

**Design, Synthese und biologische Evaluierung
(radio)fluorierter Aminobenzothiazol-Derivate als
potenzielle Adenosin-A_{2A}-Rezeptor-Liganden**

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung des Doktorgrades

der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät

der Universität zu Köln

vorgelegt von

Dana Rebecca Renk

aus Dinslaken

2021

Berichtersteller/in:

Prof. Dr. Bernd Neumaier

Prof. Dr. Hans-Günther Schmalz

Tag der mündlichen Prüfung:

20.04.2021

Kurzzusammenfassung

Viele neurodegenerative, -psychiatrische und -inflammatorische Krankheiten sind mit einer Veränderung der Expression des Adenosin- A_{2A} -Rezeptors ($A_{2A}R$) im menschlichen Gehirn assoziiert. Mit hochaffinen und selektiven radioaktiv markierten $A_{2A}R$ -Liganden können diese pathophysiologischen Prozesse untersucht und Erkrankungen, die mit einer veränderten $A_{2A}R$ -Konzentration im Gehirn einhergehen, bereits in einem sehr frühen Krankheitsstadium detektiert werden. In der Literatur wurden bereits ^{11}C -markierte $A_{2A}R$ -Radioliganden für die molekulare Bildgebung mittels Positronen-Emission-Tomographie (PET) vorgestellt. Hingegen sind noch keine ^{18}F -markierten Tracer bekannt. Radiomarkierungen mit ^{18}F bieten aufgrund der idealen Zerfallseigenschaften von ^{18}F jedoch einige Vorteile im Hinblick auf die Bildgebung. Ziel der vorliegenden Arbeit war die Entwicklung von radiofluorierten $A_{2A}R$ -Liganden für die Visualisierung des $A_{2A}R$ -Status im Gehirn.

Basierend auf vorherigen Arbeiten des INM-5 konnten ausgehend von einer Aminobenzothiazol-Leitstruktur eine Reihe von insgesamt sieben weiteren fluorierten $A_{2A}R$ -Liganden entwickelt, synthetisiert und charakterisiert werden. Die Synthese von 4-Methoxy-7-morpholin-4-yl-benzo[*d*]thiazol-amin verlief über eine sechsstufige Synthese ausgehend von *p*-Anisidin. Die zur Derivatisierung benötigten fluorierten Piperidin- und Piperazin-Derivate wurden über unabhängige, ebenfalls mehrstufige Syntheserouten dargestellt. Über ein Phenylcarbamat-Intermediat wurden der Benzothiazol-Heterobizyklus mit den Piperidin- und Piperazinresten zu sieben *N,N'*-disubstituierten Harnstoffen umgesetzt. Die in Kompetitionsstudien bestimmten Dissoziationskonstanten K_i der neuen Liganden für den humanen $A_{2A}R$ lagen zwischen $3,6 \pm 0,18$ und $37,9 \pm 15,1$ nM bei gleichzeitig hoher Selektivität ($hA_{2A}R/hA_{1R}$ zwischen 120 und 2606) gegenüber dem komplementären A_{1R} .

Für die Radiosynthese von [^{18}F]4-(Fluormethyl)-*N*-(4-methoxy-7-morpholinobenzo[*d*]thiazol-2-yl)piperidin-1-carboxamid wurde anschließend ein Radiomarkierungsvorläufer mit einer Mesylatabgangsgruppe und einer POM-Schutzgruppe am sekundären Amin für die nukleophile Substitution mit [^{18}F]Fluorid

hergestellt. Die zweistufige Radiofluorierung gelang in radiochemischen Ausbeuten von $32 \pm 10 \%$. *In vitro* Autoradiographien an Rattengehirnschnitten bestätigten die affine, selektive und reversible Bindung des Radioliganden im Corpus striatum. *In vivo* Tier-PET-Studien an gesunden Ratten zeigten aber keine Aufnahme des Tracers im Gehirn, jedoch eine starke Anreicherung der Radioaktivität im Herzgewebe, wo der A_{2A}R ebenfalls stark exprimiert wird. Obwohl das synthetisierte radiofluorierte Aminobenzothiazol-Derivat die Blut-Hirn-Schranke nicht überwinden konnte, ermutigen die vielversprechenden Ergebnisse der *in vitro* Bindungs- und Selektivitätsstudien, sowie die starke Anreicherung des Tracers im Herzgewebe eine weitere Erforschung der Aminobenzothiazol-Derivate als potenzielle Radioliganden für die molekulare Bildgebung des A_{2A}R in peripheren Geweben.

Abstract

Alteration of adenosine A_{2A} receptor (A_{2A}R) expression in the human brain is associated with a wide range of neurodegenerative, neuropsychiatric and neuroinflammatory diseases. Radiolabelled A_{2A}R ligands with high affinity and selectivity should enable studies of pathophysiological processes and allow early detection of diseases associated with altered A_{2A}R levels in the brain. So far only ¹¹C-labelled A_{2A}R radioligands for positron emission tomography (PET) are described in the literature. Due to the ideal decay properties of ¹⁸F with respect to half-life (transportation to other PET centres according to the satellite concept, longer PET acquisition times) and energy (higher resolution of PET image) ¹⁸F-labelled radioligands are highly sought after. The aim of the present work was to develop novel radiofluorinated A_{2A}R ligands for the visualisation of the A_{2A}R concentration in the brain.

Based on previous work at INM-5, a series of seven additional fluorinated A_{2A}R ligands were designed, synthesised, and characterised starting from an aminobenzothiazole lead structure. The synthesis of 4-methoxy-7-morpholin-4-yl-benzo[*d*]thiazol-amine proceeded via a complex synthesis over six steps starting from *p*-anisidine. The fluorinated piperidine and piperazine derivatives required for derivatisation were generated via independent, likewise multi-step synthetic routes. Via a phenyl carbamate intermediate, the benzothiazole heterobicycle was reacted with the piperidine and piperazine residues to give seven *N,N'*-disubstituted ureas. The dissociation constants K_i of the novel ligands for the human A_{2A}R determined in competition studies ranged from 3.6 ± 0.18 to 37.9 ± 15.1 nM while maintaining high selectivity over the complementary A₁R [$K_i(\text{hA}_{2A}\text{R})/K_i(\text{hA}_{1}\text{R})$ between 120 and 2606].

For the radiosynthesis of 4-([¹⁸F]fluoromethyl)-*N*-(4-methoxy-7-morpholinobenzo[*d*]thiazol-2-yl)piperidin-1-carboxamide, a radiolabelling precursor with a mesylate leaving group and a POM protecting group on the secondary amine was prepared for nucleophilic substitution with [¹⁸F]fluoride. The two-step radiofluorination succeeded in radiochemical yields of 32 ± 10 %. *In vitro* autoradiographies on rat brain slices confirmed the affine, selective, and reversible binding of the radioligand in the *corpus striatum*. However, *in vivo* PET studies in healthy rats showed no uptake of the

tracer in the brain, but a strong accumulation of radioactivity in the heart tissue, where $A_{2A}R$ is also strongly expressed. Although the synthesised radiofluorinated aminobenzothiazole derivative failed to cross the blood-brain barrier, the promising results of the *in vitro* binding and selectivity studies, as well as the strong accumulation of the tracer in cardiac tissue, encourage further exploration of aminobenzothiazole derivatives as potential radioligands for molecular imaging of the $A_{2A}R$ in peripheral tissues.

Danksagung

Mein besonderer Dank gilt meinem Doktorvater, Professor Dr. Bernd Neumaier, für die interessante Fragestellung, seine Unterstützung und sein Mitwirken an der Arbeit war es mir möglich mich wissenschaftlich weiterzuentwickeln und spannende Forschung in einem interdisziplinären Umfeld zu betreiben.

Ich danke auch Professor Hans-Günther Schmalz für die Zweitbetreuung und Zweitbegutachtung meiner Arbeit und die anregenden Diskussionen.

Ebenfalls danke ich meinen Betreuern, Dr. Marcus Holschbach und Dr. Dirk Bier, für die Unterstützung und die zahllosen Ratschläge und Diskussionen, die meine Arbeit stark beeinflusst haben.

Für die Durchführung der biologischen *in vitro* Evaluierungsexperimente danke ich Frau Annette Schulze ganz besonders. Mein Dank gilt auch Frau Erika Wabbels für die Automatisierung der Radiosynthese. Des Weiteren danke ich den Kolleg*innen vom INM-2 für die Durchführung der *in vivo* Versuche.

Großer Dank gilt auch meinen Kolleg*innen vom INM-5, die meine Arbeit dort sowohl wissenschaftlich als auch persönlich bereichert haben. Für das großartige Arbeitsklima möchte ich mich insbesondere bei meinen Mitdoktorand*innen und vor allem bei Swen Humpert, Kai Giesen, Sibel Evcüman und Chris Hoffmann, die ich inzwischen als gute Freunde betrachte, bedanken.

Zuletzt danke ich meiner Familie und Freund*innen für die Unterstützung während meiner Promotionszeit.

Inhaltsverzeichnis

1.	Einleitung	1
1.1.	Positronen-Emissions-Tomographie in den Lebenswissenschaften	1
1.1.1.	Funktionsweise der PET	2
1.1.2.	Produktion der Standard-PET-Nuklide	4
1.1.3.	Entwicklung eines Radioliganden für das ZNS	8
1.2.	Radiofluorierungsmethoden	12
1.2.1.	Elektrophile Radiofluorierung	14
1.2.2.	Nukleophile Radiofluorierungsmethoden.....	16
1.3.	Adenosinrezeptoren als Target für die molekulare Bildgebung.....	24
1.3.1.	Adenosinrezeptoren.....	25
1.3.2.	Veränderungen der A _{2A} R-Expression durch verschiedene Erkrankungen	27
1.3.3.	Radioliganden für den A _{2A} R.....	28
1.3.4.	Molekulare Bildgebung des A _{2A} R mittels PET	30
1.3.5.	Tozadenant als Leitstruktur für einen neuartigen A _{2A} R-Liganden	32
2.	Zielsetzung	34
3.	Ergebnisse und Diskussion	37
3.1.	Entwicklung von Aminobenzothiazol-Derivaten als potenzielle A _{2A} R-Liganden 37	
3.2.	Entwicklung einer konvergenten Synthesestrategie	38
3.2.1.	Synthese von 4-Methoxy-7-morpholin-4-yl-benzo[<i>d</i>]thiazol-amin	41
3.2.2.	Synthese der Piperidin-Derivate als zweiter Synthesebaustein	43
3.2.3.	Kopplung der Fragmente.....	44
3.3.	Biologische Evaluierung der sechs synthetisierten Aminobenzothiazol-Derivate 46	
3.3.1.	Bestimmung der Dissoziationskonstanten und Auswahl eines Radiomarkierungskandidaten.....	46

3.3.2.	Radiofluorierung von [¹⁸ F] 2	49
3.3.3.	Präklinische Evaluierung von [¹⁸ F] 2 mittels <i>in vitro</i> Autoradiographie an Rattengehirnschnitten und <i>in vivo</i> PET-Experimenten an Ratten.....	53
3.3.4.	Untersuchungen des Metabolismus von Verbindung 2 an Lebermikrosomen.....	55
3.4.	Entwicklung eines Fluorethylpiperazin-Derivats.....	59
3.4.1.	Synthese des Piperazin-Derivats.....	60
3.4.2.	Versuche zur Synthese eines Radiomarkierungsvorläufers	61
3.4.3.	Metabolismusstudien mit Verbindung 37 an Lebermikrosomen.....	65
4.	Experimentalteil	68
4.1.	Allgemeiner Teil.....	68
4.2.	Organische Synthese	70
4.2.1.	Synthese von Phenyl-(4-methoxy-7-morpholinobenzo[<i>d</i>]thiazol-2-yl)carbamat.....	70
4.2.2.	Synthese der Piperidin- und Piperazin-Derivate.....	77
4.2.3.	Synthese der Adenosin-A _{2A} -Rezeptorliganden.....	93
4.2.4.	Synthese der Radiomarkierungsvorläufer und POM-geschützten Referenzverbindungen	107
4.3.	Radiomarkierungen.....	122
4.3.1.	Allgemeine Vorschrift für die Radiofluorierungsreaktionen	122
4.4.	Mikrosomenmetabolismus-Assays	123
4.4.1.	Allgemeine Versuchsvorschrift.....	123
4.5.	<i>In vitro</i> Evaluierung der A _{2A} R-Liganden.....	124
4.5.1.	Untersuchung der Bindungsaffinitäten mittels Kompetitions-Assays	124
4.5.2.	Autoradiographien an Rattengehirnschnitten	125
5.	Zusammenfassung.....	126
	Literaturverzeichnis	132
	Anhang.....	148

Abkürzungen151

1. Einleitung

1.1. Positronen-Emissions-Tomographie in den Lebenswissenschaften

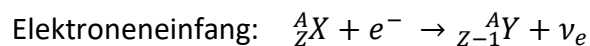
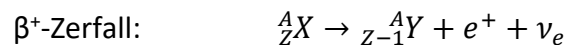
Molekulare Bildgebungsverfahren wie Positronen-Emissions-Tomographie (PET) und Einzelphotonen-Emissionscomputertomographie (SPECT, von engl. *single photon emission computed tomography*) stellen wichtige Instrumente zur Erforschung physiologischer Prozesse und Erkrankungen dar. Anders als bei morphologischen Verfahren wie Ultraschall, Computertomographie (CT) oder Magnetresonanztomographie (MRT), bei denen unterschiedliche Gewebe abgebildet werden, können mittels PET und SPECT Stoffwechselprozesse und Rezeptorkonzentrationen *in vivo* untersucht werden. Möglich machen dies radioaktiv markierte Moleküle, die sich im zu untersuchenden Gewebe verteilen, selektiv an bestimmte Proteine, Rezeptoren oder andere Zielmoleküle binden oder an Stoffwechselprozessen teilnehmen. Der Aufenthaltsort des Moleküls - z. B. Bindung an einen Rezeptor - lässt sich dann durch den radioaktiven Zerfall auch außerhalb des Körpers detektieren.

Der ungarische Chemiker George Charles de Hevesy legte den Grundstein für die moderne Nuklearmedizin, als er 1913 eine Methode entwickelte, mithilfe des radioaktiven Nuklids ^{210}Pb die Löslichkeit von Bleisalzen zu bestimmen.^{1,2} In den folgenden Jahren erforschte er metabolische Prozesse in Pflanzen³ und Tieren⁴ mithilfe radioaktiver Nuklide und wurde schließlich 1943 „für seine Arbeiten über die Anwendung von Isotopen als Indikatoren bei der Erforschung chemischer Prozesse“ mit dem Nobelpreis für Chemie geehrt.⁵ Das von George de Hevesy entwickelte Tracer-Prinzip findet auch heute noch in der nuklearmedizinischen Diagnostik Anwendung. Damit sich ein Stoff als Tracer eignet, müssen im Wesentlichen zwei Kriterien erfüllt sein: Die Verbindung darf die zu untersuchenden Prozesse nicht beeinflussen und muss des Weiteren außerhalb des Körpers zu detektieren sein. Bei PET- und SPECT-Untersuchungen werden Verbindungen, die mit Radionukliden markiert sind, in so geringen Stoffmengen appliziert, dass sie biochemische Prozesse *in vivo* nicht beeinflussen. Trotz ihrer geringen Menge können sie durch die Photonen, die entweder

durch den radioaktiven Zerfall eines Nuklids oder durch Annihilation von Antiteilchen entstehen und Materie durchdringen können, detektiert werden.

