.5. Markierungsmethoden mit [^{18}F]Fluor

Bei den verschiedenen Produktionsverfahren (vgl. Abschnitt 1.3.2) erhält man [^{18}F]Fluor wie erwähnt in unterschiedlicher chemischer Form. [^{18}F]Fluorid wird zur nukleophilen Fluorierung herangezogen und molekulares [^{18}F]F₂ zur elektrophilen Fluorierung. So können prinzipiell die gleichen Methoden wie in der makroskopischen Chemie zur Radiomarkierung organischer Moleküle genutzt werden, jedoch führen die meisten klassischen Reaktionsbedingungen nur zu geringen radiochemischen Ausbeuten.

1.5.1. Elektrophile ^{18}F -Markierung

Für diese Radiomarkierungsmethode steht c.a. [^{18}F]F₂ zur Verfügung, welches direkt aus dem Target gewonnen wird, oder die daraus synthetisierbaren Fluorierungsreagenzien Acetylhypofluorit [^{18}F]CH₃COOF und Xenondifluorid [^{18}F]XeF₂ [36 – 38] mit denen Reaktionen an elektronenreichen Reaktanden (Alkenen, Aromaten, Carbanionen) durchgeführt werden können. Die Umsetzung mit diesen hochreaktiven Fluorierungsreagenzien ermöglicht insbesondere die Darstellung von Verbindungen, die nicht auf dem Weg der nukleophilen Fluorierung zugänglich sind. Wie erwähnt kann [^{18}F]F₂ nicht trägerarm dargestellt werden, da das [^{18}F]Fluormolekül immer ein stabiles Fluoratom enthält. Die theoretisch möglichen radiochemischen Ausbeuten beschränken sich somit bei allen elektrophilen Fluorierungen auf maximal 50 %, wobei sich gleichzeitig die spezifische Aktivität bei dem Radiofluorierungsprozeß halbiert. Die durch den produktionsbedingten Zusatz von F₂ ohnehin niedrigen erreichbaren spezifischen Aktivitäten (vgl.

Tabelle 3) beschränken die Anwendung dieser Methode somit auf Verbindungen, die zur Untersuchung physiologischer Vorgänge eingesetzt werden (z.B. bei endogenen Tracern, wie markierten Fettsäuren, Zucker oder Aminosäuren), bei denen eine hohe spezifische Aktivität nicht erforderlich ist. Aufgrund ihrer hohen Reaktivität sind die elektronegativen

Fluorierungs-agenzien sehr unselektiv. Es kommt zu unerwünschten radikalischen Nebenreaktionen, Reaktionen mit dem Lösungsmittel oder Bildung von Isomergemischen. Daher sind aufwendige Reinigungsverfahren von Nöten, um den Anspruch der sehr hohen Reinheit von Radiopharmaka zu gewährleisten. Eine Erhöhung der Regioselektivität kann mittels Demetallierungsreaktionen an organometallischen Markierungsvorläufern wie Aryltrimethyl-zinn-, -germanium oder -siliziumverbindungen erzielt werden. Dabei werden mit Zinn-vorläufern die höchsten radiochemischen Ausbeuten erzielt [39, 40].

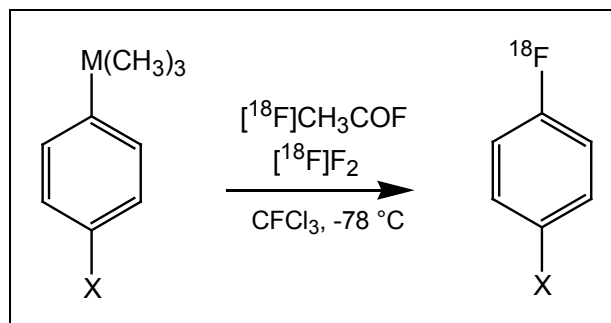


Abbildung 3: Fluordemetallierungsreaktionen [aus 39]

$M = Sn, Ge, Si$; $X = OCH_3, CH_3, H, F, CF_3, NO_2$

Die Desaktivierung des Aromaten durch den Erstsubstituenten (X) macht sich bei der Demetallierung deutlich weniger bemerkbar, als bei der direkten elektrophilen Fluorierung. Jedoch ist es bei komplexen Molekülen erforderlich, reaktive funktionelle Gruppen zu schützen, sodass meist weitere Entschützungsreaktionen dem Radiomarkierungsschritt nachgeschaltet sind. So kann 4- $[^{18}F]$ Fluor-L-phenylalanin über einen entsprechenden Zinn-vorläufer mit einer radiochemischen Ausbeute von 25 % dargestellt werden [41]. 6- $[^{18}F]$ Fluordopa (6- $[^{18}F]$ Fluor-3,4-dihydroxy-L-phenylalanin) ist ein klinisch wichtiges PET-Radiopharmakon und wird in der nuklearmedizinischen Diagnostik zur Untersuchung von Patienten mit neurodegenerativen Erkrankungen (Parkinson-Syndrom) eingesetzt, da mit diesem Tracer der Dopamin-Anabolismus im Gehirn dargestellt werden kann. 6- $[^{18}F]$ Fluordopa wird auch heute in der Routineproduktion durch Fluordestannylierung dargestellt, obwohl dadurch nur maximal 30 % RCA und niedrige spezifische Aktivitäten erhalten werden [42, 43]. Die Darstellung wird jedoch auf diesem Weg praktiziert, da ein effizientes nukleophiles Markierungsverfahren fehlt. Der nukleophile Weg beinhaltet eine mehrstufige Synthese mit chiralen Auxiliaren [44], die eine Automatisierung sehr schwierig gestaltet und nur geringe radiochemische Ausbeuten liefert.

1.5.2. Nukleophile ^{18}F -Markierung

Nukleophiles [^{18}F]Fluorid zur Radiofluorierung wird direkt aus dem Target ohne Trägerzusatz gewonnen. Nur auf diesem Weg sind trägerarme Markierungsprodukte zugänglich, die hohe spezifische Aktivitäten aufweisen. Um z.B. sehr geringe Konzentrationen an physiologischen Bindungsstellen mit Radioliganden darzustellen, ohne die biochemischen Gleichgewichte zu stören, sind Verbindungen mit hohen spezifischen Aktivitäten nötig. Hierbei wird eine möglichst geringe Anzahl an bioaktiven Molekülen gewährleistet.

Das [^{18}F]Fluorid-Anion wird in wässriger Lösung gewonnen und ist somit stark solvatisiert ($\Delta_{\text{Hydrat}} = 506 \text{ kJ/mol}$) und für einen nukleophilen Angriff inaktiviert. In Anwesenheit von aziden Protonen wird das stark elektronegative Fluor sehr leicht protoniert und bildet [^{18}F]Fluorwasserstoff und steht somit für weitere Umsetzungen nicht mehr zur Verfügung. ^{18}F -Fluorierungen werden daher in dipolar aprotischen Lösungsmitteln wie Acetonitril (MeCN), Dimethylsulfoxid (DMSO), N,N-Dimethylformamid (DMF) und Dimethylacetamid (DMAA) durchgeführt. Zur Anionenaktivierung des trägerarmen [^{18}F]Fluorids werden Phasentransferkatalysatoren (PTKs) wie Tetraalkylammoniumcarbonate und -hydroxide, aber hauptsächlich Aminopolyether (APE) wie Kryptofix 2.2.2.[®] und das Kaliumcarbonat- bzw. das weniger basische Oxalat-Carbonat-System als Hilfsbasen eingesetzt [45 – 47]. Wegen der Komplexbildung des Kaliumions durch den Aminopolyether zu einem $[\text{K} \cdot 2.2.2.]_2\text{CO}_3$ -Kryptatsystem erhält man ein fast unsolvatisiertes [^{18}F]Fluoridion mit hoher nukleophiler Reaktivität. Adsorptionsverluste an den Reaktionsgefäßen bleiben dabei vergleichsweise klein, wenn das Löslichkeitsprodukt des entstehenden Ionenpaares nicht überschritten wird [48].

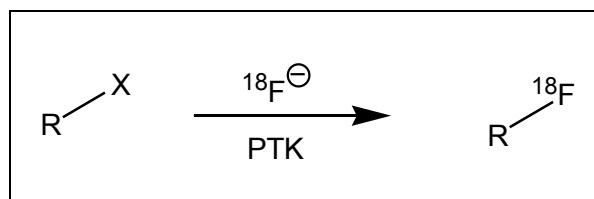


Abbildung 4: Schema der aliphatischen nukleophilen ^{18}F -Fluorierung

X = Br; I; R-N(CH₃SO₃) (mit R = Alkyl); R'-SO₃ (mit R' = F₃C, CH₃(C₆H₄), CH₃)

PTK = $[\text{K} \cdot 2.2.2.]^+_2\text{CO}_3^{2-}$; $[\text{K} \cdot 2.2.2.]^+_2\text{C}_2\text{O}_4^{2-}/\text{CO}_3^{2-}$; $[\text{K} \cdot 2.2.2.]^+\text{HCO}_3^-$; R₄N⁺; Cs⁺; Rb⁺

Die direkte nukleophile ^{18}F -Fluorierung von Aliphaten verläuft in den genannten dipolar aprotischen Lösungsmitteln über eine $\text{S}_{\text{N}}2$ -Reaktion, wobei Halogene oder günstiger Sulfonsäureester wie Mesylat, Tosylat und Triflat als Abgangsgruppen fungieren [47]. Im Allgemeinen erhält man mit Triflat(trifluormethansulfonsäureester)-Vorläufern die besten radiochemischen Ausbeuten (zur Übersicht siehe [49]).

Der $\text{S}_{\text{N}}2$ -Mechanismus ermöglicht durch die Wahl eines entsprechenden Vorläufers eine stereospezifische ^{18}F -Markierung, da die Abgangsgruppe unter Walden-Umkehr durch das ^{18}F -Fluorid ersetzt wird. So wird die bereits erwähnte 2- ^{18}F -Fluor-2-deoxy-D-glucose (FDG) aus einem vollständig acetylierten Mannosevorläufer durch Austausch von Triflat gegen ^{18}F -Fluorid und anschließender Hydrolyse [50] dargestellt (vgl. Abbildung 5). Bei der Routineproduktion werden radiochemische Ausbeuten von etwa 40 % erzielt.

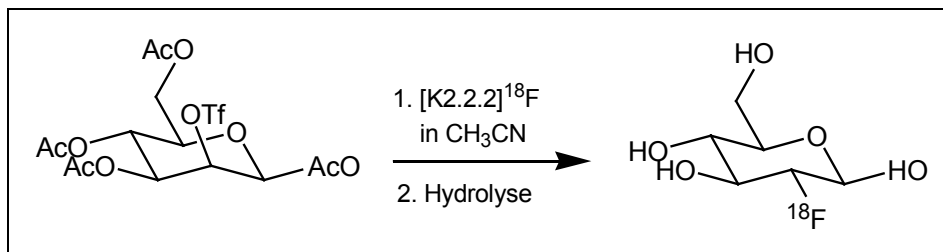


Abbildung 5: Reaktionsschema zur Darstellung von ^{18}F -Fluordeoxyglucose

Die nukleophile aromatische Substitution ist von großer Bedeutung in der Entwicklung und Herstellung ^{18}F -fluorierter Radiopharmaka. Neben der Vielzahl potentieller aromatischer Radiotracer ist die zumeist hohe metabolische Stabilität dieser Verbindungen ein entscheidender Vorteil. Zur nukleophilen aromatischen ^{18}F -Fluorierung sind aktivierende Substituenten mit mesomer-elektronenziehenden Eigenschaften in *ortho*- oder *para*-Stellung zur jeweiligen Abgangsgruppe notwendig (vgl. Abbildung 6).

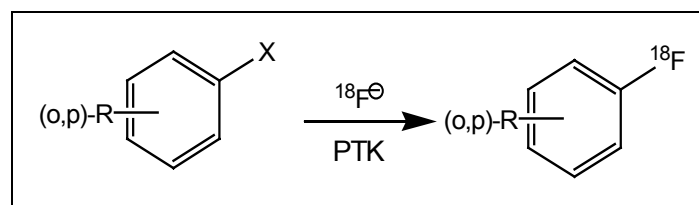


Abbildung 6: Schema der aromatischen nukleophilen Fluorierung

$\text{X} = \text{NO}_2, \text{N}(\text{CH}_3)^{3+}$ (mit TfO^- , Tos-, ClO_4^- , I^-), Br, Cl, I

$\text{R} = \text{NO}_2, \text{CN}, \text{CHO}, \text{RCO}, \text{COOR}, \text{Cl}, \text{Br}, \text{I}$

$\text{PTK} = [\text{K}2.2.2.]^+ \text{CO}_3^{2-}; [\text{K}2.2.2.]^+ \text{C}_2\text{O}_4^{2-}/\text{CO}_3^{2-}; [\text{K}2.2.2.]^+ \text{HCO}_3^-; \text{R}_4\text{N}^+; \text{Cs}^+; \text{Rb}^+$

Als aktivierende Substituenten in *ortho*- oder *para*-Stellung zur Abgangsgruppe sind besonders Nitro-, Cyano- und Carbonylgruppen mit hohen Hammett-Konstanten zweckmäßig [51]. Die Nitrogruppe, die Halogene und besonders die Trimethylammoniumgruppe eignen sich als Abgangsgruppen. Fluor ist ebenfalls eine sehr geeignete Abgangsgruppe, führt aber bei der Radiofluorierung zu geträgerten Produkten und verringert damit wieder die spezifische Aktivität. Die Trimethylammoniumgruppe besitzt die größte Nukleofugie unter den beschriebenen Abgangsgruppen, wobei sich als Gegenionen zur Trimethylammoniumgruppe Iodid, Perchlorat, Tosylat und Triflat, mit in dieser Reihe steigenden radiochemischen Ausbeuten eignen. Bei schwach aktivierenden Substituenten mit kleinen Hammett-Konstanten wie z.B. Iod und Brom ($\sigma_p = 0,26$ und $0,22$) tritt bei der Trimethylammoniumgruppe zur nukleophilen Substitution am sp^2 -Kohlenstoff des Aromaten die Substitution am aliphatischen Kohlenstoff unter Bildung von $[^{18}\text{F}]$ Fluormethan in Konkurrenz. Trotzdem können radiochemische Ausbeuten von maximal 12 % der 1- $[^{18}\text{F}]$ Fluor-4-haloderivate gewonnen werden [52].

Eine nukleophile ^{18}F -Fluorierung von desaktivierten Aromaten ist über zwei Wege möglich. Es kann zunächst mittels einer Mehrstufensynthese das n.c.a. $[^{18}\text{F}]$ Fluorid an einem mit einer aktivierenden Gruppe und mit einer geeigneten Abgangsgruppe substituierten Aromaten durchgeführt werden, und in einem nachfolgenden Reaktionsschritt der aktivierende Substituent chemisch umgewandelt werden [53]. Zum anderen können durch eine Umsetzung von substituierten Diphenyliodonium-Salzen mit $[^{18}\text{F}]$ Fluorid nicht-aktivierte Aromaten direkt radiofluoriert werden, wie in neuerer Zeit gezeigt wurde [54, 55] (vgl. Abbildung 7). Das Verhältnis der Produktverteilung ist hierbei stark von der Art des Substituenten R abhängig. Mit Methylgruppen oder Halogenen, die keinen oder einen desaktivierenden Charakter besitzen, werden gute radiochemische Ausbeuten an substituierten $[^{18}\text{F}]$ Fluorarenen erhalten, wobei mit steigender Zahl der Methylgruppen die radiochemische Ausbeute an $[^{18}\text{F}]$ Fluoralkylarenen zunimmt und die Reaktion zum

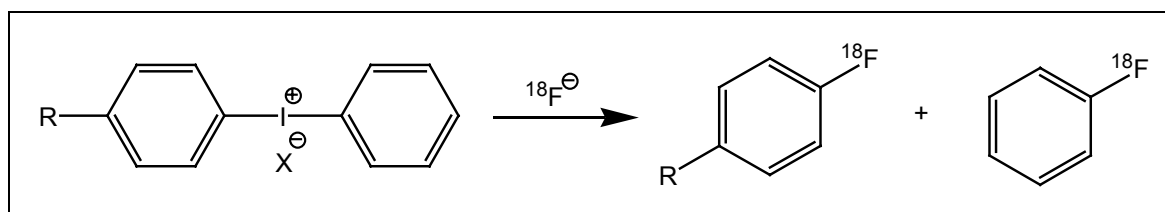


Abbildung 7: Schema zur Darstellung ^{18}F -fluorierter Arene über Diphenyliodonium-Salze

X = Br, Cl, I, Tos, TfO

R = CH₃, Cl, Br, I, OCH₃

Konkurrenzprodukt [^{18}F]Fluorbenzol zurückgedrängt wird. Mit (2,3,5,6-Tetramethyl)-diphenyliodonium Triflat wird eine radiochemische Ausbeute von 51 % an 2,3,5,6-Tetramethyl-[^{18}F]fluorbenzol erzielt. Dies führte somit erstmalig zur Darstellung stark desaktivierter [^{18}F]Fluorarene in einer einstufigen Synthese. Einen gegenteiligen Effekt haben elektronenschiebende Substituenten wie z.B. die Methoxygruppe. Hierbei wird ausschließlich [^{18}F]Fluorbenzol erhalten. Mit den Anionen Bromid, Triflat und Tosylat der Oniumsalze werden die besten radiochemischen Ausbeuten erzielt.

1.5.3. ^{18}F -Markierung über prothetische Gruppen

Die ^{18}F -Fluorierung über prothetische Gruppen ist eine indirekte Markierung über ein primäres ^{18}F -fluoriertes Markierungssyntheton und anschließender Kondensation mit einem sekundären Molekül zur Zielverbindung. Von besonderer Bedeutung sind hierbei die ^{18}F -Fluoralkylierung [56, 57], die ^{18}F -Fluoracylierung [58, 59] und die ^{18}F -Fluoramidierung [60] (vgl. Abbildung 8). Beispiele einer Markierung über den Weg der ^{18}F -Fluoralkylierung sind Radiosynthesen von Rezeptorliganden des dopaminergen [61] und serotonergen Systems [62], von Benzodiazepinen [63], Aminosäuren [64] und Cocain-Analoga [65]. Die ^{18}F -Fluoracylierung und die ^{18}F -Fluoramidierung eignen sich besonders zur Markierung von Proteinen und Peptiden, da hierbei nach der ^{18}F -Fluorierung auch in wässrigen Systemen gearbeitet werden kann. Die in β -Position markierten Ester, die aufgrund ihrer elektrophilen Eigenschaften mit Amino-, Alkohol- oder Thiofunktionen gekoppelt werden können, wurden z.B. erfolgreich an Biotin [66] oder dem Protein Octreotid [67] eingesetzt.

Ein interessantes neues Markierungsverfahren ist die ^{18}F -Fluorarylierung bei der entweder metallorganische ^{18}F -Markierungssynthetons wie 4-[^{18}F]Fluorphenyllithium zur Kupplung oder 1-[^{18}F]Fluor-4-haloderivate in Form von Sonogashira Reagenzien Verwendung finden. 4-[^{18}F]Fluorphenyllithium kann aus 1-[^{18}F]Fluor-4-haloderivaten synthetisiert werden, die in hohen radiochemischen Ausbeuten (50 - 60 %) aus entsprechend symmetrisch mit Halogenen substituierten Diphenyliodonium-Salzen zugänglich sind [68, 69]. Die grundsätzliche Anwendbarkeit der ^{18}F -Fluorarylierung wurde an verschiedenen Modellverbindungen gezeigt [70].

4-[^{18}F]Fluorphenol ist hinsichtlich der Synthese von ^{18}F -markierten Pharmaka und von biologisch aktiven Verbindungen [71, 72] ein weiteres sehr attraktives Markierungssyntheton. Und so gilt es als potentiell sehr interessantes Molekül, um die Auswahl an verfügbaren Radiotracer und Radioliganden für die Anwendung von PET zu erhöhen.

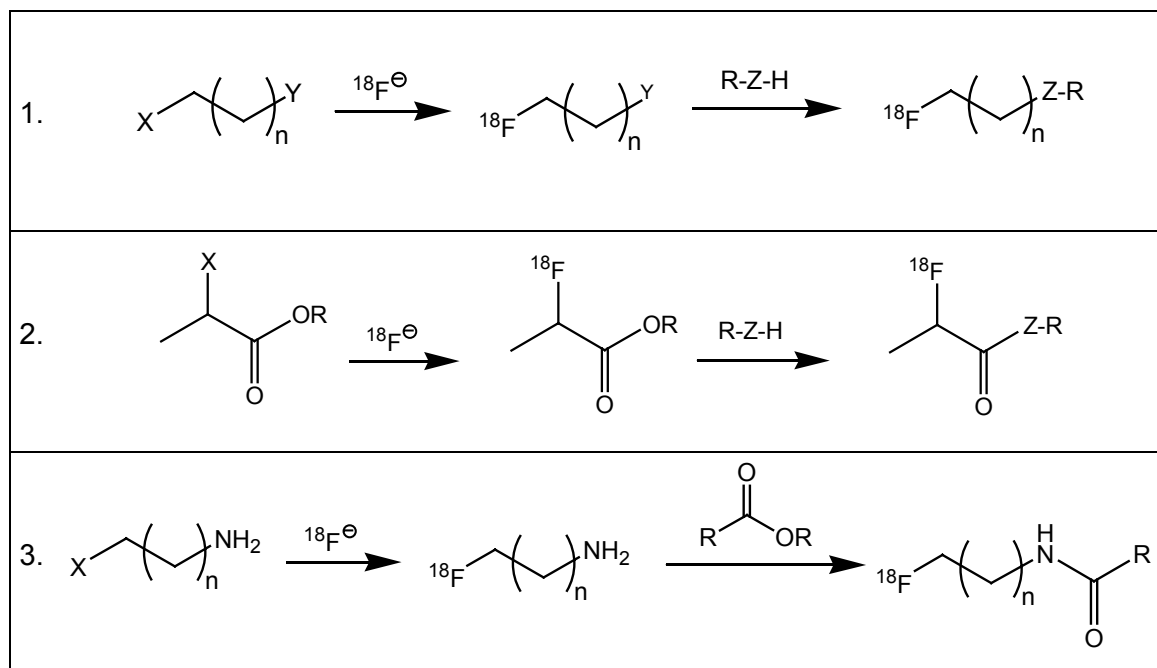


Abbildung 8: Schemata von 1. ^{18}F -Fluoralkylierung von H-aciden Verbindungen

2. ^{18}F -Fluoracylierung von H-aciden Verbindungen

3. ^{18}F -Fluoramidierung durch Kopplung an Aktivester

X, Y = Br, I, OTos, OTf

Z = N, O, S

R = Alkyl, Aryl

Kürzlich wurde die Verfügbarkeit von 4- ^{18}F Fluorphenoxyalkanen durch die Kopplung von n.c.a. 4- ^{18}F Fluorphenol mit Alkylbromiden gezeigt [73]. N.c.a. 4- ^{18}F Fluorphenol wurde bis dahin über die Hydrolyse eines 4- ^{18}F Fluorphenyldiazonium Salzes mit radiochemischen Ausbeuten von nur 15 – 33 % innerhalb von 60 Minuten gewonnen [74]. Bessere Ausbeuten an n.c.a. ^{18}F Fluorphenol wurden bei einer Baeyer-Villiger Reaktion über ^{18}F -markierte Benzaldehyd-, Acetophenon- und Benzophenon-Derivate erhalten [75]. Hierbei konnten ausgehend von 4- ^{18}F Fluorbenzophenon oder 4- ^{18}F Fluoracetophenon unter Verwendung von *m*-Chlorperbenzoesäure in Trifluoressigsäure radiochemische Ausbeuten von bis zu 25 % an 4- ^{18}F Fluorphenol in einer Synthesezeit von 40 – 50 Minuten erhalten werden (vgl. Abbildung 9). Optimale Bedingungen für den ^{18}F -Markierungs- und Hydrolyseschritt dieser Radiosynthese ergaben sich mit (4-(Trifluormethyl)phenyl)-benzoyl-4'-N,N,N-trimethylammoniumtriflat als Vorläufer, der sich als Kation nach der Radiofluorierung leicht über einen Ionenaustauscher abtrennen ließ. Der intermediäre 4-Trifluormethylbenzoesäure-4- ^{18}F fluorphenylester konnte leicht mit 5 N Natronlauge gespalten werden.

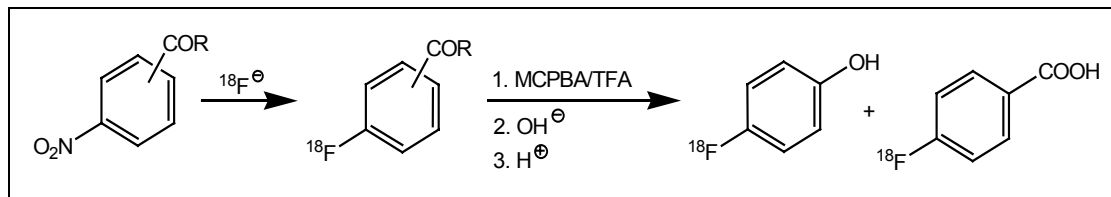


Abbildung 9: Darstellung von 2- und 4-[^{18}F]Fluorphenol über [^{18}F]Fluorbenzaldehyde und [^{18}F]Fluorphenylketone ($\text{R} = \text{H}, \text{CH}_3, \text{C}_6\text{H}_5$)

Eine Optimierung der Bayer-Villiger-Oxidation und speziell der Untersuchung des Einflusses der Substituenten auf die Produktverteilung der Biphenylmethanonspaltung führte zu einer radiochemischen Ausbeute von über 60 % bei einer Synthesedauer von 60 Minuten [73] (vgl. Abbildung 10).

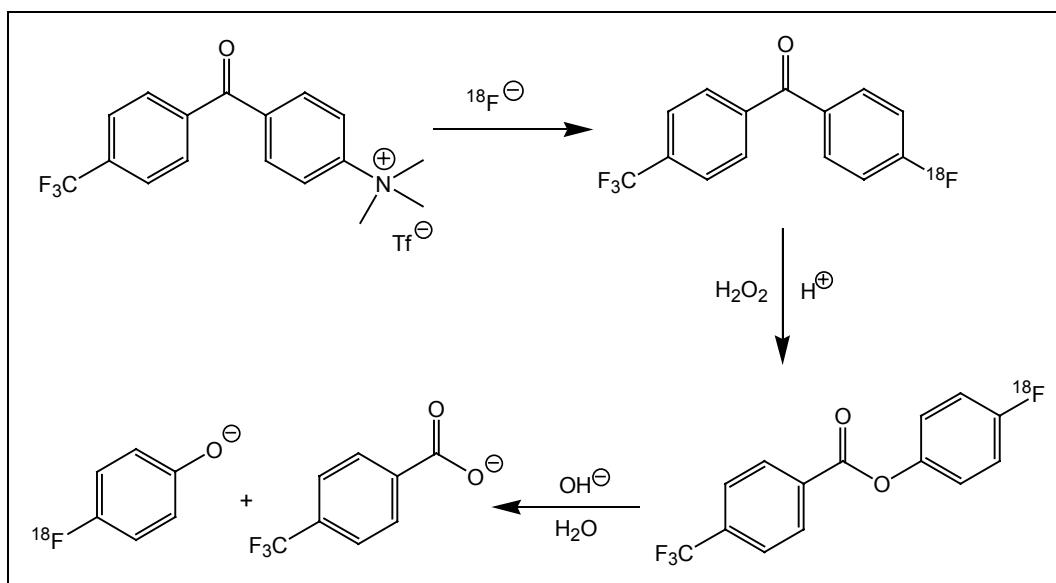


Abbildung 10: Optimierte Darstellung von n.c.a. 4-[^{18}F]Fluorphenol

1.6. Das serotonerge Rezeptorsystem

Serotonin (5-Hydroxytryptamin; 5-HT; Abbildung 11) ist ein wichtiger Neurotransmitter, der seine Wirkung über wahrscheinlich sieben verschiedene Typen an Serotoninrezeptoren und den Serotonin-Transporter (SERT) entfaltet. Serotonin wurde erstmals 1936 [76] charakterisiert und die 5-HT Rezeptoren kurz darauf identifiziert. Der serotonerge Rezeptor kann an vielen pharmakologischen Prozessen beteiligt sein. Störungen des serotonergen Systems können zu verschiedenen Krankheitssymptomen führen, z.B. Schizophrenie, Krämpfe, Erinnerungs- und Erkennungsstörungen, sensorische Ausfälle, kardiale Rhythmusstörungen und Störung kardiovaskulärer Funktionen, außerdem die kürzlich erst entdeckte Verbindung zum Reizdarm (Irritable **B**owel **S**yndrom; IBS) [77].

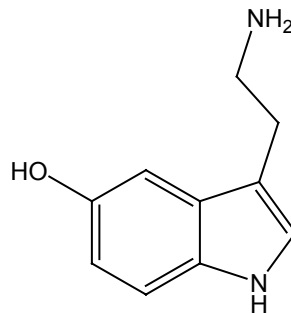


Abbildung 11: Struktur des Serotonin

1970 wurden 5-HT Bindungsstellen im Hirn gefunden [78] und zwei verschiedene Typen von Rezeptoren, 5-HT₁ und 5-HT₂, vorgeschlagen. Seitdem wurden mit Techniken, wie Bindungsstudien mit Radioliganden an Hirnhomogenaten, Autoradiographie und Molekularbiologie, weitere fünf Typen von Serotoninrezeptoren klassifiziert. Die sieben Haupttypen, 5-HT₁ bis 5-HT₇, können dann noch, neben „splice“-Varianten und Spezies-Homologen, in 14 weitere Subtypen unterteilt werden [76, 77]. Diese Unterteilung geschieht auf der Basis von Funktionalität (Funktion, Antagonismus, Lokalisierung), Transduktionsart (G-Protein, Ionenkanal) und Struktur (Gensequenz, chromosomale Lage). Fast alle diese Rezeptoren wurden bereits geklont und konnten exprimiert werden [79], jedoch ist ihre genaue Verteilung im Körper und ihre molekulare Struktur noch nicht vollständig aufgeklärt.

Serotonin wird im Organismus aus der essentiellen Aminosäure Tryptophan (TRYP) über eine Hydroxylierung mittels Tryptophanhydroxylase zu 5-Hydroxytryptophan (5-HTP) und weiterer Decarboxylierung durch die 5-Hydroxytryptophandecarboxylase gebildet (Abbildung

12). Das neuronal gebildete und gespeicherte Serotonin befindet sich vor allem im Hypothalamus, dem frontalen Cortex, im Stammhirn und dort speziell im Raphe Kern. Die Speicherung erfolgt in präsynaptischen Vesikeln, aus denen das biogene Amin bei Stimulation in den synaptischen Spalt freigesetzt wird. Dann kann es an die verschiedenen postsynaptischen Zellmembranrezeptoren binden, wird dann vom Serotonin Transporter wieder in das präsynaptische Neuron überführt (Reuptake) und damit die biogene Wirkung aufgehoben. Nach der Wiederaufnahme wird das Serotonin wieder gespeichert oder von der Monoaminoxidase (MAO) zu 5-Hydroxyindolessigsäure (5-HIAA) metabolisiert.

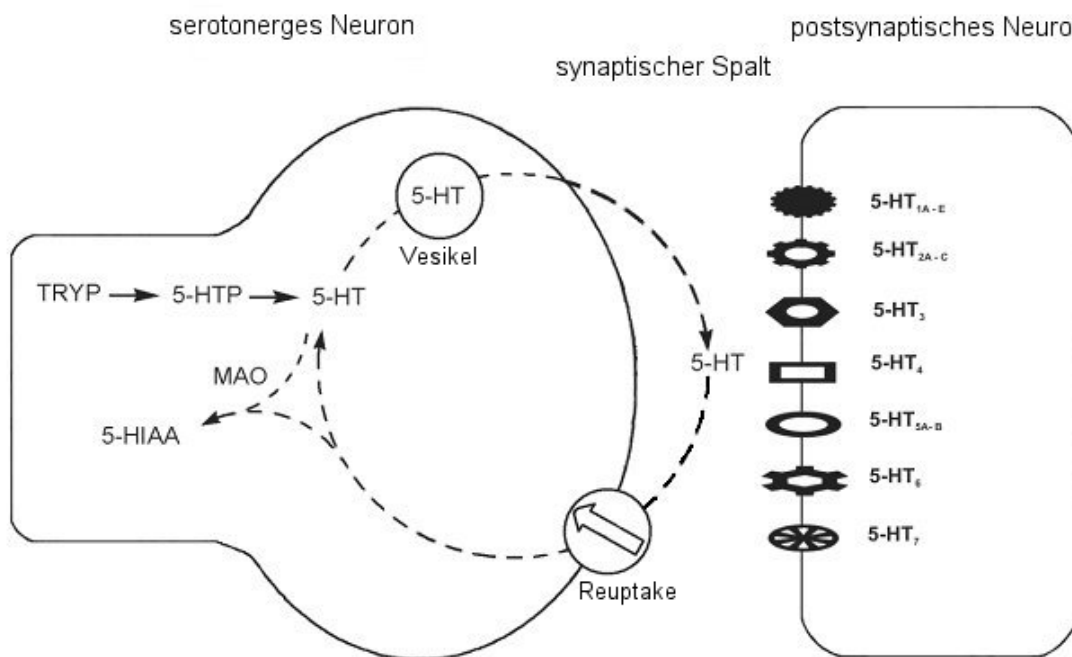


Abbildung 12: Modell der serotonergen Synapse

Die Untersuchung des Serotonin-Transporter-Systems stellt neben der der 5-HT Rezeptoren eine weitere interessante Möglichkeit der Aufklärung von wiederum zahlreichen psychischen und neurologischen Störungen, wie Depressionen, Angstzuständen oder Schizophrenie dar. Bei post-mortem Untersuchungen von Parkinson Patienten, manisch Depressiven und Selbstmordopfern wurden verringerte Dichten von Serotonin-Wiederaufnahme-Transportern (SERT) in kortikalen und subkortikalen Hirnregionen gefunden.

Der Serotonin-Transporter ist Modulator der extrazellulären Serotonin-Konzentration im synaptischen Spalt und somit Hauptziel von selektiven Serotonin Wiederaufnahmehemmern (selective serotonin reuptake inhibitor; SSRI). Er limitiert damit die Verteilung und Dauer der

postsynaptischen Anregung. Wenn also ein Serotonin Transport Inhibitor an den Transporter bindet oder aber die Monoaminoxidase hemmt, akkumuliert Serotonin im synaptischen Spalt, da die Ausschüttung nicht mehr mit einem präsynaptischen Rücktransport einhergeht bzw. Serotonin verstärkt ausgeschüttet wird oder aber nicht mehr enzymatisch abgebaut wird. Diese molekularen Ereignisse finden sofort nach Applikation eines Serotonin Transport Inhibitors statt [80].

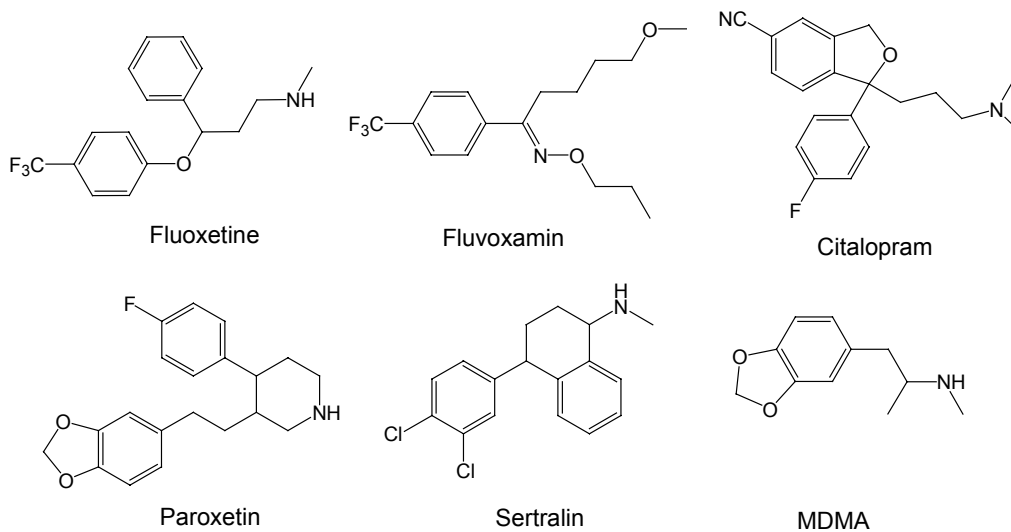


Abbildung 13: Kommerzielle Antidepressiva, die als selektive Inhibitoren des Serotonin Transporters wirken

Durch diese Regulation wirken SSRI's als Psychostimulantien. Auch 3,4-Methylenedioxy-N-methylamphetamin (MDMA, „Extasy“) gehört zu dieser Stoffklasse (zur Übersicht siehe [81]). Wie auch die kommerziellen Antidepressiva (Abbildung 13) verursachen diese Stoffe beim Menschen Euphorie, erhöhen den psychomotorischen Antrieb und den Geselligkeitstrieb. Die Wirkung dieser Stoffe ist Gegenstand aktueller medizinischer [82], genetischer [83] und pharmakologischer (zur Übersicht siehe [76]) Forschung, die erfolgreich mit verschiedenen Radioliganden und PET quantitativ durchgeführt wird [84, 85]. Die Visualisierung und Quantifizierung des Transporters ist von großer Bedeutung, um die Störungen des Systems bei genannten Krankheitssymptomen verstehen zu lernen, optimierte Pharmaka zu entwickeln und auch die Behandlungsplanung und Diagnose zu unterstützen. Eine verbesserte Behandlungsplanung ist von größter Wichtigkeit, um in verschiedenen Stadien der Behandlung eine genaue Dosierung zu gewährleisten. Die antidepressive Wirkung der SSRI's setzt beispielsweise erst 2 - 6 Wochen nach Beginn der

Behandlung ein. Diese Verzögerung liegt an einer Serotonin Autorezeptor Funktion. Die Serotonin Wiederaufnahme wird durch SSRI's geblockt und die präsynaptische Serotonin-ausschüttung wird nach einem kurzfristigem Anstieg automatisch runter reguliert (down-regulation). Beim Fortbestehen der Blockierung wird diese Autoregulation desensibilisiert und es kommt zu einem verspäteten starken Anstieg der Serotonin Konzentration im synaptischen Spalt [80].

1.7. Radioliganden als selektive Inhibitoren des Serotonin Transporters

Durch bildgebende Verfahren des menschlichen Gehirns wie PET oder SPECT sollten Einblicke in das Serotonin Transport System möglich sein, um zu verstehen, wie Veränderungen des serotonergen Systems mit neurologischen Erkrankungen zusammenhängen. Bei der klinischen Anwendung von SSRI's tritt eine Sättigung des Serotonin Transporters auf, die durch Messung der Bindung radioaktiv markierter SERT-Liganden bei Patienten in verschiedenen Behandlungsstadien dargestellt werden kann [76]. Es wurden einige radiomarkierte Serotonin Transport Inhibitoren mit sehr unterschiedlichen chemischen Strukturen evaluiert, die jedoch wegen zu hoher Lipophilie und/oder unspezifischer Bindung unbrauchbar für klinische Anwendungen sind. Dazu zählen [^{11}C]Cyanoimipramin [86], [^{11}C]Sertralin [87], [^{11}C]Fluoxetin [88], [^{11}C]Citalopram [89], nor- β -[^{11}C]/[^{123}I]CIT [90, 91], 5-[^{123}I]Iod/[^{76}Br]Brom/[^{18}F]Fluor-6-nitroquipazin [92, 93, 94] als PET- bzw. SPECT-Tracer. Zur Bewertung dieser Radiotracer wird die Akkumulation der Radioaktivität in Hirnregionen mit hohen Serotonin Transporter Konzentrationen (Thalamus und Hypothalamus) im Verhältnis zu Hirnregionen mit sehr geringer Konzentration dieses Transporters (Cerebellum) gesetzt. Das Verhältnis von Zielregion (region of interest; ROI) zu Cerebellum sollte nicht unter 2 liegen, damit der Ligand für biologische Studien verwendet werden kann [95].

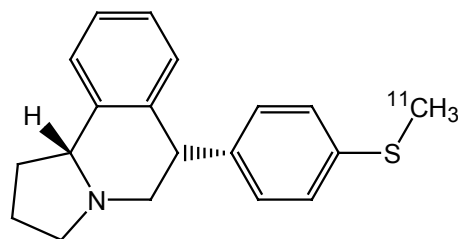


Abbildung 14: Struktur des [^{11}C]McNeil(+)-5652

Der erste PET-Radiotracer, mit dem Dichten des SERT an Primaten und Menschen gemessen werden konnte, ist [^{11}C]McNeil(+)-5652 (trans-1,2,3,5,6,10 β -Hexahydro-6-[4-(^{11}C)methylthio]phenyl]pyrrolo[2,1- α]isochinolon) [96 - 99] (vgl. Abbildung 14). Es wurden Studien zum Missbrauch von Ecstasy [100], Depressionserkrankungen, Antidepressiva Medikation [101] und den damit einhergehenden Veränderungen des Serotoninstoffwechsels durchgeführt. Mit McN5652 lassen sich Quantifizierungen von SERT in Regionen mit relativ hohen SERT-Dichten, wie dem Stammhirn, dem Thalamus und dem Hypothalamus durchführen. Jedoch ist dessen Anwendung als PET-Tracer ebenfalls einigen Limitierungen unterworfen [85]:

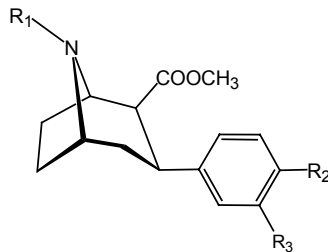
- Langsame Aufnahme ins Gehirn. Eine Messung muss deshalb mindestens 120 Minuten dauern, um eine zeitunabhängige Aufnahme des SERT-Bindungspotentiales in Regionen mit hohen SERT-Dichten zu erhalten, was mit der kurzen Halbwertszeit von ^{11}C nicht kompatibel ist.
- Hohe unspezifische Bindung. Es ist keine zuverlässige Quantifizierung in Regionen mit relativ kleinen SERT-Dichten, wie dem limbischen System möglich.
- Metabolite in der Blutfraktion können wegen zu geringer verbleibender Radioaktivität (^{11}C , s.o.) nicht gemessen werden.

1.7.1. Radioliganden auf der Basis von Cocain-Derivaten

Der SPECT-Tracer β -[^{123}I]CIT, ein Cocain-Derivat, welches ähnliche Affinitäten gegenüber dem Dopamin Transporter (DAT) und dem Serotonin Transporter (SERT) aufweist, war der erste erfolgreich eingesetzte Radioligand, um SERT im lebenden menschlichen Gehirn darzustellen. β -[^{123}I]CIT bindet im Striatum überwiegend an DAT und nur in anderen Regionen an SERT. Die Tropene (Cocain-Derivate) stellen im allgemeinen eine Stoffklasse dar, die gegenüber DAT und SERT eine gute Affinität aufweisen. Diese Unselektivität ist ein großer Nachteil, wenn man eine Quantifizierung mit PET erreichen will. Eine Bevorzugung einer der Monoamintransporter kann gegebenenfalls durch Änderungen im Substitutionsmuster erhalten werden. So wurden verschiedene Derivate auf ihre Verwendung als spezifische Radioliganden getestet. Cocain-Derivate, die als Radioliganden überprüft wurden, sind in Tabelle 4 zusammengestellt.

Bei PET Studien mit Affen von [¹¹C]nor-β-CIT und [¹¹C]RTI-357 [102], die beide eine hohe Affinität gegenüber SERT aufweisen, wurden 40 - 60 Minuten nach Injektion Radioaktivitätsverhältnisse von Thalamus zu Cerebellum von 2,5 und 2,1 gefunden, doch wurde die spezifische Bindung nach Vorbehandlung mit Citalopram nur um 15 - 25 % verringert. Bei [¹¹C] β-CIT findet man ein bis zu 40 % geringeres Verhältnis von Thalamus zu Cerebellum [90]. Das [¹²³I]nor-β-CIT zeigt mit einer sehr langsamen Aufnahmekinetik nach 4 Stunden eine 50 % reduzierte Aufnahme im Stammhirn [91].

Tabelle 4: Verschiedene Cocain-Derivate und ihre Affinitäten zu den Monoamintransportern



Name	R ₁	R ₂	R ₃	IC ₅₀ [nM]		
				SERT* [³ H]Paroxetin	DAT* [³ H]WIN 35,428	NET* [³ H]Nisoxetin
RTI-357	-H	-C(=CH ₂)CH ₃	-H	0,6	23	144
β-CIT	-CH ₃	-I	-H	4,2	1,3	
nor-β-CIT	-H	-I	-H	0,36	0,69	7,5
EINT	-H	-CH ₂ CH ₃	-I	15	263	-
LBT-44		-CH(CH ₃) ₂	-I	25	>500	-
ZIENT	-H	-C(=CH ₂)CH ₂ -I		0,05**	3,47**	24**

* Werte gemessen in Verdrängungsstudien gegen entsprechende tritiierte Verbindungen

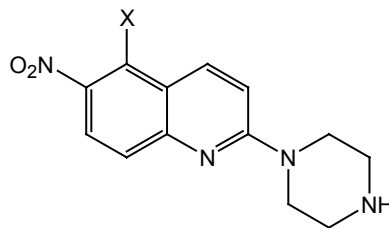
** K_i [nM]

Die Verbindungen EINT [103] und LBT-44 [104] zeigen ebenfalls eine hohe Affinität und Selektivität an SERT zu DAT und es wurden PET-Untersuchungen zur SERT Darstellung mit ihren ¹¹C-markierten Verbindungen gemacht, wobei zwar schnellere Aufnahmekinetiken als bei [¹²³I]nor-β-CIT gefunden wurden, der Anteil der unspezifischen Bindung im Affenhirn aber nicht akzeptabel war [105].

1.7.2. Radioliganden auf der Basis von 6-Nitroquipazin-Derivaten

Eine weitere Gruppe sind die 5-Halo-6-nitroquipazine (6-Nitropiperazin-1-ylchinolin), die bereits als $^{123/125}\text{I}$ - [92, 106], ^{76}Br - [93] und auch ^{18}F -markierte [94] potentielle SERT Liganden evaluiert wurden. Diese zeigen jedoch ebenfalls eine erhebliche Bindung gegenüber einem weiteren Monoamintransporter, dem Norepinephrin Transporter (NET), und erwiesen sich wegen zu geringer Akkumulation im Thalamus von Ratten und Affen als nicht für das SPECT- und PET-Imaging des SERT geeignet. Trotzdem zeigen diese Stoffe bei *in vitro* Versuchen eine sehr gute Affinität ($K_i < 0,25 \text{ nM}$) gegenüber dem SERT.

Tabelle 5: 5-Halo-6-nitroquipazine und ihre Bindungsdaten an SERT



X	K_i [nM]
I	0,19
Br	0,13
F	0,25

1.7.3. Radioliganden auf der Basis von Diphenyl(thio)ethern

Eine neuere Klasse der SSRI's bilden die Diphenyl(thio)ether, die sehr erfolgversprechende Eigenschaften aufweisen. Sie zeigen in bisherigen Studien, die hauptsächlich mit SPECT-Messungen und kürzlich auch mit ^{11}C -PET-Messungen durchgeführt wurden, bei bekannten SERT-Dichteverteilungen konsistente Ergebnisse. Ihre spezifische Bindung wurde selektiv von Serotonin Wiederaufnahmeinhibitoren blockiert, woraus sich ersehen lässt, dass diese Stoffklasse potentiell sehr selektive Serotonin Wiederaufnahme Inhibitoren darstellen. Vergleichende Studien untereinander und mit McNeil5652 sind in Bearbeitung [107, 108].

Die Entwicklung dieser Radiopharmaka fand ihren Anfang mit der neuen pharmakologisch potenten Verbindung 403U76 [109] (vgl. Abbildung 15), die von der Firma Glaxo-Wellcome als ein potentiell Pharmakon mit hoher Affinität gegenüber SERT und NET, entwickelt wurde.

In Anlehnung an diese Struktur wurde dann der erste SPECT-Radioligand zur Visualisierung von SERT entwickelt und Messungen an Primaten mit $^{123}\text{I}/^{125}\text{I}$ -markiertem IDAM (2-(5-Iod-2-benzylhydroxyphenylthio)-N,N-dimethylbenzylamin) durchgeführt [110 - 112].

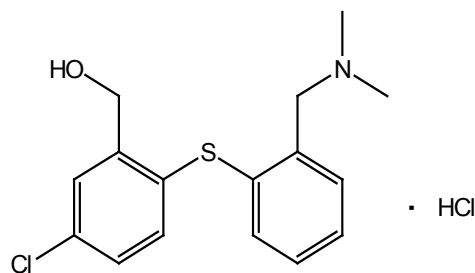


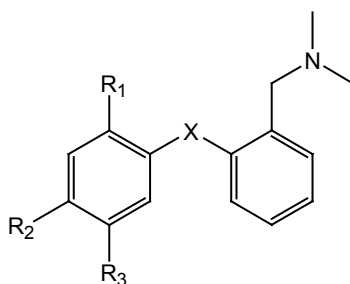
Abbildung 15: Struktur des 2-(5-Chlor-2-benzylhydroxyphenylthio)-N,N-dimethylbenzylamin Hydrochlorid (403U76)

Im Folgenden wurden weitere potente SPECT-Liganden mit sehr ähnlicher Grundstruktur charakterisiert (vgl. Tabelle 6). Anstelle der Thiobrücke wurden ebenfalls ein Diphenylether (ODAM) [113, 114] mit gleichem Substitutionsmuster und eine Aminogruppe anstelle des Benzylalkohols (ADAM) [115 - 117] dargestellt, mit Radioiod markiert und verschiedene radiopharmakologische Untersuchungen durchgeführt.

Um aus diesen Erkenntnissen einen PET-Liganden zu entwickeln, wurde zunächst die bereits charakterisierte Verbindung ADAM am Benzylamin mittels ^{11}C Methyliodid markiert [118]. Es folgte die Synthese und Evaluierung weiterer ^{11}C -Verbindungen mit sehr ähnlichen Substitutionsmustern [119 - 124]. Der entscheidende Nachteil der ^{11}C -Markierung ist jedoch die kurze Halbwertszeit des ^{11}C -Nuklids von 20,4 Minuten, sodass die Akkumulation des Radioliganden im Zielgewebe mit einer schnellen Pharmakokinetik vonstatten gehen muss. Bei ADAM wurde beispielsweise der beste Zeitpunkt für eine Messung mit optimalem Verhältnis von spezifischer zu unspezifischer Bindung für Messungen im Stammhirn und Cerebellum bei 160 bis 180 Minuten bestimmt [117]. Bei einer ^{11}C -Markierung des Stoffes wären bereits 8 bis 9 Halbwertszeiten verstrichen und die Grenze der Messbarkeit der Radioaktivität erreicht. Um auch längere Pharmakokinetiken messen zu können, erscheint die Entwicklung ^{18}F -markierter Diphenyl(thio)ether-Derivate als SSRI geboten. Da durch

Einführung des Fluors jedoch neue Verbindungen mit möglicherweise anderen Bindungseigenschaften zum SERT entstehen, muss jedes Fluor-Derivat auf seine Tauglichkeit als SSRI einzeln geprüft werden. Im Zuge dessen sind aktuelle ^{18}F -markierte Diphenyl(thio)ether-Derivate gerade in der Evaluierungsphase [125 - 130].

Tabelle 6: Diphenyl(thio)ether und ihre Affinitäten zu den Monoamintransportern



R ₁	R ₂	R ₃	X	Name	K _i [nM]		
					SERT	DAT	NET
-CH ₂ -OH	Cl	H	S	403U76	2,1	keine Inhibition	55
-CH ₂ -OH	I	H	S	IDAM	0,097 ± 0,013	>10,000	234 ± 26
-CH ₂ -OH	I	H	O	ODAM	0,12 ± 0,02	3900 ± 700	20 ± 1,9
H	I	H	O	K99-039	0,0019 ± 0,0003	n.A.	n.A.
-NH ₂	I	H	S	ADAM	0,013 ± 0,003	840 ± 100	699 ± 80
-NH ₂	-CH ₃	H	S	MADAM	1,65 ± 0,1	>10,000	325 ± 108
-NH ₂	-O-CH ₃	H	S	DAPP	1,89 ± 0,06	2651 ± 193	1992 ± 43
-NH ₂	CN	H	S	DASB	1,10 ± 0,04	1423 ± 103	1350 ± 221
-NH ₂	-CH ₂ -F	H	S	AFM	1,8 ± 0,3	2055 ± 917	96,5 ± 33,8
-NH ₂	Cl	F	S	ACF	0,05 ± 0,01	3020 ± 110	650 ± 80
-NH ₂	F	H	S	4-F-ADAM	0,081 ± 0,006	2,267 ± 188	177 ± 23
-NH ₂	F	H	S	5-F-ADAM	0,47	n.A.	n.A.
zum Vergleich: (+)-McNeil 5652					<0,01	112 ± 23	11,3 ± 3,3

Die mit Radioiod markierten Verbindungen IDAM, ODAM, ADAM wurden für die SPECT entwickelt, wohingegen die ^{11}C -markierten Verbindungen MADAM, DAPP, DASB und AFM ihre Anwendung entsprechend in der PET finden. Auch hier werden die Verhältnisse von Zielregion zu Cerebellum zur Bewertung herangezogen und es zeigt sich, dass [^{11}C]AFM im Affenhirn mit einem Verhältnis von 3,5 gegenüber [^{11}C]DASB mit 3,4 und [^{123}I]ADAM mit 2,7 die beste Spezifität aufweist. Ein Vergleich von [^{11}C]McNeil5652 mit [^{11}C]DASB bei der Anwendung im Menschen zeigte für DASB eine höhere spezifische Bindung und eine

bessere Auswaschung aus dem Hirn [108]. Eine umfangreiche Studie mit Affen und den ^{11}C -markierten Verbindungen McNeil5652, ADAM, DASB, DAPA und AFM belegte die Überlegenheit von DASB aufgrund schnellerer Aufnahmekinetiken [107]. Ebenfalls ein gutes Verhältnis von Hypothalamus-zu-Cerebellum von 3,5 zeigt das ^{18}F ACF 60 Minuten nach Injektion. Es ist eine der ersten ^{18}F -markierten Verbindungen, die auf den Diphenyl(thio)ethern basieren. Das kürzlich beschriebene 4- ^{18}F F-ADAM zeigt nach 120 Minuten ein Stammhirn-zu-Cerebellum-Verhältnis von 3,2 und 4,2 nach 180 Minuten und ist somit ein vielversprechender ^{18}F -markierter Radioligand für das PET-Imaging von SERT. Die Markierungsposition ist beim 4-F-ADAM Vorläufer nicht gegenüber dem Angriff des ^{18}F Fluorids aktiviert, weshalb die radiochemischen Ausbeuten bisher nur bei ca. 5 % liegen. Zum 5- ^{18}F F-ADAM [131] wurden bisher keine detaillierten Markierungsbedingungen und radiopharmakologische Untersuchungen beschrieben.

2. Problemstellung

Fluor-18 ist wegen seiner günstigen Zerfallseigenschaften ein ideales Radionuklid für die Positronen-Emissions-Tomographie (PET), womit insbesondere langsamere Pharmakokinetiken von Radioliganden sehr gut verfolgt werden können. Wie in der Einleitung ausgeführt, weisen bisher beschriebene selektive Inhibitoren des Serotonin Transportes aus der Stoffklasse der Diphenyl(thio)ether relativ langsame Pharmakokinetiken auf, weshalb sich bisherige ^{11}C -Markierungen als nicht optimal für PET-Studien erwiesen haben. Da diese Stoffklasse erst seit relativ kurzer Zeit von verschiedenen Arbeitsgruppen bearbeitet wird, sind von ihr nur wenige selektive Wiederaufnahmehemmer mit sehr ähnlichen chemischen Modifikationen und deren Bindungseigenschaften bekannt. Da der Serotonin Wiederaufnahme Transporter zu den Monoamintransportern gehört, scheint bei den Diphenyl(thio)ethern als Grundgerüst ein sekundäres oder tertiäres 2-Phenyl(thio/oxy)-benzylamin unerlässlich zu sein. Auch wird für eine computergestützte Entwicklung von potentiellen Radioliganden und einer genaueren Vorhersage der Bindungseigenschaften eine Vielzahl von chemisch möglichst unterschiedlichen Verbindungen benötigt, um eine Optimierung der pharmakophoren Gruppen zu ermöglichen.

Ein Ziel dieser Arbeit war die Erweiterung der bekannten Verbindungen der Stoffklasse der Diphenyl(thio)ether mit verschiedenen Substitutionsmustern an einem der aromatischen Ringe. So wurde in Anlehnung an bereits bekannte selektive Inhibitoren des Serotonin Transporters eine Auswahl an unterschiedlich substituierten Zielmolekülen getroffen. Es sollte zunächst eine sekundäre und tertiäre Benzylaminverbindung in Kombination mit einem bis auf das aromatisch gebundene Fluor-18 unsubstituierten Diphenylether dargestellt werden. Unter Betrachtung der bereits bekannten Substitutionsmuster von IDAM, ODAM und ADAM sollte die Variation eines Benzylalkohols durch eine primäre Benzylaminfunktion untersucht werden. Im Zuge dessen sollte die Möglichkeit geprüft werden, die Cyanofunktion zu nutzen, die sowohl für eine ^{18}F -Markierung als aktivierender Substituent fungiert wie auch als Vorläufer einer Benzylaminfunktion dienen sollte. Hier war ein Synthesekonzept zu entwickeln, um die Cyanofunktion im Laufe der Synthese nicht chemisch umzuwandeln und so eine weitere Variante von Diphenylthioethern zu erhalten. Zur Darstellung dieser Zielverbindungen mussten entsprechend substituierte Verbindungen dargestellt und über eine Diarylthioetherkopplung zu den Markierungsvorläufern und Standards umgesetzt werden.

Um genaue Messungen zur Dichteverteilung des Serotonin Wiederaufnahmetransports im lebenden menschlichen Hirn durchzuführen, sind hohe spezifische Aktivitäten des Radioliganden von Vorteil. So sollte das Hauptziel der Studie die Entwicklung von trägerarmen Synthesen zur Darstellung von n.c.a. [^{18}F]Fluor-Diphenyl(thio)ethern sein, die innerhalb einer möglichst kurzen Zeit mit hohen radiochemischen Ausbeuten durchführbar sind.

Basierend auf einer einfachen und schnellen, kürzlich entwickelten Möglichkeit der Darstellung des Markierungssynthons n.c.a. 4- ^{18}F Fluorphenol sollte eine Erweiterung der synthetischen Möglichkeiten des trägerarmen ^{18}F -Markierens mit diesem Synthon am Beispiel der Diphenylethersynthese erarbeitet werden. Außerdem sollten ^{18}F -Markierungen von entsprechenden Vorläufern für die Darstellung weiterer ausgewählter Zielmoleküle auf trägerarmen Niveau und eine einfache Synthesemöglichkeit zur Reduktion der aktivierenden Substituenten zu Benzylaminen bzw. aromatischen Aminen entwickelt werden. Für die nukleophile aromatische Substitution geeigneter Abgangsgruppen durch trägerarmes [^{18}F]Fluorid werden in *ortho*- oder *para*-Position aktivierende Substituenten benötigt, um eine hohe radiochemische Ausbeute zu gewährleisten. Dies musste bei der Syntheseplanung der Zielverbindungen beachtet werden.

Spezielles Interesse sollte der Optimierung jedes einzelnen Radiomarkierungsschrittes im Hinblick auf verschiedene Reaktionsparameter gewidmet werden, um die Markierungsprodukte möglichst effizient zu erhalten. Ebenfalls wurde die Optimierung der Darstellung der Verbindung n.c.a. 5- ^{18}F F-ADAM für Vergleichszwecke angestrebt, die kürzlich als sehr erfolgversprechender selektiver Inhibitor des Serotonin Transporters vorgestellt wurde.

Zur schnellen Charakterisierung und Reinigung der ^{18}F -markierten Verbindungen, sollten günstige Bedingungen für die Radio-Dünnschichtchromatographie sowie für die Radio-Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie bestimmt werden. Dafür waren Standards für einen chromatographischen Vergleich mit den markierten Verbindungen sowie entsprechende Vorläufer für die ^{18}F -Markierung präparativ zu synthetisieren.

3. Ergebnisse und Diskussion

In dieser Arbeit wurden basierend auf der Leitstruktur der Diphenyl(thio)ether Derivate dieser Verbindungen mit verschiedenen Substitutionsmuster auf ihre pharmakologische Wirkung und radioaktive Markierbarkeit hin überprüft. Zur Auswahl geeigneter Verbindungen ist es von Nutzen, eine Struktur-Wirkungsbeziehung zu Rate zu ziehen, um eine Auswahl an günstigen pharmakophoren Gruppen zu treffen. Da die Stoffklasse der Diphenyl(thio)ether verhältnismäßig neu ist, gibt es dazu jedoch noch keine ins Detail gehenden pharmakologischen Untersuchungen, wie z.B. zu den Pyrrolisochinolin (McN5652) als Antidepressiva [132], den Serotonin Rezeptor Liganden [133] oder Cocain-Derivaten als Lokalanästhetika [31]. Eine weitere Möglichkeit der Strukturauswahl besteht im computergestütztem „Molecular Modeling“, wozu aber eine möglichst große Datenbank an unterschiedlichen Verbindungen und deren pharmakologischer Wirksamkeit, oder aber genaues Wissen über die Wirksamkeit pharmakophorer Gruppen nötig ist. Die aktuelle Forschung auf dem Gebiet der selektiven Serotonin Transport Inhibitoren, welche nicht die Monoaminoxidase hemmen (siehe Abschnitt 1.6) führte bisher jedoch wegen unzureichender Datenbanken [134] bzw. ganz neuen Ansätzen des „Modelings“ [135] noch zu keinen zufriedenstellenden Ergebnissen. Die von Wellsow et al. angestellten Berechnungen zur Vorhersage von Bindungsaffinitäten von Diphenylthioethern beschränken sich beispielsweise auf inhibitorische Eigenschaften an SERT und NET, da Daten für DAT nicht zur Verfügung standen.

3.1. Syntheseplanung ausgewählter Verbindungen

Für die Entwicklung potenzieller selektiver Inhibitoren des Serotonin Transporters wurde daher auf bereits in der Literatur beschriebene Diphenyl(thio)etherstrukturen zurückgegriffen und deren Substitutionsmuster variiert (vgl. Tabelle 6). Dazu musste die Verfügbarkeit von Ausgangsverbindungen mit entsprechendem Substitutionsmuster, ihre ¹⁸F-Markierbarkeit und die *in vivo* Stabilität des Endproduktes berücksichtigt werden.

Der Serotonin Transporter gehört zu den Monoamintransportern und so sollten Substrate bzw. Inhibitoren ebenfalls eine entsprechende funktionelle Gruppe besitzen.

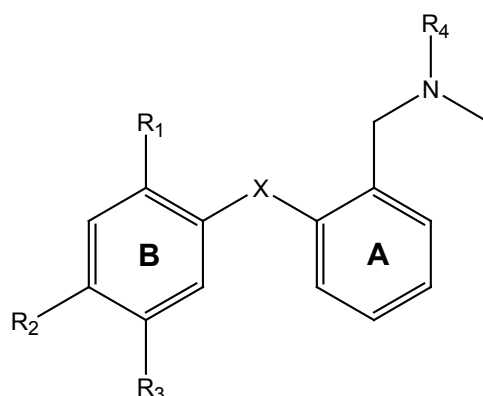


Abbildung 16: Leitstruktur zur Entwicklung von SSRI's

Ring A , Ring B	X	= S, O (CH ₂ , NH, NR)
	R ₁ , R ₂ , R ₃	= potenziell pharmakophore Gruppen
	R ₄	= CH ₃ , H

Dies wird mit einem tertiären Benzylamin als Ring **A** (siehe Abbildung 16) gewährleistet. Da auch tertiäre Amine dieser Stoffklasse im Körper zu sekundären umgewandelt werden können, sind diese ebenfalls von Interesse.

Hinsichtlich der ¹⁸F-Markierung ist zu beachten, dass aromatische ¹⁸F-Bindungen die größte *in vivo* Stabilität aufweisen, da diese generell nicht leicht unter Verlust des radioaktiven Atoms metabolisiert werden. Für eine indirekte Markierung, d.h. eine Aufbausynthese zu Diphenylethern steht n.c.a. 4-[¹⁸F]Fluorphenol als sekundäres Markierungssynthons zur Verfügung [73]. Dessen Radiosynthese wurde für diese Arbeit leicht abgewandelt und angepasst, um optimale Bedingungen für weitere Syntheseschritte mit dem Markierungssynthons zu schaffen. Alternativ wurde eine direkte Substitution von R₂ oder R₃ mit n.c.a. [¹⁸F]Fluorid am Ring **B** (vgl. Abbildung 16) angestrebt, wobei R₁ als aktivierende Gruppe für eine nukleophile ¹⁸F-Markierung dienen sollte. Dabei wurde berücksichtigt, dass Substituenten in der *ortho*-Position zur Brücke **X** potenziell pharmakophore Gruppe sind.

3.1.1. 2-(4-Fluorphenyloxy)-N-methylamin und 2-(4-Fluorphenyloxy)-N,N-dimethylamin

In Anlehnung an die Grundstruktur von IDAM und ODAM (vgl. Tabelle 6) und aus der Möglichkeit der Verwendung der kürzlich in der Literatur beschriebenen Radiosynthese von n.c.a. 4-[¹⁸F]Fluorphenol wurden die Zielverbindungen 2-(4-Fluorphenyloxy)-N-methylamin und 2-(4-Fluorphenyloxy)-N,N-dimethylamin ausgewählt. Mit Hilfe des Markierungssynthons

n.c.a. 4- ^{18}F Fluorphenol sollten Aufbaussynthesen zu den genannten Verbindungen entwickelt werden. Diese Zielverbindungen mit dem Grundgerüst eines sekundären und tertiären Phenylbenzylaminethers sind bis auf das radioaktive aromatisch gebundene ^{18}F Fluor unsubstituiert (vgl. Abbildung 17). Alle bisher aus der Literatur bekannten Verbindungen sind an Ring **B** mit mindestens zwei verschiedenen Substituenten versehen. Mit Bindungsdaten der mono-fluor-substituierten Derivaten könnte Aufschluss darüber gewonnen werden, inwieweit die bisherigen Substituenten für hohe Affinitäten zum Serotonin Transporter und gute Selektivität gegenüber weiteren Monoamintransportern nötig sind.

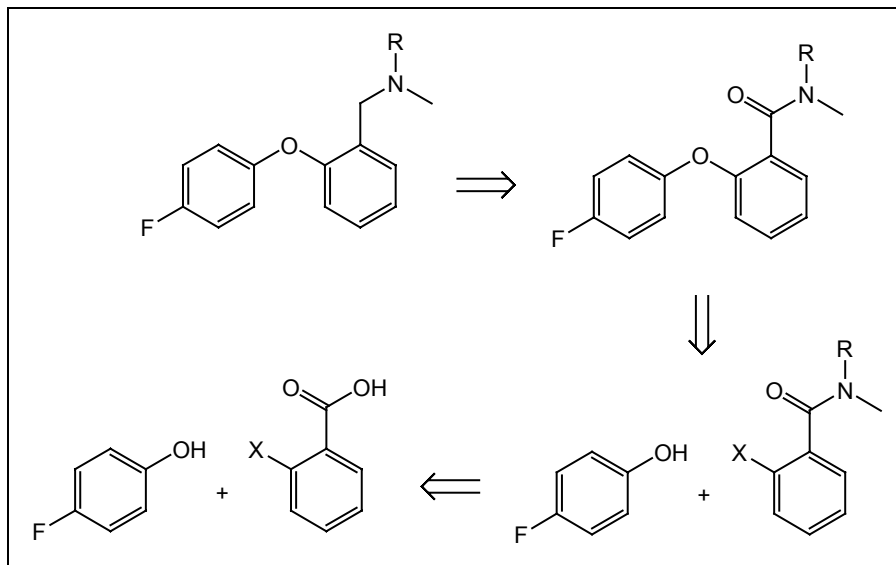


Abbildung 17: Retrosynthese zur Darstellung von 2-(4-Fluorphenyloxy)-N-methylamin (nor-FODAM) und 2-(4-Fluorphenyloxy)-N,N-dimethylamin (FODAM)
 R = CH₃ (FODAM), H (nor-FODAM)
 X = Halogen

Tertiäre Amine werden im Körper enzymatisch zu sekundären umgewandelt. Mit der Variation eines sekundären Benzylamins im Ring **A**, im Fall von 2-(4-Fluorphenyloxy)-N-methylamin, sollte getestet werden, ob ein metabolisiertes Molekül ähnliches Bindungsverhalten wie das zugehörige tertiäre Amin 2-(4-Fluorphenyloxy)-N,N-dimethylamin aufweist. Es wäre dann bei *in vivo* Anwendungen sogenannter nor-Verbindungen nicht auszuschließen, dass sich beide radioaktiv markierten Moleküle, d.h. Metabolit und Ligand, an das Zielprotein anlagern und somit eine Quantifizierung der Dichten der SERT Bindungsstellen mit der PET erheblich erschwert würde.

3.1.2. 2-(2-Cyano-5-fluorphenylthio)-N,N-dimethylbenzylamin und 2-(5-Fluor-2-methylaminophenylthio)-N,N-dimethylamin

Zur Variation des *ortho*-Substituenten an Ring **B** wurde zunächst eine Cyanofunktion gewählt, welche durch vollständige Reduktion zu einem primären Benzylamin in ein zusätzliches Analogon der Leitstruktur umgewandelt werden kann (vgl. Abbildung 18). Somit kann festgestellt werden, ob eine Cyanofunktion als Substituent mit seiner hohen Elektronendichte die Affinität zum Serotonin Transporter positiv beeinflusst, oder aber eine daraus herstellbare Benzylaminfunktion mit niedriger Elektronendichte ein besseres Bindungsverhalten aufweist.

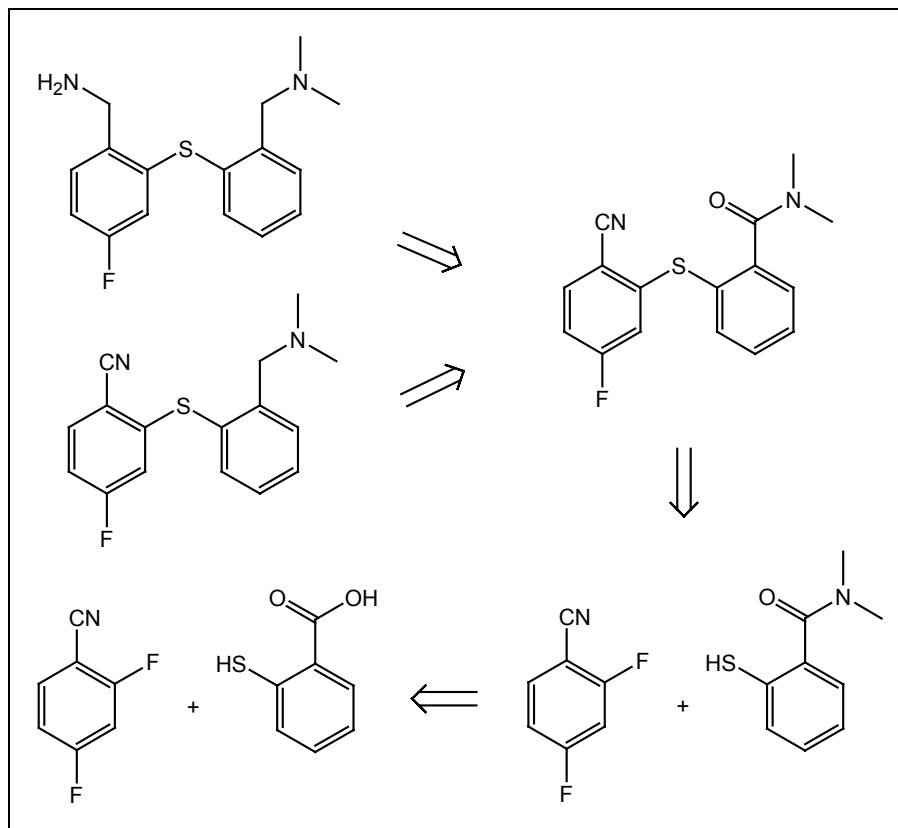


Abbildung 18: Retrosynthese zur Darstellung von 2-(2-Cyano-5-fluorphenylthio)-N,N-dimethylbenzylamin (FSDAM) und 2-(5-Fluor-2-methylaminophenylthio)-N,N-dimethylamin (MFD)

Bisher wurde außerdem keine Methylaminfunktion an Ring **B** getestet, sondern nur eine Methylalkoholfunktion, wie im Falle von IDAM und ODAM [110, 113] oder eine Aminogruppe, wie bei ADAM [115].