1.1.1. Funktionsweise der PET

Für die Positronen-Emissions-Tomographie wird der β^+ -Zerfall protonenreicher, instabiler Nuklide ausgenutzt. Hierbei wandelt sich im Kern des radioaktiven Nuklids ein Proton in ein Neutron um, wodurch ein Positron und ein Elektron-Neutrino emittiert werden. Als Konkurrenz zum β^+ -Zerfall tritt der Elektroneneinfang (E. C., von engl. *electron capture*) auf, bei dem ein kernnahes Elektron von einem Proton des Kerns eingefangen wird. Dabei entstehen im Kern ein Neutron und ein Elektron-Neutrino, das emittiert wird. In beiden Fällen hat das Tochternuklid (Y) eine um 1 verringerte Ordnungs- aber dieselbe Massenzahl wie das Mutternuklid (X).



Das beim β^+ -Zerfall emittierte Positron bewegt sich einige Millimeter durch Materie, wobei es durch Kollisionen und Streuung abgebremst wird. Hat es den Großteil seiner kinetischen Energie verloren, kommt es zur Rekombination mit einem Elektron. Dabei wird die Masse beider Teilchen hauptsächlich in zwei Gammaquanten mit einer Energie von 511 keV umgewandelt. Diese Annihilationsstrahlung wird in einem Winkel von 180° abgegeben.

Bei der PET ist das zu untersuchende Objekt, das Versuchstier oder der Patient von ringförmig angeordneten Detektoren umgeben. Werden zwei Gammaquanten innerhalb eines Koinzidenzzeitfensters von gegenüberliegenden Detektoren gemessen, wird dies als Annihilationsereignis registriert.^{6,7} Der Ort der Annihilation befindet sich auf einer gedachten Linie zwischen den Detektoren. Durch Überlagerung der

Koinzidenzlinien entsteht ein dreidimensionales Bild. Der Schnittpunkt der einzelnen Koinzidenzlinien gibt dabei Rückschluss auf den Ort der Anreicherung eines Radiotracers.⁷ Nur, wenn die Annihilation genau in der Mitte zwischen den Detektoren stattfindet, werden die Signale gleichzeitig aufgenommen. Ansonsten kommt es aufgrund der unterschiedlich langen Wegstrecken, die die Photonen zurücklegen müssen, zu einer zeitlichen Verzögerung zwischen den Signalen. In Time-of-flight-PET-Messungen (TOF-PET) wird diese Differenz gemessen und in die Rekonstruktion des Annihilationsortes einbezogen. So konnte unter anderem die Empfindlichkeit moderner PET-Scanner deutlich erhöht werden.⁸⁻¹⁰

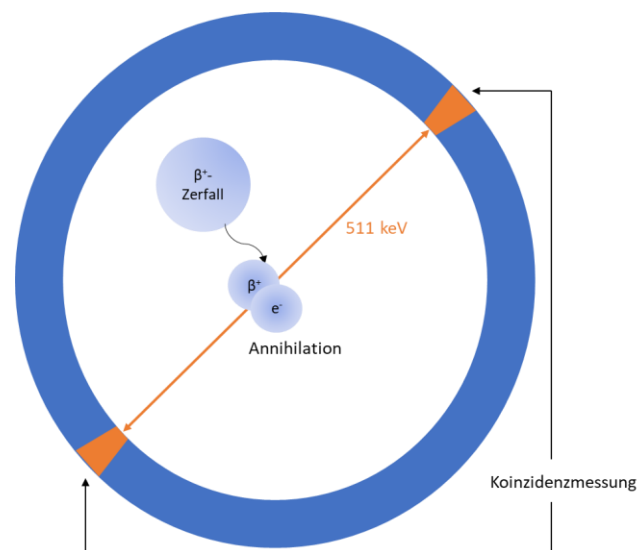


Abbildung 1: Schematische Darstellung der Funktionsweise eines PET-Scanners.

Die Auflösung eines PET-Scanners wird unter anderem durch die Detektorbreite bestimmt. Je schmaler die verwendeten Detektoren sind, umso mehr Detektoren bilden den Detektorring und umso mehr Photonen können registriert und diese außerdem genauer lokalisiert werden. So konnten PET-Scans mit Auflösungen von unter 4 mm erzielt werden.^{11,12} Dabei muss allerdings berücksichtigt werden, dass nicht der Aufenthaltsort des Tracers, sondern nur der Ort der Annihilation des emittierten Positrons erfasst wird. Diese findet abhängig von der Zerfallsenergie des Radioisotops einige Millimeter entfernt statt, da das emittierte Positron sich nach dem Zerfall durch

das Gewebe bewegt. Je größer die Energie des emittierten Positrons ist, desto weiter bewegt es sich durch das Gewebe, bevor es annihiliert. Durch die Wahl eines Radioisotops mit geringer Zerfallsenergie wie z. B. ^{18}F kann die Qualität der PET-Bilder gegenüber Radionukliden mit höheren Zerfallsenergien deutlich erhöht werden.¹²

Die Kombination eines PET-Scanners mit weiteren Diagnoseverfahren wie CT oder MRT ergibt Bilder, in denen sowohl die Anreicherung des Radiotracers als auch die dazugehörige morphologische Information wiedergegeben werden. Dies findet unter anderem Anwendung in der diagnostischen Onkologie, bei der der Tumor genau lokalisiert werden kann, sodass dieser zielgenau bestrahlt oder operativ entfernt werden kann.^{13,14}

1.1.2. Produktion der Standard-PET-Nuklide

Von vielen chemischen Elementen sind Positronen emittierende Isotope bekannt, die in der PET eingesetzt werden können. Die gängigsten PET-Nuklide sind in Tabelle 1 zusammengefasst.

Tabelle 1: Übersicht der Standard-PET-Nuklide mit Herstellung und Zerfalleigenschaften.¹⁵⁻¹⁹

Nuklid	Herstellung	Halbwertszeit [min]	Zerfallsenergie [keV]	Durchschnittliche E_{β^+} [keV]	Durchschnittliche β^+ -Reichweite in Wasser [mm]	Anteil β^+ [%]
^{11}C	$^{14}\text{N}(p,\alpha)^{11}\text{C}$	20,36	1982,40	385,70	1,2	99,77
^{13}N	$^{16}\text{O}(p,\alpha)^{13}\text{N}$	9,97	2220,49	491,82	1,8	99,80
^{15}O	$^{15}\text{N}(d,n)^{15}\text{O}$	1,87	2754,00	735,28	3,0	99,90
^{18}F	$^{20}\text{Ne}(d,\alpha)^{18}\text{F}$ $^{18}\text{O}(p,n)^{18}\text{F}$	109,77	1655,50	249,80	0,6	96,73
^{68}Ga	$^{69}\text{Ge}(p,2n)^{68}\text{Ge}$ $^{68}\text{Ge} \rightarrow ^{68}\text{Ga}$	67,71	2921,10	836,02; 352,59	3,5	88,91

Natürlich vorkommende Moleküle sind meist aus den Elementen Kohlenstoff, Sauerstoff und Stickstoff aufgebaut, von denen mit ^{11}C , ^{15}O und ^{13}N jeweils ein Positron emittierendes Nuklid zur Verfügung steht. Die einzelnen Isotope eines Elements verhalten sich chemisch nahezu identisch zueinander. Mithilfe radioaktiver Isotope können theoretisch also markierte Verbindungen synthetisiert werden, die sich biochemisch gleich verhalten wie ihre nicht radioaktiven Pendanten. Der zu erwartende Isotopeneffekt aufgrund der veränderten Masse der radioaktiven Nuklide ist vernachlässigbar klein²⁰ und die Tracer werden in so geringen Stoffmengen eingesetzt, dass das biologische System nicht beeinträchtigt wird.^{16,17} Eine typische Patientendosis von [^{18}F]Fluor-2-desoxy-D-glucose ([^{18}F]FDG), des in der Nuklearmedizin wichtigsten Radiopharmakons, durch das der erhöhte Glucosestoffwechsel von Tumoren visualisiert werden kann, beträgt beispielsweise 300 MBq, was in etwa einer Stoffmenge von 1,5 – 3 nmol entspricht (bei einer molaren Aktivität von 100 – 200 GBq/ μmol).^{21,22} So können mittels PET Stoffwechselprozesse auf molekularer Ebene beobachtet werden, während mit den konventionellen bildgebenden Verfahren wie MRT und CT lediglich die morphologischen Gegebenheiten abgebildet werden können.²³ In der Praxis können aufgrund der sehr kurzen Halbwertszeiten und der nicht trivialen Markierungschemie mit ^{13}N und ^{15}O nur sehr einfache Moleküle, wie beispielsweise [^{13}N]Ammoniak und [^{15}O]Wasser, synthetisiert werden. Mit ^{11}C hingegen sind schon aufwändigere ^{11}C -markierte Verbindungen über beispielsweise Methylierungsreaktionen zugänglich.^{16,17} Von großer Bedeutung ist für die PET-Diagnostik das Nuklid ^{18}F , das sich aufgrund seiner längeren Halbwertszeit auch für kompliziertere Syntheserouten eignet. Außerdem ist es möglich, so markierte Radiotracer, gemäß dem Satellitenkonzept, über längere Strecken vom Produktionsort zum Patienten zu transportieren. Durch die Verwendung von Fluor-18 sind auch Kliniken, die keine eigenen Produktionsanlagen besitzen, in der Lage, die PET als diagnostisches Verfahren zu nutzen.²⁰ Außerdem können längere Messungen durchgeführt werden, um Stoffwechselprozesse über einen längeren Zeitraum zu beobachten. Hierbei muss jedoch beachtet werden, dass Fluor nur selten in natürlichen, biologisch aktiven Molekülen vorkommt, sodass man leicht veränderte pharmakologische Eigenschaften erhält, die ein anderes pharmakokinetisches Verhalten zeigen als die natürlichen Substrate.^{16,17} Neben der längeren Halbwertszeit hat Fluor-18 noch weitere für die Bildgebung günstige Zerfallseigenschaften. Die vergleichsweise

geringe durchschnittliche Emissionsenergie (E_{β^+}) führt dazu, dass das Positron vor der Annihilation nur eine kurze Wegstrecke durch das Gewebe zurücklegt und somit eine höhere Auflösung der PET-Aufnahme liefert. Außerdem ist der Anteil des β^+ -Zerfalls so hoch, dass nur sehr wenig Gammaquanten emittiert werden, die fälschlicherweise als Annihilationsereignis interpretiert werden könnten.^{8,20} Weitere interessante Nuklide für die PET sind Radiometalle. Aufgrund der kurzen Halbwertszeit und der leichten Verfügbarkeit über einen $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ -Generator ist Gallium-68 besonders geeignet. Durch Komplexierung des Radiometalls ist die Markierungschemie sehr einfach und schnell durchführbar.¹⁸

Die organischen Standard-PET-Nuklide werden üblicherweise an einem Zyklotron hergestellt.²⁰ Klassische Zyklotrone sind Teilchenbeschleuniger, die aus zwei D-förmigen Elektroden (Duanten) bestehen, die in einer Vakuumkammer liegen und von einem Magnetfeld umgeben sind. Die Ionen werden aus einer Ionenquelle im Zentrum des Zyklotrons in den Spalt zwischen den Duanten abgegeben und durch die angelegte elektrische Wechselspannung zu einer Duante beschleunigt. Dort beschreiben sie aufgrund des anliegenden Magnetfelds durch die Lorentzkraft eine kreisförmige Bahn, deren Radius mit zunehmender Geschwindigkeit größer wird. Die Wechselspannung verursacht eine periodische Umkehr des elektrischen Feldes, sodass die Ionen zwischen den Duanten immer wieder beschleunigt werden. Nachdem sie den maximalen Radius erreicht haben, werden die Ionen durch Stripperfolien oder Deflektoren aus ihrer Kreisbahn abgelenkt und auf ein Target geschossen, wo sie Kernreaktionen auslösen können.²⁴

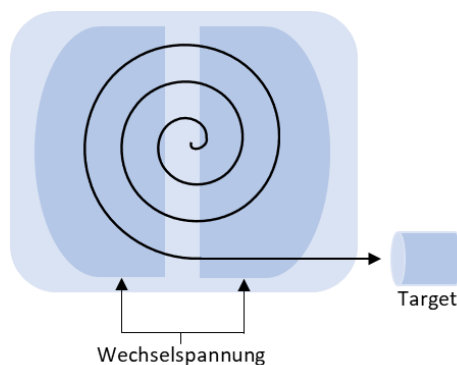


Abbildung 2: Schematische Darstellung eines Zyklotrons.

Fluor-18 kann sowohl als elektrophiles $[^{18}\text{F}]\text{F}_2$ als auch als nukleophiles $[^{18}\text{F}]\text{Fluorid}$ hergestellt werden. Zusätzlich zum Charakter des Produkts unterscheiden sich die Methoden hinsichtlich der verwendeten Kernreaktion, der Beschaffenheit des Targets, des Trägergehalts und daraus resultierend der zu erreichenden molaren Aktivität. Zur Herstellung von radioaktivem $[^{18}\text{F}]\text{F}_2$ wird meist die $^{20}\text{Ne}(d,\alpha)^{18}\text{F}$ Kernreaktion verwendet. Hierbei wird ein Neon-20 Gastarget mit Deuteronen bestrahlt, wobei unter Aussendung eines α -Teilchens gasförmiges ^{18}F entsteht. Da dieses sehr stark von der Targetwand chemisch adsorbiert wird, müssen dem Targetgas kleine Mengen nicht radioaktives $[^{19}\text{F}]\text{Fluorgas}$ zugesetzt werden.^{25,26} Alternativ kann auch die $^{18}\text{O}(p,n)^{18}\text{F}$ Kernreaktion verwendet werden, bei der ^{18}O -angereichertes O_2 -Gas mit Protonen bestrahlt wird. Um das nicht verbrauchte ^{18}O -Gas wiederverwenden zu können, wird das Target anschließend mit einem Edelgas, das geringe Mengen $[^{19}\text{F}]\text{Fluorgas}$ enthält, befüllt und erneut bestrahlt.²⁷ Durch Isotopenaustausch wird das ^{18}F von der Targetwand gelöst und man erhält $[^{18}\text{F}]\text{F}_2$, bei dem eines der Fluoratome durch Fluor-18 ersetzt wurde. Obwohl die zweistufige Synthese über die Bestrahlung von $[^{18}\text{O}]\text{O}_2$ höhere Ausbeuten liefert, wird die Bestrahlung von ^{20}Ne aufgrund des geringen Aufwands in der Regel bevorzugt.²⁶ Wegen der Verdünnung des radioaktiven Nuklids mit dem nicht radioaktiven Nuklid bezeichnet man solche Produktionsrouten als geträgert (engl. *carrier added, c. a.*).²⁸ Dabei werden dann durch den hohen Trägergehalt bei der Produktion von $[^{18}\text{F}]\text{F}_2$ zwangsläufig vergleichsweise niedrige molare Aktivitäten erhalten.

Die molare Aktivität (A_m) ist „die gemessene Radioaktivität pro Mol einer Verbindung, gemessen in Bq/mol oder GBq/ μmol “ (engl.: „*the measured radioactivity per mole of compound; measured in Bq/mol or GBq/ μmol* “).²⁸ Während der Produktion eines Radiotracers kommt es in der Regel zu einer Verdünnung mit stabilen Isotopen, wodurch ein Gemisch aus der radioaktiv markierten und der nicht markierten Verbindung (Träger) vorliegt. Je größer der Anteil des Trägers in der Gesamtmenge ist, desto kleiner ist die molare Aktivität. Da sie sich außerdem mit voranschreitendem Zerfall des Radionuklids verringern kann, muss der Zeitpunkt der Bestimmung angegeben werden. Alternativ kann auch die spezifische Aktivität verwendet werden, die die Radioaktivität pro Gramm einer Substanz wiedergibt.²⁸ Hohe molare bzw. spezifische Aktivitäten sind

insbesondere für die Untersuchung an Rezeptorsystemen wichtig, um eine Sättigung der untersuchten Rezeptoren durch die nicht radioaktive Verbindung zu vermeiden.²⁰ Für radiofluorierte Verbindungen hat sich deswegen eine trägerarme (engl. *no carrier added, n. c. a.*) Produktion für ^{18}F bewährt.

Zur Synthese von trägerarmem [^{18}F]Fluorid wird die $^{18}\text{O}(p,n)^{18}\text{F}$ Kernreaktion verwendet. Hierzu wird ^{18}O -angereichertes Wasser mit Protonen bestrahlt. Unter Aussendung eines Neutrons entsteht [^{18}F]Fluorid, das im Targetwasser gelöst ist und prinzipiell direkt verwendet werden könnte. Die Nukleophilie des Fluorids wird jedoch durch die Solvatisierung im Wasser stark herabgesetzt, sodass vor einer Reaktion zunächst das Wasser entfernt werden muss. Um die Produktionskosten zu verringern, wird das ^{18}O -angereicherte Wasser zurückgewonnen und (nach erneuter Anreicherung) wiederverwendet.²⁹⁻³¹ Die molare Aktivität ist bei dieser Herstellungsmethode deutlich höher, da aktiv kein Träger zugesetzt werden muss. Jedoch kommt es während der Produktion, dem Transport und der anschließenden Radiosynthese zu einer unbeabsichtigten Verdünnung mit ^{19}F durch die verwendeten Materialien wie beispielsweise Teflonleitungen (bis zu 83 ng [^{19}F]Fluorid pro mL Targetwasser) oder Verunreinigungen im Targetwasser und Chemikalien (z. B. bis zu 0,6 μg [^{19}F]Fluorid pro mL 0,04 M K_2CO_3 -Lösung).^{16,17,32} Die Produktion von tatsächlich trägerfreiem (engl. *carrier-free, c. f.*) Fluor-18 ist nicht möglich.³²

1.1.3. Entwicklung eines Radioliganden für das ZNS

Die PET ermöglicht es, biologische Prozesse und Abläufe auf molekularer Ebene zu visualisieren. Neben der Detektion von Stoffwechselprozessen, ist so auch die Darstellung von Rezeptorkonzentrationen in unterschiedlichen Geweben möglich. Die gewählte Zielstruktur sollte selektiv den zu beobachtenden Prozess darstellen können. Im Fall von Stoffwechselprozessen wählt man idealerweise das natürliche Substratmolekül oder sehr ähnliche Verbindungen und markiert dieses radioaktiv. Abgesehen vom radioaktiven Zerfall sollte sich das markierte Molekül nahezu identisch zum natürlichen Substrat verhalten, um den Prozess realistisch abzubilden. Die

metabolische Stabilität der Verbindung ist hier jedoch oftmals ein limitierender Faktor. Bei Rezeptorsystemen, bei denen es darauf ankommt, die Dichte und Verteilung des Rezeptors im Gewebe abzubilden, können auch nicht natürlich vorkommende Moleküle als Tracer verwendet werden. So ist es hier häufiger bedingt möglich, Fluor, das in natürlichen, biologischen Molekülen nur selten vorkommt, aber dessen Isotop ^{18}F für die PET günstige Zerfalleigenschaften aufweist, in das Tracermolekül einzubauen.

Neben den physikalischen Zerfalleigenschaften des ^{18}F -Isotops, besitzt das Element Fluor weitere positive Eigenschaften, die es für die (radio)pharmazeutische Forschung interessant machen. Der van-der-Waals-Radius eines Fluoratoms liegt mit 1,47 Å zwischen den Radii von Wasserstoff (1,20 Å) und Sauerstoff (1,52 Å).³³ Daher ist es häufig formal möglich, in einer Verbindung Wasserstoff durch Fluor zu ersetzen und die grundlegenden Bindungseigenschaften dennoch zu erhalten. Von allen Elementen besitzt Fluor die größte Elektronegativität, was innerhalb einer Verbindung die elektronischen Eigenschaften wie beispielsweise das Dipolmoment oder den $\text{p}K_{\text{s}}$ -Wert verändert. Fluor ist außerdem ein starker Wasserstoffbrückenakzeptor.³³ Fluorierte Verbindungen weisen gegenüber ihren nicht fluorierten Pendants in der Regel eine erhöhte Lipophilie und wegen der starken Kohlenstoff-Fluor-Bindung häufig eine größere metabolische Stabilität auf.^{33,34} Letzteres ist für die Entwicklung von Radiotracer von besonderer Bedeutung, da in einer PET-Aufnahme nicht zwischen dem ursprünglichen Tracer und einem oder mehreren radiofluorierten Metaboliten unterschieden werden kann und die Auswertung somit deutlich erschwert wird.³⁵

Ist das biologische Target identifiziert, wird meist zuerst nach einer chemischen Leitstruktur gesucht. Neben den natürlichen Substraten oder Liganden des Targets können auch nicht natürliche Strukturen wie pharmazeutische Wirkstoffe als Leitstruktur dienen. In Datenbanken sind zu vielen möglichen biologischen Targets Substanzen, die mit dem Target interagieren, übersichtlich zusammengefasst (z. B. IUPHAR/BPS Guide to Pharmacology^{36,37}). Erfüllt die in den Bibliotheken genannte Struktur die prinzipiellen Anforderungen an einen Tracer, kann direkt eine Radiosynthesestrategie für diese Verbindung entwickelt werden. Meistens sind aber noch Optimierungen der Verbindung notwendig, da sich die Anforderungen an einen Radiotracer von denen an einen pharmazeutischen Wirkstoff unterscheiden. Die Verbindung sollte hochaffin und

selektiv an das zu untersuchende Rezeptorsystem binden und sich durch andere für das Rezeptorsystem spezifische Liganden kompetitiv verdrängen lassen.³⁸ Da Radiotracer unter n. c. a. Bedingungen in subnanomolaren Stoffmengen appliziert werden, muss eine hohe und schnelle Aufnahme der Verbindung im Gehirn sichergestellt sein.³⁵ Die unspezifische Bindung pharmazeutischer Wirkstoffe ist häufig hoch und die Auswaschkinetik zu langsam, um die Verbindung als Tracer zu verwenden.³⁵ Um das Signal-Rauschverhältnis in PET-Messungen zu optimieren, sollte die unspezifische Bindung an andere Rezeptoren oder andere Nicht-Targetgewebe als dem zu untersuchenden System dementsprechend möglichst gering und die Auswaschkinetik möglichst schnell sein.^{35,38} Auch die metabolische Stabilität muss ausreichend hoch sein, um zu verhindern, dass die PET-Aufnahme durch Wechselwirkung der radioaktiven Metaboliten verfälscht wird. Es muss also sichergestellt sein, dass weder im Gehirn radioaktive Metabolite gebildet werden noch die peripher gebildeten Radiometabolite die Blut-Hirn-Schranke überwinden.³⁵

Die Bioverfügbarkeit und das *in vivo* Verhalten vorherzusagen ist nahezu unmöglich. Mit „Lipinski's rule of five“ wurde 2001 ein Konzept zur Beurteilung der Bioverfügbarkeit und Hirngängigkeit von möglichen pharmazeutischen Wirkstoffen vorgestellt.³⁹ Demnach sind Stoffe, die die Blut-Hirn-Schranke überwinden können, häufig Verbindungen mit einer Masse von maximal 500 u. Außerdem sollte die Verbindung nicht mehr als fünf Wasserstoffbrückendonatoren oder zehn Wasserstoffbrückenakzeptoren besitzen und der log P-Wert sollte maximal 5 betragen.³⁹ Obwohl Parameter wie Molekulargewicht, log P-, log D- und pK_s -Werte Einfluss auf das *in vivo* Verhalten einer Verbindung haben, ist eine vollständige Vorhersage oder Berechnung nicht möglich.³⁵ Zur biologischen Evaluierung eines möglichen Radioliganden ist also eine Vielzahl von Untersuchungen notwendig. Die Dissoziationskonstante (K_i bzw. K_d) einer Verbindung beschreibt die Konzentration, bei der sich in einer Dissoziationsreaktion ein Gleichgewicht einstellt und dient als Maß für die Bindungsaffinität zum untersuchten Rezeptorsystem. Sie wird häufig in Competitionsexperimenten bestimmt. Dabei wird ein bereits charakterisierter Radioligand, der stark, aber reversibel an den untersuchten Rezeptor bindet, als Referenz eingesetzt und mit steigenden Konzentrationen der neuen, nicht-radioaktiven Verbindung verdrängt. Die Bindung des Radioliganden (mit bekanntem K_d -Wert) an das

Rezeptorprotein in Abhängigkeit der Konzentration der neuen Verbindung (L) liefert den IC_{50} -Wert, die Konzentration der neuen Verbindung, bei der die halbmaximale Besetzung des Rezeptors beobachtet wird. Aus dem IC_{50} -Wert kann dann mithilfe der Cheng-Prusoff-Gleichung die Dissoziationskonstante berechnet werden.^{38,40}

$$K_i = \frac{IC_{50}}{1 + \frac{L}{K_d}}$$

K_i	Dissoziationskonstante der zu untersuchenden Verbindung
K_d	Dissoziationskonstante des Radioliganden
L	Konzentration des Radioliganden

Wird ein Kandidat mit möglichst geringer Dissoziationskonstante entsprechend einer sehr hohen Bindungsaffinität gefunden, wird eine Radiomarkierungsstrategie erarbeitet und weitere Experimente zur biologischen Evaluierung durchgeführt. Neben dem eigentlichen Markierungsschritt muss auch die Reinigung des Liganden optimiert werden, damit beides in möglichst kurzer Zeit durchgeführt werden kann. Da spätestens für den Einsatz am Menschen so hohe Aktivitätsmengen benötigt werden, dass eine manuelle Synthese wegen der hohen Strahlenexposition für den Experimentator unmöglich ist, sollte schon früh eine Automatisierung der Radiotracerproduktion angestrebt werden. Auch eine Methode zur Qualitätskontrolle der Radiotracer muss erarbeitet werden. Wegen der geringen produzierten Stoffmengen und der Gefahr der radioaktiven Kontamination, stehen viele der klassischen analytischen Methoden, wie NMR und Massenspektrometrie, nicht zur Verfügung. Um einen Radiotracer zu analysieren, wird also die nicht radioaktiv markierte Referenzverbindung mittels klassischer Methoden zunächst vollständig charakterisiert. Der Radiotracer wird dann mit der Referenzverbindung koinjiziert, um die Retentionszeiten des radioaktiven Liganden mit dem nicht radioaktiven Referenzverbindung chromatographisch zu vergleichen.^{16,17} Der isolierte Radiotracer muss abschließend formuliert werden, um ihn in eine injizierbare Form zu überführen.

Mit der radioaktiv markierten Verbindung werden weitere *in vitro* Versuche durchgeführt. In Autoradiographien werden Gewebeschnitte mit dem Radiotracer

inkubiert. Durch die Anreicherung des Tracers in den Regionen des Gewebeschnittes, die das untersuchte Rezeptorsystem stark exprimieren, wird die Selektivität und die Bindungskinetik untersucht. Durch Verdrängung des Radiotracers mit einem hochaffinen und selektiven Tracer wird außerdem überprüft, inwiefern die Bindung an den Rezeptor reversibel ist und wie hoch der unspezifische Bindungsanteil ist.³⁵ In Zell-Aufnahme-Experimenten kann überprüft werden, ob der Tracer von einer bestimmten Zelllinie (z. B. für bestimmte Tumore) aufgenommen wird, indem der Anteil der von den Zellen aufgenommenen Radioaktivität bestimmt wird.³⁵ Die Hirngängigkeit kann ebenfalls in *in vitro* Modellen abgeschätzt werden.^{35,41}

Nachdem die grundsätzlichen Bindungseigenschaften des Radioliganden *in vitro* untersucht und positiv bewertet wurden, folgt dann die präklinische Evaluierung im Tiermodell mittels PET. Als Tiermodelle werden entweder gesunde Wildtypen, oder genetisch manipulierte sowie Tumormodelle eingesetzt. Auch können Schlaganfall-Modelle durch die stereotaktische Injektion eines Neurotoxins erzeugt werden.⁴² Neben den Bindungseigenschaften und der Durchgängigkeit durch die Blut-Hirn-Schranke werden ergänzend auch metabolische Studien durchgeführt. Dazu werden Blutproben entnommen, die nach Aufarbeitung chromatographisch auf Radio-Metabolite untersucht werden. Eine eventuelle Defluorierung, die bei radiofluorierten Tracern häufig auftritt, kann hierbei direkt in der PET-Aufnahme beobachtet werden, da sich das freigesetzte [¹⁸F]Fluorid im Knochengewebe anreichert. In Finalversuchen wird das Tier nach Ende der Messung geopfert und zusätzlich die Verteilung des Radiotracers in den einzelnen Organen untersucht.⁴² Schließlich werden auch Versuche zur Dosimetrie und Toxikologie der Verbindung durchgeführt. Erst nach erfolgreicher präklinischer Evaluierung des neuen Radioliganden können erste Experimente am Menschen durchgeführt werden.

1.2. Radiofluorierungsmethoden

Die kurze Halbwertszeit der meisten PET-Nuklide stellt für die Synthese von Radiotracern eine große Herausforderung dar. In der Praxis hat sich eine Produktionszeit

von drei Isotopenhalbwertszeiten nach dem Ende der Bestrahlung bewährt. Innerhalb dieser Zeit sollte der Radiotracer synthetisiert, gereinigt, formuliert und gegebenenfalls zum Patienten transportiert werden. Die Markierung erfolgt im Idealfall im letzten Syntheseschritt und die Reaktionszeit sollte so kurz wie möglich ausfallen, um Ausbeuteverluste durch den Zerfall des Radionuklids gering zu halten. Dadurch, dass nur piko- bis nanomolare Mengen des Radionuklids hergestellt werden und es zu einer Verdünnung mit stabilen Isotopen kommt, liegen während der Radiomarkierungsreaktion Reaktionskinetiken pseudo-erster Ordnung bezüglich des Radionuklids vor. Dies führt dazu, dass Reaktionen, die in makroskopischen Stoffmengen Stunden dauern würden, so nur Minuten oder Sekunden benötigen. Allerdings bedeutet dies auch, dass die Reaktionen sehr anfällig gegenüber kleinsten Mengen an Verunreinigungen sind. Zur Steigerung der Effizienz der Radiosynthesen und zur Verringerung der Reaktionszeit werden zusätzlich in der Regel spezielle miniaturisierte Apparaturen und moderne Techniken wie Mikrowellenbestrahlung, Ultraschallbehandlungen und Mikrofluidmethoden eingesetzt.^{16,17}

Ein wichtiges Maß für die Effizienz einer Radiosynthese ist die radiochemische Ausbeute (RCA). Sie beschreibt den Anteil der Startaktivität, der sich nach Abschluss des Prozesses im Produkt befindet. Start- und Produktaktivität beziehen sich dabei immer auf dasselbe Radionuklid und werden auf denselben Zeitpunkt zerfallskorrigiert.²⁸ Definitionsgemäß müsste eine RCA also immer durch Isolierung des Produktes bestimmt werden. In der Praxis wird die RCA jedoch häufig über chromatographische Verfahren wie Radio-Dünnschichtchromatographie (Radio-DC) oder Radio-Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (Radio-HPLC, von engl.: *high performance liquid chromatography*) gemessen. Hierzu wird ein Aliquot des Rohprodukts entnommen und der Anteil des gewünschten Produkts innerhalb dieser Teilmenge bestimmt. Der Begriff „radiochemische Ausbeute“ ist hier ebenfalls zulässig.²⁸ Es muss jedoch beachtet werden, dass nur der Produktgehalt innerhalb der Reaktionslösung bestimmt wird. Aktivitätsverluste, zum Beispiel durch Adsorption an der Gefäßwand oder an Partikeln, die unter Umständen während der Reaktion entstehen, werden so nicht abgebildet. Außerdem muss bei der Verwendung von Radio-HPLC sichergestellt sein, dass die injizierte Aktivität, insbesondere nicht reagiertes [¹⁸F]Fluorid, von der Säule eluiert wird. In den letzten Jahren wurden viele

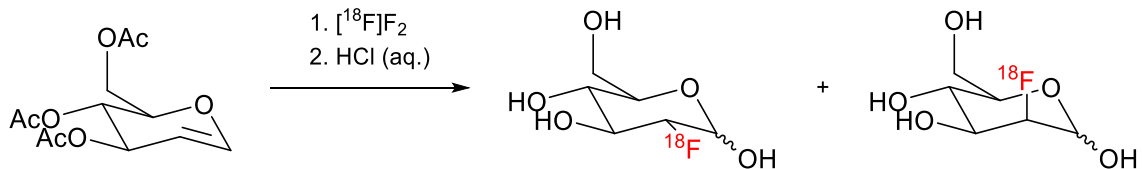
Radiofluorierungsmethoden entwickelt, von denen die wichtigsten im Folgenden vorgestellt werden sollen.