3.1.3. 2-(2-Amino-5-fluorphenylthio)-N,N-dimethylamin

Eine weitere vielversprechende Verbindung des Diarylthioethertyps ist das 5-F-ADAM, welches dem bereits beschriebenen ADAM [115] strukturell sehr ähnlich ist. ADAM ist an Ring **B** mit Iod in der *para*-Position zur Thiobrücke substituiert (vgl. Abbildung 16). Das Fluor-ADAM-Analogon 4-F-ADAM wurde bereits als hochselektiver und affiner Ligand beschrieben (vgl. Tabelle 6), wobei dort nur radiochemische Ausbeuten von 5 – 10 % erhalten wurden [128]. Das positions-isomere 5-F-ADAM, welches ebenfalls eine sehr hohe SERT-Affinität von 0,47 nM aufweist, konnte durch eine aromatische nukleophile Substitution durch [^{18}F]Fluor an der 5-Position dargestellt werden [131].

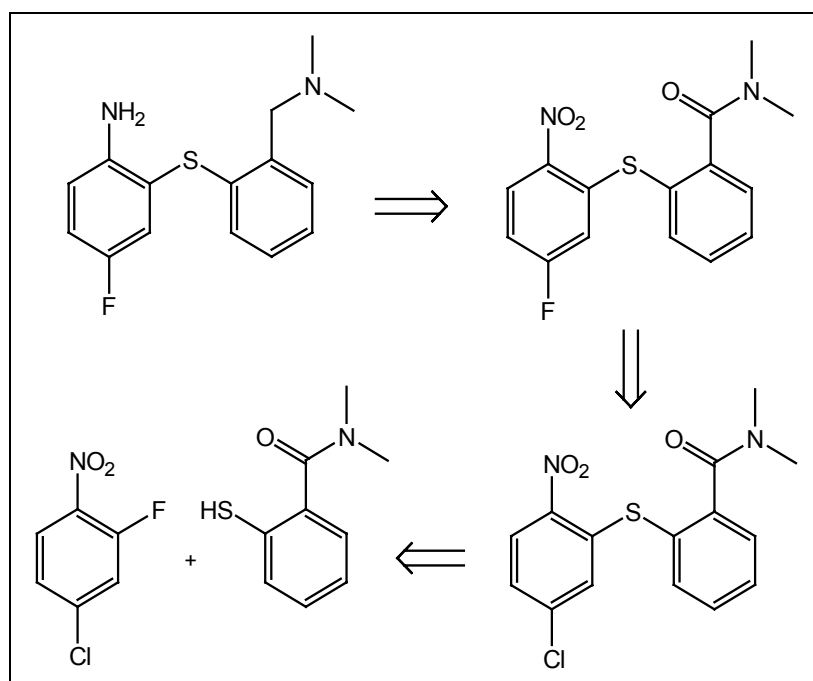


Abbildung 19: Retrosynthese zur Darstellung von 2-(2-Amino-5-fluorphenylthio)-N,N-dimethylamin (5-F-ADAM)

Der ^{18}F -für-Chlor-Austausch wird durch die Nitrofunktion in *ortho*-Position zur Thiobrücke und *para*-Position zur Chlorabgangsgruppe aktiviert, weshalb hier das in Abbildung 19 dargestellte 5-F-ADAM als Zielverbindung für pharmakologische Vergleichsstudien gewählt wurde, weil höhere radiochemische Ausbeuten als beim weniger aktivierten 4-F-ADAM erwartet wurden.

3.2. Synthese von Ausgangsverbindungen der Kopplungsreaktionen

Zur Realisierung der in Abschnitt 3.1 skizzierten Synthesestrategien wurden zunächst verschiedene Benzoessäureamide benötigt, die nur teilweise über ihre Säurechloride zugänglich waren. Das Thiosalicylsäureamid konnte z.B. nicht mit herkömmlichen Methoden, wie der Überführung der Thiosalicylsäure in das Säurechlorid mit Thionylchlorid oder Phosphorylchlorid, dem Herstellen eines Anhydrids, einer direkten Amidierung mit DMF und Phosphorpentoxid [136] oder dem basenkatalytischem Angriff des di- oder mono-Methylamids an einen Benzoessäureester synthetisiert werden [137]. 2-Thiosalicylsäureamid ist bei Raumtemperatur nicht beständig und oxidiert zu seinem Sulfonat. Nach zirka 16 Stunden reagiert bereits über die Hälfte von N,N-Dimethyl-2-thiosalicylsäureamid (**1**) mit Luftsauerstoff. Unter Inertgas und bei Temperaturen von $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$ konnte die Verbindung jedoch mehrere Tage gelagert werden. Um dieser Zersetzung vorzubeugen, wurde alternativ versucht, das Thiosalicylsäureamid über die 2,2'-Dithiobenzoessäure darzustellen. Die herkömmlichen Methoden der Darstellung des N,N-Dimethyl-2,2'-dithiobenzoessäureamids waren jedoch hier sehr wenig erfolgreich. Die Dithiobrücke erwies sich unter den Reaktionsbedingungen zur Darstellung des Säurechlorids als zu instabil, denn bei den herkömmlichen Darstellungsmethoden sowie bei der Aufarbeitung und bei der Darstellung des Anhydrids schied sich Schwefel ab. Eine basenkatalytische Amidierung verlief ohne Erfolg. Eine Lösung des Problems wurde in der Anwendung des Diethylcyanophosphonat (DEPC) gefunden, und so konnten bei der Amidierung der 2,2'-Dithiobenzoessäure mit Dimethylamin Ausbeuten von 45 % erhalten werden [138]. Die Reaktion verläuft bei $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ bzw. bei Raumtemperatur, und die Reinigung erfolgte chromatographisch an Kieselgel. Die anschließende Spaltung zum N,N-Dimethylthiosalicylsäureamid (**2**) wurde unter möglichst milden Bedingungen durchgeführt. So wurde auf geringe Temperaturen und schonende Reduktionsmittel geachtet. Die Reaktion wurde in einem Wasser/Dioxan-Gemisch mit Triphenylphosphin bei nur $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ ausgeführt [139]. Die Ausbeute betrug 70 % und auch eine Temperaturerhöhung ließ keine höhere Ausbeute zu.

Natriumborhydrid in einem Ethanol/Natronlauge-Gemisch wurde für die Spaltung ebenfalls erfolgreich eingesetzt und die Durchführung der reduktiven Spaltung erfolgte für eine halbe Stunde bei Raumtemperatur und eine weitere Stunde bei $80\text{ }^{\circ}\text{C}$ und ergab Ausbeuten von bis zu 90 % [140].

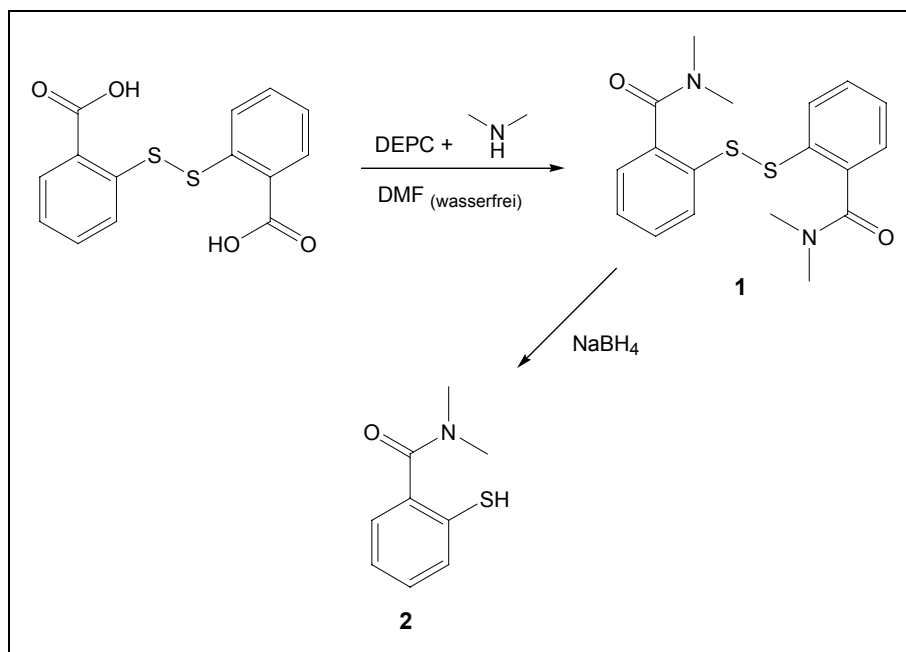


Abbildung 20: Darstellung von N,N-Dimethylthiosalicylsäureamid (**2**)

Die für eine nach Abbildung 17 angestrebte Diaryletherkopplung mit 4-Fluorphenol benötigten ortho-Halobenzoessäureamide konnten jedoch leicht über ihre Säurechloride dargestellt werden. Dazu wurden die ortho-Halobenzoensäuren mit Thionylchlorid umgesetzt, per Vakuumdestillation bei ca. 10 mbar gereinigt und im Anschluss mit Di- oder Monomethylamin amidiert. Die Ausbeuten lagen zwischen 75 und 85 %.

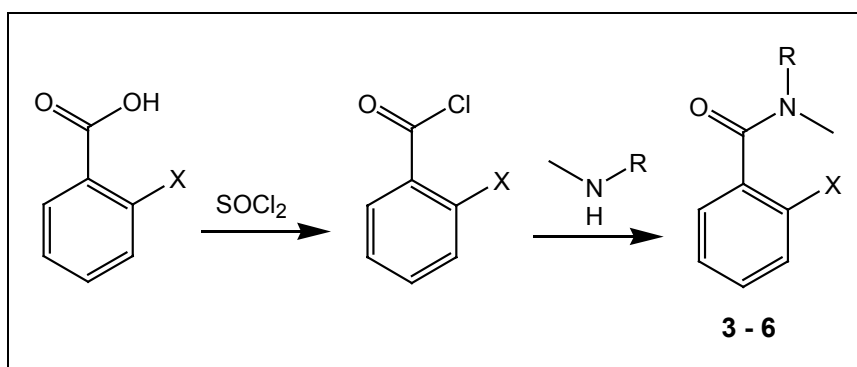


Abbildung 21: Darstellung der Halobenzoessäureamide

- 3a** X = I, R = H
- 3b** X = I, R = CH₃,
- 4a** X = Br, R = H
- 4b** X = Br, R = CH₃,
- 5** X = Cl, R = CH₃,
- 6** X = F, R = CH₃

Zur Aktivierung der jeweils notwendigen anschließenden Diphenyl(thio)ether-Kopplung eignen sich besonders Substituenten mit einem starken -I-Effekt in der *ortho*- oder *para*-Position. Nitrogruppen eignen sich weiterhin sehr gut als Abgangsgruppe für die nukleophile aromatische Substitution mit [¹⁸F]Fluorid (siehe Abschnitt 1.5.2). Die für die Synthese der Markierungsvorläufer und Standards benötigten Aniline mit entsprechendem Substitutionsmuster waren kommerziell erhältlich. Für die anschließende Oxidation zu den entsprechenden Nitroaromaten wurden die Aniline mit Natriumperborat oder Natriumperiodat in Eisessig umgesetzt. Diese Oxidationen verliefen bei Einsatz von bis zu 10fachem Überschuss an Oxidationsmittel mit 50 - 60 %iger Ausbeute.

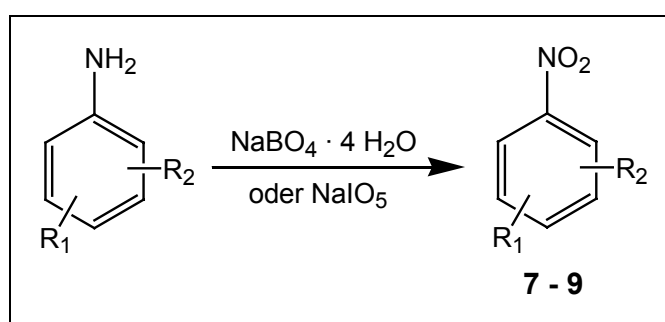


Abbildung 22: Oxidation von Anilinderivaten

mit	7	$R_1 = p\text{-CN}; R_2 = m\text{-Cl}$
	8	$R_1 = p\text{-NO}_2; R_2 = m\text{-F}$
	9	$R_1 = p\text{-Cl}; R_2 = o\text{-F}$

3.3. Diphenyl(thio)ether-Kopplungen

3.3.1. Diaryletherkopplungen mit 4-Fluorphenol als Ausgangsverbindung

Die klassische Methode zur Kopplung von Diphenylethern ist die Ullmann'sche Ether Synthese [141,142]. Diese Reaktionen wurden jedoch mit sehr starken Nucleophilen wie trockenem Natriumphenolat und unter sehr harschen Bedingungen mittels Reaktionen in versiegelten Reaktionsgefäßen und bei Temperaturen von mehreren hundert Grad Celsius durchgeführt. Die prinzipielle Durchführbarkeit mit Halobenzolen wurde ursprünglich mit 4-Fluorphenol, 2-Brombenzoesäure, elementarem Natrium und Kupferpulver als Katalysator gezeigt [143], jedoch wurde bei einer Reaktionszeit von 15 Stunden wahrscheinlich wegen

Decarboxylierungen der Carbonsäure oder einer reduktiver Dehalogenierung Ausbeuten von nur 20 % erhalten [144].

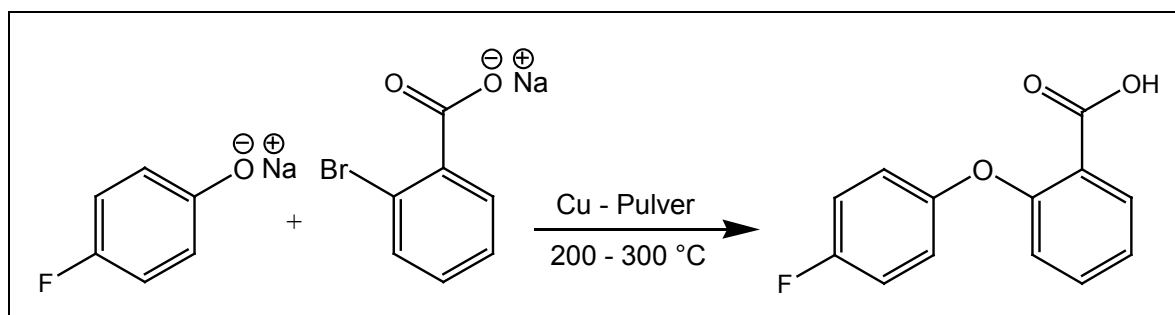


Abbildung 23: Prinzip der klassischen Ullmann'schen Ether Kopplung

Bei Metall-katalysierten Kopplungen wie der Ullmann'schen Ether Kopplung nimmt die Substituierbarkeit der Halogenabgangsgruppen in folgender Reihe ab $I \approx Br > Cl \gg F$ [145], wohingegen bei Abwesenheit von Metallkatalysatoren dieser Trend entgegengesetzt verläuft [146]. Es wurde mit 2-Fluor-N,N-dimethylbenzoesäureamid (**6**) und 4-Fluorphenol (**10**) die Möglichkeit einer Phasentransferkatalyse, wie zur Darstellung von 4-Fluorphenylalkylethern [73] überprüft, jedoch wurden gebräuchliche Phasentransferkatalysatoren, wie tert.-Butylammoniumiodid, -bromid oder -chlorid in verschiedenen Lösungsmitteln erfolglos angewendet.

Für eine Diaryletherkopplung auf Basis der Ullmann'schen Ether Kopplung wurden nun die Hilfsbasen wie auch die Katalysatoren variiert. Mit den Hilfsbasen Kaliumhydrogencarbonat, Caesium- und Kaliumcarbonat, Natriumtert.-butylat, Natriummethanolat und Natriumhydrid ergab sich nur eine Alkylaryletherkopplung mit dem sehr starken Nukleophil des Methanols zum 2-Methoxy-N,N-dimethylbenzoesäureamid. Daher wurden verschiedene Katalysatoren im Einphasensystemen geprüft, wobei zuerst wasserunempfindliche Kupferhalogene in verschiedenen Oxidationsstufen, sowie Mischungen aus Kupferpulver, Kupferoxiden und Kupferhalogeniden [144] in stöchiometrischen sowie katalytischen Mengen angewendet wurden. Diese führten aber auch nach langen Reaktionszeiten von mindestens 15 Stunden allenfalls zu Umsetzungen von unter 10 % Ausbeute. Generell werden diese Reaktionen in nicht-nukleophilen aprotischen Lösungsmitteln durchgeführt; die Reaktionszeiten variieren zwischen 6 und 48 Stunden und die Ausbeuten je nach Reaktionspartner und Katalysator zwischen 5 und 100 %. Relativ milde Reaktionsparameter sind bei elektronenarmen Haloarenen und elektronenreichen Phenolaten ausreichend. In dem hier bearbeiteten Fall stehen zwar mit den *ortho*-Halobenzoessäureamiden relativ elektronenarme Haloarene zur Verfügung, jedoch ist das 4-Fluorphenolat wegen geringer Nukleophilie kein optimaler

Reaktionspartner für eine mit Kupferhalogeniden katalysierte Kopplung. Mit dem Kupferkatalysator wird ein Komplexintermediat gebildet, welches den Angriff des Nucleophils an das Haloaren koordiniert. Dieses Intermediat kann zu einem σ -Komplex der Kupferverbindung mit einem freien Elektronenpaar des Halogens führen, wodurch die Kohlenstoff-Halogen-Bindung polarisiert und der nukleophile Angriff erleichtert wird. Als alternative Möglichkeit wird auch die Bildung eines π -Komplexes diskutiert, wobei die Metallverbindung als elektronenziehende Gruppe im Arylring fungiert [146, 147].

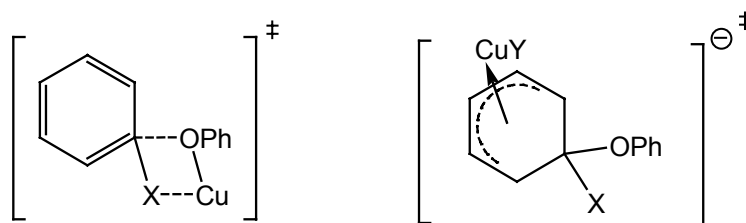


Abbildung 24: Mögliche Übergangszustände bei der Kupferkatalyse der Diaryletherkopplung (σ -Komplex; π -Komplex)

Viele weitere Katalysatoren stehen zur Arylaryletherkopplung zur Verfügung [148], welche sich jedoch meist auf spezielle Synthesen beziehen. Der $(\text{CuOTf})_2$ -Benzol Komplex stellt eine Möglichkeit dar, nicht-aktivierte Halobenzole mit Phenolen zu koppeln [149], jedoch ist dieser Katalysator besonders Luft-sensitiv und für Markierungssynthesen unpraktikabel.

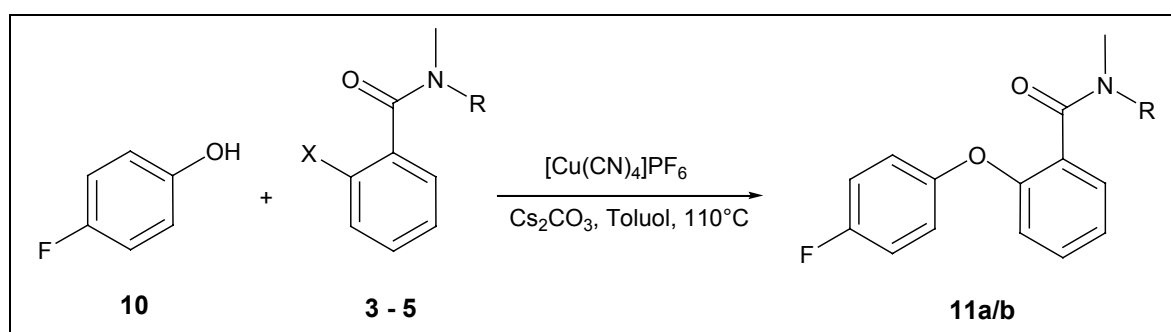


Abbildung 25: Darstellung von 2-(4-Fluorphenyloxy)-N-methylbenzoesäureamid (**11a**) und 2-(4-Fluorphenyloxy)-N,N-dimethylbenzoesäureamid (**11b**) durch Kupfer-katalysierte Kopplung von 4-Fluorphenol

Mit der Anwendung von Tetrakis(acetonitril)kupfer(I)-hexafluorophosphat wurde ein passender Katalysator für *ortho*-Benzoessäureamide und -sulfonamide gefunden, mit dem bei einer Reaktionszeit von 12 Stunden Ausbeuten von bis zu 93 % an 2-Iodbenzoessäuremethylamiden (**3a/b**) und bis zu 85 % mit 2-Brombenzoessäuremethylamiden (**4a/b**) in trockenem Toluol oder Xylol möglich waren [150]. Der Katalysator Tetrakis(acetonitril)kupfer(I)-hexafluorophosphat ist gegenüber dem an der Luft sehr labilen (CuOTf)₂-Benzol Katalysator relativ stabil. Er kann unter Kühlung für mehrere Wochen gelagert werden und ist für Zeiträume im Stundenbereich auch an der Luft stabil. Lösungsmittel wie Diethylether, Essigsäureethylester und Spuren von Wasser verursachen jedoch die Zersetzung des Kupfer(I)-Komplexes und sogar gegenüber Acetonitril, welches als Ligand im Metallkomplex gebunden ist, zeigte er sich als nicht beständig.

3.3.2. Thioetherkopplungen zur Darstellung von Markierungsvorläufern und Standards

Für die Darstellung der in Abschnitt 3.1.2 und Abschnitt 3.1.3 vorgestellten Zielverbindungen wurden Thioetherkopplungen von entsprechenden, aktivierten Haloarenen mit N,N-Dimethylthiosalicylsäureamid (**2**) ausgearbeitet. Die aktivierenden Substituenten, wie eine Nitro- oder Cyanofunktion am Haloaren (vgl. Abbildung 18 und Abbildung 19) vereinfachen den nukleophilen Angriff im Vergleich zur bisher vorgestellten Diaryletherkopplung. Substituenten in der *meta*- und *para*-Position sollten die Reaktion generell nur wenig beeinflussen. Substituenten in *ortho*-Position können jedoch in der Reihe NO₂ > COR > CN > OAlkyl als potente, chelatbildende und aktivierende Gruppe agieren [146]. Für eine Markierungsvorläufersynthese wurde ein Molekül mit passendem Substitutionsmuster benötigt, um die anschließende Markierung zu aktivieren und eine möglichst hohe radiochemische Ausbeute zu gewährleisten. Der Vorläufer 2-(2-Cyano-5-nitrophenylthio)-N,N-dimethylbenzoessäureamid (**12**) weist dafür ein passendes Muster auf. Die Cyanofunktion aktiviert die *ortho*-ständige Chlorabgangsgruppe für die Diarylthioethersynthese, wie auch die Substitution der Nitrogruppe mit [¹⁸F]Fluorid (vgl. Abbildung 26). Eine einfache Möglichkeit der Kopplung stellt die Reaktion in DMF mit Kaliumcarbonat als Hilfsbase bei 100 °C dar [110, 115]. Bei diesen Reaktionsbedingungen wurden jedoch wie erwartet zwei Reaktionsprodukte dargestellt, die chromatographisch an Kieselgel trennbar waren. Nach der Charakterisierung stellte sich heraus, dass das gewünschte Produkt **12** mit nur etwa 5 % Ausbeute gebildet wurde. Der bei weitem größte Anteil der Reaktionsausbeute

entfiel auf das unerwünschte Produkt N,N-Dimethyl-2-thiocyanobenzoessäureamid (**13**) (vgl. Abbildung 26).

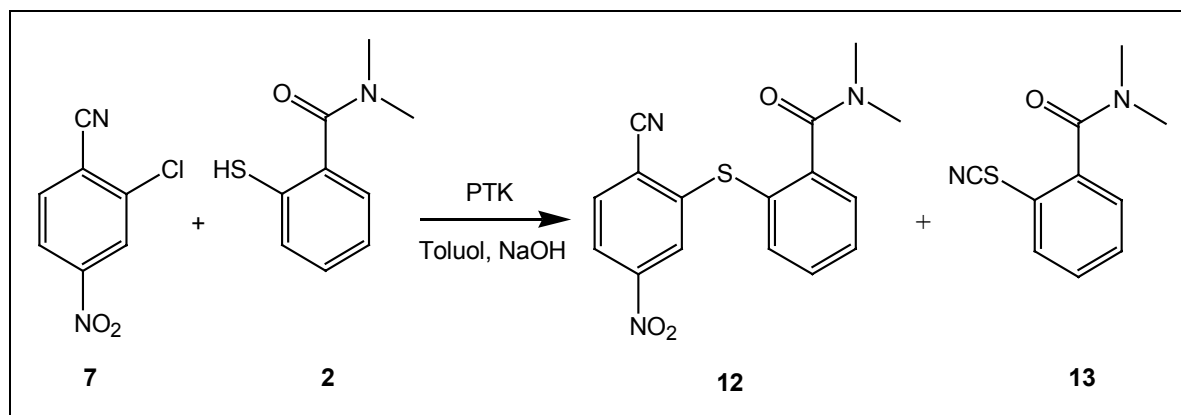


Abbildung 26: Darstellung von 2-(2-Cyano-5-nitrophenylthio)-N,N-dimethylbenzoesäureamid (**12**)

Das Kohlenstoffatom der Cyanofunktion scheint stark polarisiert zu sein, sodass ein nukleophiler Angriff des 2-Thioalicylats an diesem Atom gegenüber dem Angriff am aromatischen Ring bevorzugt wird. Es wurde versucht, dem entgegenzuwirken, indem die Reaktion möglichst in einem protischen Lösungsmittel durchgeführt wurde, um damit die Ladungspolarisierung durch Wechselwirkung mit dem Lösungsmittel abzuschwächen. Mit dem Phasentransferkatalysator Tetramethylammoniumbromid (5 mol%), 10 %iger Natronlauge sowie Toluol als Lösungsmittel [151] und einer Reaktionstemperatur von 70 °C konnte die Produktverteilung auf bis zu 30 % des gewünschten Produkts verschoben werden. Mit steigenden Reaktionstemperaturen stiegen die Ausbeuten kontinuierlich von 7 % bei 0 °C auf bis zu 30 % bei 70 °C an. Auf eine weitere Temperaturerhöhung wurde im Hinblick auf eine Instabilität des Produktes **12** verzichtet. Die Messung der Produktbildung in Abhängigkeit von der Reaktionszeit und -temperatur, die in Abbildung 27 dargestellt sind, erfolgte per Gaschromatographie und wurde soweit möglich unmittelbar nach Probennahme durchgeführt. Nicht sofort vermessene Proben der Reaktionslösungen wurden bei 5 °C gelagert und später vermessen.

Die Aufarbeitung der Reaktionslösung der optimierten Diarylthioetherkopplung wurde unmittelbar nach Beendigung der Reaktion durchgeführt, da der Markierungsvorläufer **12** bei Standardbedingungen nicht stabil war und sich 2-Thio-4-nitrobenzonitril bildete. Die Thioetherbrücke ist speziell gegenüber Säuren nicht stabil und bildet leicht eine Thiofunktion aus, wodurch der sehr elektronenarme Aromat mehr Stabilität erlangt. Nach der Isolierung

wurde das Produkt bei 5 °C gelagert, wobei jedoch nach mehreren Wochen keine weitere Zersetzung festgestellt wurde.

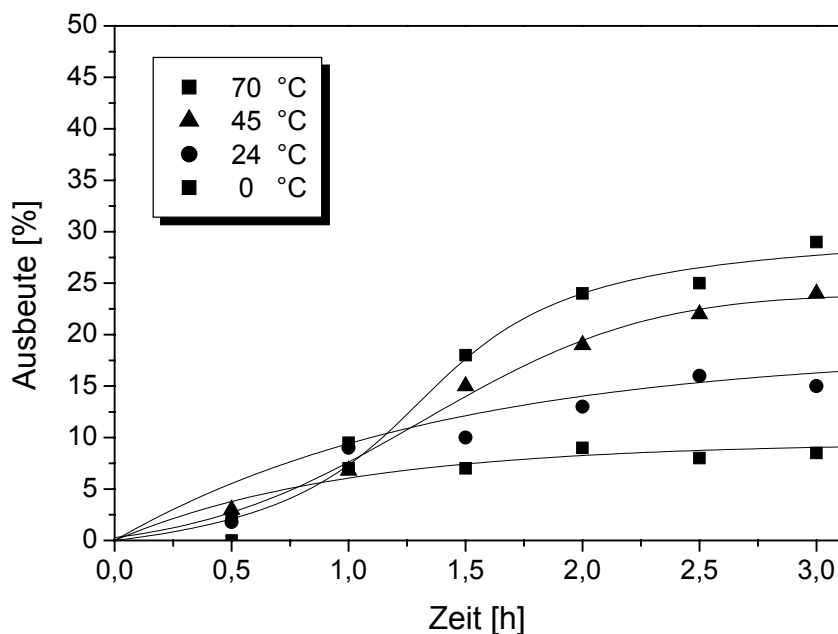


Abbildung 27: Ausbeuten von **12** bei verschiedenen Temperaturen

Die Synthese des Standards 2-(2-Cyano-5-fluorphenylthio)-N,N-dimethylbenzoesäureamid (**15**) verlief unter den gleichen Reaktionsbedingungen mit 2,4-Difluorbenzonitril (**14**) wie für Verbindung **12** und ergab ebenfalls zwei Reaktionsprodukte. Hierbei wurde das Hauptprodukt **15** sowie das Nebenprodukt, wie in Abbildung 28 gezeigt, als 2-(3-Cyano-4-fluor-phenylthio)-N,N-dimethyl-benzoesäureamid (**16**) charakterisiert. Im 2,4-Difluorbenzonitril stehen zwei identische Abgangsgruppen in direkter Konkurrenz, sodass die spezielle Aktivierung der *ortho*-Gruppe zu beobachten war und eine Produktverteilung für **15/16** von ca. 4/1 erhalten wurde.

Weiterhin wurde die Ausgangsverbindung **2** alternativ vor der Kopplungsreaktion mit einer 1 M Boran • Tetrahydrofurankomplex-Lösung ($\text{BH}_3 \cdot \text{THF}$) in THF mit 72 %iger Ausbeute zu N,N-Dimethyl-2-thiobenzylamin (**17**) reduziert und an Stelle von **2** ebenfalls als nukleophiler Reaktionspartner in der in Abbildung 29 gezeigten Kopplung verwendet. Somit wurde der Standard für das ^{18}F -markierte Analog von 2-(2-Cyano-4-fluorphenylthio)-N,N-dimethylamin (**18a**) erhalten.

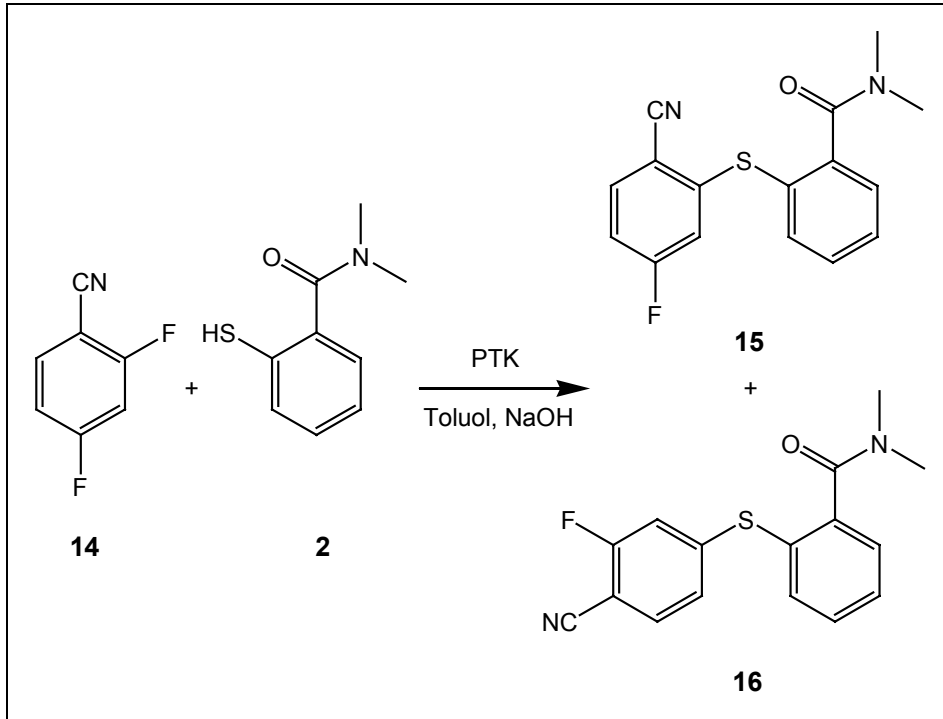


Abbildung 28: Darstellung von 2-(2-Cyano-5-fluorphenylthio)-N,N-dimethylbenzoesäureamid (**15**)

Als Vorläufer für eine ^{18}F -Fluorierung zur Darstellung von markiertem 2-(5-Fluor-2-nitrophenylthio)-N,N-dimethylbenzoesäureamid sollte 2-(2,5-Dinitrophenylthio)-N,N-dimethyl-

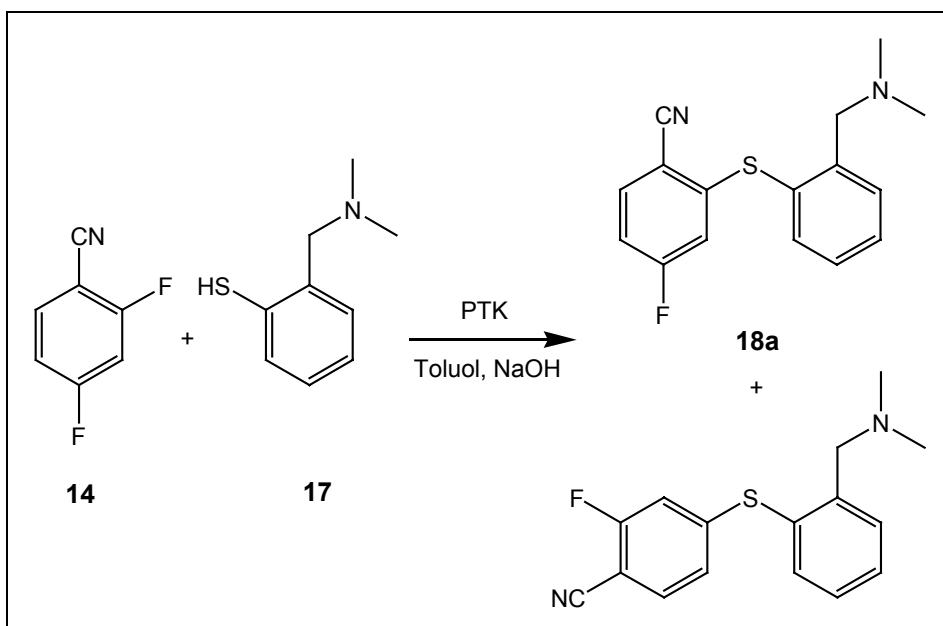


Abbildung 29: Darstellung von 2-(2-Cyano-4-fluorphenylthio)-N,N-dimethylamin (**18a**)

benzoesäureamid dargestellt werden, da eine Mehrfachaktivierung durch beispielsweise zwei oder drei Nitro- oder Cyanogruppen in *ortho*- oder *para*-Stellung zur jeweiligen Abgangsgruppe bereits in der Literatur beschrieben wurden, die jeweils mit sehr hohen Ausbeuten verliefen [151]. 2-Chlor-1,4-dinitrobenzol (**8**) wurde daher mit **2** umgesetzt, wobei sich die beiden gegenüberliegenden Nitrogruppen gegenseitig stark aktivieren. Es wurde jedoch, wie in Abbildung 30 dargestellt, selektiv die in Nachbarschaft des Chlors befindliche Nitrogruppe beim nukleophilen Angriff von **2** substituiert und mit 95 %iger Ausbeute das 2-(2-Chlor-4-nitrophenylthio)-N,N-dimethylbenzoesäureamid (**19**) statt der gewünschten 2,5-Dinitro-Verbindung gebildet.