1.2.1. Elektrophile Radiofluorierung

Die elektrophile Radiofluorierung mit $[^{18}\text{F}]\text{F}_2$ hat eine große historische Bedeutung, birgt aber im Allgemeinen zwei Nachteile. Erstens werden, wie bereits beschrieben, produktionsbedingt geringe Mengen Träger zugesetzt, was zu radiofluorierten Produkten mit geringer molarer Aktivität führt. Dies führt auch dazu, dass die theoretische, maximal mögliche RCA 50 % beträgt, da immer nur ein Fluoratom in $[^{18}\text{F}]\text{F}_2$ radioaktiv ist. Solange nur ein Fluoratom in den Tracer eingebaut wird, geht also statistisch jedes zweite ^{18}F -Nuklid als Nebenprodukt verloren. Zweitens ist das verwendete $[^{18}\text{F}]\text{Fluorgas}$ so reaktiv, dass häufig zahlreiche radiofluorierte Nebenprodukte entstehen, was die radiochemische Ausbeute verringern und die Isolierung des gewünschten Produkts erschweren kann. Um dies zu umgehen, wurden weniger reaktive elektrophile Radiofluorierungsreagenzien wie $[^{18}\text{F}]\text{Acetylhypofluorit}$ oder $[^{18}\text{F}]\text{Fluor-}N\text{-sulfonamide}$ entwickelt.^{16,17,43,44}

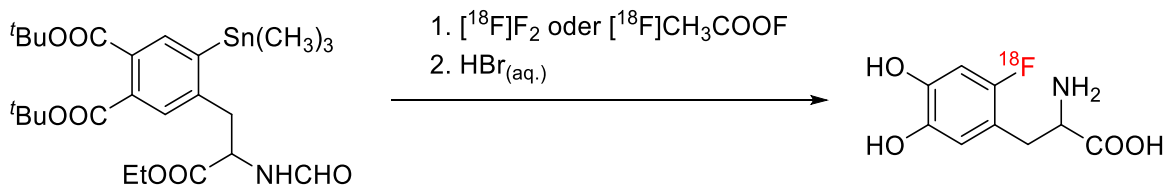
$[^{18}\text{F}]\text{Fluor-2-desoxy-D-glucose}$ ($[^{18}\text{F}]\text{FDG}$) ist der am häufigsten verwendete Radiotracer in der Positronen-Emissions-Tomographie. Dabei handelt es sich um ein fluoriertes Analogon von D-Glucose und ermöglicht als solches die Untersuchung vieler Stoffwechselprozesse, an denen Glucose beteiligt ist. $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$ wird zwar von den Zellen wie Glucose aufgenommen, jedoch wird es nicht vollständig verstoffwechselt. Das bei der intrazellulären Phosphorylierung gebildete $[^{18}\text{F}]\text{FDG-6-Phosphat}$ kann nicht weiter metabolisiert oder aus der Zelle ausgeschleust werden und reichert sich so in der Zelle an. Durch den Warburg-Effekt weisen Krebszellen einen erhöhten Glucosebedarf auf und können so wegen der metabolischen Anreicherung (engl.: *metabolic trapping*) des Tracers mittels $[^{18}\text{F}]\text{FDG-PET}$ visualisiert werden.⁴⁵ Die erste Radiosynthese von $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$ erfolgte 1978 mittels elektrophiler Addition von $[^{18}\text{F}]\text{F}_2$ an die Doppelbindung in 3,4,6-tri-O-acetyl-D-glucal und anschließender Hydrolyse mit Salzsäure.⁴⁶ Wegen der geringen radiochemischen Ausbeuten von 8 % und der großen Anzahl an radiochemischen

Nebenprodukten wurde die Radiofluorierung in den folgenden Jahren weiterentwickelt. Durch die Verwendung von [^{18}F]Acetylhypofluorit als Radiofluorierungsreagenz konnte [^{18}F]FDG in deutlich verbesserten radiochemischen Ausbeuten von 20-25 % synthetisiert werden.^{47,48}



Schema 1: Elektrophile Radiofluorierung von [^{18}F]FDG mit [^{18}F]F₂.

Für elektrophile Radiofluorierungen am Aromaten werden als Vorläufer häufig Organozinnverbindungen eingesetzt. Die Verwendung von Stannyl-Abgangsgruppen ermöglicht trotz des Einsatzes des reaktiven [^{18}F]Fluorgases eine selektive Radiosynthese der entsprechenden [^{18}F]fluorhaltigen Verbindungen.⁴⁹ Ein prominentes Beispiel für eine solche Radiofluorierungsreaktion ist die Synthese von 6- ^{18}F -Fluor-L-dihydroxyphenylalanin (6- ^{18}F FDOPA), einer nicht-proteinogenen Aminosäure, die zur Diagnose von neuroendokrinen Tumoren und zur Untersuchung des dopaminergen Systems eingesetzt wird.⁵⁰



Schema 2: Elektrophile Radiofluorierung von 6- ^{18}F FDOPA.

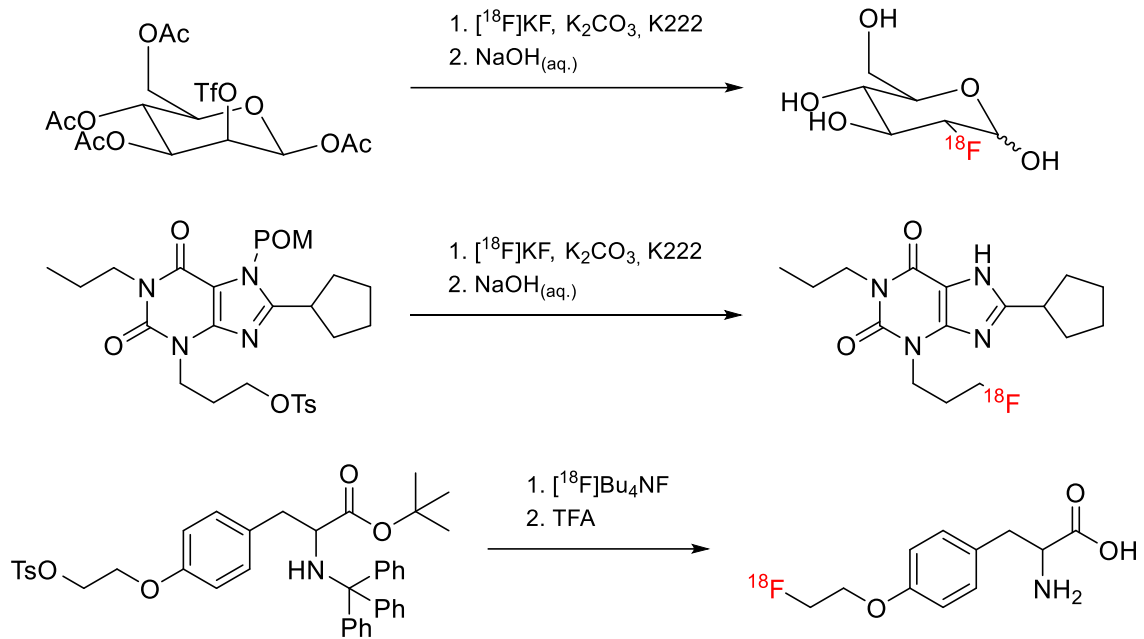
1.2.2. Nukleophile Radiofluorierungsmethoden

Die nukleophile Radiofluorierung besitzt gegenüber der elektrophilen einige Vorteile und gewinnt daher stetig an Bedeutung. Das nukleophile [^{18}F]Fluorid wird als wässrige Lösung erhalten. Da die Reaktivität des Fluorids infolge der Solvatation durch die Wassermoleküle sehr stark herabgesenkt wird, muss vor einer Reaktion das Wasser in der Regel entfernt werden. In der Regel ist auch die Verwendung eines Anionenaktivators, durch den die Nukleophilie zusätzlich erhöht wird, notwendig. Zur Vorbereitung wird das [^{18}F]Fluorid in einem ersten Schritt auf einer Anionenaustauscherkartusche fixiert. Das kostenintensive ^{18}O -angereicherte Wasser wird dabei abgetrennt und kann für erneute Bestrahlungen wiederverwendet werden.³⁰ Das fixierte Fluorid wird anschließend mit einer basischen Lösung aus Carbonat-Anionen in Acetonitril und Wasser eluiert. Radioaktive Verunreinigungen, die bei der Bestrahlung entstehen können, verbleiben dabei auf der Kartusche und sind somit auch im Endprodukt nicht enthalten.^{51,52} Im Anschluss wird das Wasser durch mehrfache azeotrope Trocknung unter vermindertem Druck und Schutzgas schließlich vollständig entfernt, sodass trockenes [^{18}F]Fluorid vorliegt. Durch die Verwendung von Basen mit weichen Kationen wie Cs^+ , Phasentransferkatalysatoren wie Tetraalkylammoniumsalze oder makrocyclischen Kaliumkomplexen mit [2.2.2]Kryptand (Kryptofix®222) wird die Nukleophile des [^{18}F]Fluorids gesteigert und so die Reaktivität erhöht. Außerdem wird so die Löslichkeit des [^{18}F]Fluorids im organischen Lösungsmittel erhöht. Diese konventionelle Trocknungsmethode nimmt mit 20-30 Minuten vergleichsweise viel Zeit in Anspruch, sodass sich durch den radioaktiven Zerfall des ^{18}F die Ausbeute deutlich verringert.

Um den Trocknungsvorgang zu verkürzen, wurden im Laufe der Zeit weitere, weniger zeitintensive Methoden entwickelt. Nach Fixierung des [^{18}F]Fluorids auf der Anionenaustauscherkartusche wird diese mit trockenem Lösungsmittel gespült, um das verbliebene Wasser zu entfernen. Anschließend wird das [^{18}F]Fluorid mit einer nicht wässrigen, basischen Lösung eluiert und kann ohne weitere Trocknungsschritte verwendet werden. Um das [^{18}F]Fluorid in zufriedenstellender Menge zu eluieren, werden jedoch große Mengen an Base benötigt, die gegebenenfalls die

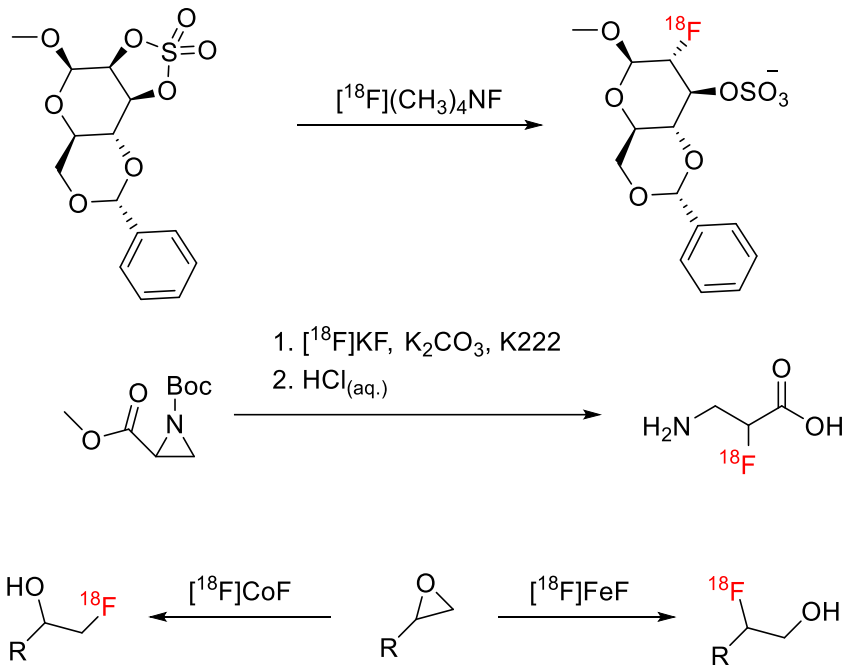
Radiofluorierungsreaktion beeinträchtigen können. Außerdem werden bei diesen Methoden in der Regel deutlich größere Vorläufermengen gebraucht, um ähnlich gute RCAs wie mit der konventionellen Trocknungsmethode zu erhalten.^{53–55} Mit der minimalistischen Methode wurde schließlich erstmals gezeigt, dass auf den Gebrauch von Base und Kryptanden verzichtet werden kann, wenn Onium-Vorläufer, wie Ammonium-, Sulfonium- oder Iodonium-Salze, gelöst in Alkoholen zum Eluieren des [¹⁸F]Fluorids eingesetzt werden.⁵⁶

Das vorbereitete nukleophile [¹⁸F]Fluorid wird schließlich über unterschiedliche Methoden in die Zielverbindungen eingeführt. So erfolgt die Radiofluorierung an Aliphaten mit [¹⁸F]Fluorid nach dem S_N2-Mechanismus, bei dem die eingesetzten Vorläuferverbindungen eine nukleofuge Abgangsgruppe wie Sulfonsäureester (z. B. Tosylate oder Triflate) oder Halogene besitzen. Funktionelle Gruppen, die unter basischen Bedingungen deprotoniert werden könnten und somit Nebenreaktionen mit dem [¹⁸F]Fluorid auslösen könnten, werden durch Schutzgruppen inaktiviert. Als Reaktionsmedium werden aprotische, polare Lösungsmittel wie *N,N*-Dimethylformamid, Dimethylsulfoxid oder Acetonitril gewählt, in denen das getrocknete [¹⁸F]Fluorid in Gegenwart eines Anionenaktivators (z. B. Kryptofix[®]222/K₂CO₃) gelöst wird. Wegen der verglichen mit der elektrophilen Radiofluorierung höheren radiochemischen Ausbeuten und der deutlich erleichterten Handhabung der nukleophilen Reaktion wird [¹⁸F]FDG heute hauptsächlich ausgehend von 1,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl-2-*O*-trifluormethansulfonyl-β-D-mannopyranose (Mannose-Triflat) über diese Radiomarkierungsmethode und anschließender Entschützung der Hydroxygruppen gewonnen.⁵⁷ Weitere Anwendungsbeispiele für diese Markierungsmethode sind die Radiosynthesen des Tyrosin-Derivats *O*-(2-[¹⁸F]Fluorethyl-L-tyrosin ([¹⁸F]FET) und des Adenosin-A₁-Rezeptorliganden 8-Cyclopentyl-3-(3-[¹⁸F]fluorpropyl)-1-propylxanthin ([¹⁸F]CPFPX).^{58,59}



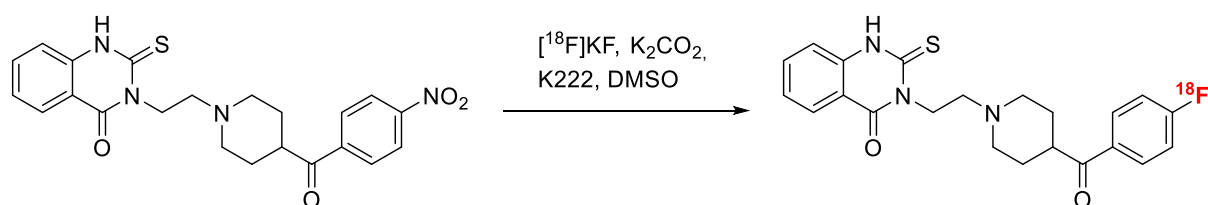
Schema 3: Nukleophile Radiofluorierung von $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$ (I), $[^{18}\text{F}]\text{CPFPX}$ (II) und $[^{18}\text{F}]\text{FET}$ (III) unter Verwendung unterschiedlicher Anionenaktivatorsysteme.

Die aliphatische Radiofluorierung ist auch über verschiedene Ringöffnungsreaktionen möglich. Die Verwendung eines cyclischen Sulfats als Vorläufer für die $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$ -Synthese wurde bereits erstmals 1983 vorgeschlagen und schließlich 1988 durchgeführt.^{60–62} Die radiofluorierte Aminosäure α - $[^{18}\text{F}]\text{Fluor}$ - β -alanin konnte über die nukleophile Ringöffnung eines aktivierten Aziridin-2-carboxylats regioselektiv hergestellt werden.⁶³ Auch Epoxide konnten bereits unter Verwendung der Übergangsmetalle Cobalt und Eisen erfolgreich unter Ringöffnung radiofluoriert werden.^{64,65}



Schema 4: Aliphatische Radiofluorierungen mittels Ringöffnungsreaktion unter Verwendung von cyclischen Sulfaten (I), Aziridinen (II) und Epoxiden (III).

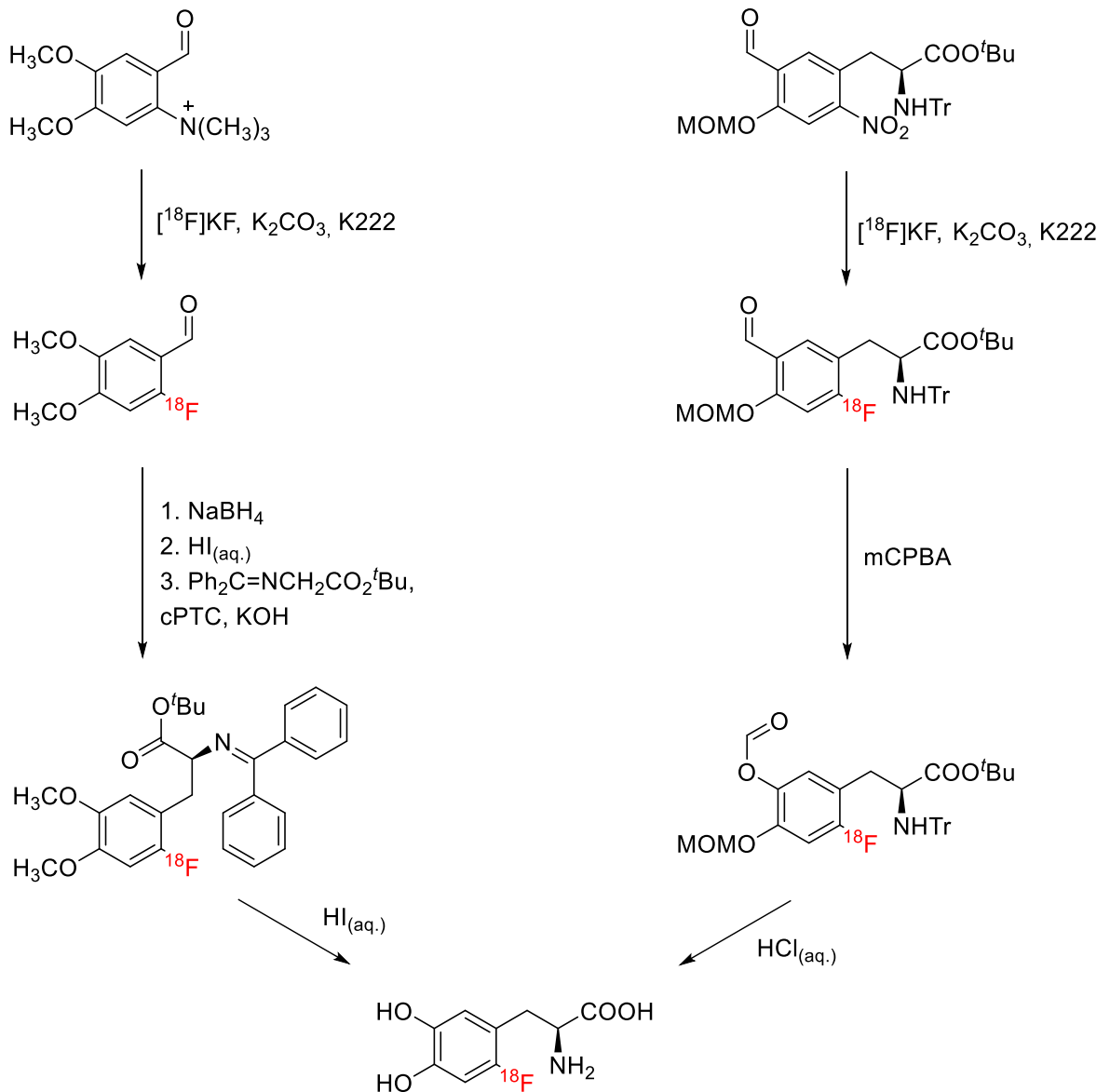
Für aromatische Radiofluorierungen über den $\text{S}_{\text{N}}\text{Ar}$ -Mechanismus werden ebenfalls Vorläuferverbindungen mit entsprechenden Abgangsgruppen benötigt. Als Abgangsgruppen eignen sich Nitro-, Trialkylamin-, Halogen- oder Sulfonatreste. Um den Aromaten zusätzlich zu aktivieren, sollte sich in *ortho*- oder *para*-Stellung zur Abgangsgruppe eine elektronenziehende Gruppe (EWG, von engl. *electron withdrawing group*) mit starken negativen induktiven und/oder mesomeren Effekten (-I- bzw. -M-Effekt), wie z. B. Carbonyl- oder Carboxylgruppen, befinden. Die eigentliche Radiofluorierung findet analog zur aliphatischen Radiofluorierung unter basischen Bedingungen und Verwendung eines Kryptanden und trockenen $[^{18}\text{F}]\text{Fluorids}$ statt. Auch hier müssen gegebenenfalls andere funktionelle Gruppen zuvor geschützt und die Schutzgruppe nach der Radiofluorierung wieder abgespalten werden.⁶⁶ Durch diese Methode wird beispielsweise $[^{18}\text{F}]\text{Altanserin}$, ein Radioligand für den $\text{HT}_{2\text{A}}$ -Neurorezeptor, ausgehend von der entsprechenden Nitro-Verbindung, radiofluoriert.⁶⁷



Schema 5: Aromatische Radiofluorierung von [^{18}F]Altanserin nach dem $\text{S}_{\text{N}}\text{Ar}$ -Mechanismus.

Die nukleophile Radiofluorierung über den $\text{S}_{\text{N}}\text{Ar}$ -Mechanismus ermöglicht die Markierung nur für elektronenarme Aromaten. Durch eine mehrstufige Synthesestrategie, bei der die aktivierende, elektronenziehende Gruppe im Anschluss an den Radiofluorierungsschritt abgespalten oder verändert wird, gelingt auch aber auch die Markierung nicht aktivierter Aromaten. Beispiele für die Anwendung einer solchen mehrstufigen nukleophilen Radiofluorierung nach dem $\text{S}_{\text{N}}\text{Ar}$ -Mechanismus sind die Synthesen der radiofluorierten Aminosäuren 2- ^{18}F Fluor-L-phenylalanin (2- ^{18}F FPhe) und 2- ^{18}F Fluor-L-tyrosin (2- ^{18}F FTyr). Bei der Radiosynthese – bestehend aus einem Isotopenaustausch des Fluorids mit anschließender Abspaltung der aktivierenden Gruppe und Hydrolyse des chiralen Auxiliars – wurden 2- ^{18}F FPhe und 2- ^{18}F FTyr in radiochemischen Ausbeuten von 43 % bzw. 49 % erhalten.⁶⁸

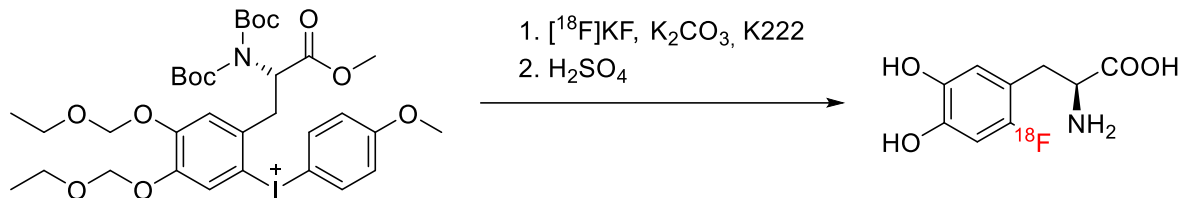
Auch für das bereits über elektrophile Radiofluorierungsmethoden zugängliche 6- ^{18}F FDOPA wurde eine mehrstufige, trägerarme Produktion entwickelt.^{69–71} Das im ersten Schritt über eine nukleophile Radiofluorierung erhaltene ^{18}F Fluorbenzaldehyd-Derivat wird zunächst zur entsprechenden Hydroxy-Verbindung reduziert, um danach zum entsprechenden ^{18}F Fluorbenzylbromid oder -iodid umgesetzt zu werden.^{69,70} Nach Aufreinigung des Intermediats wird dieses in einer phasentransferkatalysierten Reaktion enantioselektiv alkyliert.^{71,72} Durch Hydrolyse der Schutzgruppen und daran anschließender präparativen HPLC-Reinigung wird 6- ^{18}F FDOPA mit einem hohen Enantiomerenüberschuss von 96 % erhalten.⁷¹ Eine alternative dreistufige Produktionsroute geht von einer chiralen Vorläuferverbindung aus, dessen aktivierende Aldehydfunktion nach dem Radiomarkierungsschritt in einer Baeyer-Villiger-Reaktion oxidiert wird.⁷³ Die anschließende Abspaltung der Schutzgruppen liefert schließlich 6- ^{18}F FDOPA in radiochemischen Ausbeuten von 20 % in einem Zeitraum von 114 min.⁷⁴



Schema 6: Nukleophile Produktion von 6-[¹⁸F]FDOPA über fünf (links) bzw. drei (rechts) Stufen.

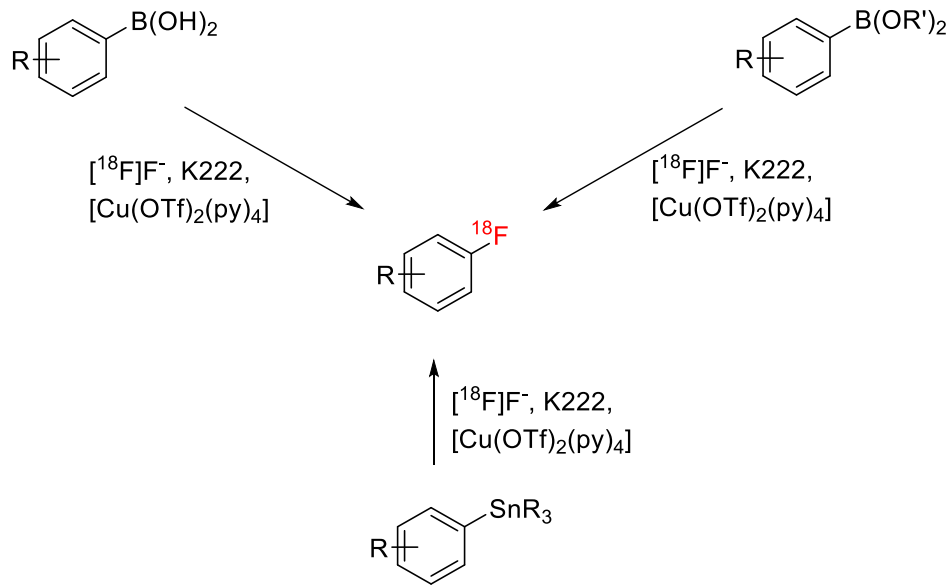
Ein großer Nachteil von mehrstufigen Synthesen ist – neben der oftmals langen Versuchsführung und den damit verbundenen Ausbeuteverlusten durch radioaktiven Zerfall – die aufwendige Automatisierbarkeit solcher Prozesse.⁶⁶ Aus diesem Grund wurden für die Markierung nicht aktivierter und elektronenreicher Aromaten weitere, ein- bis zweistufige Synthesen entwickelt. Durch die Verwendung von Diaryliodoniumsalzen als Vorläufer konnten bereits 1995 einige einfache Aromaten erfolgreich radiofluoriert werden, die für die Synthese von Radiotracern verwendet

werden konnten.^{66,75} Dabei addiert das [¹⁸F]Fluorid zunächst an das Iod und reagiert anschließend mit dem elektronenärmeren Aromaten, während der elektronenreichere Aromat iodiert wird.⁷⁶ Neben Modellverbindungen oder Synthesebausteinen konnten schließlich auch klinisch relevante Tracer wie 6-[¹⁸F]FDOPA und [¹⁸F]UCB-H erfolgreich über diese Methode synthetisiert werden.^{66,77,78}



Schema 7: Radiofluorierung von 6-[¹⁸F]FDOPA unter Verwendung eines Iodonium-Vorläufers.

Eine dritte Methode zur Markierung von Aromaten stellt die Radiofluorierung über übergangsmetallvermittelte Reaktionen dar. Im Gegensatz zu anderen Methoden ist hierbei auch die Markierung elektronenreicher Aromaten möglich. Die Radiomarkierung kann also, abgesehen von der Hydrolyse eventueller Schutzgruppen, im letzten Schritt (engl. *late-stage*) der Synthese erfolgen. In ersten Versuchen dieser Art wurde das nukleophile Fluorid durch Verwendung eines Palladiumkomplexes zu einem elektrophilen Reagenz umgepolt und anschließend mit einem Arylvorläufer umgesetzt.⁷⁹ Es folgten Arbeiten mit Nickelkomplexen, bevor schließlich kupfervermittelte Methoden vorgestellt wurden.^{80,81} Durch die Verwendung von Tetrakis(pyridin)kupfer(II)-triflat konnten Boronsäure-, Boronsäurepinakolester- und Stannylvorläufer mit [¹⁸F]Fluorid erfolgreich zu den entsprechenden fluorierten Aromaten umgesetzt werden.^{82–87}



Schema 8: Kupfervermittelte Radiofluorierung von Boronsäure-, Boronsäureester- und Stannylvorläufern.