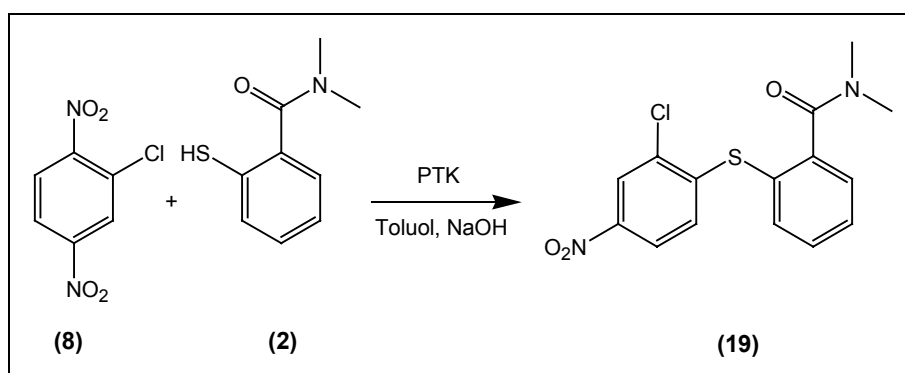


Abbildung 30: Versuch der Darstellung des 2,5-Dinitrophenylthio-N,N-dimethylbenzoesäureamids

In Anlehnung an die von Oya et al. entwickelte Radiosynthese von 5-[¹⁸F]F-ADAM [131] wurde als Markierungsvorläufer für eine ¹⁸F-Markierung daher das 2-Nitro-5-chlorphenylthio-N,N-dimethylbenzoesäureamid (**20**) gewählt. Hierzu wurde 4-Chlor-2-fluornitrobenzol (**9**) als Edukt genutzt, da Fluor dem Chlor als Abgangsgruppe bei der nukleophilen Substitution überlegen ist. Bereits nach 1,5 Stunden wurde eine 85 %ige Ausbeute von **20** ($R_f = 0,71$; Essigsäureethylester/n-Hexan (v/v 2/1)) für die Kopplung von **9** und **2** erhalten (vgl. Abbildung 31).

Das jedoch auch hier durch Substitution des Chlors gebildete Nebenproduktprodukt 3-Fluor-4-nitrophenylthio-N,N-dimethylbenzoesäureamid, konnte nicht durch eine DC-Kontrolle nachgewiesen werden und nicht mittels einfacher chromatographischen Methoden an Kieselgel abgetrennt werden. Es wurde durch die Fluor-Kohlenstoff-Kopplung mittels der Magnet-Resonanz-Spektroskopie (NMR) nachgewiesen. Eine hohe Reinheit ist besonders für Markierungsvorläufer der nukleophilen n.c.a. ¹⁸F-Fluorierung wichtig, um eine Trägerung zu vermeiden.

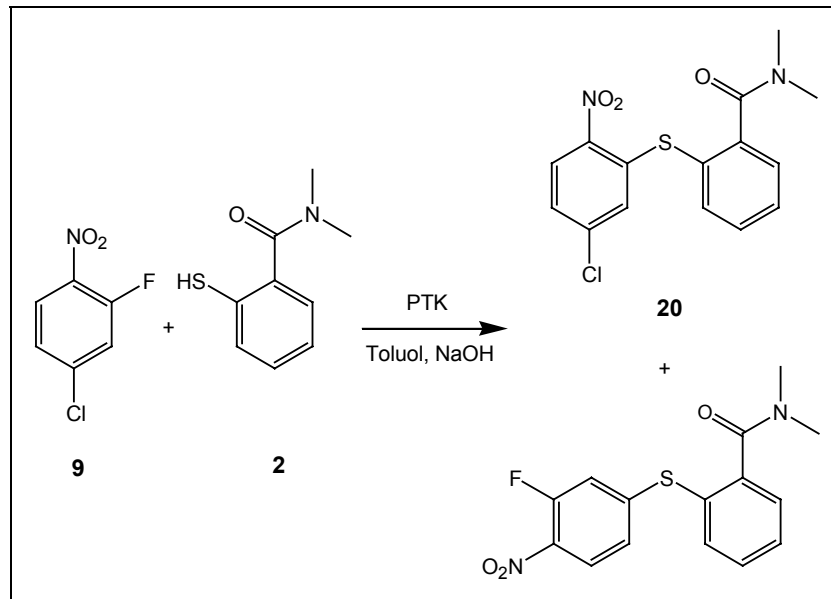


Abbildung 31: Darstellung von 2-Nitro-5-chlorphenylthio-N,N-dimethyl-benzoesäureamid (**20**)

Das Nebenprodukt (siehe Abbildung 31) beinhaltet ein Fluoratom, welches durch Isotopenaustausch Ursache für geringere spezifische Aktivitäten sein kann. Es konnte durch mehrmaliges umkristallisieren aus Methanol entfernt werden.

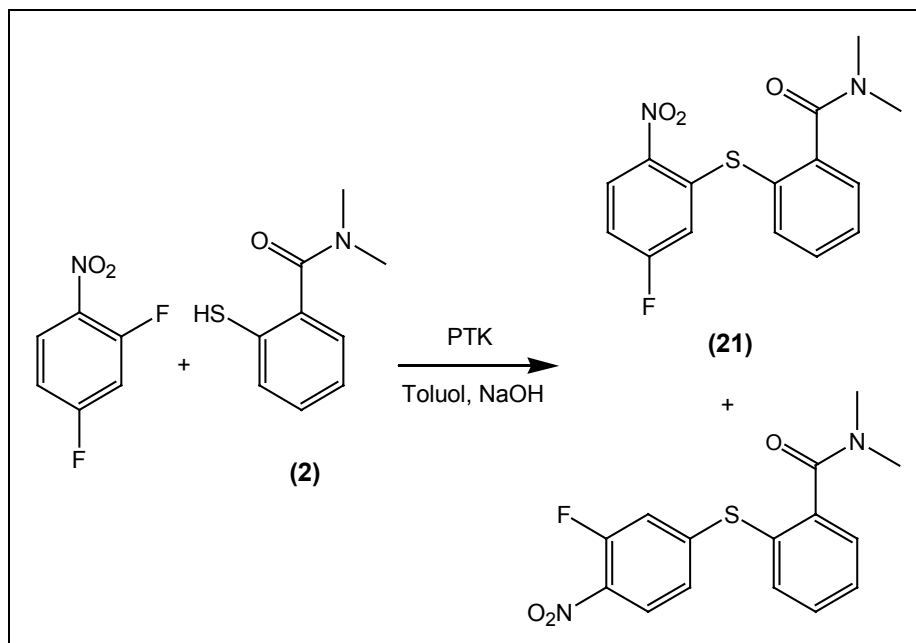


Abbildung 32: Darstellung von 2-(5-Fluor-2-nitrophenylthio)-N,N-dimethylbenzoesäureamid (**21**)

Wie in Abbildung 32 dargestellt wurde der Standard 2-(5-Fluor-2-nitrophenylthio)-N,N-dimethyl-benzoesäureamid (**21**) als Standard durch Kopplung von 2,4-Difluornitrobenzol mit **2** mit einer Ausbeute von 37 % dargestellt. Hier war wiederum eine chromatographische Trennung an Kieselgel besser möglich, da sich die R_f -Werte der gebildeten Produkte stärker unterschieden (Essigsäureethylester/n-Hexan (v/v 3/2); R_f (**21**) = 0,50; R_f (Nebenprodukt) = 0,42) als die der Produkte bei der Darstellung von **20**.

Die neu synthetisierten Phenylthiobenzoesäureamide mussten für die Darstellung der in Abschnitt 3.1.1 bis 3.1.3 beschriebenen Zielverbindungen zu den entsprechenden Phenylthiobenzylaminen reduziert werden. Boran-THF ist ein mildes für die hier gestellten Ansprüche geeignetes Reduktionsmittel und konnte erfolgreich zur Reduktion der Benzoesäureamide, wie auch der Cyano- und Nitrogruppe in Verbindung **15** und **21** eingesetzt werden [152].

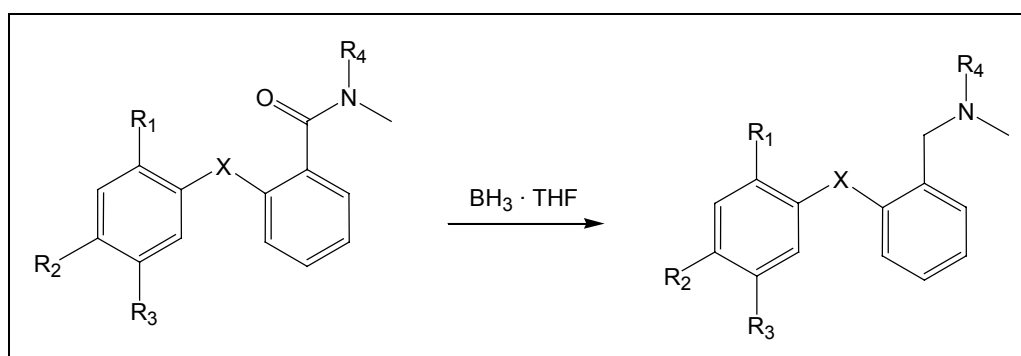


Abbildung 33: Reduktion verschiedener Diphenyl(thio)ether
(Beschriftung siehe Abbildung 16)

Verbindungen **11a/b**, **15** und **21** wurden mit 1 M $\text{BH}_3 \cdot \text{THF}$ in THF mit guten Ausbeuten von 85 % zu den Verbindungen 2-(4-Fluorphenyloxy)-N-methylamin (**22a**), 2-(4-Fluorphenyloxy)-N,N-dimethylamin (**22b**), 2-(5-Fluor-2-methylaminophenylthio)-N,N-dimethylbenzylamin (**18b**) und 2-(2-Amino-5-fluorphenylthio)-N,N-benzylamin (**23**) reduziert und chromatographisch an Kieselgel getrennt.

Die bisher beschriebenen Fluor-Verbindungen **11a/b**, **15**, **18a/b**, **21** und **23** dienen bei den im Folgenden beschriebenen ^{18}F -Synthesen als chromatographische Standards bei Radio-DC-Kontrollen und Radio-HPLC-Reinigungen.

3.4. N.c.a. ^{18}F -Markierungssynthesen zur Darstellung der Zielverbindungen

Die radiochemischen Ausbeuten wurden als zerfallskorrigierter prozentualer Anteil der Produktaktivität von der Aktivität der Reaktionslösung per Radio-Dünnschichtchromatographie (Radio-DC) über eine rechnergestützte Auswertung bestimmt. Die jeweils angegebenen radiochemischen Ausbeuten beziehen sich also auf den zu untersuchenden Reaktionsschritt und nicht auf die Ausgangsaktivität an ^{18}F Fluorid. Die ^{18}F -fluorierten Verbindungen wurden über unmarkierte Standards **11a/b**, **15**, **18a/b**, **21** und **23** validiert.

3.4.1. Darstellung von n.c.a. 2-(4- ^{18}F Fluorphenoxy)-N-methylbenzylamin und n.c.a. 2-(4- ^{18}F Fluorphenoxy)-N,N-dimethylbenzylamin

Die Titelverbindungen **11a** und **11b** wurden über trägerarm markiertes 4- ^{18}F Fluorphenol (**[^{18}F]-10**) dargestellt, welches über den kürzlich in der Literatur beschriebenen Weg der verbesserten Darstellung dieses Markierungssynthons erhalten wurde (vgl. Abbildung 10) [73]. Bei den beschriebenen Bedingungen lag **[^{18}F]-10** in wässriger 5 N Natronlauge vor, worin es nicht für die in Abschnitt 3.3.1 beschriebene Synthese eingesetzt werden konnte. Die stark basische Lösung wurde daher mit einer ungefähr entsprechenden Menge an konzentrierter Salzsäure (0,6 - 0,8 ml) neutralisiert bzw. angesäuert ($\text{pH} \approx 3 - 2$) und per Festphasenextraktion vom Hauptteil des Wassers getrennt, mit Diethylether eluiert und dann über Natriumsulfat getrocknet. Der Diethylether wurde unter einem Gasstrom bei verringertem Druck (ca. 800 mbar) entfernt, und somit innerhalb von 60 Minuten trockenes **[^{18}F]-10** mit einer radiochemischen Ausbeute von $65 \pm 3 \%$ dargestellt.

Die in Abschnitt 3.3.1 beschriebene Kopplungssynthese eines unmarkierten Diarylethers wurde unter gleichen Bedingungen bei der Kopplung von **[^{18}F]-10** mit einer typischen Menge von 20 μmol der verschiedenen 2-Halobenzoessäureamiden **3a/b**, **4a/b** und **5** in trockenem Toluol oder Xylol durchgeführt. Bei der n.c.a. Diphenyletherkopplung wurden jedoch sehr schwankende radiochemische Ausbeuten von 5 – 65 %, bezogen auf die eingesetzte Aktivitätsmenge von **[^{18}F]-10**, nach einer Reaktionszeit von 25 Minuten erhalten. Diese starken Schwankungen hängen mit der Notwendigkeit von absolut trockenem Reaktanden zusammen. Die Trocknung von **[^{18}F]-10** führte teilweise nicht zu einem absolut trockenen und lösungsmittelfreien Produkt, sodass die anschließende n.c.a. Diphenyletherkopplung nicht immer reproduzierbar verlief und eine mittlere radiochemische Ausbeute von $32 \pm 14 \%$

erhalten wurde. Teilweise konnten geringe Spuren von störenden Verbindungen durch einen starken Überschuss an Katalysator kompensiert werden. Wurde der Anteil an Lösungsmittelresten zu groß, traten sehr geringe radiochemischen Ausbeuten von 5 % auf. Eine weitere azeotrope Trocknung von $[^{18}\text{F}]\text{-10}$ nach dem Vorbild der n.c.a. $[^{18}\text{F}]$ Fluorid-Trocknung mit Acetonitril war nicht erfolgreich, da das Markierungssyntheton mit dem Lösungsmittel mitgerissen und aus dem Reaktionsgefäß entfernt wurde.

Mit den 2-Brombenzoesäuremethylenamiden **3a/b** und 2-Iodbenzoesäuremethylenamiden **4a/b** als jeweils zweitem Kopplungspartner wurden unter diesen Bedingungen die gleichen radiochemischen Ausbeuten erhalten. 2-Chlor-N,N-dimethylbenzoesäureamid zeigte jedoch wegen der schlechteren Substituierbarkeit der Chlorabgangsgruppe bei katalysierten Kopplungsreaktionen eine schlechtere Reaktivität. Bei Erhöhung der Reaktionstemperatur von 110 °C auf 140°C konnte kein Einfluss auf die Ausbeuten festgestellt werden, eine Erniedrigung der Temperatur resultierte hingegen in geringeren oder gar keinen Ausbeuten. Ein möglicher Kurvenverlauf der Zeitabhängigkeit der Kopplungsreaktion, der den maximalen radiochemischen Ausbeuten bei verschiedenen Reaktionszeiten der Markierungsreaktion mit $[^{18}\text{F}]\text{-10}$ angepasst wurde, ist in Abbildung 34 nach Augenmass dargestellt.

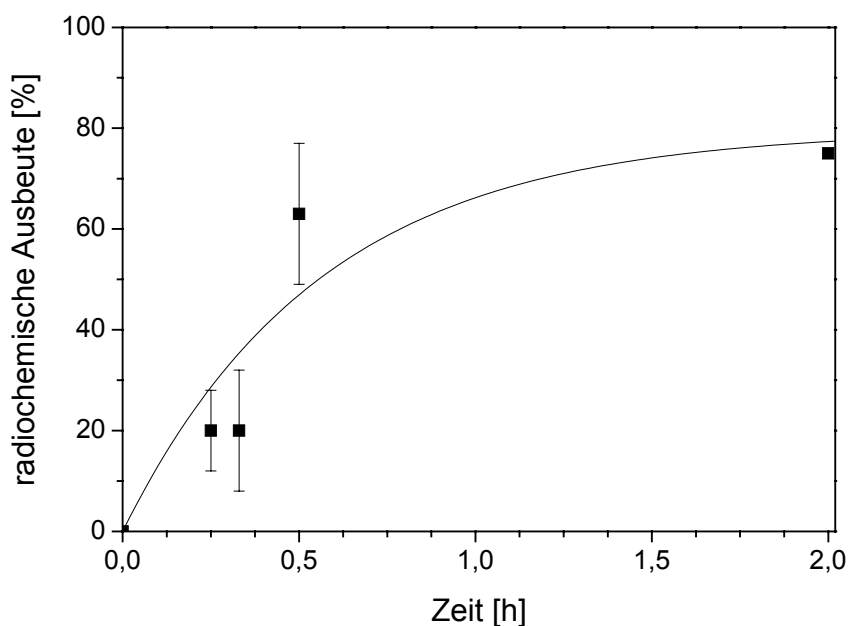


Abbildung 34: Auftragung der maximalen radiochemischen Ausbeuten gegen die Zeit der 4- $[^{18}\text{F}]$ Fluorphenyldiaryletherkopplung

Zeit [min]	RCA [%]	Verbindungen	Reagenzien
0			
		↓	[K ₂ 2.2.2.] [¹⁸ F]F, Acetonitril
		↓	+ H ₂ O ₂ , H ⁺ Festphasenextraktion + NaOH, MeOH
60	65		Trocknung über Na ₂ SO ₄
		↓	3a/b , CuPF ₆ (MeCN) ₄ , Toluol, Festphasenextraktion
85	durchschnittl. 32		Aufarbeitung, Radio-HPLC
		↓	BH ₃ ·THF, THF
110	20		Radio-HPLC

Abbildung 35: Fließschema der Darstellung von [¹⁸F]FODAM ([¹⁸F]-22b)

Die anschließende Reduktion der Benzamide [¹⁸F]-11a und [¹⁸F]-11b zu n.c.a. 2-(4-[¹⁸F]Fluorphenoxy)-N-methylbenzylamin ([¹⁸F]-22a) und n.c.a. 2-(4-[¹⁸F]Fluorphenoxy)-N,N-dimethylbenzylamin ([¹⁸F]-22b) wurde mit 1 M BH₃·THF Lösung in THF durchgeführt, nachdem die n.c.a. [¹⁸F]Fluorbenzamide chromatographisch an Kieselgel von den weiteren Reaktionspartnern getrennt wurden. Nach 10 Minuten Reaktionszeit wurde die Reduktion

durch Zugabe von 1 M Salzsäure abgebrochen und die Produkte [^{18}F]-**22a** und [^{18}F]-**22b** per Radio-HPLC gereinigt. Nach weniger als 2 Stunden Reaktionszeit lag die durchschnittliche radiochemische Ausbeute bei $20 \pm 5\%$. Eine typische Menge von 135 MBq [^{18}F]Fluorid ergab nach der HPLC-Reinigung 14 – 15 MBq an [^{18}F]-**22a/b**. In Abbildung 35 sind die Stufen der n.c.a. Radiosynthese am Beispiel von [^{18}F]FODAM ([^{18}F]-**22b**) in einem Fliessschema zusammengefasst.

3.4.2. Darstellung von n.c.a. 2-(2-Cyano-5-[^{18}F]fluorphenylthio)-N,N-dimethylbenzylamin und n.c.a. 2-(5-[^{18}F]Fluor-2-methylaminophenylthio)-N,N-dimethylbenzylamin

Die radiochemischen Ausbeuten der n.c.a. Radiofluorierungen sind stark abhängig vom verwendeten Lösungsmittel, der eingesetzten Vorläuferkonzentration und auch von der Reaktionstemperatur. Diese Parameter wurden bei der n.c.a. ^{18}F -Fluorierung des Markierungsvorläufers 2-(2-Cyano-5-nitrophenylthio)-N,N-dimethylbenzoesäureamid (**12**) zu 2-(2-Cyano-5-[^{18}F]fluorphenylthio)-N,N-dimethylbenzoesäureamid ([^{18}F]-**15**) optimiert. Die ^{18}F -Fluorierung erfolgte über die Aminopolyether gestützte [45, 153], nukleophile Substitution (vgl. Abschnitt 1.5.2). Für jede Versuchsbedingung wurden drei Einzelversuche durchgeführt, wobei die angegebenen Fehlerbalken den Standardabweichungen entsprechen.

Zunächst wurde die Untersuchung des Lösungsmiteleinflusses bei einer Reaktionstemperatur von $90\text{ }^{\circ}\text{C}$ und einer Vorläuferkonzentration von 9 mM ($\sim 3\text{ mg/ml}$) durchgeführt, wobei sich herausstellte, dass es keine signifikanten Unterschiede der Markierungseffizienz zwischen dem Lösungsmittel DMF und DMSO gibt. Beide sind dipolar aprotische Lösungsmittel, die sowohl das Ionenpaar $[\text{K}^+ \cdot ^{18}\text{F}^-]$ als auch den Vorläufer sehr gut solvatisieren, ohne deren Reaktivität stark einzuschränken, und ermöglichten radiochemische Ausbeuten von $88 \pm 5\%$ in DMSO und $85 \pm 3\%$ in DMF. Acetonitril hingegen behindert den nukleophilen Angriff des [^{18}F]Fluorids, sodass die radiochemischen Ausbeuten mit maximal $30 \pm 2\%$ sehr gering bleiben. Wie in Abbildung 36 zu sehen ist, beobachtet man bei allen Markierungsreaktionen in den verschiedenen Lösungsmitteln den typischen hyperbolischen Kurvenverlauf einer Reaktionskinetik pseudo-erster Ordnung (vgl. Abschnitt 1.2), wobei die Reaktion in Acetonitril deutlich langsamer verläuft. Bei folgenden radiochemischen Untersuchungen wurde mit dem Lösungsmittel DMF gearbeitet, da sich herausstellte, dass DMF nach dem Markierungsschritt mit n.c.a. [^{18}F]Fluorid leichter zu entfernen war als DMSO und im gesamten Syntheseverlauf weniger Neben- oder

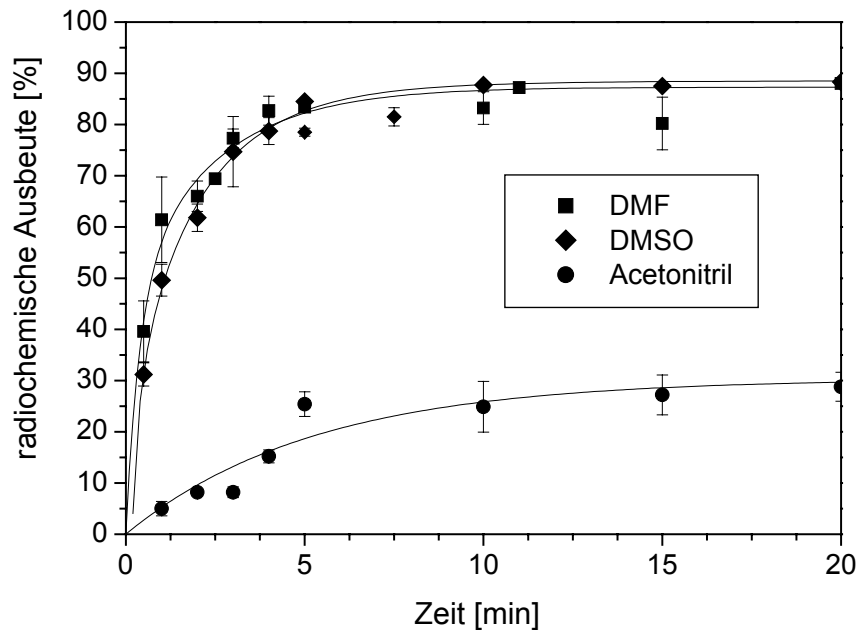


Abbildung 36: Abhängigkeit der radiochemischen Ausbeuten von $[^{18}\text{F}]\text{-15}$ bei nukleophiler Fluorierung als Funktion der Reaktionszeit von verschiedenen Lösungsmitteln

Reaktionsbedingungen: 37 MBq $[^{18}\text{F}]\text{Fluorid}$; 26 μmol $\text{K}_{\text{C}2.2.2}$;

12 μmol K_2CO_3 ; 1 ml Lösungsmittel; 90 °C

Zersetzungsprodukte auftraten, die im letzten Reinigungsschritt per Radio-HPLC abgetrennt werden mussten.

Weiterhin wurde die Abhängigkeit der radiochemischen Ausbeuten der n.c.a. Radiofluorierungen von der Markierungsvorläuferkonzentration bestimmt, wobei ein Konzentrationsbereich von 0,35 mM bis 5,14 mM bei einer Reaktionstemperatur von 90 °C und einer Reaktionsdauer von 12 Minuten untersucht wurde. Wie in Abbildung 37 zu sehen, trat auch hier der zu erwartende Kurvenverlauf einer n.c.a. Markierungsreaktionskinetik mit einem Sättigungswert der RCA ab ca. 2,5 mM des Vorläufers auf (vgl. Abbildung 37). Folgende radiochemische Untersuchungen wurden daher mit einer optimalen Vorläuferkonzentration von 3 mM (~ 1 mg/ml) durchgeführt.

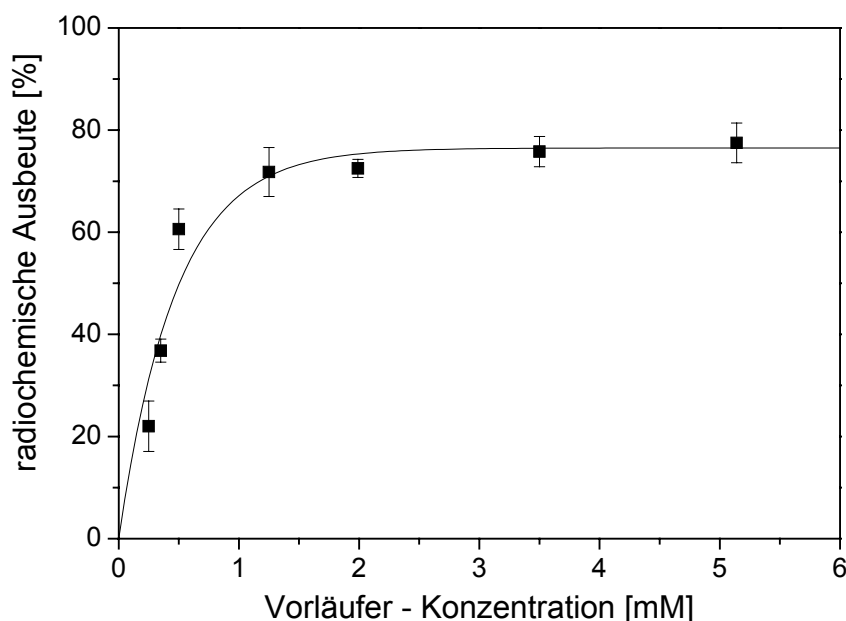


Abbildung 37: Abhängigkeit der radiochemische Ausbeuten von $[^{18}\text{F}]\text{-15}$ bei nukleophiler Radiofluorierung von der Konzentration des Markierungsvorläufers **12**

Reaktionsbedingungen: 37 MBq $[^{18}\text{F}]\text{Fluorid}$; 26 μmol $\text{K}_{\text{C}2.2.2}$;

12 μmol K_2CO_3 ; 1 ml DMF; 90 °C; 12 Minuten

Um den Einfluss der Reaktionstemperatur auf die Bildung des Markierungsproduktes $[^{18}\text{F}]\text{-15}$ zu untersuchen wurde der Radiofluor-für-Nitroaustausch an **12** bei 90 °C und 110 °C durchgeführt, wobei Sättigungen der radiochemischen Ausbeuten von $85 \pm 3 \%$ respektive $83 \pm 3 \%$ ermittelt wurden. Bei einer Reaktionstemperatur von 110 °C wurde ein Sättigung der radiochemischen Ausbeute schon nach 3 – 4 Minuten beobachtet, was für eine kurze Gesamtradiosynthesezeit von Vorteil ist (vgl. Abbildung 38).

Aus der Bildung des Reaktionsproduktes $[^{18}\text{F}]\text{-15}$ in Abhängigkeit von der Zeit wurde die Geschwindigkeitskonstanten k' für die jeweilige Reaktionstemperatur ermittelt, um den Effekt der Reaktionstemperatur auf die Radiosynthese zu vergleichen. Die experimentell ermittelten radiochemischen Ausbeuten wurden per Zerfallsgesetz auf die entsprechende Aktivität zur Zeit t zurückgerechnet, um die Aktivitätsausbeute an $[^{18}\text{F}]\text{-15}$ bei jeweiligen Reaktionszeiten vergleichen zu können $A([^{18}\text{F}]\text{-15})$.

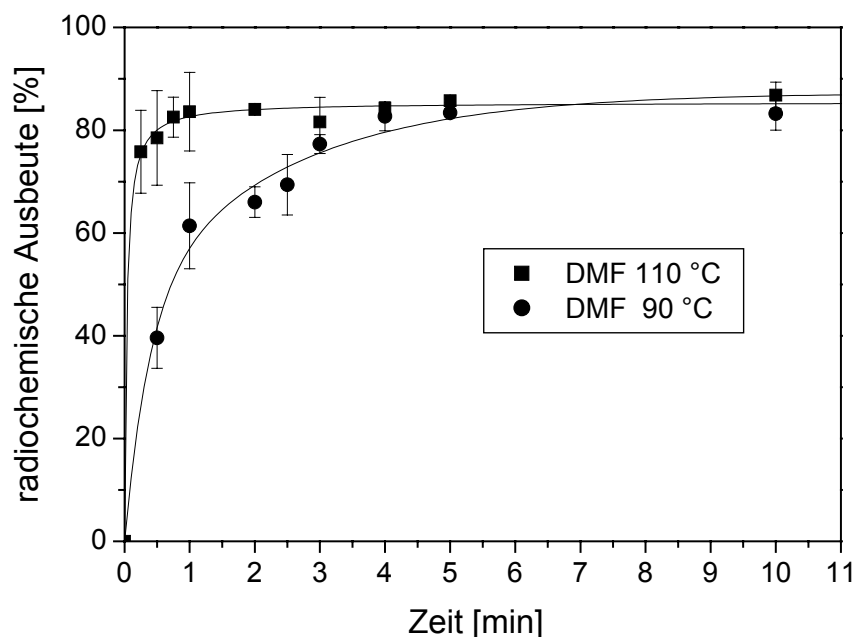


Abbildung 38: Abhängigkeit der radiochemischen Ausbeuten von $[^{18}\text{F}]\text{-15}$ bei nukleophiler Radiofluorierung in DMF als Funktion der Reaktionszeit bei Reaktionstemperaturen von 90 °C und 110 °C

Reaktionsbedingungen: 37 MBq $[^{18}\text{F}]\text{Fluorid}$; 26 μmol $\text{Kc}2.2.2$;

12 μmol K_2CO_3 ; 1 mg Vorläufer

Nach Umformung der kinetischen Gleichung pseudo-erster Ordnung zur Bildung von n.c.a. markierten Verbindungen (vgl. Abschnitt 1.2), ergibt sich eine Auftragung von $\ln[A(B_0)/(A(B_0) - A([^{18}\text{F}]\text{-15})_t)]$ gegen die Zeit, mit $A(B_0)$ = Ausgangsaktivität; $A([^{18}\text{F}]\text{-15})_t$ = Aktivität von $[^{18}\text{F}]\text{-15}$ zur Zeit t . Durch lineare Regression erhält man die Geschwindigkeitskonstanten pseudo-erster Ordnung k' von $0,37 \text{ min}^{-1}$ bei 90 °C und $0,51 \text{ min}^{-1}$ bei 110 °C. Die Reaktionsrate steigt also um ca. 40 % bei einer Erhöhung der Reaktionstemperatur um 20 °C.

Das Markierungsprodukt 2-(2-Cyano-5- $[^{18}\text{F}]\text{fluorphenylthio})\text{-N,N-dimethylbenzoesäureamid}$ ($[^{18}\text{F}]\text{-15}$) in DMF wurde auf einer RP-Phase fixiert, mit Wasser gewaschen und zusätzlich mit Essigsäureethylester/n-Hexan (v/v 2/1) chromatographisch an Kieselgel gereinigt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand azeotrop mit Acetonitril getrocknet. Der Rückstand wurde in THF aufgenommen und darin die Reduktion von $[^{18}\text{F}]\text{-15}$ mit $\text{BH}_3 \cdot \text{THF}$ bei 0 °C, Raumtemperatur und 75 °C untersucht.

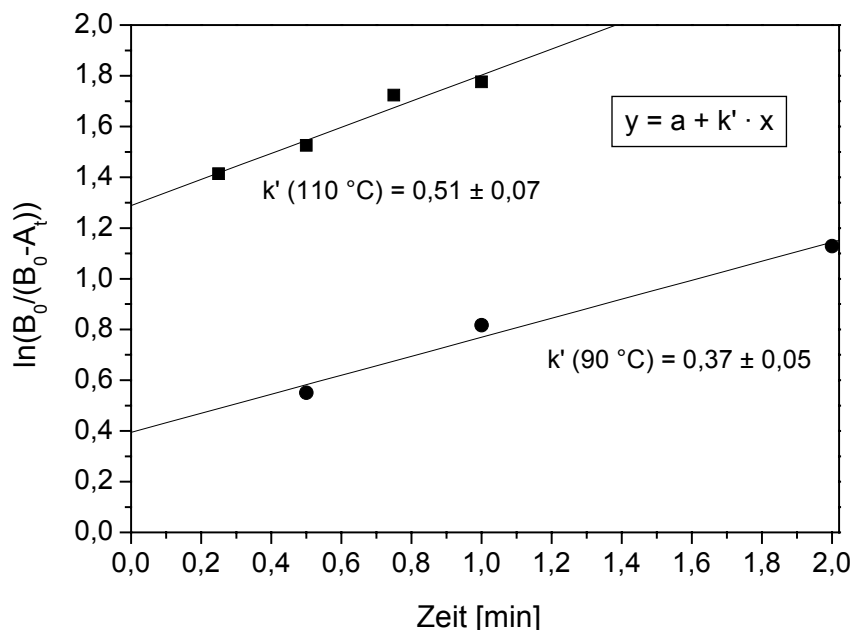


Abbildung 39: Bestimmung der Geschwindigkeitskonstante k' bei 90 °C und bei 110 °C

Das Benzoessäureamid wurde bei 0 °C bereits nach 5 Minuten selektiv mit einer radiochemischen Ausbeute von $74 \pm 2\%$ reduziert und 2-(2-Cyano-5- ^{18}F fluorphenylthio)-N,N-dimethylbenzylamin (^{18}F -**18a**) erhalten. Die Reduktion bei 75 °C zu 2-(5- ^{18}F Fluor-2-methylaminophenylthio)-N,N-dimethylbenzylamin (^{18}F -**18b**) verlief sehr viel langsamer, da die Cyanofunktion an Ring **B** noch zusätzlich zur Säureamidfunktion umgesetzt werden musste. Bei Raumtemperatur ergab sich auch nach 25 Minuten noch eine Mischung aus beiden Produkten, wobei beide in geringeren radiochemischen Ausbeuten gewonnen wurden. Der Angriff des BH_3 an der Cyanofunktion verläuft langsamer und scheint somit der geschwindigkeitsbestimmende Schritt zu sein. Bei 0 °C ist nicht genügend Aktivierungsenergie vorhanden, um diesen Reaktionskanal zu öffnen, wodurch die selektive Reduktion zu ^{18}F -**18a** möglich wird. Die radioaktive Verbindung ^{18}F -**18a** wird auch bei 0 °C schnell gebildet und erreicht bei Raumtemperatur eine Sättigung von $9 \pm 2\%$.

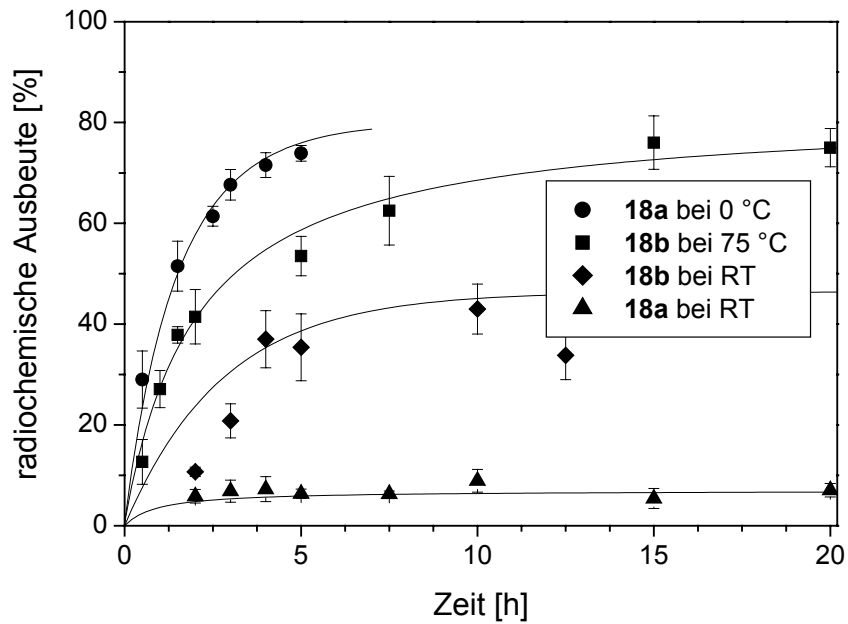


Abbildung 40: Abhängigkeit der radiochemischen Ausbeuten von $[^{18}\text{F}]\text{-18a}$ bei Reduktion von **15** zu **18a/b** als Funktion der Reaktionszeit bei verschiedenen Temperaturen

Auch bei der Darstellung von $[^{18}\text{F}]\text{-18b}$ mit einer radiochemischen Ausbeute von $75 \pm 4 \%$ nach 15 Minuten tritt ein Restanteil von $[^{18}\text{F}]\text{-18a}$ weiterhin auf, der jedoch leicht per Radio-HPLC entfernt werden konnte. Nach weniger als 2 Stunden Gesamtsynthesedauer inklusive Aufarbeitung betrug die radiochemische Ausbeute $34 \pm 3 \%$.