Für Makromoleküle und Peptide haben sich indirekte Radiofluorierungsmethoden bewährt. Durch die Komplexität der Zielverbindungen würde eine direkte Radiofluorierung häufig zu einer großen Anzahl an Nebenprodukten führen oder die Verbindung würde harschen Reaktionsbedingungen nicht tolerieren. Um dies zu umgehen, wird die nukleophile Radiofluorierungsreaktion getrennt von der eigentlichen Markierung des Tracers durchgeführt. Praktisch gelingt dies durch die Radiofluorierung kleinerer Bausteine, so genannter prosthetischer Gruppen, die im zweiten Schritt zur eigentlichen Zielverbindung umgesetzt werden.^{16,17} Die prosthetischen Gruppen sind meist kleine, einfache Moleküle, die über die bereits vorgestellten Radiofluorierungsreaktionen mit $[\text{}^{18}\text{F}]\text{Fluorid}$ markiert werden. Eine zweite funktionelle Gruppe dient dann der Kopplung des fluorierten Bausteins mit dem eigentlichen Tracer. Abhängig von der funktionellen Gruppe, die in dem Makromolekül oder Peptid markiert werden sollen, steht hierzu eine Vielzahl von Reaktionen zur Verfügung, die jedoch zwingend unter milden Reaktionsbedingungen, also bei niedrigen Temperaturen und neutralen pH-Werten, ablaufen sollte.⁸⁸

1.3. Adenosinrezeptoren als Target für die molekulare Bildgebung

Das Nucleosid Adenosin hat im menschlichen Organismus eine Vielzahl an Aufgaben. Es besteht aus der Purinbase Adenin und dem Zucker β -D-Ribose. Als Bestandteil von ATP, ADP und AMP ist es am Energiestoffwechsel jeder Zelle beteiligt. Außerdem ist es Bestandteil der Nucleinsäuren DNA und RNA und verschiedener lebensnotwendiger Cofaktoren (z. B. Coenzym A und NADPH). Extrazelluläres Adenosin ist ein Regulator vieler physiologischer Prozesse.^{89,90} So reguliert es die Vasodilatation und Vasokonstriktion, Kontraktionen des Herzens und dadurch letztendlich den Blutfluss.⁹¹ Auch ist es an der Bildung neuer Blutgefäße und T-Zellen beteiligt und stimuliert die Bronchokonstriktion.^{89,90} Adenosin inhibiert außerdem die Lipolyse und ist an Entzündungsprozessen und der Wundheilung beteiligt.^{89,92,93} Im menschlichen Gehirn wird Adenosin sowohl von Neuronen als auch von Gliazellen freigesetzt. Als Neuromodulator ist es für Auf- und Abgabe von Neurotransmittern, die neuronale Erregbarkeit und die Plastizität der Synapsen verantwortlich. Im Falle von Verletzungen oder Hypoxie löst es neuroprotektive Reaktionen aus.⁹⁴ Es hat auch Einfluss auf den Schlaf-Wach-Rhythmus und das Gedächtnis und sorgt für die Ausschüttung von Zytokinen.^{89,95,96}

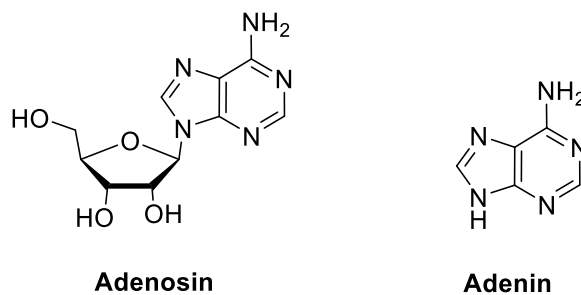


Abbildung 3: Strukturen von Adenosin und Adenin.

Extrazelluläres Adenosin wird durch den Abbau von ATP in mehreren Stufen gebildet. Die Verstoffwechslung von Adenosin erfolgt entweder durch Phosphorylierung mithilfe der Adenosin-Kinase zu AMP oder durch Desaminierung mithilfe der Adenosin-

Desaminase zu Inosin. Durch Nukleosid-Transporter kann Adenosin, wie auch andere Nukleoside, sowohl aus der Zelle heraus als auch hinein geschleust werden.⁹⁷ Die Konzentration von extrazellulärem Adenosin liegt im Gehirn normalerweise im Bereich von 10^{-8} bis 10^{-7} M, kann sich jedoch durch bestimmte Ereignisse wie Verletzungen oder Krankheiten ändern.^{90,97}

1.3.1. Adenosinrezeptoren

Die Aktionen von extrazellulärem Adenosin werden durch die an den Oberflächen der Zellen exprimierten, G-Protein-gekoppelten Adenosinrezeptoren gesteuert. Bisher sind vier Subtypen bekannt, die erstmals 1980 beschrieben und von denen zwei 1989 kloniert wurden.^{98,99} Die einzelnen Typen A_1R , $A_{2A}R$, $A_{2B}R$ und A_3R sind in unterschiedlichen Geweben verschieden stark exprimiert und weisen zudem unterschiedliche Affinitäten zu Adenosin auf. Während A_1R und $A_{2A}R$ schon bei geringen Adenosinkonzentrationen (10^{-7} M) reagieren, haben $A_{2B}R$ und A_3R geringere Affinitäten (10^{-5} – 10^{-6} M). Letztere werden also nur adressiert, wenn eine Schädigung des Gewebes auftritt und die Adenosinkonzentration somit steigt. Die Subtypen unterscheiden sich auch in ihren Selektivitäten zu Agonisten und Antagonisten.⁹⁰

Als einen Agonisten bezeichnet man eine Verbindung, die bei Bindung an einen Rezeptor die Signaltransduktion in die jeweilige Zelle aktiviert.¹⁰⁰ Durch einen Synergisten kann die Wirkung eines Agonisten zusätzlich erhöht werden. Ein Antagonist hingegen bindet an einen Rezeptor, ohne selbst eine Reaktion auszulösen.¹⁰⁰ Antagonisten können kompetitiv an den Rezeptor binden, wobei sie durch höhere Agonistenkonzentrationen verdrängt werden. Sie können sich aber auch nichtkompetitiv, also beispielsweise an einer anderen Bindungsstelle als der Agonist oder durch eine irreversible Bindung, anlagern.¹⁰⁰

Die Verteilung der einzelnen Subtypen in den unterschiedlichen Geweben ist in Tabelle 2 zusammengefasst. Während A_1R und $A_{2A}R$ im gesamten Körper exprimiert werden, sind $A_{2B}R$ und A_3R deutlich weniger häufig zu finden. Im Gehirn kommen hauptsächlich A_1R und $A_{2A}R$ vor, wobei A_1R ubiquitär in Cortex, Hippocampus, Cerebellum und Thalamus

exprimiert wird.¹⁰¹ Die Konzentration von A_{2A}R ist im Corpus striatum am höchsten, er kommt aber auch im Nucleus accumbens und Tuberculum olfactorium vor.^{101,102}

Tabelle 2: Unterschiedliche Gewebeverteilung und Effektorsysteme der einzelnen Adenosinrezeptor-Subtypen.^{101,102}

	A₁R	A_{2A}R	A_{2B}R	A₃R
Gewebe- verteilung	<ul style="list-style-type: none"> • Gehirn (Cortex, Hippocampus, Cerebellum Thalamus) • Rückenmark • Hoden • Weißes Fettgewebe • Herz • Niere 	<ul style="list-style-type: none"> • Gehirn (Striatum, Nucleus accumbens, Tuberculum olfactorium) • Herz • Lunge • Thymus • Milz • Weißes Fettgewebe 	<ul style="list-style-type: none"> • Pars tuberalis • Dickdarm • Blase 	<ul style="list-style-type: none"> • Lunge • Leber • Plazenta <p>Seltener:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Gehirn • Aorta • Niere • Hoden • Herz
Effektor- system	Adenylylcyclase ↓cAMP Phosphorlipase C ↑PLC	Adenylylcyclase ↑cAMP	Adenylylcyclase ↑cAMP Phosphorlipase C ↑PLC	Adenylylcyclase ↓cAMP Phosphorlipase C ↑PLC

Die Subtypen der Adenosinrezeptoren unterscheiden sich auch in ihren Signalwegen in die entsprechende Zelle und den Regulierungsmechanismen. Der A₁R inhibiert bei Aktivierung durch Adenosin die Adenylylcyclase unter Verwendung von Pertussin-Toxinsensitiven G_i-Proteinen und erhöht daraus resultierend die Aktivität der Phospholipase C.¹⁰² Beim A_{2A}R wird die Aktivität der Adenylylcyclase erhöht. Im Striatum werden die Aktionen des A_{2A}R durch G_{oif}-Proteine vermittelt, während sie bei peripheren A_{2A}R von G_s-Proteinen gesteuert werden.¹⁰² Der A_{2B}R aktiviert sowohl die

Adenylylcyclase als auch die Phospholipase C durch G_q-Proteine. Der A₃R hingegen inhibiert die Adenylylcyclase, stimuliert Phospholipase C und mobilisiert Calcium.¹⁰²

1.3.2. Veränderungen der A_{2A}R-Expression durch verschiedene Erkrankungen

Der A_{2A}R vermittelt die Aktionen von extrazellulärem Adenosin sowohl im ZNS als auch in peripheren Geweben. Im Gehirn werden A_{2A}R auf prä- und postsynaptischen Neuronen exprimiert und regeln dort unter anderem die Freisetzung von neuronalem Glutamat und die Reaktivität der Gliazellen.¹⁰³ Sie sind im Verbund mit Dopamin-D₂-Rezeptoren lokalisiert. Stimulation der A_{2A}R sorgt durch Intramembran- und antagonistische Wechselwirkung für eine verringerte Affinität der D₂-Rezeptoren.¹⁰⁴ Dadurch haben A_{2A}R auch Einfluss auf die motorische Kontrolle, das Gedächtnis und das Lernen.¹⁰⁵ Auch auf Leukozyten, Thrombozyten und im koronaren Gefäßsystem werden A_{2A}R stark exprimiert und sind als Teil des Immunsystems an Entzündungsprozessen, Blutgerinnung und der Regelung des Blutflusses beteiligt.¹⁰³

Viele neurodegenerative und neuropsychiatrische Erkrankungen gehen mit einer veränderten Expression der A_{2A}R im Striatum, anderen Teilen des Gehirns oder Blutzellen einher. Sogar in frühen Stadien der Parkinson-Krankheit sind A_{2A}R im Putamen, dem Teil des Corpus striatum, der die größte A_{2A}R-Konzentration aufweist, bereits deutlich überexprimiert.¹⁰⁶ Im Zusammenhang mit Chorea Huntington wurde eine Abnahme der A_{2A}R-Expression im Striatum beobachtet, während die Expression der A_{2A}R an Leukozyten und Thrombozyten zunimmt.^{90,107} Auch bei kognitiven Beeinträchtigungen und bipolaren Störungen sind Veränderungen der A_{2A}R-Expression an Blutzellen möglich.^{90,108,109} Die Pick-Krankheit zeichnet sich unter anderem durch eine erhöhte A_{2A}R-Expression im Frontalkortex aus, während bei der Alzheimer-Krankheit zusätzlich zum Frontalkortex auch der Hippocampus einen erhöhten A_{2A}R-Gehalt zeigt.^{110,111} Auch bei Schizophreniepatienten wurden Veränderungen der A_{2A}R-Konzentration im Striatum registriert, wobei abhängig von Stadium, Medikation und Typ der Krankheit entweder eine Hoch- oder Herunterregulierung der Expression

beobachtet wurde.^{90,112–114} Auch nach Schlaganfällen und cerebraler Ischämie wurde eine Überexpression der A_{2A}R im Striatum festgestellt.¹¹⁵

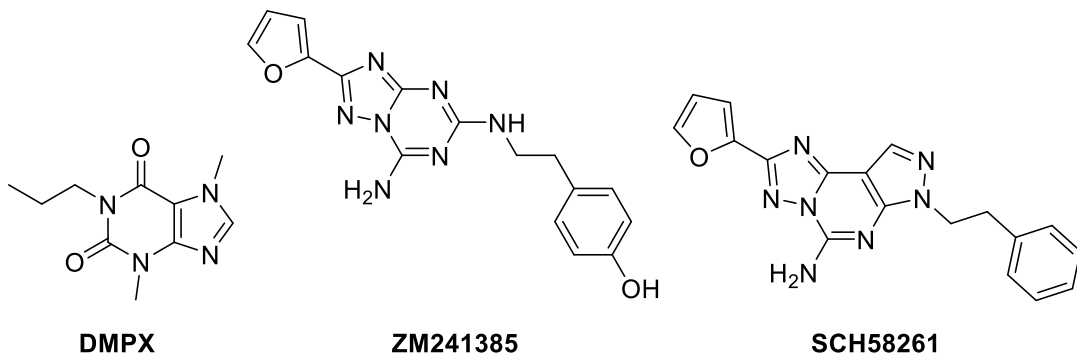
In peripheren Geweben stehen ebenfalls einige Erkrankungen – vor allem die, die mit Entzündungsprozessen einhergehen – im Zusammenhang mit einer Veränderung der A_{2A}R-Expression. So wurden sowohl bei Multipler Sklerose als auch bei Rheumatoider Arthritis erhöhte A_{2A}R-Konzentrationen in den Lymphozyten gefunden.^{116,117} Bei Herzinsuffizienz tritt eine erhöhte A_{2A}R-Expression im Herzen und in den mononukleären Zellen des peripheren Blutes (PBMC, von engl.: *peripheral blood mononuclear cell*) auf, die sich nach erfolgter Herztransplantation wieder normalisiert.¹¹⁸ In den Lungen von Asthmatikern und COPD-Patienten wurden ebenfalls erhöhte A_{2A}R-Level gefunden.¹¹⁹

Auch an der Bildung von Karzinomen sind Adenosinrezeptoren beteiligt.⁹⁰ Durch Überexpression von A_{2A}R und einer erhöhten extrazellulären Adenosinkonzentration in der Mikroumgebung von Tumoren wird die Immunabwehr des Körpers gestört und das Wachstum des Tumors ermöglicht. Die Immunsuppression äußert sich durch eine fehlende Reaktion der T-Zellen auf die Tumorzellen sowie in einer Reduktion von Interleucin-2, Tumornekrosefaktor- α und Interferon- γ . Auch die natürlichen Killerzellen (NK-Zellen) werden durch eine Aktivierung der A_{2A}R inhibiert.¹²⁰

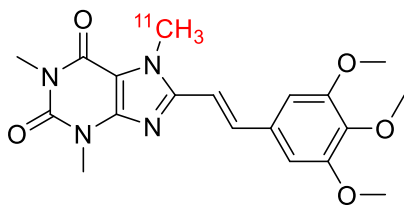
1.3.3. Radioliganden für den A_{2A}R

Aufgrund der vielfältigen Zusammenhänge zwischen A_{2A}R und verschiedenen Erkrankungen ist der A_{2A}R ein interessantes Target für die molekulare Bildgebung. Daher wurden in der Vergangenheit schon mehrere Radioliganden für die PET entwickelt.¹²¹ 1988 wurde mit 3,7-Dimethyl-1-propargylxanthin (DMPX) ein erster selektiver A_{2A}R Antagonist vorgestellt, der als Leitstruktur für viele weitere Liganden diente.¹²² Eine weitere wichtige Leitstruktur für A_{2A}R-Liganden stellen die 1995 bzw. 1996 vorgestellten Antagonisten ZM241385 und SCH58261, die auf einem Triazolopyrimidin basieren, dar.^{121,123,124} Heutige PET-Tracer für den A_{2A}R lassen sich hinsichtlich ihrer Leitstruktur in zwei Gruppen, Xanthine und Triazolopyrimidine, einteilen.