Am Beispiel der Darstellung von $[^{18}\text{F}]\text{-18b}$ ist die bisher beschriebene optimierte Radiosynthese als Fließschema in Abbildung 41 dargestellt. Eine typische Menge von 259 MBq $[^{18}\text{F}]\text{Fluorid}$ ergab nach der Radio-HPLC-Reinigung 35 MBq an $[^{18}\text{F}]\text{-18b}$.

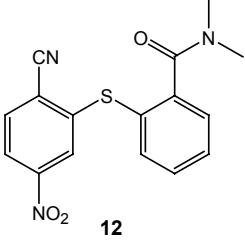
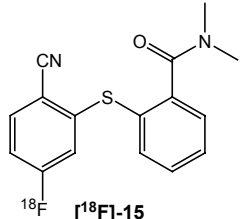
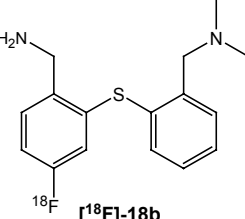
Zeit [min]	RCA [%]	Verbindungen	Reagentien
0		 12	
		↓	$[\text{K}2.2.2.] [^{18}\text{F}]\text{F}$, Acetonitril
23	79	 $[^{18}\text{F}]\text{-15}$	Trocknung mit Acetonitril
		↓	$\text{BH}_3 \cdot \text{THF}$, THF
110	34	 $[^{18}\text{F}]\text{-18b}$	Aufarbeitung, radioHPLC

Abbildung 41: Fließschema zur Darstellung von $[^{18}\text{F}]\text{MFD}$ ($[^{18}\text{F}]\text{-18b}$)

3.4.3. Darstellung von n.c.a. 2-(5- $[^{18}\text{F}]\text{Fluor}$ -2-nitrophenylthio)-N,N-dimethylbenzoesäureamid

Die beiden Markierungsvorläufer **12** und 2-Nitro-5-chlorphenylthio-N,N-dimethylbenzoesäureamid (**20**) sind sich chemisch so ähnlich (vgl. Abbildung 42), dass eine Übertragbarkeit der Markierungsbedingungen erwartet wurde. Die beiden Moleküle sind an

der selben Position mit einem die ^{18}F -Markierung aktivierenden Substituenten und einer dazu *para*-ständigen Abgangsgruppe versehen.

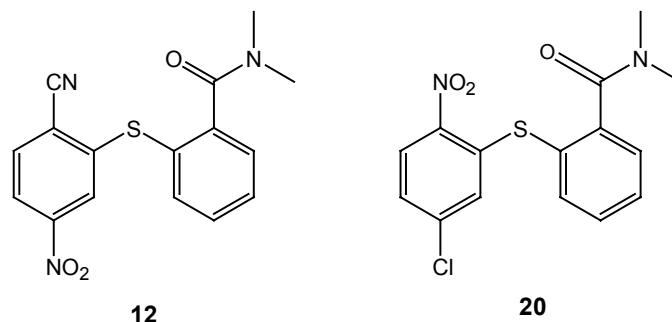


Abbildung 42: Strukturvergleich von 2-(2-Cyano-5-nitrophenylthio)-N,N-dimethylbenzoesäureamid (**12**) und 2-Nitro-5-chlorphenylthio-N,N-dimethyl-benzoesäureamid (**20**)

Bei **12** wird die für eine nukleophile Substitution sehr gute Nitrofunktion als Abgangsgruppe durch eine Cyanofunktion aktiviert, wohingegen bei **20** das Chlor als Abgangsgruppe durch die stark elektronenziehende Nitrofunktion aktiviert wird. Für die ^{18}F -Markierung von **20** wurden daher ähnliche Markierungsbedingungen wie bei der in Abschnitt 3.4.2 beschriebenen ^{18}F -für-Nitro-Austausch an **12** gewählt. Wegen der im allgemeinen weniger guten Substituierbarkeit des Chlors, wurden zur Darstellung von 2-(5- ^{18}F)Fluor-2-nitrophenylthio)-N,N-dimethylbenzoesäureamid (^{18}F -**22**) höhere Reaktionstemperaturen von 120 °C und 140 °C zur Darstellung von ^{18}F -**15** aus **12** gewählt.

In Abbildung 43 sind die Abhängigkeiten der radiochemischen Ausbeuten zur Bildung von ^{18}F -**22** gegen die Reaktionszeit aufgetragen. Bei einer Reaktionstemperatur von 120 °C konnten auch hier nach einer Reaktionszeit von 3 - 5 Minuten radiochemische Ausbeuten von 75 ± 4 % gewonnen werden. Diese Ausbeuten sind mit den vorher gefundenen radiochemischen Ausbeuten zur Darstellung von ^{18}F -**15** vergleichbar, wobei dort die geringere Aktivierung der Cyanofunktion durch eine bessere Substituierbarkeit der Nitrofunktion als Abgangsgruppe ausgeglichen wurde. Im Gegensatz zu der Markierung von **12** bewirkte eine Temperaturerhöhung um 20 °C bei dieser Markierung, keine Erhöhung der Reaktionsgeschwindigkeit. Bei den beiden untersuchten Reaktionstemperaturen zur Darstellung von ^{18}F -**22** tritt bei längerer Reaktionszeit unmittelbar nach dem Erreichen einer maximalen radiochemischen Ausbeute eine Zersetzung ein. Dies geschieht bei 140 °C offensichtlich deutlich früher, weshalb nur maximale radiochemische Ausbeute von 68 ± 3 % erhalten wurden.

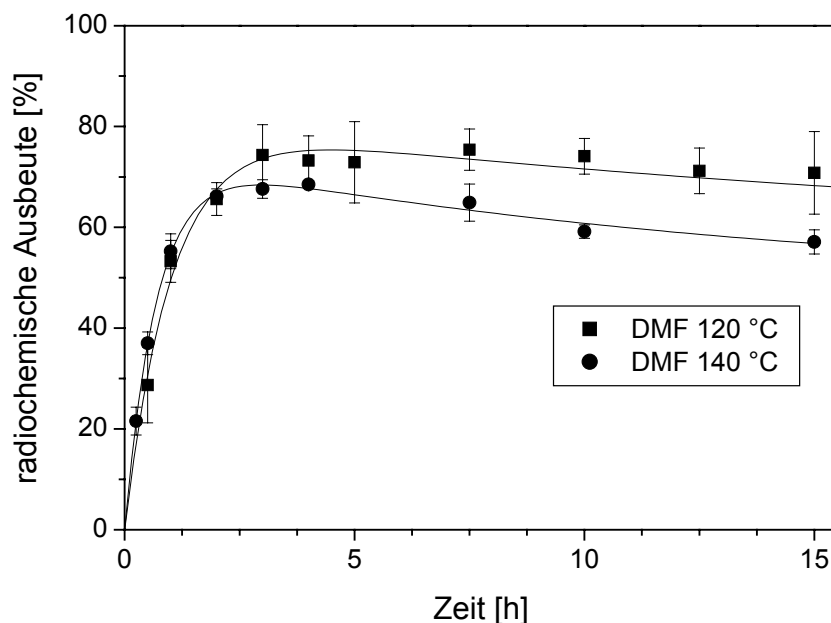


Abbildung 43: Abhängigkeit der radiochemischen Ausbeuten von $[^{18}\text{F}]\text{-22}$ bei nukleophiler Radiofluorierung in DMF als Funktion der Zeit bei verschiedenen Temperaturen

Reaktionsbedingungen: 37 MBq $[^{18}\text{F}]\text{Fluorid}$; 26 μmol $\text{K}_2\text{C}_2\text{F}_4$;
12 μmol K_2CO_3 ; 2,5 mg Vorläufer

Zur Bestimmung der optimalen Markierungsvorläuferkonzentration bei der Darstellung von $[^{18}\text{F}]\text{-22}$ wurde die in Abbildung 44 dargestellte Abhängigkeit gefunden. Der Kurvenverlauf zeigt einen sprunghaften Anstieg der radiochemischen Ausbeuten im Konzentrationsbereich zwischen 4 und 5 mM und erinnert an eine sigmaoide Titrationskurve. Es muss also eine Schwellenkonzentration von 4,5 mM an Markierungsvorläufer überschritten werden, um in den Bereich der Sättigung zu gelangen.

Das Markierungsprodukt 2-(5- $[^{18}\text{F}]\text{Fluor}$ -2-nitrophenylthio)-N,N-dimethylbenzoesäureamid $[^{18}\text{F}]\text{-21}$ in DMF wurde auf einer RP-Phase fixiert, mit Wasser gewaschen und zusätzlich mit Essigsäureethylester/n-Hexan (v/v 3/2) chromatographisch an Kieselgel gereinigt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand azeotrop mit Acetonitril getrocknet.

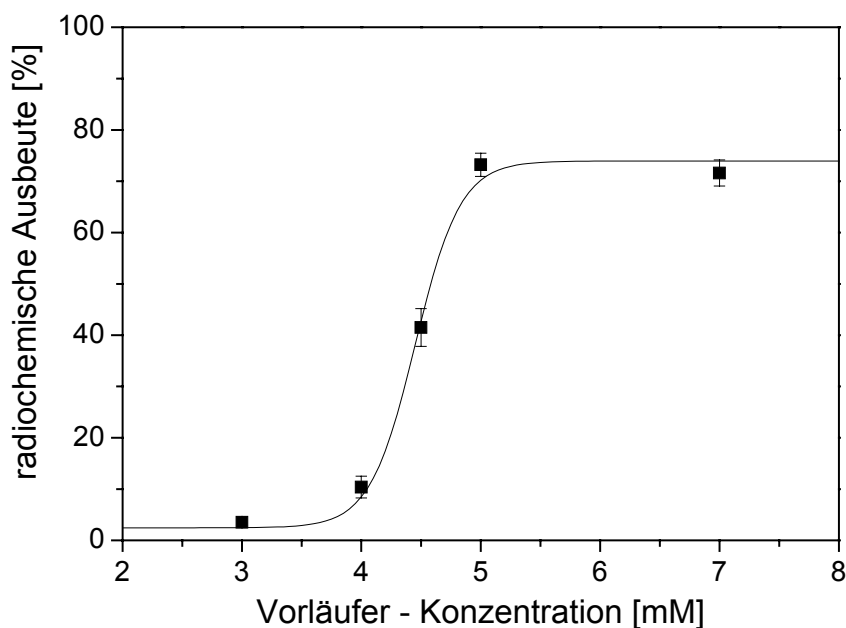


Abbildung 44: Abhängigkeit der radiochemische Ausbeuten der ^{18}F -Markierung von $[^{18}\text{F}]\text{-22}$ von der Konzentration des Markierungsvorläufers **20**

Reaktionsbedingungen: 37 MBq $[^{18}\text{F}]\text{Fluorid}$; 26 μmol $\text{K}_2\text{C}_2\text{O}_4$;

12 μmol K_2CO_3 ; 1 ml DMF; 120 °C; 5 Minuten

Der Rückstand wurde in THF aufgenommen und die Reduktion von $[^{18}\text{F}]\text{-21}$ mit $\text{BH}_3 \cdot \text{THF}$ wurde bei 75 °C untersucht. Wie bereits ausgeführt, ähneln sich die beiden Markierungsvorläufer **12** und **20** in ihrem chemischen Aufbau stark. Für die mit $[^{18}\text{F}]\text{Fluorid}$ markierten Verbindungen $[^{18}\text{F}]\text{-15}$ und $[^{18}\text{F}]\text{-21}$ wurde ein ebenfalls übertragbares Verhalten bei der Reduktion mit $\text{BH}_3 \cdot \text{THF}$ bestätigt. Der Hauptunterschied in den zu reduzierenden Substituenten liegt in der Reduzierbarkeit der Cyanofunktion bei $[^{18}\text{F}]\text{-15}$ und der Nitrouktion bei $[^{18}\text{F}]\text{-21}$ (vgl. Abbildung 42). Durch eine etwas längere Reaktionszeit von 20 Minuten im Vergleich zu vorher 15 Minuten, wurde jedoch auch die Nitrofunktion mit $60 \pm 7\%$ radiochemischer Ausbeute reduziert.

In dieser Arbeit wurden die in Abbildung 45 gezeigten angestrebten Zielverbindungen erfolgreich synthetisiert und für jede eine n.c.a. Radiosynthese entwickelt. Die Verbindungen [^{18}F]-**22a** und [^{18}F]-**22b** wurden über eine neue n.c.a. Diaryletherkopplung mit dem Markierungssyntheton n.c.a. 4- ^{18}F Fluorphenol und dem Katalysator Tetrakis(acetonitril)-kupfer(I)-hexafluorophosphat und anschließender Reduktion mit $\text{BH}_3 \cdot \text{THF}$ erfolgreich dargestellt. Die Synthese von [^{18}F]-**18a**, [^{18}F]-**18b** und [^{18}F]-**23** konnte über entsprechende Markierungsvorläufer **15** und **20** und anschließende Reduktion mit $\text{BH}_3 \cdot \text{THF}$ mit hohen radiochemischen Ausbeuten durchgeführt werden. Diese stehen nun für weitere radiopharmakologischen Untersuchungen zur Verfügung.

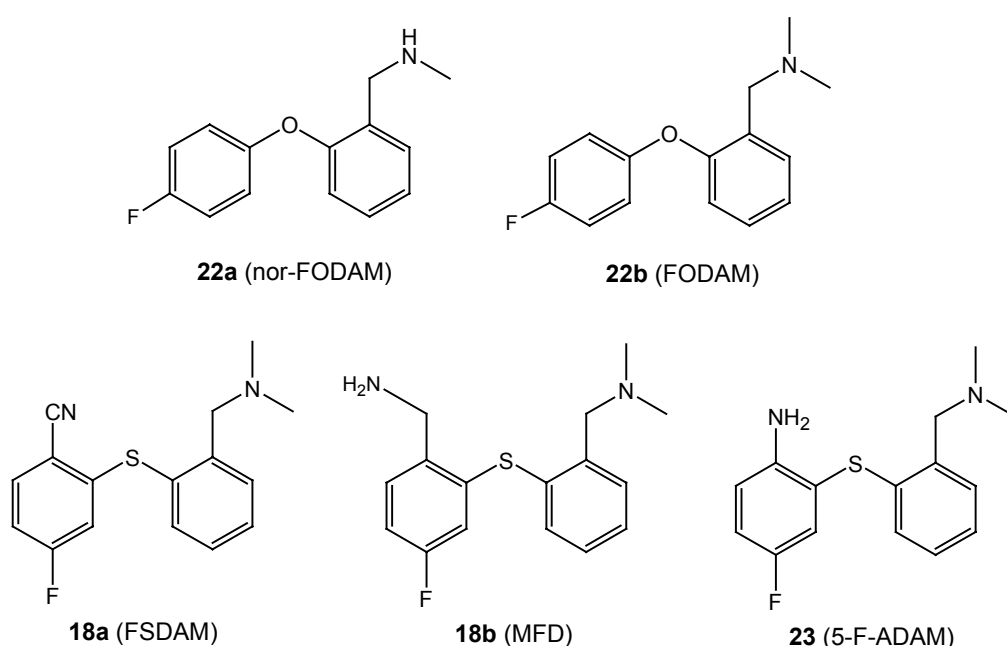


Abbildung 45: Strukturen der Zielverbindungen **22a/b**, **18a/b** und **23**

Anhand chromatographischer Analysen wurde für die Verbindungen [^{18}F]-**18a**, [^{18}F]-**18b** und [^{18}F]-**23** per Radio-HPLC und einer entsprechenden Kalibrierung des UV-Signals gegen die Stoffmenge an unmarkierten Standard für diese Radioliganden die spezifische Aktivität bestimmt. Bei einer eingesetzten Anfangsaktivität von 230 – 270 MBq wurde eine durchschnittliche spezifische Aktivität von 12 TBq/mmol erhalten. Dieser Wert ist ca. um das vierfache zu niedrig für *in vivo* Rezeptorbindungsstudien. Gründe dafür können niedrige spezifische Aktivitäten der Startaktivitäten, Verdünnung mit stabilem Fluor während der Synthese oder Verunreinigungen von verwendeten Chemikalien oder Markierungsvorläufer sein. Die Startaktivität wie auch die Markierungsvorläufer schienen bei ersten Überprüfungen

nicht Grund für die gefundene Isotopenverdünnung zu sein. Eine größtmögliche radiochemische Reinheit der dargestellten Verbindungen wurde durch eine Radio-HPLC Reinigung angestrebt, wobei darauf geachtet wurde, dass keine durch das UV- und Aktivitäts-Signal erkennbaren Verunreinigungen in der gesammelten Fraktion des Eluenten auftraten. Eine weitere Möglichkeit warum geringe spezifische Aktivitäten erhalten wurden wäre eine Zersetzung der markierten Verbindungen. Deshalb wurden diese unmittelbar nach der chromatographischen Reinigung nochmals auf eine RP-Phase aufgebracht, mit Methanol eluiert und das Lösungsmittel bei Raumtemperatur unter vermindertem Druck entfernt. Eine nochmalige Radio-HPLC Untersuchung zeigte jedoch keine weiteren radioaktiven Produkte. Bei höchstmöglicher Reinheit der verwendeten Substanzen und optimalen spezifischen Aktivitäten der Anfangsaktivität von [^{18}F]Fluorid kann man jedoch annehmen, dass bei Einsatz von typischerweise 3 GBq n.c.a. [^{18}F]Fluorid bei einem Produktionsansatz mindestens eine spezifische Aktivität erhalten werden kann, die ausreichend für die angestrebten *in vivo* Rezeptorbindungsstudien ist.

3.5. Radiopharmakologische Bewertung der neuen Verbindungen

Im Rahmen dieser Arbeit wurden von der Radiopharmakologiegruppe des Instituts für Nuklearchemie der Forschungszentrum Jülich GmbH Membranbindungsstudien (*in vitro*) an den neu synthetisierten Verbindungen durchgeführt und *in vitro* Autoradiographien und Organverteilungen beispielhaft an der Verbindung n.c.a. 2-(5-[^{18}F]Fluor-2-methylaminphenylthio)-N,N-dimethylbenzylamin ([^{18}F]-**18b**) durchgeführt. Deren Ergebnisse sind hier kurz zusammengefasst, da sie notwendig für die Bewertung der neuen Verbindungen als potentielle *in vivo* PET-Tracer sind. Zum Vergleich wird im Folgenden die kommerziell erhältliche Verbindung Mazindol herangezogen, deren Bindungsverhalten zu den Monoamintransportern SERT, DAT und NET (vgl. Abschnitt 1.7.3) hinreichend bekannt ist. Von den in Bindungsstudien getesteten neuen Liganden zeigten FSDAM (**18a**) und FODAM (**22b**) die höchste Affinität im Rattencortex. Noch etwas weniger affin als Mazindol war MFD (**18b**); gefolgt von Nor-FODAM (**22a**) (Tabelle 7). Der Radioligand [^{131}I]β-CIT hat hohe Affinität sowohl für DAT als auch für SERT. Man geht davon aus, dass [^{131}I]β-CIT im Striatum an DAT und im Cortex an SERT bindet [154]. In erster Näherung hat FODAM die beste Selektivität für SERT gegenüber DAT, gefolgt von FSDAM, MFD, Nor-FODAM und Mazindol. [^3H]Nisoxetine ist ein selektiver Ligand für NET [155]. Bis auf die

Referenzsubstanz Mazindol zeigten alle Verbindungen eine niedrige Affinität für NET. Auch die Selektivität für DAT gegenüber NET ist für die neuen Liganden mit Verhältnissen von Cortex-zu-Striatum von 0,008 bis 0,123 sehr gut.

Tabelle 7: Bindungsdaten der neuen SERT-Liganden

Ligand	Striatum	K _i [nM]	
		Cortex [¹³¹ I]β-CIT	Cortex [³ H]Nisoxetine
22a (Nor-FODAM)	3070 ± 197	379 ± 49	2769 ± 1062
22b (FODAM)	3900 ± 193	32 ± 8	1412 (139 – 14375)*
18a (FSDAM)	957 (653 – 1394)*	25 (20 – 32)*	1058 (61 – 18253)*
18b (MFD)	2361 ± 468	131 ± 21	2537 (861 – 7475)*
23 (5-F-ADAM)		0,47 ¹	1078 (798 – 3651)*
Mazindol	108 ± 17	52 ± 10	7,3 (0,5 – 113)*

Angaben in Mittelwerten von 2 oder 3 Assays ± SEM; *Wert eines repräsentativen Assays, in Klammern Konfidenzintervall; ¹ K_i zu SERT aus [131], gemessen an Rattenhirnen

Eine Organverteilungsstudie an Ratten ergab die höchste [¹⁸F]MFD Akkumulation in der Lunge (70 % ID/g nach 5 min, 45 % ID/g nach 30 min), gefolgt von Leber (12 % ID/g nach 5 min, 27 % ID/g nach 30 min) und Niere (14 % ID/g nach 5 min, 9 % ID/g nach 30 min). Im Hirn wurden 5 % ID/g nach 5 min und 2 % ID/g nach 30 min gemessen. Eine *ex vivo* Autoradiographie zeigte sowohl nach 5 min als auch nach 30 min eine gleichmäßige Verteilung des Tracers im Gehirn, was auf eine hohe unspezifische *in vivo* Bindung hindeutet.

Die neuen Verbindungen zeigen zwar alle eine gute Selektivität, jedoch sind ihre Affinitäten gegenüber dem Serotonin Transporter zu gering. 5-[¹⁸F]F-ADAM, dessen weitere Bewertung noch aussteht, scheint am ehesten geeignet für eine zukünftige PET-Anwendung zur Darstellung und Quantifizierung des Serotonin Transporters. Seine hohe Affinität zum SERT, eine gute Selektivität sind sehr vielversprechend und eine für eine ¹⁸F-Markierung passende langsame Pharmakokinetik wurde ebenfalls beschrieben, was eine weitere Entwicklung dieser Verbindung als lohnenswert erachten lässt.

4. Experimenteller Teil

4.1. Generelles

Alle verwendeten Chemikalien und Lösungsmittel wurden von den Firmen Aldrich (Deutschland), Fluka (Schweiz) oder Merck (Deutschland) bezogen. Sie entsprechen, sofern es nicht anders angegeben ist, p.a.-Qualität und wurden nicht weiter gereinigt. Zur säulenchromatographischen Reinigung der in dieser Arbeit synthetisierten Verbindungen wurde Merck Silicagel 60 (0,065 – 0,200 mm) oder Merck Silicagel 60 (0,035 – 0,070) verwendet. Alle Flüssigkeitsmischungen werden als Volumenverhältnisse angegeben.

Zur Bestimmung der Schmelzpunkte wurde ein Gerät der Firma Mettler Typ FP61 verwendet. Die angegebenen Werte sind unkorrigiert.

Analytische Dünnschichtchromatographie erfolgte auf Kieselgel (SiO) beschichteten Folien der Firma Macherey & Nagel Düren.

Die ^1H -, ^{13}C - und ^{19}F -NMR-Spektren wurden mit einem Bruker DPX Avance 200 Spektrometer bei 200, 50 und 188 MHz aufgenommen. Die chemischen Verschiebungen δ sind in ppm angegeben, wobei die Protonensignale des jeweiligen Lösungsmittels als interne Standards benutzt wurden.

Die Aufnahme der Massenspektren erfolgte mit einem Gerät der Firma Thermoquest (Typ Automass Multi III). Die massenspektroskopischen Analysen wurden mittels Elektronensprayionisation (ESI) oder durch Elektronenstoßionisation (EI) durchgeführt.

Die Durchführung der hochauflösenden massenspektroskopischen Untersuchungen wurde in der Abteilung für Massenspektrometrie am Institut für Organische Chemie der Universität zu Köln durchgeführt. Die Messungen erfolgten mittels Electrospray-MS nach Standardmethoden an einem Finnigan MAT 900 ST Massenspektrometer bei einer Auflösung ≥ 8000 und einem Fehler ≤ 5 mmu.

4.2. Synthesen der Ausgangsverbindungen, Standards und Markierungsvorläufer

N,N-Dimethyl-2,2'-dithiobenzoessäureamid (**1**) [in Analogie zu 138]

30,6 g (0,1 mol) 2,2'-Dithiobenzoessäure wurden in wasserfreiem DMF gelöst, 9,68 g (0,22 mol) Dimethylamin zugegeben und im Eisbad gekühlt. 36 g (0,22 mol; 32,92 ml) Diethylcyanophosphonat (DEPC) wurden so zugegeben, dass die Temperatur nicht über 5 °C stieg. Zu dieser Mischung wurden langsam und unter Beibehaltung der Temperatur 22,3 g (0,22 mol; 30,7 ml) Triethylamin zugetropft. Bei gleichbleibender Temperatur wurde 1 Stunde weitergerührt, dann 2 Stunden bei RT. Danach wurde das Lösungsmittel weitestgehend unter vermindertem Druck entfernt, der Rückstand in 500 ml Essigsäureethylester und 200 ml Benzol aufgenommen und mit H₂O_(NaCl) und H₂O_(NaHCO₃) gewaschen. Die organische Phase wurde über MgSO₄ getrocknet und anschließend über eine Chromatographie an Kieselgel mit Essigsäureethylester/Diethylether (v/v 1/1) und 0,5 % Triethylamin gereinigt und aus Essigsäureethylester umkristallisiert.

Ausbeute:	16,2 g (45 %)
Schmelzpunkt:	128,5 °C
¹ H-NMR (CDCl ₃):	δ: 7,71 – 7,18 (m, 8H, arom.), 3,12 (s, 6H, CH ₃), 2,83 (s, 6H, CH ₃)
¹³ C-NMR (CDCl ₃):	δ: 169,5 (C(O)N), 136,9 (C-C(O)N), 134,4 (C-S-), 130,2 (C-H), 129,0 (C-H), 127,8 (C-H), 127,2 (C-H)
MS (EI):	m/e 360 M ⁺ (100 %); 180 M ⁺ /2-H (10%)

N,N-Dimethylthiosalicylsäureamid (**2**) [nach 140]

1,8 g (5,0 mmol) **1** und 0,5 g NaOH wurden in 50 ml eines Ethanol/Wasser-Gemisches (v/v 8/2) gelöst. Dazu wurde eine Lösung aus 0,4 g (11 mmol) Natriumborhydrid in 25 ml Ethanol getropft. Das Gemisch wurde eine halbe Stunde bei RT und eine weitere Stunde bei 80 °C gerührt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck weitestgehend entfernt und zum Rückstand 60 ml Eiswasser gegeben. Die Mischung ließ man weitere 15 Minuten rühren, anschließend wurde sie filtriert und mit 1 M HCl leicht angesäuert. Die Lösung wurde 3 mal mit 20 ml Essigsäureethylester extrahiert, die organische Phase über Na₂SO₄ getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt.

Ausbeute: 1,63 g (90 %)
 $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): δ : 7,55 – 7,03 (m, 4H, arom.), 2,97 (s, 3H, CH_3), 2,71 (s, 3H, CH_3)
MS (EI): m/e 180 $\text{M}^+\text{-H}$ (100 %)

2-Halo-N-methylbenzoesäureamid (3a), (4a) und

2-Halo-N,N-dimethylbenzoesäureamide (3b), (4b), (5) und (6) [nach 156]

Es wurden 0,04 mol der entsprechenden 2-Halobenzoessäure (2-I-Ar (9,92 g); 2-Br-Ar (8,00 g); 2-Cl-Ar (6,26 g); 2-F-Ar (5,60 g)) in 4,35 ml (7,14 g; 0,06 mol) Thionylchlorid (SOCl_2) und 100 μl Dimethylformamid (DMF) 2 Stunden am Rückfluss erhitzt. Das Reaktionsgemisch wurde unter vermindertem Druck (ca. 10 mbar) destilliert, wobei bei 42 – 45 °C (Kühlfalle!) das SOCl_2 entfernt wurde und die Produkte jeweils bei den unten angegebenen Temperaturen überdestillierten.

2-Iodbenzoesäurechlorid:

Ausbeute: 9,8 g (91 %)
Siedepunkt: 85 – 86 °C

2-Brombenzoesäurechlorid:

Ausbeute: 7,92 g (90 %)
Siedepunkt: 103 – 104 °C

2-Chlorbenzoesäurechlorid:

Ausbeute: 6,3 g (90 %)
Siedepunkt: 123 – 125 °C

2-Fluorbenzoesäurechlorid:

Ausbeute: 5,83g (92 %)
Siedepunkt: 155 °C

Wegen ihrer Hydrolyseempfindlichkeit wurden die Säurechloride sofort weiter umgesetzt. 2,5 ml (20 mmol) 40 %ige Dimethyl- bzw. Monomethylamin-Lösung in Wasser und 0,8 g (20 mmol) Natronlauge in 2 ml Wasser wurden im Eisbad gekühlt, 15 mmol des entsprechenden Säurechlorids (4,0 g 2-Iodbenzoesäurechlorid; 3,3 g 2-Brombenzoesäurechlorid; 2,6 g 2-Chlorbenzoesäurechlorid; 2,4 g 2-Fluorbenzoesäurechlorid) unter Rühren

zutropft und 20 Minuten weitergerührt. Das Reaktionsgemisch wurde in einen Scheidetrichter überführt und die organische Phase von der wässrigen getrennt. Die wässrige Phase wurde 3 mal mit 5 ml Diethylether gewaschen und die Etherphasen mit der organischen Phase vereinigt. Diese wurde mit gesättigter Kochsalzlösung gewaschen und anschließend über Natriumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und farblose Öle erhalten.

3a:

Ausbeute: 2,94 g (75 %)
 $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): δ : 8,32 (bs, 1H, C(O)N-H), 7,88 (d, 1H, $J = 7,6$ Hz, arom.), 7,45 – 7,14 (m, 3H, arom.), 2,76 (s, 3H, CH_3)
 $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3): δ : 170,3 (C(O)N), 144,1 (C1, C-C(O)N), 139,9 (C4, C-H), 131,6 (C3, C-H), 128,9 (C6, C-H), 128,8 (C4, C-H), 94,4 (C2, C-I), 26,9 (CH_3)
MS (EI): m/e: 260 ($\text{M}^+\text{-H}$, 100 %)

3b:

Ausbeute: 3,22 g (78 %)
MS (EI): m/e: 275 (M^+ , 100 %)

4a:

Ausbeute: 2,85 g (89 %)
 $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): δ : 8,35 (bs, 1H, C(O)N-H), 7,67 (d, 1H, $J = 7,8$ Hz, arom.), 7,44 – 7,32 (m, 3H, arom.), 2,78 (s, 3H, CH_3)
 $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3): δ : 168,5 (C(O)N), 140,2 (C1, C-C(O)N), 133,5 (C4, C-H), 131,6 (C3, C-H), 129,6 (C6, C-H), 128,4 (C4, C-H), 119,8 (C2, C-Br), 26,8 (CH_3)
MS (EI): m/e: 212 ($\text{M}^+\text{-H}$, 100 %)

4b:

Ausbeute: 2,73 g (80 %)
 $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): δ : 7,69 (d, 1H, $J = 7,8$ Hz, arom.), 7,47 – 7,31 (m, 3H, arom.), 3,02 (s, 3H, CH_3), 2,76 (s, 3H, CH_3)

¹³C-NMR (CDCl₃): δ: 166,9 (C(O)N), 141,8 (C1, C-C(O)N), 132,7 (C4, C-H), 132,4 (C3, C-H), 129,6 (C6, C-H), 127,6 (C4, C-H), 119,1 (C2, C-Br), 35,8 (CH₃)

MS (EI): m/e: 227 (M⁺, 100 %)

5:

Ausbeute: 2,34 g (85 %)

MS (EI): m/e: 183 (M⁺, 100 %)

6:

Ausbeute: 2,05 g (82 %)

MS (EI): m/e: 167 (M⁺, 100 %)

Allgemeine Vorschrift zur Darstellung von:

2-Chlor-4-nitrobenzonnitril (7), 2-Chlor-1,4-dinitrobenzol (8), 4-Chlor-2-fluornitrobenzol (9)
[nach 157]

Es wurde 25 mmol des entsprechenden Anilinderivates in 200 ml Eisessig gelöst und ein 10facher Überschuss (38,5 g; 0,25 mol) an Natriumperborat Tetrahydrat (Na₂BO₄ • 4 H₂O) zugegeben und 12 Stunden gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde im Eisbad gekühlt, mit 500 ml Wasser versetzt und mit Natronlauge neutralisiert. Das Reaktionsgemisch wurde mit 3 mal 250 ml Dichlormethan extrahiert, über Natriumsulfat getrocknet und unter vermindertem Druck das Lösungsmittel entfernt. Der Rückstand wurde chromatographisch an Kieselgel gereinigt.

7:

Ausbeute: 2,28 g (50 %)

Schmelzpunkt: 80 °C

¹H-NMR (CDCl₃): δ: 8,43 (H3, d, 1H, arom.), 8,29 (H5, dd, 1H, arom.), 7,96 (H6, d, 1H, arom.)

¹³C-NMR (CDCl₃): δ: 150,7 (C4, C-NO₂), 138,9 (C2, C-Cl), 135,5 (C6, C-H), 125,6 (C3, C-H), 122,6 (C5, C-H), 119,5 (C1, C-CN), 114,7 (CN)

HR-MS (EI) [u]: berechnet: 181,9883 gefunden: 181,989

8:

Ausbeute: 2,99 g (59 %)

Schmelzpunkt: 60 °C

¹H-NMR (CDCl₃): δ: 8,42 (H3, d, 1H, J = 2,3 Hz, arom.), 8,27 (H5, dd, 1H, J₁ = 8,9 Hz, J₂ = 2,3 Hz, arom.), 8,00 (H6, d, 1H, J = 8,9, arom.)

¹³C-NMR (CDCl₃): δ: 151,6 (C1, C-NO₂), 149,2 (C4, C-NO₂), 128,4 (C2, C-Cl), 128,3 (C3, C-H), 126,2 (C6, C-H), 122,8 (C5, C-H)

9:

Ausbeute: 2,63 g (60 %)

Schmelzpunkt: 148 °C

¹H-NMR (CDCl₃): 8,40 (H6, d, 1H, J = 8,8 Hz, arom.), 7,89 (H5, s, 1H, arom.), 7,24 (H3, s, 1H, arom.)

¹³C-NMR (CDCl₃): 158,1 (C1, C-NO₂), 138,2 (C4, C-Cl), 135,9 (C2, C-F), 126,5 (C6, C-H), 125,2 (C5, C-H), 117,1 (C3, C-H)

2-(4-Fluorphenoxy)-N-methylbenzoesäureamid (11a) und 2-(4-Fluorphenoxy)-N,N-dimethylbenzoesäureamid (11b) [in Analogie zu 150]

Eine Mischung aus 1,30 g (5,0 mmol) **3a** bzw. 1,38 g (5,0 mmol) **3b**, 0,56 g (5,0 mmol) 4-Fluorphenol (**10**), 2,61 g (10,0 mmol) Caesiumcarbonat und 0,15 g (5 mol%) Tetrakis(acetonitril)kupfer(I)-hexafluorphosphat [Cu(MeCN)₄]PF₆ in Toluol wurden für 12 Stunden unter Rückfluss erhitzt. Das Lösungsmittel wurde entfernt und der Rückstand chromatographisch an Kieselgel mit Diethylether/n-Hexan; (v/v 4/1) als Eluent gereinigt.

11a:

Ausbeute: 1,14 g (93 %)

Schmelzpunkt: 96 – 97 °C

¹H-NMR (CDCl₃): δ: 8,21 (bs, 1H, (C(O)NH), 7,69 – 6,83 (m, 8H, Ar-H), 2,75 (s, 3H, CH₃)

¹³C-NMR (CDCl₃): δ: 166,4 (C(O)N), 155,2 (C-F), 153,2 (C-O-), 153,1 (C-O-), 132,5 (C-H), 131,0 (C-H), 124,1 (C-C(O)N), 121,9 (C-H), 119,0 (C-H, d, J = 6,3 Hz), 117,6 (CH₃), 117,1 (CH₃, d, J = 19 Hz)

¹⁹F-NMR (CDCl₃): δ: -119,93

MS (EI): (m/e): 245 (M⁺, 100 %)

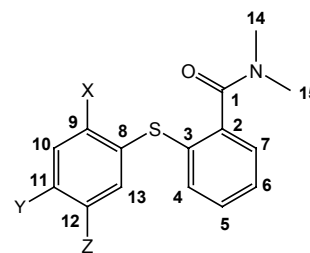
11b:

Ausbeute:	1,12 g (86 %)
Schmelzpunkt:	83 – 85 °C
¹ H-NMR (CDCl ₃):	δ: 7,32 – 6,78 (m, 8H, Ar-H), 3,03 (s, 3H, CH ₃), 2,93 (s, 3H, CH ₃)
¹³ C-NMR (CDCl ₃):	δ: 164,6 (C(O)N), 156,3 (C-F), 155,9 (C-O-), 152,2 (C-O-), 129,0 (C-H), 126,7 (C-H), 123,2 (C-C(O)N), 121,6 (C-H), 118,1 (d, C-H, J = 7,6 Hz), 116,5 (C-H), 116,2 (d, C-H, J = 24 Hz)
¹⁹ F-NMR (CDCl ₃):	δ: -119,82
MS (EI):	(m/e): 260 (M ⁺ , 96 %), 215 (100), 185 (17), 157 (11)

Allgemeine Vorschrift zur Darstellung von:

2-(2-Cyano-5-nitrophenylthio)-N,N-dimethylbenzoesäureamid (12), 2-(2-Cyano-5-fluorphenylthio)-N,N-dimethylbenzoesäureamid (15), 2-(2-Chlor-4-nitrophenylthio)-N,N-dimethylbenzoesäureamid (19), 2-(2-Nitro-5-chlorphenylthio)-N,N-dimethylbenzoesäureamid (20) und 2-(5-Fluor-2-nitrophenylthio)-N,N-dimethylbenzoesäureamid (21) [in Analogie zu 151]

Es wurden 1,81 g (0,01 mol) N,N-Dimethylthiosalicylsäureamid (**2**) in 25 ml 10 %iger NaOH-Lösung gelöst und 0,2 g (5mol%) Tetrabutylammoniumbromid unter Schutzgas hinzugegeben und gerührt. Dazu wurden jeweils 0,01 mol an 2-Chlor-4-nitrobenzonitril (**7**), 2,4-Difluorbenzonitril (**14**), 2-Chlor-1,4-dinitrobenzol (**8**), 4-Chlor-2-fluornitrobenzol (**9**) oder 2,4-Difluornitrobenzol in 25 ml Toluol unter starkem Rühren hinzugesetzt. Nach 4 Stunden bei einer Reaktionstemperatur von 90 °C wurde das Reaktionsgemisch im Eisbad gekühlt, 100 ml Eiswasser hinzugegeben, anschließend 3 mal mit 50 ml Essigsäureethylester extrahiert und über Na₂SO₄ getrocknet. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand chromatographisch an Kieselgel mit Essigsäureethylester/n-Hexan Gemischen (**12**, **15**, **21**: (v/v 3/2); **19**, **20**: (v/v 2/1)) als Eluent gereinigt und aus Methanol umkristallisiert.



12:

Ausbeute: 1,05 g (32 %)

Schmelzpunkt: 138 – 140 °C

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): δ : 7,99 (H11, dd, 1H, $J_1 = 8,5$ Hz, $J_2 = 2,2$ Hz, arom.), 7,85 (H13, d, 1H, $J = 2,2$ Hz, arom.), 7,74 (H10, d, 1H, $J = 8,5$ Hz, arom.), 7,61 – 7,39 (m, 4H, arom.), 3,02 (H14, s, 3H, CH_3), 2,84 (H15, s, 3H, CH_3)

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3): δ : 168,7 (C1, C(O)N), 150,3 (C12, C-NO_2), 145,2 (C8, C-S-), 142,7 (C3, C-S-), 136,1 (C4, C-H), 134,2 (C10, C-H), 131,0 (C5, C-H) 128,2 (C7, C-H), 126,5 (C2, C-C(O)N), 124,9 (C13, C-H), 121,0 (C11, C-H), 117,3 (C9, C-H), 115,3 (CN), 38,6 (C14, C-H), 34,8 (C15, C-H)

HR-MS (EI) [u]: berechnet: 327,0677 gefunden: 327,067

Wie in Abschnitt 3.3.2 beschrieben entstand bei der Kopplung von **2** und **7** das Nebenprodukt N,N-Dimethyl-2-thiocyanobenzoensäureamid (**13**):

Ausbeute: 0,30 g (10 %)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): δ : 7,70 (H7 o. H4, d, 1H, $J = 8,3$ Hz, arom.), 7,40 – 7,28 (m, 3H, arom.), 3,03 (H14, s, 3H, CH_3), 2,90 (H15, s, 3H, CH_3)

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3): δ : 167,7 (C1, C(O)N), 136,6 (C2, C-C(O)N), 130,9 (C4, C-H), 130,6 (C5, C-H), 128,7 (C6, C-H), 127,8 (C7, C-H), 124,0 (C3, C-SCN), 110,5 (C8, -S-CN), 38,9 (C14, C-H), 34,9 (C15, C-H)

Wie in Abschnitt 3.3.2 beschrieben zersetzte sich **12** unter Standardbedingungen zu 2-Thio-4-nitrobenzonitril:

Schmelzpunkt: 116 °C

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): δ : 7,36 (H10, d, 1H, $J = 8,5$ Hz, arom.), 6,69 (H13, s, 1H, arom.), 6,52 (H11, dd, 1H, $J_1 = 8,4$ Hz, $J_2 = 2,3$ Hz, arom.), 4,10 (bs, 1H, -SH)

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3): δ : 151,2 (C12, C-NO_2), 138,2 (C8, C-SH), 135,1 (C10, C-H), 117,1 (CN), 114,8 (C13, C-H), 112,8 (C11, CH), 101,3 (C9, C-CN)

15:

Ausbeute:	1,23 g (37 %)
Schmelzpunkt:	96 °C
¹ H-NMR (CDCl ₃):	δ: 7,53 (H10, dd, 1H, J ₁ = 8,3 Hz, J ₂ = 5,5 Hz, arom.), 7,45 – 7,30 (m, 4H, arom.), 6,87 (H13, s, 1H, arom.), 6,76 (H11, d, 1H, J = 8,9 Hz, arom.), 7,37 – 6,76, 3,01 (H14, s, 3H, CH ₃), 2,78 (H15, s, 3H, CH ₃)
¹³ C-NMR (CDCl ₃):	δ: 168,5 (C1, C(O)N), 164,6 (C12, C-F), 144,6 (C8, C-S-), 141,7 (C3, C-S-), 135,3 (C7 o. C4, C-H), 135,2 (C10, C-H), 130,0 (C4 o. C7, C-H) 129,9 (C6 o. C5, C-H), 127,5 (C5 o. C6, C-H), 127,1 (C2, C-C(O)N), 117,4 (C13, C-H), 116,0 (CN), 114,3 (C11, C-H), 107,9 (C9, C-CN), 38,3 (C14, C-H), 34,3 (C15, C-H)
HR-MS (EI) [u]:	berechnet: 300,0732 gefunden: 300,073

Wie in Abschnitt 3.3.2 beschrieben entstand bei der Kopplung von **2** und **14** das Nebenprodukt 2-(3-Cyano-4-fluor-phenylthio)-N,N-dimethyl-benzoesäureamid (**16**):

Ausbeute:	0,23 g (8 %)
¹ H-NMR (CDCl ₃):	δ: 7,53 – 7,35 (m, 5H, arom.), 6,94 (d, 1H, J = 8,2 Hz, arom.), 6,87 (d, 1H, J = 8,0 Hz, arom.), 3,02 (s, 3H, CH ₃), 2,76 (s, 3H, CH ₃)
¹³ C-NMR (CDCl ₃):	δ: 168,8 (C1, C(O)N), 162,8 (C11, C-F), 147,5 (C8, C-S-), 142,3 (C3, C-S-), 136,2 (C7 o. C4, C-H), 133,0 (C9, C-H), 130,4 (C4 o. C7, C-H) 130,1 (C6 o. C5, C-H), 127,5 (C5 o. C6, C-H), 126,4 (C2, C-C(O)N), 123,2 (C13, C-H), 114,5 (C12, C-H), 113,6 (CN), 97,8 (C10, C-CN), 38,3 (C14, C-H), 34,4 (C15, C-H)

19:

Ausbeute:	3,0 g (94%)
Schmelzpunkt:	121 – 123 °C
¹ H-NMR (CDCl ₃):	δ: 8,12 (H10, d, 1H, J = 2,3 Hz, arom.), 7,81 (H12, d, 1H, J = 8,9 Hz, arom.), 7,57 – 7,39 (m, 4H, arom.), 6,81 (H10, d, 1H, J = 8,9 Hz, arom.), 3,01 (s, 3H, CH ₃), 2,80 (s, 3H, CH ₃)
¹³ C-NMR (CDCl ₃):	δ: 168,8 (C1, C(O)N), 146,5 (C11, C-NO ₂), 145,7 (C8, C-S-), 143,3 (C3, C-S-), 136,8 (C4, C-H), 131,1 (C2, C-H), 130,9 (C5, C-H) 130,4 (C6, C-H), 128,3 (C7, C-H), 127,9 (C13, C-H), 126,2 (C9, C-

Cl), 124,3 (C10, C-H), 121,8 (C12, C-H), 38,6 (C14, C-H), 34,6 (C15, C-H)

HR-MS (EI) [u]: berechnet: 336,0335 gefunden: 336,033

20:

Ausbeute: 2,86 g (85 %)

Schmelzpunkt: 150,5 °C

¹H-NMR (CDCl₃): δ: 8,49 (m, 1H, arom.), 8,00 (d, 1H, J = 8,7 Hz, arom.), 7,61 – 7,20 (m, 7H, arom.), 7,08 (d, 1H, J = 4,4 Hz, arom.), 3,07 (s, 3H, CH₃), 2,82 (s, 3H, CH₃)

¹³C-NMR (CDCl₃): δ: 169,6 ((C1, C(O)N), 154,7 (C9, C-NO₂), 144,9 (C12, C-Cl), 143,1 (C2, C-C(O)N), 138,0 (C13 o. C4, C-H), 136,9 (C4 o. C13, C-H), 130,6 (C3 o. C8, C-S-), 130,3 (C-H), 126,5 (C8 o. C3, C-S-), 125,9 (C-H), 125,3 (C-H), 125,3 C-H), 117,7 (C-H), 38,9 (C14, C-H), 35,0 (C15, C-H)

HR-MS (EI) [u]: berechnet: 336,0335 gefunden: 336,033

21:

Ausbeute: 1,18 g (37 %)

Schmelzpunkt: 140,5 °C

¹H-NMR (CDCl₃): δ: 8,28 (H10, dd, 1H, J₁ = 9,2 Hz, J₂ = 6,0 Hz, arom.), 7,67 – 7,45 (m, 4H, arom.), 6,91 (H11, tdd, J_t = 2,2 Hz, J_{d1} = 16,2 Hz, J_{d2} = 2,6 Hz, arom.), 6,60 (H13, dd, J₁ = 9,8 Hz, J₂ = 2,6, arom.), 3,08 (H14, s, 3H, CH₃), 2,88 (H15, s, 3H, CH₃)

¹³C-NMR (CDCl₃): δ: 169,4 ((C1, C(O)N), 168,1 (C12, C-F), 163,0 (C9, C-NO₂), 144,0 (C2, C-C(O)N), 137,8 (C3 o. C8, C-S-), 131,8 (C8 o. C3, C-S-), 130,9 (C-H), 128,2 (C-H), 127,2 (C-H), 116,6 (C-H), 116,1 (C-H), 113,6 (C-H), 113,1 (C-H), 39,0 (C14, C-H), 35,0 (C15, C-H)

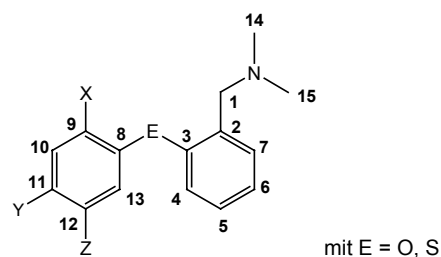
¹⁹F-NMR (CDCl₃): δ: -120,1

HR-MS (EI) [u]: berechnet: 320,0631 gefunden: 320,063

Allgemeine Vorschrift zur Darstellung von:

N,N-Dimethylthiobenzylamin (**17**), 2-(4-Fluorphenoxy)-*N*-methylbenzylamin (**22a**), 2-(4-Fluorphenoxy)-*N,N*-dimethylbenzylamin (**22b**), 2-(5-Fluor-2-methylaminophenylthio)-*N,N*-dimethylbenzylamin (**18b**) und 2-(2-Amino-5-fluorphenylthio)-*N,N*-dimethylbenzylamin (**23**) [nach 152, 158]

Je 5,0 mmol **2** (0,84 g), 2,0 mmol **11b** (0,49 g), **11b** (0,52 g), **15** (0,60 g) oder **21** (0,64 g) wurden in 10 ml wasserfreiem THF gelöst und die Mischung auf 0 °C gekühlt. 10 ml 1 M BH₃•THF Lösung in THF wurde langsam hinzugegeben bis die lebhafte Reaktion beendet war. Die Lösung wurde dann 2 Stunden unter Rückfluss weiter gerührt und dann durch Zugabe von 1 ml konz. HCl gequencht. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt, der Rückstand in 20 ml Wasser aufgenommen und für weitere 30 Minuten unter Rückfluss gerührt. Die saure Lösung wurde 3 mal mit 10 ml Diethylether extrahiert, mit 1 M NaOH -Lösung auf einen stark basisch pH-Wert (9 – 10) eingestellt und erneut 3 mal mit 10 ml Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Na₂SO₄ getrocknet und anschließend das Lösungsmittel entfernt, **17** wurde als gelbliches Öl erhalten und sofort in Folgereaktionen umgesetzt; **22a/b** und **18b** wurden als farblose Öle erhalten, **23** als hell gelber Feststoff. Die Produkte **22a/b** wurden in Diethylether gelöst und mit 2 M Salzsäure in Diethylether in ihre Hydrochloride überführt. Die farblosen Kristalle wurden filtriert, mit kaltem Diethylether und n-Hexan gewaschen und unter vermindertem Druck getrocknet. **18b** wurde chromatographisch an Kieselgel mit Methanol und 1 % Triethylamin (R_f = 0,2), **23** mit Dichlormethan/n-Hexan (v/v 4/1) und 1 % Triethylamin (R_f = 0,44) gereinigt.



17:

Ausbeute: 0,29 g (75 %)

22a:

Ausbeute: 0,45 g (97 %)

¹H-NMR (CDCl₃): δ: 7,41 – 6,82 (m, 8H, arom.), 3,83 (s, 2H, CH₂), 2,46 (t, 3H, CH₃), 1,69 (bs, 1H, NH)

¹³C-NMR (CDCl₃): δ: 155,89 (C3, C-O-), 155,56 (C11, C-F), 154,02 (C8, C-O-), 130,72 (C7, C-H), 130,01 (C5, C-H), 129,58 (C1, C-CH₂-NH₂), 124,20 (C6, C-H), 119,45 (C9 u. C13, d, C-H, J: 5,6 Hz), 116,98 (C10 o. C12, C-H), 116,33 (C10 o. C12, d, C-H, J: 19 Hz), 49,68 (C-CH₂-NH₂), 35,80 (2 x CH₃)

¹⁹F-NMR (CDCl₃): δ: -120,81

MS (EI): m/e 231 (M⁺, 100 %), 201 (50)

IR ν_{max} (KBr): 1502, 1602 (RNH₂⁺)

22b:

Ausbeute: 0,48 g (98 %)

¹H-NMR (CDCl₃): δ: 7,49 – 6,86 (m, 8H, arom.), 3,53 (s, 2H, CH₂), 2,31 (t, 3H, CH₃)

¹³C-NMR (CDCl₃): δ: 156,43 (C3, C-O-), 155,63 (C11, C-F), 154,15 (C8, C-O-), 131,72 (C7, C-H), 130,47 (C5, C-H), 128,78 (C1, C-CH₂-NH₂), 124,20 (C6, C-H), 119,71 (C9 u. C13, d, C-H, J: 8,3), 116,98 (C10 o. C12, C-H), 116,59 (C10 o. C12, d, C-H, J: 23 Hz), 57,83 (C-CH₂-NH₂), 45,90 (2 x CH₃)

¹⁹F-NMR (CDCl₃): δ: -121,41

MS (EI): m/e 245 (M⁺, 100 %), 214 (39), 111 (18)

IR ν_{max} (KBr): 1501, 1687 (R₂NH⁺)

18b:

Ausbeute:

¹H-NMR (DMSO): δ: 7,57 (H4, d, 1H, arom.), 7,42 – 6,85 (m, 6H, arom.), 4,53 (s, 2H, CH₂), 3,78 (H1, s, 2H, CH₂), 3,02 (bs, NH₂), 2,37 (s, 6H, 2 x CH₃)

¹³C-NMR (DMSO): δ: 146,3 (C12, C-F), 136,4 (C2, C-CH₂), 135,6 (C9, C-CH₂), 130,1 (C3 o. C8, C-S-), 129,3 (C3 o. C8, C-S-), 128,6 (C-H), 128,3 (C-H), 127,1 (C-H), 125,5 (C-H), 125,1 (C-H), 115,4 (C-H), 114,3 (C-H), 62,9 (C1, CH₂), 48,3 (CH₃), 48,0 (CH₂)

MS (EI): m/e M⁺+2H 292 (100 %)

23:

Ausbeute:

Schmelzpunkt: 139,5 °C

¹H-NMR (CDCl₃): δ: 8,39 (H4, dd, 1H, J₁ = 9,2 Hz, J₂ = 5,2 Hz, arom.), 7,82 (H5 o. H6, dd, 1H, J₁ = 7,4 Hz, J₂ = 1,6 Hz, arom.), 7,74 – 7,55 (m, 3H, arom.), 6,96 (H11, tdd, 1H, J_t = 2,2 Hz, J_{d1} = 16,0 Hz, J_{d2} = 2,6 Hz, arom.), 6,13 (H13, dd, 1H, J₁ = 9,6 Hz, J₂ = 2,4 Hz, arom.), 5,34 (s, NH₂), 4,24 (s, 2H, CH₂), 2,65 (s, 6H, 2 x CH₃)

¹³C-NMR (CDCl₃): δ: 142,5 (C12, C-F), 138,6 (C8, C-S-), 136,6 (C2, C-CH₂-), 135,8 (C3, C-S-), 133,0 (C4, C-H), 131,9 (C7, C-H), 131,4 (C5, C-H), 129,6 (C6, C-H), 129,4 (C9, C-NH₂), 114,8 (C13, C-H), 114,3 (C10, C-H), 113,6 (C11, C-H), 64,0 (CH₂), 51,0 (CH₃)

¹⁹F-NMR (CDCl₃): δ: -101,84

HR-MS (EI) [u]: berechnet: 276,1096 gefunden: 276,109

Vorschrift zur Darstellung von 2-(2-Cyano-4-fluorphenylthio)-N,N-dimethylamin (18a) [in Analogie zu 151]

Es wurden 0,17 g (0,001 mol) N,N-Dimethylthiobenzylamin (**17**) in 10 ml 10 %iger NaOH-Lösung gelöst und 0,016 g (5mol%) Tetrabutylammoniumbromid unter Argon als Schutzgas hinzugegeben und gerührt. Dazu wurden 0,16 g (0,001 mol) 2,4-Difluornitrobenzol in 15 ml Toluol unter starkem Rühren hinzugegeben. Nach 4 Stunden bei einer Reaktionstemperatur von 90 °C wurde das Reaktionsgemisch im Eisbad gekühlt, 100 ml Eiswasser hinzugegeben, anschließend 3 mal mit 50 ml Essigsäureethylester extrahiert und über Na₂SO₄ getrocknet. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand chromatographisch an Kieselgel mit Methanol und 0,5 % Triethylamin (R_f = 0,57) als Eluent gereinigt und nach Entfernung des Lösungsmittels unter vermindertem Druck ein farbloses Öl gewonnen.

Ausbeute: 0,11 g (39 %)

¹H-NMR (DMSO): δ: 7,84 – 7,30 (m, 7H, arom.), 4,81 (bs, NH), 3,98 (s, 2H, CH₂), 2,49 (s, 6H, 2 x CH₃)

¹³C-NMR (DMSO): δ: 162,6 (C12, C-F), 143,6 (C8, C-S-), 139,5 (C3, C-S-), 135,1 (C-H), 132,1 (C-H), 130,0 (C-H), 129,7 (C-H), 127,9 (C-H), 117,8 (CN),

117,4 (C-H), 116,0 (C-H), 109,8 (C9, C-CN), 61,3 (CH₂), 46,7 (CH₃)
MS (EI): m/e M⁺+H 287 (100 %)

4.3. Radiosynthesen mit n.c.a. [¹⁸F]Fluorid

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

Die Produktion des n.c.a. [¹⁸F]Fluorids erfolgt routinemäßig am Babyzyklotron BC 1710 (JSW) des Instituts für Nuklearchemie der Forschungszentrum Jülich GmbH. Durch Bestrahlung eines mit H₂¹⁸O befüllten Titantargets wird über die ¹⁸O(p,n)¹⁸F Kernreaktion das Radiofluorid gewonnen. Das Target, die Durchführung der Bestrahlung und die Isolierung des n.c.a. [¹⁸F]Fluorids sind in der Literatur im Detail beschrieben [15, 159]. Diese Methode erlaubt bei Strahlströmen von 25 µA und Protonenenergien von 17 MeV innerhalb einer Stunde eine Produktion von über 55 GBq n.c.a. [¹⁸F]Fluorid.

4.3.2. Nukleophile Substitutionen mit n.c.a. [¹⁸F]Fluorid

Allgemeine Vorschrift zur nukleophilen Substitution mit n.c.a. [¹⁸F]Fluorid:

Die wäßrige n.c.a. [¹⁸F]Fluorid-Lösung (10 – 150 µl, 37 MBq) wurde zu 10 mg (26,6 µmol) Kryptofix[®] 2.2.2 und 12 µl (12 µmol) einer 1M Kaliumcarbonat-Lösung gegeben, mit 0,8 ml Acetonitril aufgenommen und per Tuberkulin-Spritze (1ml) zur azeotropen Trocknung in ein konisch zulaufendes mit Silikonseptum verschlossenes Reaktionsgefäß (Reactivial; 3-5 ml) mit Magnetrührstäbchen überführt. Zwei Kanülen führten als Argonzuleitung und als Vakuumanschluss durch das Septum. Die Mischung wurde bei 80 – 85 °C unter einem Argongasstrom und einem Druck von 750 – 850 mbar azeotrop getrocknet. Der Trocknungsschritt wurde zweimal mit jeweils ca. 1 ml Acetonitril wiederholt und anschließend wurde das Reaktionsgefäß unter maximal verminderten Druck (10 – 40 mbar) 5 Minuten evakuiert. Nach Begasung des Reaktors mit Argon wurde die gewünschte Reaktionstemperatur für die folgende Substitutionsreaktion eingestellt und der jeweilige Markierungsvorläufer in 1 ml des entsprechenden Lösungsmittels zugegeben. Zur Optimierung der trägerarmen Radiofluorierung wurden die Reaktionsparameter Temperatur, Lösungsmittel und Markierungsvorläuferkonzentration variiert. Zur Reaktionskontrolle wurden

im Verlauf der Reaktion Aliquots von 10 μl entnommen, mit ca. 100 μl Acetonitril verdünnt und zur Bestimmung der Parameterabhängigkeiten radio-dünnschichtchromatographisch analysiert.

4.3.3. Diarylethersynthesen mit n.c.a. 4- ^{18}F Fluorphenol

Darstellung von n.c.a. 4- ^{18}F Fluorphenol (^{18}F -10)

Die nukleophile ^{18}F Fluorierung von (4-(Trifluormethyl)phenyl)-benzoyl-4'-N,N,N-trimethylammoniumtriflat mit n.c.a. ^{18}F Fluorid wurde wie kürzlich von Ludwig et al. [73] beschrieben durchgeführt. Nach der Radiofluorierung wurde das Lösungsmittel Acetonitril unter vermindertem Druck und einem Argongasstrom aus dem Reaktionsgefäß entfernt und der Rückstand in 2 ml Essigsäure/Essigsäureanhydrid (v/v 3/2) aufgenommen. Dazu wurden 0,8 ml Wassertstoffperoxid/ konz. Schwefelsäure (v/v 2/1) gegeben und das Reaktionsgemisch bei 90 °C für 10 Minuten gerührt. Die Reaktion wurde gequencht, indem die Reaktionsmischung in eine Spritze überführt wurde, die mit 8 ml Wasser gefüllt war. Diese Lösung wurde auf eine mit Ethanol und Wasser konditionierte Sep-Pak[®] C18 plus-Kartusche (WATERS) aufgebracht, die mit weiteren 3 ml Wasser gewaschen und von der das Produkt mit 3 ml Diethylether eluiert wurde. Der Diethylether wurde unter vermindertem Druck und einem Argongasstrom entfernt, 1,5 ml 5 N NaOH und 0,2 ml Methanol hinzugegeben und diese Mischung für 10 min bei 90 °C gerührt. Die basische Reaktionsmischung wurde dann mit 0,7 ml konz. Salzsäure angesäuert.

Darstellung von n.c.a. 2-(4- ^{18}F Fluorphenoxy)-N,N-dimethylbenzamid (^{18}F -11b) und n.c.a. 2-(4- ^{18}F Fluorphenoxy)-N-methylbenzamid (^{18}F -11b)

^{18}F -10 wurde auf eine mit Ethanol und Wasser konditionierte Sep-Pak[®] C18 plus-Kartusche (WATERS) aufgebracht und mit 5 ml Wasser gewaschen. Die Kartusche wurde auf eine mit 0,5 g Na_2SO_4 gefüllte Glassäule (Merck LiChrolut[®] 65 x 10 mm), gesteckt. Anschließend wurde der radioaktive Markierungsvorläufer mit 2 ml Diethylether in ein Reaktionsgefäß eluiert, welches bereits 1,5 ml trockenes Toluol enthielt. Der Diethylether wurde vorsichtig unter einem Argongasstrom entfernt und eine typische Menge von 14 MBq (400 μCi) in ca. 0,5 ml Toluol wurde in ein verschlossenes Reaktionsvial überführt, welches bereits 4,5 mg (20 μmol) 2-Brom-N,N-dimethylbenzamid, 15 mg (40 μmol) Caesiumcarbonat und 20 mg $[\text{Cu}(\text{MeCN})_4]\text{PF}_6$ enthielt. Die Reaktionsmischung wurde für 25 Minuten bei 110 °C gerührt.

Die Toluollösung mit [^{18}F]-**10** und [^{18}F]-**11a** oder [^{18}F]-**11b** wurde auf eine mit LiChrolut[®] RP-18 (40 – 63 μm) gefüllte Glassäule (15 x 1,5 cm) gegeben, die Produkte mit Diethylether/n-Hexan (v/v 4/1) eluiert und die einzelnen Fraktionen per Radio-DC (Diethylether/n-Hexan (v/v 4/1), R_f (**10**) = 0,9; R_f (**11a**) = 0,55 bzw. R_f (**11b**) = 0,43) auf ihren Produktgehalt geprüft. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und trockenes [^{18}F]-**11a/b** erhalten.

*Darstellung von n.c.a. 2-(4-[^{18}F]Fluorphenoxy)-N-methylbenzylamin (**22a**) und n.c.a. 2-(4-[^{18}F]Fluorphenoxy)-N,N-dimethylbenzylamin ([^{18}F]-**22b**)*

[^{18}F]-**11a/b** wurde in 1 ml wasserfreiem THF gelöst und per Spritze in ein verschlossenes Reaktionsvial überführt. Die Lösung wurde bei 0 °C mit 0,5 ml 1 M $\text{BH}_3 \cdot \text{THF}$ in THF versetzt, dann für 5 Minuten gerührt und vorsichtig mit 0,5 ml 1 M Salzsäure versetzt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck bei 80 °C entfernt und der Rückstand in Methanol/Wasser (v/v 6/4) aufgenommen. Eine Radio-DC-Analyse von [^{18}F]-**22a/b** wurde mit Dichloromethan/Methanol (v/v 9/1) und 0,5 % Triethylamin an Kieselgel (R_f = 0,75 bzw. R_f = 0,83) durchgeführt. Das Produkt wurde per Radio-HPLC gereinigt: LiChrosorb[®] RP-18 Select B 5; 250 x 4 mm; CS-Chromatographie Service GmbH, Langerwehe, Deutschland, Methanol/Wasser (v/v 60/40) und 0,2 % CF_3COOH ; k' ([^{18}F]-**22a**) = 4,8; ([^{18}F]-**22b**) = 5,5; k' ([^{18}F]-**10**) = 15; k' ([^{18}F]-**11a**) = 28; k' ([^{18}F]-**11b**) = 34.

4.3.4. Radiosynthesen von n.c.a. [^{18}F]Fluordiarylthioethern

*Darstellung von n.c.a. 2-(2-Cyano-5-[^{18}F]fluorphenylthio)-N,N-dimethylbenzoesäureamid ([^{18}F]-**15**)*

Der Vorläufer 2-(2-Cyano-5-nitrophenylthio)-N,N-dimethylbenzoesäureamid (**12**) wurde wie in Abschnitt 4.3.2 beschrieben in DMF bei einer Reaktionstemperatur von 110 °C mit einer radiochemischen Ausbeute von 83 ± 3 % markiert. Das Reaktionsgemisch wurde in eine Spritze, die 8 ml Wasser enthielt, überführt und auf eine mit Ethanol und Wasser konditionierte Sep-Pak[®] C18 plus-Kartusche (WATERS) aufgebracht und mit 5 ml Wasser gewaschen. Die Kartusche wurde auf eine mit 0,9 g Kieselgel (Korngrösse 0,065 – 0,200 μm) gefüllte Glassäule (Merck LiChrolut[®] 65 x 10 mm), gesteckt und das Produkt mit

10 ml Essigsäureethylester/n-Hexan (v/v 3/2) in einen 50 ml Glaskolben eluiert. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt, der Rückstand in 2 ml trockenem Acetonitril aufgenommen und mit einer Spritze in ein Reaktionsgefäß (Reacivial 5 ml) gegeben. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck im Argonstrom entfernt. Eine Radio-DC-Analyse von [^{18}F]-**15** ($R_f = 0,42$) wurde mit Essigsäureethylester/n-Hexan (v/v 3/2); durchgeführt.

*Darstellung von n.c.a. 2-(2-Cyano-4-fluorphenylthio)-N,N-dimethylamin ([^{18}F]-**18a**) und n.c.a. 2-(5-[^{18}F]Fluor-2-methylaminophenylthio)-N,N-dimethylbenzylamin ([^{18}F]-**18b**)*

Das getrocknete [^{18}F]-**15** wurde mit 0,5 ml 1 M $\text{BH}_3 \cdot \text{THF}$ in THF versetzt und 5 Minuten bei 0 °C bzw. 15 Minuten 75 °C rühren gelassen. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck im Argonstrom entfernt, der Rückstand mit 0,2 ml 1 M HCl versetzt und 1 Minuten rühren gelassen. Das Reaktionsgemisch wurde mit einer Spritze, die 8 ml 0,33 M NaOH enthielt, aufgenommen und auf eine mit Ethanol und Wasser konditionierte Sep-Pak[®] C18 plus-Kartusche (WATERS) aufgebracht. Das Produkt wurde mit 4 ml Methanol eluiert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde in 200 μl Methanol/Wasser (v/v 60/40) aufgenommen und das Produkt per Radio-HPLC gereinigt: Kromasil RP-18; 5 μm ; 250 mm x 4,6 mm; CS-Chromatographie Service GmbH, Langerwehe, Deutschland, Methanol/Wasser (v/v 60/40) und 0,2 % Diethylamin; k' ([^{18}F]-**15**) = 11,5; k' ([^{18}F]-**18a**) = 60,1; k' ([^{18}F]-**18b**) = 29,7. Eine Radio-DC-Analyse von [^{18}F]-**18a** und [^{18}F]-**18b** wurde mit Methanol und 0,5 % Triethylamin an Kieselgel durchgeführt ($R_f = 0,60$ bzw. $R_f = 0,15$).

*Darstellung von n.c.a. 2-(5-[^{18}F]Fluor-2-nitrophenylthio)-N,N-dimethylbenzoesäureamid ([^{18}F]-**21**)*

Der Vorläufer 2-Nitro-5-chlorphenylthio-N,N-dimethylbenzoesäureamid (**20**) wurde wie in Abschnitt 4.3.2 beschrieben in DMF bei einer Reaktionstemperatur von 120 °C mit einer radiochemischen Ausbeute von $79 \pm 3\%$ markiert. Das Reaktionsgemisch wurde in eine Spritze, die 8 ml Wasser enthielt, überführt und auf eine mit Ethanol und Wasser konditionierte Sep-Pak[®] C18 plus-Kartusche (WATERS) aufgebracht und mit 5 ml Wasser gewaschen. Die Kartusche wurde auf eine mit 0,9 g Kieselgel (Korngröße: 0,065 – 0,200 μm) gefüllte Glassäule (Merck LiChrolut[®] 65 x 10 mm) gesteckt und das Produkt mit 10 ml Essigsäureethylester/n-Hexan (v/v 2/1) in einen 50 ml Glaskolben eluiert. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt, der Rückstand in 2 ml trockenem

Acetonitril aufgenommen und mit einer Spritze in ein Reaktionsgefäß (Reacivial 5 ml) gegeben. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck im Argonstrom entfernt. Eine Radio-DC-Analyse von [^{18}F]-**21** wurde mit Essigsäureethylester/n-Hexan (v/v 2/1); ($R_f = 0,65$) durchgeführt.

*Darstellung von n.c.a. 2-(2-Amino-5- ^{18}F fluorphenylthio)-N,N-dimethylbenzylamin ([^{18}F]-**23**)*
Getrocknetes [^{18}F]-**21** wurde mit 0,5 ml 1 M $\text{BH}_3 \cdot \text{THF}$ in THF versetzt und 15 Minuten 75 °C rühren gelassen. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck im Argonstrom entfernt, der Rückstand mit 0,2 ml 1 M HCl versetzt und 1 Minuten rühren lassen. Das Reaktionsgemisch wurde mit einer Spritze, die 8 ml 0,33 M NaOH enthielt aufgenommen und auf eine mit Ethanol und Wasser konditionierte Sep-Pak[®] C18 plus-Kartusche (WATERS) aufgebracht. Das Produkt wurde mit 3 ml Methanol eluiert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde in 200 μl Methanol/Wasser (v/v 65/35) aufgenommen und das Produkt per Radio-HPLC gereinigt (Kromasil RP-18; 5 μ ; 250 mm x 4,6 mm; CS-Chromatographie Service GmbH, Langerwehe, Deutschland), Methanol/Wasser (v/v 65/35) und 0,2 % Diethylamin; k' ([^{18}F]-**21**) = 11,8; k' ([^{18}F]-**23**) = 25,5. Eine Radio-DC-Analyse von [^{18}F]-**23** wurde mit Dichlormethan/n-Hexan (v/v 4/1) und 0,5 % Triethylamin ($R_f = 0,44$) durchgeführt

4.4. Radioanalytik

Zur Identifizierung und Reinigung der Markierungsprodukte und zur Bestimmung der radiochemischen Ausbeuten wurden sowohl die Radio-Dünnschichtchromatographie als auch die Radio-Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (Radio-HPLC) verwendet.