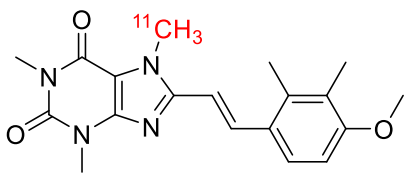
Leitstrukturen



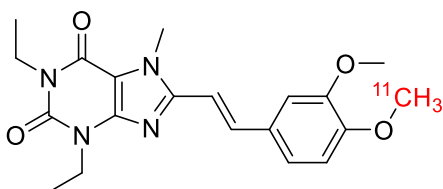
Xanthin-basierte A_{2A}R PET-Tracer



[¹¹C]TMSX K_i(rA_{2A}R) = 5,9 nM

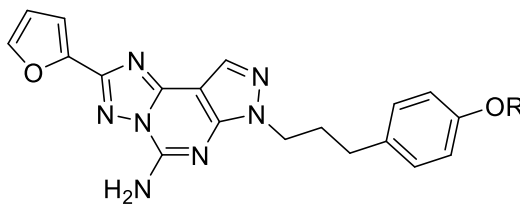


[¹¹C]KF21213 K_i(rA_{2A}R) = 3,0 nM



[¹¹C]KW-6002 K_i(rA_{2A}R) = 2,2 nM

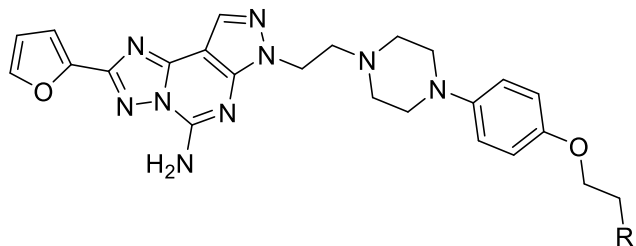
Triazolopyrimidin-basierte A_{2A}R PET-Tracer



[¹¹C]SCH442461 R = ¹¹CH₃ K_i(hA_{2A}R) = 0,048 nM

[¹⁸F]FESCH R = C₂H₄¹⁸F K_i(hA_{2A}R) = 0,6 nM

[¹⁸F]FLUDA R = C₂D₄¹⁸F K_i(hA_{2A}R) = 0,6 nM



[¹¹C]Preladenant R = O¹¹CH₃ K_i(rA_{2A}R) = 1,1 nM

[¹⁸F]MNI-444 R = ¹⁸F K_i(hA_{2A}R) = 2,8 nM

Abbildung 4: Strukturen und Bindungsaffinitäten bereits bekannter A_{2A}R-Radioliganden und ihrer Leitstrukturen.^{121,125,126}

Als einer der ersten Xanthin-basierten Radiotracer für den A_{2A}R wurde [¹¹C]TMSX vorgestellt.¹²⁷ Die Verbindung weist neben hoher Affinität und Selektivität zum A_{2A}R *in vivo* eine hohe metabolische Stabilität auf, neigt allerdings zur Photoisomerisierung an

der Styrylgruppe.^{90,121,128} Darüber hinaus zeigt sie in PET-Studien ein schlechtes Signal-zu-Rausch-Verhältnis.^{90,121} Es folgten weitere ¹¹C-markierte Derivate, unter anderem [¹¹C]KF21213 und [¹¹C]KW-6002.^{129,130} [¹¹C]KF21213 zeigt von allen bisher entwickelten PET-Tracern die größte Selektivität gegenüber anderen Adenosinrezeptoren, wobei Studien im Menschen bisher nicht durchgeführt wurden.¹²¹ Die nicht-radioaktive Referenzverbindung zu [¹¹C]KW-6002 wurde schließlich unter dem Namen Istradefylline als Parkinson-Medikament zugelassen.^{131,132}

Der im Jahr 2000 vorgestellte [¹¹C]SCH442416 stellt einen wichtigen Vertreter der Triazolopyrimidin-Verbindungen dar.¹³³ Von allen bisher entwickelten Tracern besitzt dieser die größte Affinität zum A_{2A}R.¹²¹ Durch Austauschen der [¹¹C]Methoxygruppe durch eine [¹⁸F]Fluorethoxy-Gruppe wurde mit [¹⁸F]FESCH ein radiofluoriertes Derivat von SCH442416 vorgestellt, das noch immer gute Bindungseigenschaften aufweist.¹³⁴ Allerdings zeigt eine 2020 veröffentlichte Studie an Mäusen die Bildung eines hirngängigen Radiometaboliten.¹²⁵ Durch Verwendung einer deuterierten [¹⁸F]Fluorethoxy-Gruppe wurde mit [¹⁸F]FLUDA eine Verbindung vorgestellt, die in ersten präklinischen Experimenten eine höhere *in vivo* Stabilität zeigt.¹²⁶ [¹¹C]Preladenant und [¹⁸F]MNI-444 sind weitere Triazolopyrimidin-Verbindungen, die neben guten Bindungsaffinitäten auch positive Bindungskinetiken besitzen.^{121,135,136}

1.3.4. Molekulare Bildgebung des A_{2A}R mittels PET

Einige der vorgestellten A_{2A}R-Radioliganden wurden bereits in gesunden Probanden oder Patienten zur molekularen Bildgebung mittels PET eingesetzt. In PET-Experimenten konnte bei [¹¹C]TMSX, [¹¹C]SCH442461, [¹¹C]Preladenant und [¹⁸F]MNI-444 eine Anreicherung des Radiotracers im Striatum beobachtet werden.¹²¹ Dabei wurde die größte A_{2A}R-Konzentration wurde im Putamen festgestellt, gefolgt vom Nucleus caudata. Die Aufnahme in Cortex und Cerebellum war im Allgemeinen jedoch gering. Dies deckt sich den Ergebnissen aus vorherigen autoradiographischen Studien und den tatsächlichen *post mortem* bestimmten Verteilungen des A_{2A}R im Gehirn.¹²¹ [¹¹C]TMSX zeigte in Human-Studien allerdings zusätzlich eine größere Aufnahme im Thalamus als

bei anderen Säugetieren.^{121,137} Während mit [¹¹C]SCH442461 in Nagetieren die A_{2A}R-Dichte über das Verhältnis der striatalen Anreicherung zur cerebralen Akkumulation bestimmt werden konnte, war das bei Primaten nicht möglich. Durch die Entwicklung von [¹⁸F]MNI-444 konnte dieses Problem jedoch gelöst und zusätzlich auch die Verteilung des A_{2A}R im gesamten Körper dargestellt werden.^{121,135}

PET-Studien mit [¹¹C]TMSX an Parkinson-Patienten mit motorischen Symptomen zeigten eine signifikante Zunahme (+7,5 %) der Traceranreicherung im Putamen im Vergleich zur gesunden Kontrollgruppe.^{90,138} Durch PET-Messungen mit [¹¹C]SCH442461 konnte eine deutlich größere Zunahme der Traceranreicherung im Putamen (+69 %) und Nucleus caudata (+81 %) bei Patienten mit L-DOPA-induzierter Dyskinesie, jedoch keine Veränderung bei symptomfreien Patienten nachgewiesen werden.^{90,139} Dies deutet auf einen Zusammenhang der motorischen Symptomatik der Parkinson-Krankheit und der erhöhten A_{2A}R-Expression im Striatum hin.⁹⁰

Auch bei sekundär progredienter Multipler Sklerose (SPMS) wurde [¹¹C]TMSX in Studien zur molekularen Bildgebung des A_{2A}R eingesetzt. Bei der SPMS entstehen in der weißen Substanz Entzündungsherde, die in MRT-Aufnahmen häufig nicht darstellbar sind. In der *normal-appearing white matter* (normal erscheinende weiße Substanz, NAWM) kann jedoch in PET-Aufnahmen eine Anreicherung von [¹¹C]TMSX beobachtet werden, was auf eine erhöhte A_{2A}R-Expression hinweist.¹⁴⁰ [¹¹C]TMSX-PET könnte somit künftig ein wichtiges Instrument zur Diagnostik und Untersuchung der Pathologie von SPMS werden.¹¹¹

In ersten humanen Studien wurde auch die A_{2A}R-Expression des Herzmuskels in [¹¹C]TMSX-PET-Experimenten untersucht. Hierbei wurden höhere A_{2A}R-Dichten als in der Skelettmuskulatur festgestellt.¹²⁸ Eine weitere Studie zeigte, dass A_{2A}R in Herz- und Skelettmuskulatur von ausdauertrainierten Personen höher ist als in der Muskulatur nicht trainierter Personen, jedoch konnten diese Ergebnisse einige Jahre später nicht bestätigt werden.^{141,142} Auch [¹⁸F]FLUDA scheint sich zur Darstellung der A_{2A}R-Verteilung im Herzmuskel zu eignen. In ersten präklinischen Experimenten an Mäusen mit einer Kardiomyozyten-spezifischen Überexpression des humanen A_{2A}R konnte diese erfolgreich dargestellt werden.¹⁴³

2019 wurde mittels einer PET-Studie am Menschen die Rolle von Adenosin und A_{2A}R im Metabolismus des braunen Fettgewebes untersucht. Wird das Gewebe einem Kältereiz ausgesetzt, wird durch die Oxidation von Fettsäuren Wärme produziert. Wie in der mit [¹¹C]TMSX durchgeführten Studie gezeigt wurde, sinkt dabei die Konzentration an freiem A_{2A}R und geht mit einer erhöhten Durchblutung des braunen Fettgewebes einher.¹⁴⁴ Adenosin und A_{2A}-Rezeptoren scheinen demnach an der Aktivierung des Metabolismus im braunen Fettgewebe beteiligt zu sein, was neue Therapiemöglichkeiten gegen Diabetes und Adipositas eröffnen könnte.¹²¹

Bei der Entwicklung neuer Medikamente können A_{2A}R-spezifische Radioliganden ebenfalls ein wichtiges Instrument darstellen.¹³⁷ So wurde beispielsweise mittels [¹¹C]Preladenant-PET die dosisabhängige Bindung des Parkinson-Medikaments Istradefylline untersucht.¹⁴⁵

1.3.5. Tozadenant als Leitstruktur für einen neuartigen A_{2A}R-Liganden

Hoffmann-La Roche patentierte 2008 eine Reihe von substituierten Aminobenzothiazolen als affine und selektive Antagonisten für den A_{2A}R.¹⁴⁶ Tozadenant wurde als Kandidat für klinische Studien zur Zulassung als Parkinson-Medikament ausgewählt. In einer randomisierten, Placebo-kontrollierten Studie mit 21 Parkinson-Patienten konnte gezeigt werden, dass Tozadenant (zweimal täglich je 20 mg bzw. 60 mg) dosisabhängig den cerebralen Blutfluss in den Thalamus reduziert.¹⁴⁷ In der Phase 2b-Studie konnte gezeigt werden, dass Tozadenant die Symptome der Parkinsonerkrankung verringert.¹⁴⁸ Die Phase 3-Studie wurde nach dem Auftreten einiger Sepsis-bedingter Todesfälle in den Patientengruppen, die hohe Dosen (zweimal täglich je 120 mg bzw. 180 mg) des Wirkstoffs erhalten hatten, zunächst abgebrochen.¹⁴⁷ Später wurde sie jedoch wieder aufgenommen und konnte die Ergebnisse der Phase 2b-Studie bestätigen.^{147,149} Zusätzlich wurde in PET-Studien mit [¹⁸F]MNI-444 an Rhesusaffen die Pharmakokinetik von Tozadenant untersucht.¹⁵⁰ Hierbei wurde der Radiotracer [¹⁸F]MNI-444 bei Tozadenant-Dosen von 10,5 mg/kg vollständig aus dem Striatum verdrängt.¹⁵⁰

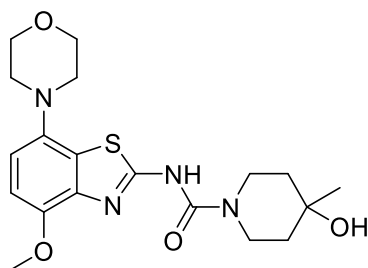


Abbildung 5: Struktur von Tozadenant.

Tozadenant basiert im Gegensatz zu den bereits vorgestellten Radioliganden weder auf einem Xanthin noch auf einem Triazolopyrimidin als Leitstruktur und bietet mit dem Heterobizyklus des Benzothiazols einen alternativen Ansatz zur Entwicklung neuer Radioliganden für den $A_{2A}R$. Da Variationen am 7-Methoxy-4-morpholinobenzothiazol-Baustein der Verbindung häufig zu einer Verschlechterung der Affinität zum $A_{2A}R$ führten, ist eine Derivatisierung nur am Piperidinbaustein und dem Linker, der beide Bausteine miteinander verbindet, möglich.¹⁵¹ Neben der Affinität wird bei einer solchen Derivatisierung aber auch die Lipophilie und daraus resultierend die Passierbarkeit der Blut-Hirn-Schranke und die Löslichkeit der Verbindung beeinflusst.

2. Zielsetzung

Der Adenosin-A_{2A}-Rezeptor (A_{2A}R) ist an einer Vielzahl von physiologischen und pathologischen Prozessen beteiligt. Neben der Parkinson-Krankheit, bei der eine erhöhte striatale A_{2A}R-Expression beobachtet wurde, steht eine Veränderung der A_{2A}R-Konzentration auch im Zusammenhang mit Krankheiten wie Schizophrenie und Chorea Huntington. Diese Veränderungen treten oft bereits in sehr frühen Stadien der jeweiligen Krankheit auf. Hochaffine und selektive, mit Positronenstrahlern markierte Liganden stellen daher attraktive Werkzeuge zur Darstellung pathologischer Veränderungen der A_{2A}R-Expression dar. Ein großer Vorteil der PET-Methode ist, dass schon geringste Veränderungen im Rezeptorexpressionsprofil sensitiv erfasst werden können, was mit den anderen Bildgebungsmethoden, die allein morphologische Veränderungen erfassen, nicht möglich ist. Neue hochaffine und selektive A_{2A}R-Radioliganden können somit sowohl zur Diagnose von neurodegenerativen Erkrankungen, aber auch zur Evaluierung neuer Therapiemöglichkeiten herangezogen werden, da sie eine unmittelbare Beobachtung von Rezeptorveränderungen als Antwort auf die Therapie erlauben. Die bisher bekannten hochaffinen und selektiven Radioliganden sind meist mit Kohlenstoff-11 markiert. Fluor-18 besitzt aber für die PET-Diagnostik im Vergleich zu Kohlenstoff-11 günstigere Zerfallseigenschaften, die es zum attraktiveren Radionuklid für die PET machen. Die längere Halbwertszeit ermöglicht die Durchführung komplexerer Radiosynthesen als auch längerer PET-Messungen. Außerdem ist durch die geringere Energie der emittierten Positronen die Auflösung der PET-Aufnahme höher, da die Energie des von ¹⁸F emittierten Positron geringer ist als für ¹¹C. Die wenigen bisher bekannten ¹⁸F-markierten A_{2A}R-Liganden eignen sich jedoch aufgrund ihrer vergleichsweise ungünstigen pharmakologischen Eigenschaften, wie einem großen unspezifischen Bindungspotential oder einer irreversiblen Bindung an den A_{2A}R, nicht für die Bestimmung mancher Parameter wie z. B. der Rezeptordichte. Daher steht die Entwicklung von geeigneten ¹⁸F-markierten A_{2A}R-Liganden weiterhin im Fokus der aktuellen PET-Liganden Entwicklung.

In der Vergangenheit wurden am INM-5 bereits fluorierte Tozadenant-Derivate erfolgreich synthetisiert. Der Ligand **JL-153** zeigte in Wettbewerbsstudien sehr hohe

Bindungsaffinitäten zum A_{2A}R und gleichzeitig eine hohe Selektivität gegenüber dem komplementären A₁R. Auch in der präklinischen Evaluierung der radiofluorierten Verbindung in der Autoradiographie mit Rattengehirnschnitten wurde eine hochaffine, selektive und reversible Bindung im Corpus striatum, dem Gewebe im Gehirn, das den A_{2A}R stark exprimiert, gefunden. Dabei war der unspezifische Bindungsanteil gering. Ziel der vorliegenden Arbeit war es daher, basierend auf diesen vielversprechenden Ergebnissen, weitere Derivate von Tozadenant zu entwickeln und deren pharmakologische Eignung in verschiedenen biologischen Untersuchungen zu evaluieren.