4.4.1. Radiodünnschichtchromatographie

Die Radio-Dünnschichtchromatographie wurde zur Bestimmung der radiochemischen Ausbeuten der ^{18}F -Markierung der angegebenen Verbindungen verwendet, und um sicherzustellen, dass keine weitere radioaktive Verbindung als bei der Radio-HPLC

gefunden, auftrat. Zur dünnschichtchromatographischen Analyse wurden ca. 1,5 µl der jeweiligen Reaktionslösung auf die mit Kieselgel beschichteten Folien (Macherey & Nagel Polygram SIL G/UV₂₅₄ 40x80 mm) aufgetragen und mit den entsprechenden Lösungsmittelgemischen entwickelt. N.c.a. [¹⁸F]Fluorid verbleibt unter diesen Bedingungen am Startfleck. Die Dünnschichtchromatogramme wurden anschließend mit einem computergestützten Autoradiographiesystem (Packard Instruments Company, Model Instant Imager™) ausgewertet. Die oben angegebenen Bedingungen für die einzelnen radiofluorierten Produkte sind in Tabelle 8 nochmals zur Übersicht zusammengefasst.

Tabelle 8: Radio-DC-Daten der untersuchten Verbindungen

Verbindung	Laufmittel		R _f
[¹⁸ F]-22a	Dichloromethan/Methanol (v/v 9/1)	+ 0,5 % Triethylamin	0,75
[¹⁸ F]-22b	Dichloromethan/Methanol (v/v 9/1)	+ 0,5 % Triethylamin	0,83
[¹⁸ F]-18a	Methanol	+ 0,5 % Triethylamin	0,57
[¹⁸ F]-18b	Methanol	+ 0,5 % Triethylamin	0,15
[¹⁸ F]-23	Dichloromethan/n-Hexan (v/v 4/1)	+ 0,5 % Triethylamin	0,44

4.4.2. Radio-Hochleistungsflüssigkeitschromatographie

Analytische Radio-HPLC wurde zur Bestimmung der radiochemischen Ausbeuten und spezifischen Aktivitäten der ¹⁸F-Markierungsprodukte verwendet. Das HPLC-System bestand aus einer Pumpe (Knauer, Typ 6400), einem UV/VIS-Detektor mit variabler Wellenlänge (Knauer, Typ 97) und einem NaI(Tl)-Bohrlochkristalldetektor mit Photomultiplier (Ø 8 cm, Modell 276 Photomultiplier Base) und dazugehörigem Verstärker (EG & G Ortec, Model 925 Scint Amplifier and Bias Supply). Photometer und Radioaktivitätsdetektor wurden über einen Analog/Digital-Wandler mit einem Computer verbunden, so dass die Datenverarbeitung rechnergestützt möglich war. Die Probenaufgabe erfolgte über ein Injektionsventil (Rheodyne, Typ 7125) mit einer 100 µl oder 500 µl Probenschleife.

Die analytischen HPLC-Trennungen erfolgten unter isokratischen Bedingungen an RP-Trennsäulen des Typs LiChrosorb® RP-18 Select B 5 (250 x 4 mm; CS-Chromatographie Service GmbH, Langerwehe, Deutschland) und Kromasil RP-18 (5µ; 250 mm x 4,6 mm; CS-Chromatographie Service GmbH, Langerwehe, Deutschland). Der Eluentenfluss betrug 2 ml/min. In Tabelle 9 sind die oben angegebenen jeweiligen Chromatographiebedingungen und k'-Werte der Referenzverbindungen zur co-chromatographischen Identifizierung der Markierungsprodukte nochmals zusammenfassend aufgelistet.

Tabelle 9: Radio-HPLC-Daten der untersuchten Verbindungen

Verbindung	Eluens	k'	Säule
[¹⁸ F]-22a	Methanol/Wasser (v/v 60/40) + 0,2 % CF ₃ COOH	4,8	1
[¹⁸ F]-22b	Methanol/Wasser (v/v 60/40) + 0,2 % CF ₃ COOH	5,5	1
[¹⁸ F]-18a	Methanol/Wasser (v/v 70/30) + 0,2 % Diethylamin	21,3	2
[¹⁸ F]-18b	Methanol/Wasser (v/v 60/40) + 0,2 % Diethylamin	29,7	2
[¹⁸ F]-23	Methanol/Wasser (v/v 65/35) + 0,2 % Diethylamin	25,5	2

1: LiChrosorb® RP-18 Select B 5, 250 x 4 mm; 2: Kromasil RP-18, 5µ, 250 mm x 4,6 mm

4.4.3. Bestimmung der spezifischen Aktivität

Die Bestimmung der spezifischen Aktivität der ¹⁸F-markierten Radioliganden mittels HPLC erfolgte beispielhaft für [¹⁸F]-18a/b und [¹⁸F]-23. Die verwendete Menge an unmarkierter Verbindung ist zum Flächenintegral des UV-Signals der HPLC proportional. Die bestimmte Peak-Fläche des UV-Signals wurde z.B. gegen die Konzentration von **18a** aufgetragen und die angepasste Gerade wurde zur Kalibrierung genutzt (vgl. Abbildung 46).

Für die spezifischen Aktivitäten der ¹⁸F-markierten Verbindungen ergibt sich nach Markierung der entsprechenden Vorläufer mit Anfangsaktivitäten zwischen 230 und 270 MBq n.c.a. [¹⁸F]Fluorid und anschließender Reduktion aus dem korrespondierenden UV-Signal der Aktivexperimente und den Eichwerten der Abbildungen 46 - 48 ein Durchschnittswert von 12 ± 4 TBq/mmol.

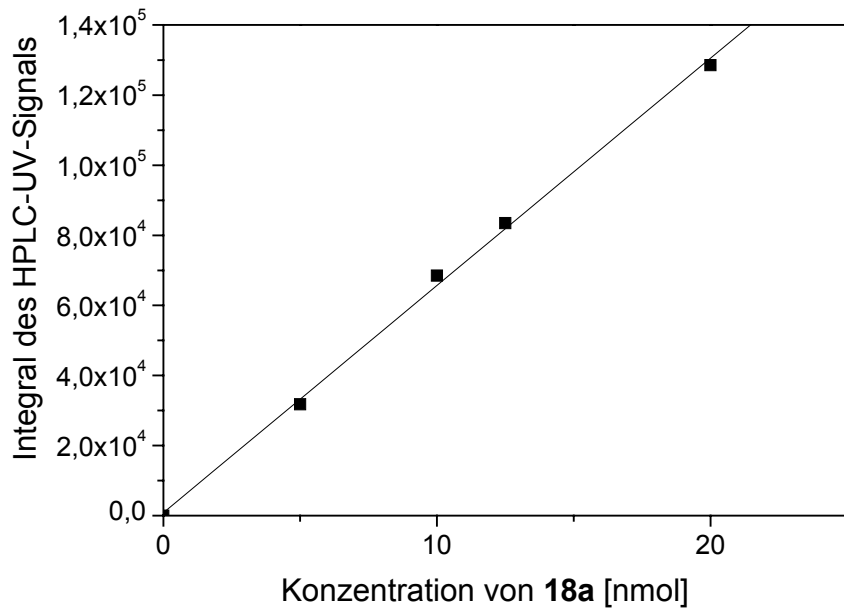


Abbildung 46: Abhängigkeit des Integrals des HPLC-UV-Signals von der Stoffmenge von $[^{18}\text{F}]\text{-18a}$

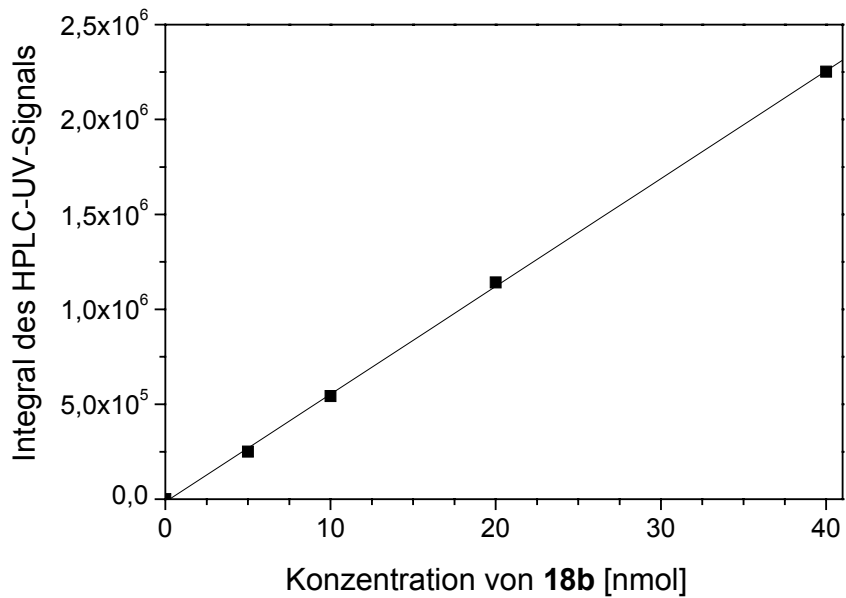


Abbildung 47: Abhängigkeit des Integrals des HPLC-UV-Signals von der Stoffmenge von $[^{18}\text{F}]\text{-18b}$

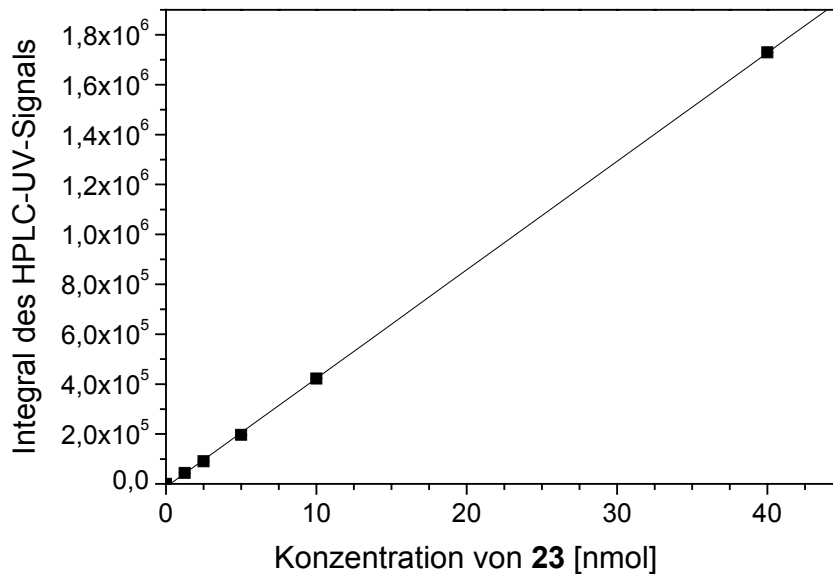


Abbildung 48: Abhängigkeit des Integrals des HPLC-UV-Signals von der Stoffmenge von [¹⁸F]-23

4.5. Membranbindungs- und Autoradiographiestudien

Die Membranbindungs- und Autoradiographiestudien [160] wurden von der Radiopharmakologiegruppe des Instituts für Nuklearchemie der Forschungszentrum Jülich GmbH durchgeführt und werden hier der Vollständigkeit halber aufgeführt.

Membranbindungsstudien (*in vitro*)

Männliche Wistar-Ratten (Charles River Deutschland GmbH) wurden mit CO₂ getötet und die Hirne herauspräpariert. Cerebraler Cortex und Striatum wurde in 0,33 M Sucrose homogenisiert (Polytron, Kinematika, Schweiz) und bei 4 °C für 10 Minuten bei 1000 g zentrifugiert. Der Überstand wurde danach für 40 Minuten bei 10000 g zentrifugiert und das zweite Pellet (P₂-Fraktion) in Puffer (50 mM Tris-HCl, 120 mM NaCl, 5 mM KCl, pH 7,4) aufgenommen. Zur Proteinbestimmung wurde ein kommerziell erhältlicher Kit (Bio-Rad) genutzt, der nach der Methode von Lowry funktioniert. Die Proben der Bindungsassays enthielten Proteinkonzentrationen von etwa 0,25 mg/ml.

Zur Bestimmung der K_i -Werte der neu synthetisierten Verbindungen wurden cortikale und striatale Membranfraktionen mit konstanter Radioligandkonzentration ($1,7 \pm 0,2$ nM [^{131}I] β -CIT, 370 – 740 GBq/mmol; $3,0 \pm 0,8$ nM [^3H]Nisoxetine, 314,5 GBq/mmol) und steigenden Konzentrationen an **18a**, **18b**, **22a** und **22b** inkubiert (zum Vergleich der gefundenen Bindungsdaten siehe Tabelle 7); mit [^{131}I] β -CIT bei 23 °C für 1 Stunde, mit [^3H]Nisoxetine bei 4 °C für 2 Stunden. Die Inkubation wurde durch Filtrieren (GF/C Whatman Filter) über einen Zellsammler (Brandel, USA) beendet und die Filterproben anschließend 4 mal mit 2 ml Puffer (4 °C) gewaschen. Nach Zugabe von 10 ml Szintillationsflüssigkeit (Ready Safe®, Beckman) wurden die Filter mehr als 12 Stunden später in einem Liquid-Szintillationszähler (Beckman) gemessen. Die Auswertung der Bindungsdaten erfolgte mit Hilfe der Software GraphPad Prism (Version 3.00).

In vitro Autoradiographie mit [^{18}F]-**18b**

Für autoradiographische Versuche wurden 20 μm dicke coronale Gefrierschnitte von Rattenhirnen, präpariert mit einem Cryostat bei -20 °C (Leica AG, Deutschland), auf gelatineüberzogene Objektträger aufgezogen und bei -80 °C gelagert. Vor dem Assay wurden die Schnitte aufgetaut und mit kaltem Gebläse getrocknet. Nach 10 Minuten Vorinkubation in Puffer (50 mM Tris-HCl, 120 mM NaCl, 5 mM KCl, pH 7,4) bei 23 °C wurden die Schnitte 60 Minuten bei 23 °C im selben Puffer, der [^{18}F]MFD im nanomolaren Bereich (12 TBq/mmol) enthielt, inkubiert. Zur Bestimmung der unspezifischen Bindung wurden parallel Schnitte mit zusätzlich 10 μM ADAM und 10 μM **18b** inkubiert. Nach 2 mal 10 Minuten Waschen in Puffer bei 4 °C und anschließendem Trocknen mit kaltem Gebläse wurden die Schnitte einem Phosphor-Imager-Film (Fuji) für 20 Minuten ausgesetzt. Nach dem Scannen mit einem Phosphor-Imager (BAS 5000, Fuji) unter Nutzung der entsprechenden Software, wurde das erhaltene Autoradiogramm mit einem erweiterten Auswerteprogramm (AIDA, Raytest Isotopenmeßgeräte, Deutschland) bearbeitet.

Organverteilung und *ex vivo* Autoradiographie mit [^{18}F]-**18b**

Weiblichen NMRI-Mäusen (~26 g) wurden 11,1 kBq [^{18}F]-**18b** (12 TBq/mmol) in physiologischer Kochsalzlösung in die Schwanzvene injiziert. Jeweils 3 Tiere wurden nach 5 Minuten und 30 Minuten getötet und die in Hirn, Herz, Lunge, Leber, Niere, Milz, Darm, Pankreas, Knochen und Blut aufgenommene Radioaktivität in einem Gamma-Counter gemessen. Die Gewebeaufnahme der Radioaktivität wurde in Prozent der injizierten Dosis

pro Gramm Gewebe ausgedrückt (% ID/g). Die Hirne wurden nach der Radioaktivitätsmessung (γ -Counter) gefroren und in 25 μm dicke coronale Schnitte für die *ex vivo* Autoradiographie präpariert, die wie oben für die *in vitro* Bedingung beschrieben ausgeführt wurden. (Organverteilung: siehe Abschnitt 3.5).

5. Zusammenfassung

Die bisher in der Literatur beschriebenen selektiven Inhibitoren des Serotonin Transportes (SSRI) aus der Stoffklasse der Diphenyl(thio)ether weisen langsamere Pharmakokinetiken auf, als dass sie optimal mit bisher ^{11}C -markierten Verbindungen dieser Stoffklasse mittels der Positronen-Emissions-Tomographie (PET) quantifiziert werden könnten. Die kurze Halbwertszeit ($t_{1/2} = 20,4$ min) dieses Nuklids limitiert seine Anwendung auf diesem Gebiet, sodass steigendes Interesse an einer geeigneten ^{18}F -markierten Verbindung dieser Stoffklasse besteht. Die pharmakologische Wirksamkeit dieser Verbindungen als SSRI's ist erst seit relativ kurzer Zeit bekannt und so differieren die bekannten pharmakologisch evaluierten Substanzen in ihrem chemischen Aufbau nur sehr wenig.

In dieser Arbeit wurden vier neue, verschieden substituierte Verbindungen der Stoffklasse der Diphenyl(thio)ether mit dem Grundgerüst eines sekundären oder tertiären 2-Phenyl(thio/oxy)benzylamins dargestellt. Die in der Literatur beschriebenen Verbindungen dieser Stoffklasse, weisen alle einen unsubstituierten Benzylaminring auf, weshalb auf eine Variation des Substitutionsmusters dieses Ringes verzichtet wurde. 2-(4-Fluorphenoxy)-N-methylbenzylamin und 2-(4-Fluorphenoxy)-N,N-dimethylbenzylamin stellen, bis auf das aromatisch gebundene Fluor, unsubstituierte Diphenylether dar und wurden dazu genutzt, die Notwendigkeit einer potenziell pharmakophoren Gruppe am zweiten aromatischen Ring zu überprüfen. Die Zielverbindungen 2-(2-Cyano-5-fluorphenylthio)-N,N-dimethylbenzylamin und 2-(5-Fluor-2-methylaminophenylthio)-N,N-dimethylbenzylamin wurden in Anlehnung an die in der Literatur beschriebenen SSRI's IDAM und ODAM (Strukturen siehe Tabelle 6) ausgewählt, wobei in *ortho*-Stellung zur Diphenylbrücke eine Benzylalkoholfunktion durch eine Cyanofunktion bzw. eine primäre Benzylaminfunktion ersetzt wurde. Die präparativen Synthesen dieser Zielverbindungen, der Standardverbindungen für einen radiochromatographischen Nachweis von Markierungsprodukten und der Vorläufer für ^{18}F -Markierungen, sowie die Ergebnisse der entsprechenden n.c.a. ^{18}F -Markierungsstudien sind im Folgenden kurz zusammengefasst.

Neben einer kürzlich beschriebenen n.c.a. 4- ^{18}F Fluorphenol-Alkyl-Kopplung, ist eine n.c.a. 4- ^{18}F Fluorphenol-Aryl-Kopplung für eine Erweiterung der präparativen Möglichkeiten zur Darstellung von n.c.a. ^{18}F Fluorphenoxyphenylethern auch grundsätzlich von Interesse. Die Reaktionsbedingungen der n.c.a. 4- ^{18}F Fluorphenol-Alkyl-Kopplung konnten nicht auf eine

Aryl-Kopplung übertragen werden. Daher wurde eine Reihe von Diarylethersynthesen mit nicht radioaktiv markiertem 4-Fluorphenol durchgeführt, um ihre mögliche Übertragbarkeit auf eine n.c.a. ^{18}F -Markierungsmethode mit dem Markierungssyntheton n.c.a. 4- ^{18}F Fluorphenol zu prüfen. Dies bedingt neben möglichst kurzen Reaktionszeiten auch hohe Reaktionsausbeuten der nicht radiochemischen Diarylethersynthesen. Neuere Entwicklungen auf diesem Gebiet der organischen Chemie basieren auf der klassischen Ullmann'schen Diarylethersynthese, die bei hohen Temperaturen abläuft und meist Kupfer-Katalysatoren in stöchiometrischen Mengen benötigt. Weiterentwickelte Katalysatoren beeinflussen die Reaktionsgeschwindigkeit und die Reaktionsausbeute und sind oftmals auf spezielle Ausgangssubstanzen beschränkt. In dieser Arbeit wurde von mehreren getesteten Katalysatoren der Komplex Tetrakisacetonitrilkupfer(I)-hexafluorophosphat als bester zur spezifischen Diaryletherkopplung von *ortho*-Halobenzoessäureamiden mit Phenolen identifiziert und erfolgreich zur Synthese 2-(4-Fluorphenoxy)-N-methylbenzoessäureamid und 2-(4-Fluorphenoxy)-N,N-dimethylbenzoessäureamid sowie auch für die n.c.a. Synthese der entsprechenden Verbindungen mit n.c.a. 4- ^{18}F Fluorphenol eingesetzt.

Um den erfolgreichen Einsatz des Kupferkatalysators in der n.c.a. Radiomarkierungssynthese zu gewährleisten, wurde die n.c.a. 4- ^{18}F Fluorphenolsynthese so abgewandelt, dass nach kurzer Präparationsdauer möglichst trockenes n.c.a. 4- ^{18}F Fluorphenol vorlag. Nach Optimierung der Reaktionsparameter dieser Radiosynthese und der n.c.a. Diaryletherkopplung konnten nach 85 Minuten durchschnittlich radiochemische Ausbeuten (RCA) von $32 \pm 14 \%$ (max. 63 %) gewonnen werden. Nach Reduktion mit 1 M Boran-Tetrahydrofuran-Komplex ($\text{BH}_3 \cdot \text{THF}$) in THF wurden aus den entsprechenden markierten Benzamiden n.c.a. 2-(4- ^{18}F Fluorphenoxy)-N-methylbenzylamin und n.c.a. 2-(4- ^{18}F Fluorphenoxy)-N,N-dimethylbenzylamin mit einer RCA von $20 \pm 5 \%$ erhalten. Neben der gelungenen Darstellung der Zielverbindungen konnte so auch die prinzipielle Möglichkeit der n.c.a. 4- ^{18}F Fluorphenol-Aryl-Kopplung gezeigt werden.

Die Synthese der Diarylthioether wurde auf nicht Kupfer-katalysierter Basis optimiert, da im Fall der weiteren angestrebten Zielmoleküle eine starke Aktivierung durch elektronenziehende Substituenten ausgenutzt werden und somit auf möglicherweise empfindliche Katalysatoren verzichtet werden konnte. Diese Kopplungen wurden in einem Zweiphasensystem mit einer wässrigen und einer organischen Phase durchgeführt, wobei der Phasentransferkatalysator Tetrabutylammoniumbromid eine chemische Reaktion der Moleküle in beiden Phasen ermöglichte. Die Reaktionsbedingungen wurden speziell für die Diarylethersynthese des 2-(2-Cyano-5-nitrophenylthio)-N,N-dimethylbenzoessäureamids

optimiert, womit 2-(5-Chlor-2-nitrophenylthio)-N,N-dimethylbenzoesäureamid ebenfalls als Vorläufer für ^{18}F -Markierungen und 2-(2-Cyano-5-fluorphenylthio)-N,N-dimethylbenzoesäureamid, 2-(5-Fluor-2-nitrophenylthio)-N,N-dimethylbenzoesäureamid und 2-(2-Cyano-5-fluorphenylthio)-N,N-dimethylbenzylamin als Standards für die Radiochromatographie der entsprechenden ^{18}F -Verbindungen dargestellt wurden. Durch Reduktion von 2-(2-Cyano-5-fluorphenylthio)-N,N-dimethylbenzoesäureamid mit 1M Boran-Tetrahydrofuran-Komplex ($\text{BH}_3 \cdot \text{THF}$) in THF wurde 2-(5-Fluor-2-methylaminophenylthio)-N,N-dimethylbenzylamin erhalten.

Die Optimierung der Reaktionsparameter des ^{18}F -für-Nitro bzw. ^{18}F -für-Chlor Austausches in den Markierungsvorläufern 2-(2-Cyano-5-nitrophenylthio)-N,N-dimethylbenzoesäureamid und 2-(5-Chlor-2-nitrophenylthio)-N,N-dimethylbenzoesäureamid führte zu n.c.a. 2-(2-Cyano-5- ^{18}F fluorphenylthio)-N,N-dimethylbenzoesäureamid bzw. n.c.a. 2-(5- ^{18}F Fluor-2-nitrophenylthio)-N,N-dimethylbenzoesäureamid. Dies gelang optimal unter Verwendung des Kryptand/Basen Systems $[\text{K}2.2.2.]_2\text{CO}_3$ in N,N-Dimethylformamid bei 110 °C bzw. 120 °C innerhalb von 2 bzw. 4 Minuten mit radiochemischen Ausbeuten von $83 \pm 3 \%$ bzw. $75 \pm 4 \%$. Eine möglichst minimale Vorläuferkonzentration zur Erleichterung der Radio-HPLC-Reinigung konnte mit 3 mM bzw. 5,5 mM bestimmt werden. Die Produkte wurden mittels Festphasenfixierung an LiChrolut[®] und einer chromatographischen Trennung an Kieselgel gereinigt. N.c.a. 2-(2-Cyano-5- ^{18}F fluorphenylthio)-N,N-dimethylbenzoesäureamid wurde 5 Minuten bei 0 °C mit 1 M $\text{BH}_3 \cdot \text{THF}$ in THF behandelt und das Produkt n.c.a. 2-(2-Cyano-5- ^{18}F fluorphenylthio)-N,N-dimethylbenzylamin gewonnen. Mit der gleichen Umsetzung bei einer Reaktionstemperatur von 75 °C konnte nach einer Gesamtsynthesedauer inklusive Radio-HPLC-Reinigung nach 110 Minuten das Produkt n.c.a. 2-(5- ^{18}F Fluor-2-methylaminphenylthio)-N,N-dimethylbenzylamin mit radiochemischen Ausbeuten von $34 \pm 3 \%$ dargestellt werden.

2-(2-Amino-5-fluorphenylthio)-N,N-dimethylbenzylamin (5-F-ADAM) wurde als weiteres Zielmolekül ausgewählt, da es kürzlich als sehr vielversprechender selektiver Inhibitor des Serotonin Transporters in der Literatur beschrieben wurde. Wie viele Verbindungen dieser Stoffklasse zeigte 5-F-ADAM geeignete pharmakologische Eigenschaften im Hinblick auf eine Verwendung zur bildlichen Darstellung des Serotonin Transporters mit PET. In dieser Arbeit wurde eine Optimierung der n.c.a. Radiosynthese von 5- ^{18}F F-ADAM durchgeführt, um weitere radiopharmakologische Untersuchungen und gegebenenfalls PET-Anwendungen

zu ermöglichen. Die radiochemischen Ausbeuten betragen nach 85 Minuten Synthesedauer inklusive Radio-HPLC-Reinigung $60 \pm 7 \%$.

Die gemessenen spezifischen Aktivitäten von durchschnittlich 12 ± 4 TBq/mmol bei einer eingesetzten Anfangsaktivität von 230 – 270 MBq liegen ca. um ein vierfaches zu niedrig für *in vivo* Rezeptorbindungsstudien. Es bleibt zu prüfen, ob eine Erhöhung der Anfangsaktivität mit einer annähernd proportionalen Zunahme der spezifischen Aktivität einhergeht. Wenn der Träger an inaktivem Fluor nicht aus der Nuklidproduktion herrührt, würde eine Anfangsaktivität von 3 GBq eine ausreichende spezifische Aktivität für angestrebte *in vivo* PET-Anwendungen liefern.

Die Bindungseigenschaften der neu synthetisierten Zielverbindungen wurden über *in vitro* Kompetitionsstudien an kortikalen und striatalen Membranfraktionen von Ratten gegen eine konstante Konzentration von [131 I]β-CIT und [3 H]Nisoxetin als Radioliganden des SERT-, DAT- und NET-Systems durchgeführt. Für die Verbindungen 2-(4-Fluorphenoxy)-N-methylbenzylamin und 2-(4-Fluorphenoxy)-N,N-dimethylbenzylamin wurden K_i Werte von 379 ± 49 nM bzw. 32 ± 8 nM bestimmt. Obwohl die Verbindung 2-(4-Fluorphenoxy)-N-methylbenzylamin eine relativ gute Selektivität zu SERT im Verhältnis zu DAT und NET aufweist, wurde aufgrund der nur mäßigen SERT-Affinität von einer weiteren Bearbeitung von sekundären Phenyl(thio/oxy)benzylaminen abgesehen. Gleiche Bindungsstudien mit 2-(2-Cyano-5-fluorphenylthio)-N,N-dimethylbenzylamin und 2-(5-Fluor-2-methylaminphenylthio)-N,N-dimethylbenzylamin ergaben K_i Werte von 25 ± 7 nM bzw. 131 ± 21 nM. Damit empfehlen sich die neu synthetisierten Verbindungen wegen zu geringer Affinität zum Serotonin Transporter nicht für eine *in vivo* Anwendung als Radioliganden. Mit der Radiosynthese des hochaffinen SSRI's 5-[18 F]F-ADAM ($K_{i(\text{SERT})} = 0,47$ nM) steht nach der optimierten Markierung jedoch ein Radioligand zur Verfügung, dessen weiterführende (prä)klinische Evaluierung für PET-Studien sehr aussichtsreich erscheint.

6. Literatur

- [1] de Hevesy G; The absorption and translocation of lead by plants; *Biochem. J.* **17** (1923), 439.
- [2] Chiewitz O, de Hevesy G; Radioactive indicators in the study of phosphorus metabolism in rats; *Nature* **136** (1935), 754.
- [3] Schütte H; Medizinische Isotope in der organischen Chemie und Biochemie, Verlag Chemie Weinheim , **1996**.
- [4] Cooper TG; *The Tools of Biochemistry*, John Wiley & Sons, New York, **1986**.
- [5] Stöcklin G, Qaim SM, Rösch F; The impact of radioactivity on medicine; *Radiochim. Acta* (1995) **70/71**, 249 – 272.
- [6] Lieser KH; Einführung in die Kernchemie; Verlag Chemie, Weinheim **1980**.
- [7] Ache HJ; Chemie des Positrons und Positroniums. *Angew. Chemie* (1972) **84**, 234 – 255.
- [8] Paans AMJ, van Waarde A, Elsinga PH, Willemsen ATM, Vaalburg W; Positron emission tomography: the conceptual idea using a multidisciplinary approach; *Methods* (2002) **27**, 195 – 207.
- [9] Weber S, Bauer A, Herzog A, Kehren F, MühlensiepenH, Vogelbruch J, Coenen HH, Zilles K, Halling H; Recent results of the TierPET scanner; *IEE Transactions on Nuclear Sciences* (2000) **47**, 1665.
- [10] Wienhard K, Wagner R, Heiss WD; PET-Grundlagen und Anwendungen der Positronen-Emissions-Tomography. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg **1989**.
- [11] Phelps ME, Mazziotta J, Schelbert H; Positron emission tomography and autoradiography; Raven Press, New York **1986**.
- [12] McCarthy TJ, Schwarz SW, Welch MJ; Nuclear medicine and positron emission tomography: An overview; *J. Chem. Educ.* (1994) **71**, 830 – 836.
- [13] Ter-Pogossian MM, Raichle ME, Sobel BE; Tomographie mit radioaktiv markierten Substanzen; *Spekt. der Wissenschaften* (1980) **12**, 120 – 133.
- [14] Qaim SM; Nuclear data relevant to cyclotron produced short-lived medical radioisotopes; *Radiochimica Acta* (1982) **30**, 147 – 162.
- [15] Qaim SM, Clark JC, Crouzel C, Guillaume M, Helmeke HJ, Nebeling B, Pike VW, Stöcklin G; PET radionuclide production. in: Radiopharmaceuticals for positron

- emission tomography. Stöcklin G, Pike VW; (eds.) Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Boston, London **1993**.
- [16] Anderson CJ, Welch MJ; Radiometal-labelled agents (non-technetium) for diagnostic imaging; *Chem. Rev.* (1999) **99**, 2219 – 2234.
- [17] Firestone RB; Table of Isotopes CD-ROM, Eighth Edition, Wiley-Interscience, **1996**.
- [18] Knapp FF, Mirzadeh S; The continuing important role of radionuclide generator systems for nuclear medicine; *Eur. J. Nucl. Med.* (1994) **21**, 1151 – 1165.
- [19] Coenen HH; Radiopharmazeutische Chemie: Grundlagen zur in-vivo Untersuchung molekularer Vorgänge mit PET. in: *Der Nuklearmediziner* (1994) **17**, 203.
- [20] Pagani M, Stone-Elander S, Larsson SA; 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.* (1997) **24**, 1301 – 1327.
- [21] Qaim SM, Stöcklin G; Production of some medically important short-lived neutron deficient radioisotopes of halogens; *Radiochim. Acta* (1983) **34**, 25 – 40.
- [22] Guillaume M, Luxen A, Nebeling B, Argentini M, Clark JC, Pike VW; Recommendations for fluorine-18 production; *Appl. Radiat. Isot.* (1991) **42**, 749 – 762.
- [23] Hess E, Blessing G, Coenen HH, Qaim SM; Improved target system for production of high purity [^{18}F]fluorine via the $^{18}\text{O}(p,n)^{18}\text{F}$ reaction; *Appl. Radiat. Isot.* (2000) **52**, 1431 – 1440.
- [24] Ruth TJ, Wolf AP; Absolute cross section for the production of ^{18}F via the $^{18}\text{O}(p,n)^{18}\text{F}$ reaction; *Radiochim. Acta* (1979) **26**, 21 – 24.
- [25] Casella V, Ido T, Wolf AP, Fowler JS, MacGregor RR, Ruth TJ; Anhydrous ^{18}F labeled elemental fluorine for pharmaceutical preparation; *J. Nucl. Med.* (1980) **21**, 750 – 757.
- [26] Bergmann J, Solin O; Fluorine-18-labeled fluorine gas for synthesis of tarcer molecules; *Nucl. Med. Biolo.* (1997) **24**, 677 – 683.
- [27] Plenevaux A, Guillaume M, Brihaye C, Lemaire C, Cantineau R; Chemical processing for production of no-carrier-added selenium-73 from germanium and arsenic targets and synthesis of L-2-amino-4-([^{73}Se]methylseleno)butyric acid (L-[^{73}Se]selenomethionine; *Appl. Radiat. Isot.* (1990) **41**, 829 – 838.
- [28] Coenen HH, Kling P, Stöcklin G; Cerebral metabolism of L-[2- ^{18}F]Fluortyrosine, a new PET Tracer of protein synthesis; *J. Nucl. Med.* (1989) **30**, 1367 – 1372.

- [29] Gallagher BM, Fowler JS, Gutterson NI, McGregor RR, Wan CN, Wolf AP; Metabolic Trapping as a Principle of Radiopharmaceutical Design: Some Factors Responsible for the Biodistribution of ^{18}F]2-Deoxy-2-Fluoro-D-Glucose; *J. Nucl. Med.* (1978) **19**, 1154 – 1161.
- [30] Reivich M, Kuhl D, Wolf A, Greenberg J, Phelps M, Ido T, Casella V, Fowler J, Hoffman E, Alavi A, Som P, Sokoloff L; The ^{18}F]fluorodeoxy-glucose method for the measurement of local cerebral glucose utilization in man; *Circ. Res.* (1979) **44**, 127 – 137.
- [31] Mutschler E, Schäfer-Korting M; Arzneimittelwirkungen, 7te Auflage; Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart **1997**.
- [32] Halldin, C.; Gulyás, B.; Langer, O.; Farde, L. Brain radioligands – State of the art and new trends. *Quat. J. Nucl. Med.* **2001**, 45, 139-152.
- [33] Cheng Y, Prusoff WH; Relationship between the inhibition constant (K_i) and the concentration of inhibitor which causes 50 per cent inhibition (I_{50}) of enzymatic reactions; *Biochem. Pharmacol.* (1973) **22**, 3099 – 3108.
- [34] Pike, V.W. Positron-emitting radioligands for studies in vivo – probes for human psychopharmacology. *J. Psychopharmacol.* **1993**, 7, 139-158
- [35] Moerlein SM, Laufer P, Stöcklin G; Effect of lipophilicity on the in vivo localization of radiolabelled spiperone analogues; *Int. J. Nucl. Med. Biol.* (1985) **12**, 353 – 356.
- [36] Visser GWM, Bakker CNM, Herscheid JDM, Brinkman G, Hoekstra A; The Chemical properties of ^{18}F]acetylhypofluorite in acetic acid solution; *J. Label. Compds. Radiopharm.* (1984) **21**, 1226 (Symposium Abstract).
- [37] Chirakal R, Firnau G, Schrobilgen GJ, McKay J, Garnett ES; The synthesis of ^{18}F]xenon difluoride from ^{18}F]fluorine gas; *Appl. Radiat. Isot.* (1984) **35**, 401.
- [38] Constantinou M, Aigbirhio FI, Smith RG, Ramsden CA, Pike VW ; Xenon difluoride exchanges fluoride under mild conditions: A simple preparation of ^{18}F]xenon difluoride for PET and mechanistic studies; *J. Am. Chem. Soc.* (2001) **123**, 1780 – 1781.
- [39] Coenen HH, Moerlein SM; Regiospecific aromatic fluorodemetalation of group IVb metalloarenes using elemental fluorine or acetyl hypofluorite; *J. Fluorine Chem.* (1987) **36**, 63 – 75.

- [40] Adam MJ, Abeysekaera BF, Ruth TJ, Jivan S, Pate BD; Fluorination of aromatic compounds by cleavage of aryl-tin bond with (F-18) F_2 and CH_3COOF ; *J. Label. Compds. Radiopharm.* (1984) **21**, 1227 (Symposium Abstract).
- [41] Coenen HH, Franken K, Kling P, Stöcklin G; Direct electrophilic radiofluorination of phenylalanine, tyrosine and dopa; *Appl. Radiat. Isot.* (1988) **39**, 1243 – 1250.
- [42] Namavari M, Bishop A, Satyamurthy N, Bisa G, Barrio JR; Regioselective radiofluorodestannylation with $[^{18}F]F_2$ and $[^{18}F]CH_3COOF$: a high yield synthesis of 6- $[^{18}F]$ fluoro-L-dopa; *Appl. Rad. Isot.* (1992) **43**, 989 – 996.
- [43] de Vries EFJ, Luurtsema G, Brüssermann M, Elsinga PH, Vaalburg W; Fully automated synthesis module for the high yield one-pot preparation of 6- $[^{18}F]$ fluoro-L-DOPA; *Appl. Rad. Isot.* (1999) **51**, 389 – 394.
- [44] Lemaire C, Damhaut P, Pleneveaux A, Comar D; Enantioselective synthesis of 6- $[^{18}F]$ fluoro-L-dopa from no-carrier-added fluorine-18-fluoride; *J. Nucl. Med.* (1994) **35**, 1996 – 2002.
- [45] Coenen HH, Klätte B, Knöchel A, Schüller M, Stöcklin G, Preparation of n.c.a. 17- $[^{18}F]$ fluoroheptadecanoic acid in high yields via aminopolyether supported nucleophilic fluorination; *J. Labelled Compds. Radiopharm.* (1986) **23**, 455 – 467.
- [46] Block D, Klätte B, Knöchel A, Beckmann R, Holm U; N.c.a. $[^{18}F]$ -labelling of aliphatic compounds in high yields via aminopolyether – supported nucleophilic substitution; *J. Label. Compds. Radiopharm.* (1986) **23**, 468 – 477.
- [47] Coenen HH; No-carrier-added ^{18}F -chemistry of radiopharmaceuticals. In: Synthesis and application of isotopically labelled compounds 1988; Baillie TA, Jones JR (eds.); Elsevier Science Publishers, Amsterdam **1989**, 443 – 448.
- [48] Block D, Coenen HH, Stöcklin G; The n.c.a. nucleophilic ^{18}F -fluorination of 1,N-disubstituted alkanes as fluoroalkylation agents; *J. Label. Compds. Radiopharm.* (1987) **24**, 1029 – 1042.
- [49] Kilbourne MR; Fluorine-18 labeling of radiopharmaceuticals; Nuclear Science Series, National Academic Press, Washington D.C. (1990).
- [50] Hamacher K, Coenen HH, Stöcklin G; Efficient stereospecific synthesis of no-carrier-added 2- $[^{18}F]$ Fluor-2-deoxy-D-glucose using aminopolyether supported nucleophilic substitution; *J. Nucl. Med.* (1986) **27**, 235 – 238.
- [51] Angelini G, Speranza M, Wolf AP, Shiue CY, Fowler JS; New developments in the synthesis of no-carrier-added (NCA) ^{18}F -labelled aryl fluorides using the nucleophilic

- aromatic substitution reaction; *J. Label. Compds. Radiopharm.* (1984) **21**, 1223 – 1226.
- [52] Gail R, Coenen HH; A one step preparation of the n.c.a. fluorine-18 labelled synthons: 4-fluorobromobenzene and 4-fluoriodobenzene; *Appl. Radiat. Isot.* (1993) **45**, 105 – 111.
- [53] Plenevaux A, Lemaire C, Palmer AJ, Damhaut P, Comar D; Synthesis of non-activated ¹⁸F-fluorinated aromatic compounds through nucleophilic substitution and decarboxylation reaction; *Appl. Radiat. Isot.* (1992) **43**, 1035 – 1040.
- [54] Shah A, Pike VW, Widdowson DA; The synthesis of [¹⁸F]fluorarenes from the reaction of cyclotron-produced [¹⁸F]fluoride ion with diaryliodonium; *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I* (1998) 2043 – 2046.
- [55] Hocke C, Gail R, Coenen HH; Direct n.c.a. ¹⁸F-fluorination of halo- and alkylarenes via corresponding diphenyliodonium salts; *J. Label. Compds. Radiopharm.* (1997) **40**, 50.
- [56] Block D, Coenen HH, Stöcklin G; The n.c.a. nucleophilic ¹⁸F-fluorination of 1,N-disubstituted alkanes as fluoroalkylation agents; *J. Label. Compds. Radiopharm.* (1987) **24**, 1029 – 1042.
- [57] Block D, Coenen HH, Stöcklin G; N.c.a. ¹⁸F-fluoroalkylation of H-acidic compounds; *J. Label. Compds. Radiopharm.* (1988) **25**, 201 – 216.
- [58] Kilbourn MR, Dence CS, Welch MJ, Mathias CJ; Fluorine-18 labeling of proteins; *J. Nucl. Med.* (1987) **28**, 462 – 470.
- [59] Block D, Coenen HH, Stöcklin G; ¹⁸F-Fluoroacylation via fluorocarboxylic acid esters; *J. Label. Compds. Radiopharm.* (1988) **25**, 185 – 200.
- [60] Shai Y, Kirk KL, Channing MA, Dunn BB, Lesniak MA, Eastman RC, Finn RD, Roth J, Jacobson KA; ¹⁸F-Labeled insulin: A prosthetic group methodology for incorporation of a positron emitter into peptides and proteins; *Biochem.* (1989) **28**, 4801 – 4806.
- [61] Coenen HH, Laufer P, Stöcklin G, Wienhard K, Pawlik G, Böcker-Schwarz HG, Heiss WD; 3-N-(2'-[¹⁸F]fluorethyl)siperone: a new ligand for cerebral dopamine receptor studies with PET; *Life Sciences* (1987) **40**, 81 – 88.
- [62] Moerlein SM, Perlmutter JS; Central serotonergic S₂ binding in papio anubis measured in vivo with N-ω-[¹⁸F]fluorethylketanserin and PET; *Neurosci. Lett.* (1991) **123**, 23 – 26.

- [63] Moerlein SM, Perlmutter JS; Binding of 5-(2'-[¹⁸F]fluoroethyl)flumazenil to central benzodiazepine receptors measured in living baboon by positron emission tomography; *Eur. J. Pharmacol.* (1992) **218**, 109 – 115.
- [64] Wester HJ, Herz M, Weber W, Heiss P, Senekowitsch-Schmidtke R, Schwaiger M, Stöcklin G; Synthesis and radiopharmacology of O-(2-[F-18]Fluorethyl)-(L)-tyrosine (FET) for tumor imaging; *J. Nucl. Med.* (1999) **40**, 205 – 212.
- [65] Wilson AA, Dasilva JN, Houle S; Synthesis of two radiofluorinated cocaine analogues using distilled 2-[¹⁸F]fluoroethyl bromide; *Appl. Radiat. Isot.* (1995) **46**, 765 – 770.
- [66] Guhlke S, Coenen HH, Stöcklin G; ¹⁸F-Fluoracylated biotin for fast localisation of tumors with PET; *J. Nucl. Med.* (1991) **32**, 1009 – 1016.
- [67] Guhlke S, Wester HJ, Bruns C, Stöcklin G; (2-[¹⁸F]Fluoropropionyl(D)phe¹)-octreotide, a potential radiopharmaceutical for quantitative somatostatin receptor imaging with PET: Synthesis, radiolabelling, in-vitro-validation and biodistribution in mice; *Nucl. Med. Biol.* (1996) **23**, 365 – 372.
- [68] Ludwig T; Zur n.c.a. ¹⁸F-Fluorarylierung über metallorganische Zwischenstufen ausgehend von para-[¹⁸F]Fluorhalobenzolen; Diplomarbeit, Universität zu Köln **1997**.
- [69] Wüst FR, Knies T; Synthesis of 4-[¹⁸F]fluoriodobenzene and its application in sonogashira cross-coupling reactions; *J. Label. Compds. Radiopharm.* (2003) **46**, 699 – 713.
- [70] Ludwig T, Gail R, Coenen HH, N.c.a. ¹⁸F-Fluoroarylation via organometallic intermediates; *J. Nucl. Med.* (1998) **39**, 21P (Symposium Abstract).
- [71] Kirk KL, Creveling CR; The chemistry and biology of ring-fluorinated biogenic amines; *Medicinal Res. Rev.* (1984) **4**, 189.
- [72] Kirk KL, Olubajo O, Buchhold K, Lewandowski GA, Gusovsky F, McCulloh D, Daly JW, Creveling CR; Synthesis and adrenergic activity of ring-fluorinated phenylephrines; *J. Med. Chem.* (1986) **29**, 1982.
- [73] Ludwig T, Ermert J, Coenen HH; 4-[¹⁸F]fluoroarylkylethers via an improved synthesis of n.c.a. 4-[¹⁸F]fluorophenol; *Nucl. Med. Biol.* (2002) **29**, 255 – 262.
- [74] Barre L, Barbier L, Lasne MC; Investigations of possible routes to no-carrier-added 4-[¹⁸F]fluorophenol; *J. Label. Compds. Radiopharm.* (1993) **35**, 167.
- [75] Ekaeva I, Barre L, Lasne MC, Gourand F; 2- and 4-[¹⁸F]Fluorophenols from Baeyer-Villiger-Oxidation of [¹⁸F]fluorophenylketones and [¹⁸F]fluorobenzaldehydes; *Appl. Radiat. Isot.* (1995) **46**, 777.

- [76] Oh SJ, Ha HJ, Chi DY, Lee HK; Serotonin receptor and transporter ligands – current status; *Curr. Med. Chem.* (2001) **8**, 999 – 1034.
- [77] Hoyer D, Hanon JP, Martin GR; Molecular, pharmacological and functional diversity of 5-HT receptors; *Pharm. Biochem. Behavior* (2002) **71**, 533 – 554.
- [78] Glennon RA; Higher-end serotonin receptors: 5-HT₅, 5-HT₆ and 5-HT₇; *J. Nucl. Med. Chem.* (2003) **46**, 2795 – 2812.
- [79] Kroeze W, Kristiansen K, Roth BL; Molecular biology of serotonin receptors – Structure and function at the molecular level; *Curr. Top. Med. Chem.* (2002) **2**, 507 – 528.
- [80] Spinks D, Spinks G; Serotonin reuptake inhibition: An update on current research strategies; *Curr. Med. Chem.* (2002) **9**, 799 – 810.
- [81] Cole JC, Sumnall HR; Altered states: The clinical effects of Ecstasy; *Pharmacol. Therapeut.* (2003) **98**, 35 – 58.
- [82] Wong DT, Bymaster FP; Development of antidepressant drugs: Fluoxetine (Prozac) and other selective serotonin uptake inhibitors; *Neurochem. Clinic. Appl.* (1995) **XX**, 77 – 95.
- [83] Hahn MK, Blakely RD; Monoamine transporter gene structure and polymorphisms in relation to psychiatric and other complex disorders; *Pharmacogenetics J.* (2002) **2**, 217 – 235.
- [84] Buchert R, Thomasius R, Nebeling B, Petersen K, Obrocki J, Jenicke L, Wilke F, Wartberg L, Zapletalova P, Clausen M; Long-term effects of „ecstasy“ use on serotonin transporters of brain investigated by PET; *J. Nucl. Med.* (2003) **44**, 375 – 384.
- [85] Laruelle M, Slifstein M, Huang Y; Positron emission tomography: imaging and quantification of neurotransmitter availability; *Methods* (2002) **27**, 287 – 299.
- [86] Hashimoto K, Inoue O, Suzuki K, Yaasaki T, Kojima M; Synthesis and evaluation of [¹¹C]Cyanoimipramin; *Int. J. Radiat. Appl. Instrum. [B]* (1987) **14**, 587 – 592.
- [87] Lasne MC, Pike VW, Turton DR; The radiosynthesis of [N-methyl-¹¹C]-sertraline; *Appl. Radiat. Isot.* (1989) **40**, 147 – 151.
- [88] Shiue CY, Shiue GG, Cornish KG, O'Rourke MF; PET study of the distribution of [¹¹C]fluoxetine in a monkey brain; *Nucl. Med. Biol.* (1995) **22**, 613 – 616.
- [89] Dannals RF, Ravert HAT, Wilson AA, Wagner HN; Synthesis of a selective serotonin uptake inhibitor: [¹¹C]citalopram; *Int. J. Appl. Instrum. [A]* (1990) **41**, 587 – 592.

- [90] Bergström KA, Halldin C, Hall H, Lundkvist C, Ginovart N, Swahn CG, Farde L; In vitro and in vivo characterisation of nor- β -CIT: A potential radioligand for visualisation of the serotonin transporter in the brain; *Eur. J. Nucl. Med.* (1997) **24**, 596 – 601.
- [91] Hiltunen J, Åkermann KK, Kuikka JT, Bergström KA, Halldin C, Nikula T, Räsänen P, Tiihonen J, Vauhkonen M, Karhu J, Kupila J, Länsimies E, Farde L; Iodine-123 labeled nor- β -CIT as a potential tracer for serotonin transporter imaging in the human brain with single-photon emission tomography; *Eur. J. Nucl. Med.* (1998) **25**, 19 – 23.
- [92] Jagust WJ, Eberling JL, Biegon A, Taylor SE, VanBrocklin HF, Jordan S, Hanrahan SM, Roberts JA, Brennan KM, Mathis CA; Iodine-123-5-iodo-6-nitroquipazine: SPECT radiotracer to image the serotonin transporter; *J. Nucl. Med.* (1996) **37**, 1207 – 1214.
- [93] Lundkvist C, Loc'h C, Halldin C, Bottlaender M, Ottaviani M, Coulon C, Fuseau C, Mathis CA, Farde L, Mazière B; Characterization of bromine-76-labelled 5-bromo-6-nitroquipazine for PET studies of the serotonin transporter; *Nucl. Med. Biol.* (1999) **26**, 501 – 507.
- [94] Karrakam M, Dollé F, Valette H, Besret L, Bramoullé Y, Hinnen F, Vaufrey F, Franklin C, Bourg S, Coulon C, Ottaviani M, Delaforge M, Loc'h C, Bottlaender M, Crouzel C; Synthesis of a fluorine-18-labelled derivative of 6-nitroquipazine, as a radioligand for the in vivo serotonin transporter imaging with PET; *Bioorg. Med. Chem.* (2002) **10**, 2611 – 2623.
- [95] Scheffel U, Dannals RF, Suehiro M, Ricaurte GA, Carroll FI, Kuhar MJ, Wagner HN; Development of PET/SPECT ligands for the serotonin transporter; *NIDA Res. Monogr.* (1994) **138**, 111 – 130.
- [96] Shank RP, Vaught JL, Setler PE, McComsey DF, Maryanoff BE; McN-5652: A highly potent inhibitor of serotonin uptake; *J. Pharmacol. Exper. Therap.* (1988) **247**, 1032 – 138.
- [97] Suehiro M, Musachio JL, Dannals RF, Mathews WB, Ravert RF, Scheffel U, Wagner HN; An improved method for the synthesis of radiolabeled McN5652 via thioester precursors; *Nucl. Med. Biol.* (1995) **22**, 543 – 545.
- [98] Suehiro M, Scheffel U, Dannals RF, Ravert HAT, Ricaurte GA, Wagner HN; A PET radiotracer for studying serotonin uptake sites: Carbon-11-McN-5652Z; *J. Nucl. Med.* (1993) **34**, 120 – 127.

- [99] Parsey RV, Kegeles LS, Hwang DR, Simpson N, Abi-Dargham A, Mawlawi O, Slifstein M, Van Heertum RL, Mann JJ, Laruelle M; in vivo quantification of brain serotonin transporters in humans using [^{11}C]McN 5652; *J. Nucl. Med.* (2000) **41**, 1465 – 1477.
- [100] McCann UD, Szabo Z, Scheffel U, Dannals RF, Ricaurte GA; Positron emission tomographic evidence of toxic effect of MDMA ("Ecstasy") on brain serotonin neurons in human beings; *Lancet* (1998) **352**(9138), 1433 – 1437.
- [101] Kakiuchi T, Tsukada H, Fukumoto D, Nishiyama S; Effects of aging on serotonin transporter availability and its response to fluvoxamine in the living brain: PET study with [^{11}C](+)McN5652 and [^{11}C](-)McN5652 in conscious monkeys; *Synapse* (2001) **40**, 170 – 179.
- [102] Helfenbein J, Sandell J, Halldin C, Chalon S, Emond P, Okubo Y, Chou Y-H, Frangin Y, Douzief L, Gareau L, Swahn C-G, Besnard J-C, Farde L, Guilloteau D; PET examination of three potent cocaine derivatives as specific radioligands for the serotonin transporter; *J. Med. Biolo.* (1999) **26**, 491 – 499.
- [103] Blough BE, Abraham P, Mills AC, Lewin AH, Boja JW, Scheffel U, Kuhar MJ, Carroll FI; 3 β -(4-Ethyl-3-iodophenyl)nortropine-2 β -carboxylic acid methyl ester as a high-affinity selective ligand for the serotonin transporter; *J. Med. Chem.* (1997) **40**, 3861 – 3864.
- [104] Helfenbein J, Emond P, Sandell J, Halldin C, Pereyre S, Franguin Y, Garreau L, Besnard J-C, Guilloteau D, Chalon S; Synthesis and radiolabelling of 2 β -carbonemthoxy-3 β -(3'-iodo-4'-isopropylphenyl) nortropine as a radioligand for the exploration of the serotonin transporter by SPECT; *J. Label. Comp. Radiopharm.* (1999) **42**, 337 – 347.
- [105] Sandell J, Halldin C, Helfenbein J, Chou Y-H, Vercouillie J, Emend P, Swahn C-G, Guilloteau D; Synthesis of [^{11}C]2 β -carbomethoxy-3 β -(3'-iodo-4'-methyl, -ethyl and isopropyl phenyl)nortropine as potential radiotracers for examination of the serotonin transporter with positron emission tomography; *J. Label. Compd. Radiopharm.* (2000) **43**, 1033 – 1046.
- [106] Mathis CA, Enas JD, Hanrahn SM, Akgun E; Synthesis of I-123 and I-125 labeled 5-iodo-6-nitroquipazine; *J. Label. Compds. Radiopharm.* (1994) **34**, 905 – 913.
- [107] Huang Y, Hwang DR, Narandran R, Suo Y, Chatterjee R, Bae SA, Mawlawi O, Kegeles LS, Wilson AA, Kung HF, Laruelle M; Comparative evaluation in nonhuman

- primates of five PET radiotracers for imaging the serotonin transporters: [^{11}C]McN 5652, [^{11}C]ADAM, [^{11}C]DASB, [^{11}C]DAPA, and [^{11}C]AFM; *J. Cerebral Blood Flow Metabol.* (2002) **22**, 1377 – 1398.
- [108] Szabo Z, McCann UD, Wilson AA, Scheffel U, Owonikoko T, Mathews WB, Ravert HAT, Hilton J, Dannals RF, Ricaurte GA; Comparison of (+)- ^{11}C -McN5652 and ^{11}C -DASB as serotonin transporter radioligands under various experimental conditions; *J. Nucl. Med.* (2002) **43**, 678 – 692.
- [109] Ferris RM, Brieady L, Mehta N, Hollingsworth E, Rigdon G, Wang C, Soroko F, Wastila W, Cooper B; Pharmacological properties of 403U76, a new chemical class of 5-hydroxytryptamine- and noradrenaline reuptake inhibitor; *J. Pharm. Pharmacol.* (1995) **47**, 755 – 781.
- [110] Oya S, Kung M-P, Acton PD, Mu M, Hou C, Kung HF; A new single-photon emission computed tomography imaging agent for serotonin transporters: [^{123}I]IDAM, 5-iodo-2-((2-((dimethylamino)methyl)phenyl)thio)benzyl alcohol; *J. Med. Chem.* (1999) **42**, 333 - 335.
- [111] Acton PD, Kung M-P, Mu M, Plössl K, Hou C, Siciliano M, Oya S, Kung HF; Single-photon emission tomography imaging of serotonin transporters in the non-human primate brain with the selective radioligand [^{123}I]IDAM; *Europ. J. Nucl. Med.* (1999) **26**, 854 - 861.
- [112] Kung M-P, Hou C, Oya S, Mu M, Acton PD, Kung HF; Characterization of [^{123}I]IDAM as a novel single-photon emission tomography tracer for serotonin transporters; *Europ. J. Nucl. Med.* (1999) **26**, 844-853.
- [113] Zhuang Z-P, Choi S-R, Hou C, Mu M, Kung M-P, Acton PD, Kung HF; A novel serotonin transporter ligand: (5-Iodo-2-(2-dimethylaminomethylphenoxy)-benzyl alcohol; *Nucl. Med. Biolo.* (2000) **27**, 169-175.
- [114] Acton PD, Mu M, Plössl K, Hou C, Siciliano M, Zhuang Z-P, Oya S, Choi S-R, Kung HF; Single-photon emission tomography imaging of serotonin transporters in the nonhuman primate brain with [^{123}I]ODAM; *Europ. J. Nucl. Med.* (1999) **26**, 1359-1362.
- [115] Oya S, Choi S-R, Hou C, Mu M, Kung M-P, Acton PD, Siciliano M, Kung HF; 2-((2-((Dimethylamino)methyl)phenyl)thio)-5-iodophenylamine (ADAM): An improved serotonin transporter ligand; *Nucl. Med. Biolo.* (2000) **27**, 249-254.

- [116] Choi S-R, Hou C, Oya S, Mu M, Kung M-P, Siciliano M, Acton PD, Kung HF; Selective in vitro and in vivo binding of [¹²⁵I]ADAM to serotonin transporters in rat brain; *Synapse* (2000) **38**, 403-412.
- [117] Acton PD, Choi S-R, Hou C, Plössl K, Kung HF; Quantification of serotonin transporters in nonhuman primates using [¹²³I]ADAM and SPECT; *J. Nucl. Med.* (2001) **42**, 1556-1562.
- [118] Vercouillie J, Tarkiainen J, Halldin C, Emond P, Chalon S, Sandell J, Langer O, Guilloteau D; Precursor synthesis and radiolabelling of [¹¹C]ADAM: A potential radioligand for the serotonin transporter exploration by PET; *J. Label. Comp. Radiopharm.* (2001) **44**, 113-120.
- [119] Wilson AA, Houle S; Radiosynthesis of carbon-11 labelled N-methyl-2-(arylthio)benzylamines: Potential radiotracers for the serotonin reuptake receptor; *J. Label. Comp. Radiopharm.* (1999) **42**, 1277-1288.
- [120] Wilson AA, Ginovart N, Schmidt M, Meyer JH, Threlkeld PG, Houle S; Novel radiotracers for imaging the serotonin transporter by positron emission tomography: Synthesis, radiosynthesis, and in vitro and ex vivo evaluation of ¹¹C-labeled 2-(phenylthio)araalkylamines; *J. Med. Chem.* (2000) **43**, 3103-3110.
- [121] Houle S, Ginovart N, Hussey D, Meyer JH, Wilson AA; Imaging the serotonin transporter with positron emission tomography: Initial human studies with [¹¹C]DAPP and [¹¹C]DASB; *Europ. J. Nucl. Med.* (2000) **27**, 1719-1722.
- [122] Tarkiainen J, Vercouillie J, Emond P, Sandell J, Hiltunen J, Frangin Y, Guilloteau D, Halldin C; Carbon-11 labelling of MADAM in two different positions: a highly selective PET radioligand for the serotonin transporter; *J. Label. Comp. Radiopharm.* (2001) **44**, 1013-1023.
- [123] Ginovart N, Wilson AA, Meyer JH, Hussey D, Houle S; Positron emission tomography quantification [¹¹C]-DASB binding to the human serotonin transporter: Modeling strategies; *J. Cereb. Blood Flow Metab.* (2001) **21**, 1342-1353.
- [124] Wilson AA, Ginovart N, Hussey D, Meyer JH, Houle S; In vitro and in vivo characterisation of [¹¹C]-DASB: a probe for in vivo measurements of the serotonin transporter by positron emission tomography; *Nucl. Med. Biolo.* (2002) **29**, 509-515.
- [125] Oya S, Choi S-R, Hou C, Kung M-P, Acton PD, C.-Y. S, Kung HF; Synthesis and characterization of ¹⁸F-IDAM as a PET imaging agent for serotonin transporters; *J. Label. Comp. Radiopharm.* (2001) **44**, S15-S17.

- [126] Huang Y, Bae S-A, Zhu Z, Guo R, Hwang D-R, Laruelle M; Fluorinated analogues of ADAM as new PET radioligands for the serotonin transporter: synthesis and pharmacological evaluation; *J. Label. Comp. Radiopharm.* (2001) **44**, S18.
- [127] Oya S, Choi S-R, Coenen HH, Kung HF; New PET imaging agent for serotonin transporter: [¹⁸F]ACF (2-[(2-amino-4-chloro-5-fluorophenyl)thio]-N,N-dimethyl-benzenemethanamine); *J. Med. Chem.* (2002) **45**, 4716 - 4723.
- [128] Shiue GG, Fang P, Greenberg JH, Shiue C-Y; Synthesis of N,N-dimethyl-2-(2-amino-4-[¹⁸F]fluorophenylthio)benzylamine as a serotonin transporter imaging agent; *Appl. Radiat. Isot.* (2003) **58**, 183-191.
- [129] Wilson AA, Burns HD, Hamill T, Ryan C, Garcia A, Guo R, Singh K, Hussey D, Ginovart N, Houle S; DASF: A potential F-18 radiotracer for imaging SERT using PET; *J. Label. Comp. Radiopharm.* (2003) **43**, S1 - S403.
- [130] Shiue GG, Choi S-R, Fang P, Hou C, Acton PD, Cardi C, Saffer JR, Greenberg JH, Karp JS, Kung HF, Shiue C-Y; N,N-Diemthyl-2-(2-amino-4-¹⁸F-fluorophenylthio)-benzylamine (4-¹⁸F-ADAM): An improved PET radioligand for serotonin transporters; *J. Nucl. Med.* (2003) **44**, 1890 - 1897.
- [131] Oya S, Choi S-R, Hou C, Plössl K, Acton PD, Kung HF; ¹⁸F(2-[(2-Amino-5-fluorophenyl)thio]-N,N-dimethyl-benzenmethanamine as a PET imaging agent for serotonin transporters; *J. Label. Compd. Radiopharm.* (2003) **46**, S164.
- [132] Maryanoff BE, McComsey DF, Gardocki JF, Shank RP, Costanzo MJ, Nortey SO, Schneider CR, Setler PE; Pyrrolisoquinoline Antidepressants. 2. In-depth exploration of structure-activity relationships; *J. Med. Chem.* (1987) **30**, 1433 – 1454.
- [133] Runyon SP, Peddi S, Savage JE, Roth BL, Glennon RA, Westkaemper RB; Geometry-affinity relationships of selective serotonin receptor ligand 9-(Aminomethyl)-9,10-dihydroanthracene; *J. Med. Chem.* (2002) **45**, 1656 – 1664.
- [134] Wellsow J, Kovar KA; Molecular modeling of potential new and selective PET radiotracers for the serotonin transporter; *J. Pharm. Pharmaceut. Sci.* (2002) **5**, 245 – 257.
- [135] Cramer RD, Jilek RJ, Andrews KM; *dbtop*: Topomer similarity searching of conventional structure databases; *J. Mol. Graph. Model.* (2002) **20**, 447 – 462.
- [136] Schindlbauer H; Synthese von Carbonsäuredimethylamiden; *Monatsh. Chem.* (1968) **99**, 1977 – 1807.

- [137] De Feo RJ, Strickler PD; An improved method of synthesis of secondary amides from carboxylic esters; *J. Org. Chem.* (1963) **28**, 2915 – 2917.
- [138] Shioiri T, Yokoyama Y, Kasai Y, Yamada S; Reaction of diethyl phosphorocyanidate (DEPC) with carboxylic acids. A new synthesis of carboxylic esters and amides; *Tetrahedron* (1976) **32**, 2211 – 2217.
- [139] Overmann LE, Smoot J, Overmann J; The reduction of aryldisulfides with triphenylphosphine and water; *Communications* (1974) **XX**, 59 – 60.
- [140] Garofolo A, Balconi G, Botta M, Corelli F, Incalci MD, Fabrizi G, Fiorini I, Lamba D, Nacci V; Thioanalogues of anti-tumor antibiotics; *Eur. J. Med. Chem.* (1993) **28**, 213 – 220.
- [141] Ullmann F; Ueber *o*-Halogennitrobenzole und *o*-Aminophenylether; *Chem. Ber.* (1896) **29**, 1878 – 1881.
- [142] Ullmann F; Über eine neue Darstellungsweise von Phenyläthersalicylsäure; *Chem. Ber.* (1903) **36**, 2383 – 2384.
- [143] Allen FL, Koch P, Suschitzky H; Heterocyclic fluorine compounds – III; *Tetrahedron* (1959) **6**, 315 – 318.
- [144] Moroz AA, Shvartsberg MS; The Ullmann ether condensation; *Russ. Chem. Rev.* (1974) **43**, 679 – 689.
- [145] Weingarten H; Ullmann condensation; *Notes* (1963) **29**, 977 – 978.
- [146] Lindley J; Copper assisted nucleophilic substitution of aryl halogens; *Tetrahedron* (1984) **40**, 1433 – 1456.
- [147] Weingarten H; Mechanism of the Ullmann condensation; *J. Org. Chem.* (1964) **29**, 3624 – 3626.
- [148] Sawyer JS; Recent advances in diaryl ether synthesis; *Tetrahedron* (2000) **56**, 5045 – 5065.
- [149] Marcoux JF, Doye S, Buchwald SL; A general copper-catalyzed synthesis of diaryl ethers; *Am. Chem. Soc.* (1997) **119**, 10539 - 10540.
- [150] Kalinin AV, Bower JF, Riebel P, Snieckus V; The directed ortho metalation-Ullmann connection. A new Cu(I) catalysed variant for the synthesis of substituted diaryl ethers; *J. Org. Chem.* (1999) **64**, 2986 – 2987.
- [151] Reeves WP, Bothwell TC, Rudis JA, McClusky JV; Phase transfer catalysis preparation of aryl thioethers; *Synth. Comm.* (1982) **12**, 1071 – 1079.

- [152] Brown H, Heim P; Selective reductions. XVIII. The fast reaction of primary, secondary, and tertiary amides with diborane.; *J. Org. Chem.* (1973) **38**, 912 – 916.
- [153] Hamacher K, Blessing G, Nebeling B; Computer-aided synthesis (CAS) of no-carrier-added 2-[¹⁸F]fluoro-2-deoxy-D-glucose: an efficient automated system for the aminopolyether supported nucleophilic fluorination; *Appl. Radiat. Isot.* (1990) **41**, 49 – 55.
- [154] Laruelle M, Giddings SS, Zea-Ponce Y, Charney DS, Neumeyer JL, Baldwin RM, Innis RB; Methyl 3-beta-(4-[I-125]iodophenyl)tropane-2-beta-carboxylate in-vitro binding to dopamine and serotonin transporters under physiological conditions; *J. Neurochem.* (1994) **62**, 978 – 986.
- [155] Tejani-Butt SM; [³H]nisoxetine: a radioligand for quantitation of norepinephrine uptake sites by autoradiography or by homogenate binding; *J. Pharmacol. Exp. Ther.* (1992) **260**, 427 – 436.
- [156] Tietze LF, Eicher T; *Reaktionen und Synthesen*, Georg Thieme Verlag Stuttgart, **1991**.
- [157] McKillop A, Kemp D; Further functional group oxidation using sodium perborate; *Tetrahedron* (1989) **45**, 3299 – 3306.
- [158] Brown HC, Heim P, Yoon NM; Selective reductions. XV. Reactions of diborane in tetrahydrofuran with selected organic compounds containing representative functional groups; *J. Am. Chem. Soc.* (1970) **92**, 1637 – 1646.
- [159] Hamacher K, Hirschfelder Th, Coenen HH; Electrochemical cell for separation of [¹⁸F]fluoride from irradiated ¹⁸O-water and subsequent no carrier added nucleophilic fluorination; *Appl. Radiat. Isot.* (2002) **56**, 519 – 523.
- [160] Sihver W, Holschbach MH, Bier D, Wutz W, Schulze A, Olsson RA, Coenen HH; Evaluation of radioiodinated 8-cyclopentyl-3-[(E)-3-iodoprop-2-en-1-yl]-1-propylxanthine ([*I]CPIPX) as a new potential A₁ adenosine receptor antagonist for SPECT; *Nucl. Med. Biolo.* (2003) **30**, 661 – 668.

Abkürzungen

(v/v)	Volumenanteile
APE	Aminopolyether
A_s	spezifische Aktivität
BHS	Blut-Hirn-Schranke
BGO	Bismutgermanat
B_{max}	Anzahl der Bindungsstellen
Bq	Becquerel
c.a.	carrier added (geträgert)
c.f.	carrier free (trägerfrei)
Ci	Curie (1 Ci = $3,7 \cdot 10^{10}$ Bq)
δ	chemische Verschiebung
d	Dublett
DAT	Dopamin Transporter
DC	Dünnschichtchromatographie
DMAA	Dimethylacetamid
DMF	<i>N,N</i> -Dimethylformamid
DMSO	Dimethylsulfoxid
EC	Elektronen-Einfang
EI	Elektronenstoßionisation
ESI	Elektronensprayionisation
FDG	2- $[^{18}\text{F}]$ Fluor-2-deoxy-D-glucose
FWHM	full-width-half-maximum
5-HIAA	5-Hydroxyindolessigsäure
HPLC	Hochleistungsflüssigkeitschromatographie
5-HT	5-Hydroxytryptamin
5-HTP	5-Hydroxytryptophan
IBS	Irritable Bowel Syndrom
IC_{50}	inhibitory concentration 50 %
ID	injizierte Dosis
IR	Infrarotspektroskopie
k	Geschwindigkeitskonstante
K_D	Dissoziationskonstante
K_i	Inhibitionskonstante

LSO	Lutetium-Orthosilikat
M	molar
m	Multipllett
MAO	Monoaminoxidase
MDMA	3,4-Methylendioxy-N-methylamphetamin (Ecstasy)
iMRT	MR-Imaging
MS	Massenspektrometrie
n.c.a.	no carrier added (trägerarm)
NET	Norepinephrin Transporter
NMR	Magnet-Resonanz-Spektroskopie
PET	Positronen-Emissions-Tomographie
PMT	Photomultiplier Röhren
PTK	Phasentransferkatalysator
RCA	radiochemische Ausbeute
R _f	Retentionswert
ROI	region of interest (Zielregion)
RP	Reversed Phase (Umkehrphase)
RT	Raumtemperatur
s	Singulett
SERT	Serotonin Transport
SPECT	Einzel-Photonen-Emissions-Computertomographie
SSRI	selective serotonin reuptake inhibitor
t	Tripllett
THF	Tetrahydrofuran
TOF	Time of Flight
TRYP	Tryptophan
UV	Ultraviolett

Ich versichere, dass ich die von mir vorgelegte Dissertation selbständig angefertigt, die benutzten Quellen und Hilfsmittel vollständig angegeben und die Stellen der Arbeit - einschließlich Tabellen, Karten und Abbildungen -, die anderen Werken im Wortlaut oder im Sinn nach entnommen sind, in jedem Einzelfall als Entlehnung kenntlich gemacht habe; dass diese Dissertation noch keiner anderen Fakultät oder Universität zur Prüfung vorgelegen hat; dass sie - abgesehen von unten angegebenen Teilpublikationen - noch nicht veröffentlicht worden ist sowie, dass ich eine solche Veröffentlichung vor Abschluss des Promotionsverfahrens nicht vornehmen werde. Die geltenden Bestimmungen der Promotionsordnung sind mir bekannt. Die von mir vorgelegte Dissertation ist von Prof. Dr. H.H. Coenen betreut worden.

Teilpublikationen:

Stoll T, Ermert J, Oya S, Kung HF, Coenen HH; Application of n.c.a. 4-¹⁸F-fluorophenol in diaryl ether syntheses of 2-(4-¹⁸F-fluorophenoxy)-benzylamines; *J. Label. Compd. Radiopharm.* (2004) **47**, 443 - 455.