Durch die zum Fluor β-ständige Hydroxygruppe in **JL-153** war die Radiofluorierung schwierig und die radiochemischen Ausbeuten waren mit $7 \pm 3 \%$ nur gering. Durch Variation des Substituenten am Piperidinring des asymmetrischen Harnstoffs sollte die Radiofluorierung hinsichtlich des radiosynthetischen Aufwands und der radiochemischen Ausbeute optimiert werden, wobei aber gleichzeitig die grundlegenden Bindungseigenschaften erhalten bleiben sollten. Dies sollte durch die Derivatisierung der zum Fluor β-ständigen Hydroxygruppe erreicht werden. Unklar war allerdings, wie sich diese Derivatisierung auf die Bindungsaffinität zum A_{2A}R auswirken würde. Des Weiteren bewirkt eine Derivatisierung auch eine Veränderung der Lipophilie, was Einfluss auf die Überwindung der Blut-Hirn-Schranke des Tracers und den Anteil der unspezifischen Bindung haben kann. Daher musste außerdem sichergestellt sein, dass Radiometabolite, die durch Katabolisierung des Radiotracers entstehen, nicht ins Gehirn gelangen oder dort gebildet werden, da sie in der PET-Aufnahme nicht vom eigentlichen Liganden hätten unterschieden werden können. Dazu musste die Zielverbindung eine ausreichend hohe metabolische Stabilität besitzen.

Ziel des Projekts war es, basierend auf der Tozadenant-Leitstruktur verschiedene Aminobenzothiazol-Derivate zu entwickeln, zu synthetisieren, zu charakterisieren und hinsichtlich ihrer Bindungseigenschaften zu evaluieren. Zu diesem Zweck wurde, ausgehend von der Synthese mehrerer fluorierter Piperidin-Derivate, die Derivatisierung mehrerer Aminobenzothiazol-Derivate, die über komplexe Syntheserouten hergestellt werden mussten, geplant. Die Bindungsaffinitäten der neuen Liganden zum A_{2A}R und A₁R sollten in Kompetitionsstudien bestimmt werden.

Zur weiteren biologischen Evaluierung der vielversprechendsten Kandidaten sollte eine Radiomarkierungsstrategie entwickelt werden, für die Radiofluorierungsvorläufer synthetisiert und charakterisiert werden mussten. Die radiofluorierte Verbindung sollte im Anschluss für mehrere *in vitro* und *in vivo* Experimente zur Verfügung gestellt werden. In autoradiographischen Studien an Rattengehirnschnitten sollte dann das Bindungsprofil der Verbindung untersucht werden. Neben der Affinität und Selektivität sollte durch kompetitive Verdrängung des Radioliganden der unspezifische Bindungsanteil untersucht werden. In PET-Experimenten an gesunden Ratten sollte dann das *in vivo* Verhalten der Verbindung evaluiert werden. PET-Messungen sollten schließlich zeigen, ob der Tracer in der Lage ist, die Blut-Hirn-Schranke zu überwinden und spezifisch in den erwarteten Hirnregionen akkumuliert. Außerdem sollte dem Versuchstier über die Femoralarterie kontinuierlich Blut entnommen werden, um das Blut chromatographisch auf Radiometabolite untersuchen zu können.

Die aus den präklinischen Evaluierungsexperimenten gewonnenen Erkenntnisse sollten für weitere Optimierungen der Leitstruktur genutzt werden, um so dynamisch den Tracer modulieren zu können, mit dem Ziel optimale Eigenschaften in Bezug auf metabolische Stabilität, Hirnaufnahme, Bindungsaffinität und –selektivität zu erhalten.

3. Ergebnisse und Diskussion

3.1. Entwicklung von Aminobenzothiazol-Derivaten als potenzielle A_{2A}R-Liganden

In vorangehenden Arbeiten am INM-5 wurden bereits erfolgreich fluorierte Tozadenant-Analoga synthetisiert und hinsichtlich ihrer Bindungseigenschaften evaluiert.¹⁵² Der so gefundene **JL-153** wies dabei die höchste Affinität zum A_{2A}R auf. Für die Radiofluorierung mit [¹⁸F]Fluorid über die klassische Methode des S_N2-Mechanismus musste wegen der zum Fluor β-ständigen Hydroxygruppe eine aufwendige Schutzgruppenstrategie entwickelt werden. Auch wurden mit dieser Synthesestrategie nur geringe radiochemische Ausbeuten erhalten. Eine alternative Radiofluorierungsmethode verlief über ein cyclisches Sulfit als Vorläuferverbindung, das über eine aufwendige Syntheseroute hergestellt wurde.¹⁵² Durch weitere Derivatisierung der Leitstruktur sollen radiofluorierte Tracer für den A_{2A}R gefunden werden, deren Radiofluorierung in reproduzierbaren, guten Ausbeuten verlaufen und die gleichzeitig ähnliche oder gar bessere Bindungseigenschaften als die Leitstruktur aufweisen. Hierbei sollten die pharmakologischen Eigenschaften, insbesondere Affinität, Selektivität und Lipophilie optimiert werden.

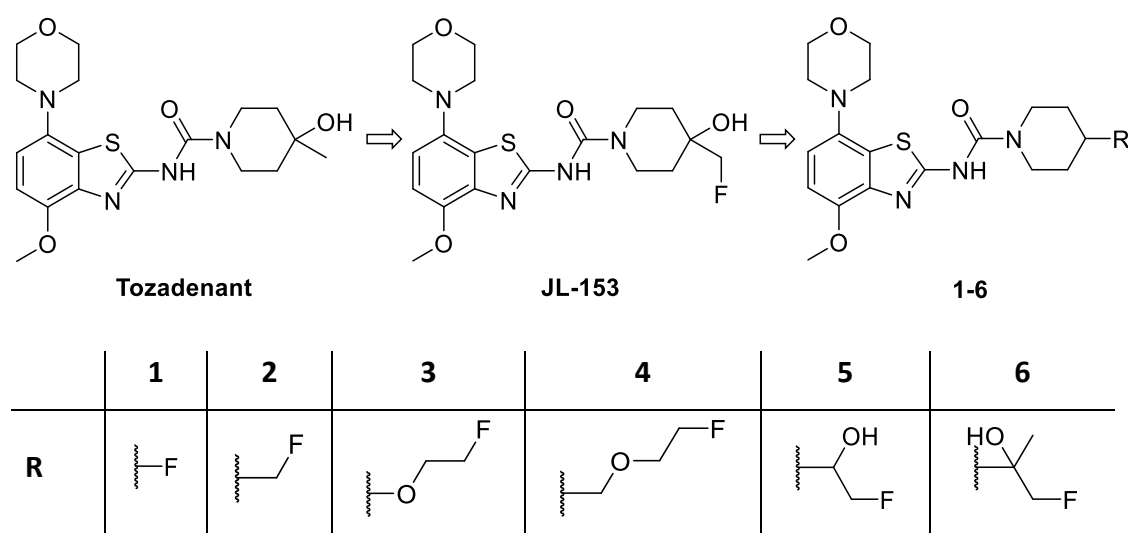


Abbildung 6: Strukturen von Tozadenant, **JL-153** und den geplanten Aminobenzothiazol-Derivaten **1-6**.

Um zu testen, ob die Hydroxygruppe für die Bindungsaffinität notwendig ist, wurden als Reste ein Fluor- bzw. ein Fluormethylrest in 4-Position des Piperidinrings eingeführt. Eine ähnlich gute Bindungsaffinität zum A_{2A}R vorausgesetzt, würden diese Derivate leichter für die Radiofluorierungsreaktionen zugänglich sein, da durch die Abwesenheit der Hydroxygruppe keine sterisch anspruchsvolle Schutzgruppe in direkter Nachbarschaft zur nukleophilen Substitution eingeführt werden müsste.

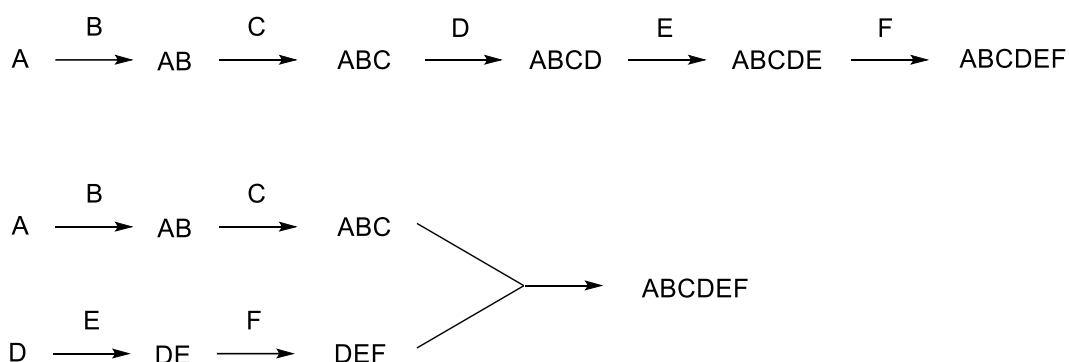
Durch die *O*-Alkylierung der Hydroxygruppe mit einem 2-Fluorethylrest würde sich ebenfalls eine vereinfachte Radiomarkierungsstrategie realisieren lassen. Zwei weitere geplante Derivate tragen in 4-Position des Piperidin-Rings einen 2-Fluorethoxy-Rest bzw. einen 2-Fluorethoxymethyl-Rest.

Für die Bindung an einen Rezeptor spielen nicht nur die Polarität und die Fähigkeit zur Ausbildung von Wasserstoffbrückenbindungen eine große Rolle. Auch die Veränderung des sterischen Anspruchs kann die Bindungsaffinität stark beeinflussen. Um zu testen, ob größere Gruppen toleriert werden, sollten die Fluorhydrin-Derivate, **5** und **6**, synthetisiert werden.

3.2. Entwicklung einer konvergenten Synthesestrategie

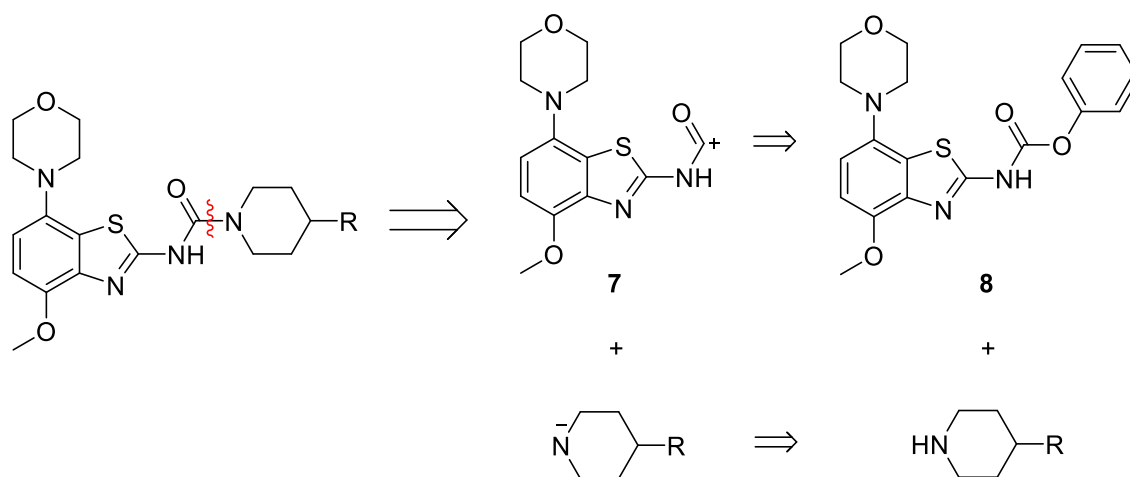
Für die Synthese von komplexen Verbindungen wie beispielsweise Natur- oder Wirkstoffen, die über mehrere Stufen erfolgen muss, gibt es im Wesentlichen zwei unterschiedliche Strategien. In linearen Syntheserouten wird ausgehend vom Startmaterial die gewünschte Verbindung schrittweise aufgebaut. Neben der Gefahr, dass durch die wachsende Komplexität der Verbindung in späten Reaktionsschritten Nebenreaktionen wahrscheinlicher werden, führen lineare Syntheserouten fast immer zu niedrigen Gesamtausbeuten. Selbst bei durchgängig sehr guten Ausbeuten von 90 % in jedem Reaktionsschritt würde die Gesamtausbeute bei neun Stufen nur 59 % (0,9⁹) betragen. Bei einer konvergenten Synthesestrategie werden hingegen zwei oder mehr Molekülbausteine in einzelnen Syntheserouten hergestellt und anschließend in einem weiteren Schritt miteinander verbunden. Bei einer Synthese mit Ausbeuten von 90 % in jedem Schritt, in der zwei Molekülbausteine über jeweils zwei Stufen aufgebaut und

dann im folgenden Syntheseschritt miteinander gekoppelt werden, beträgt die Gesamtausbeute bereits 73 % (0,9³). Bei einer linearen Synthesestrategie ist also im Vergleich zur konvergenten Strategie mit deutlich höheren Ausbeuteverlusten und dadurch mit höheren Materialkosten sowie größeren Abfallmengen zu rechnen.



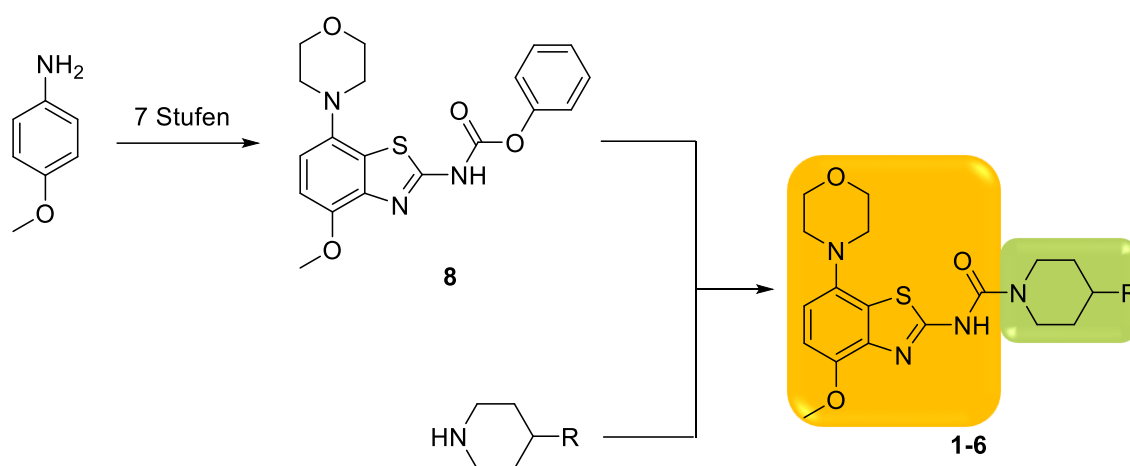
Schema 9: Schematische Darstellung einer linearen und konvergenten Syntheseroute.

Um eine Syntheseroute zu entwickeln, wird häufig eine retrosynthetische Analyse durchgeführt. Dabei wird eine komplexe Verbindung durch retrosynthetische Schnitte so lange gedanklich in immer einfachere Bausteine, sogenannte Synthons, zerlegt, bis literaturbekannte oder kommerziell erhältliche Verbindungen erreicht werden. Grundsätzlich sind dabei theoretisch immer mehrere Routen denkbar, die hinsichtlich der Durchführbarkeit bewertet und von denen dann die vielversprechendste ausgewählt werden muss. Das Konzept der Retrosynthese wurde von dem Chemiker Elias James Corey entwickelt, für das er 1990 mit dem Nobelpreis ausgezeichnet wurde.¹⁵³



Schema 10: Retrosynthetische Analyse der geplanten $A_{2A}R$ -Liganden.

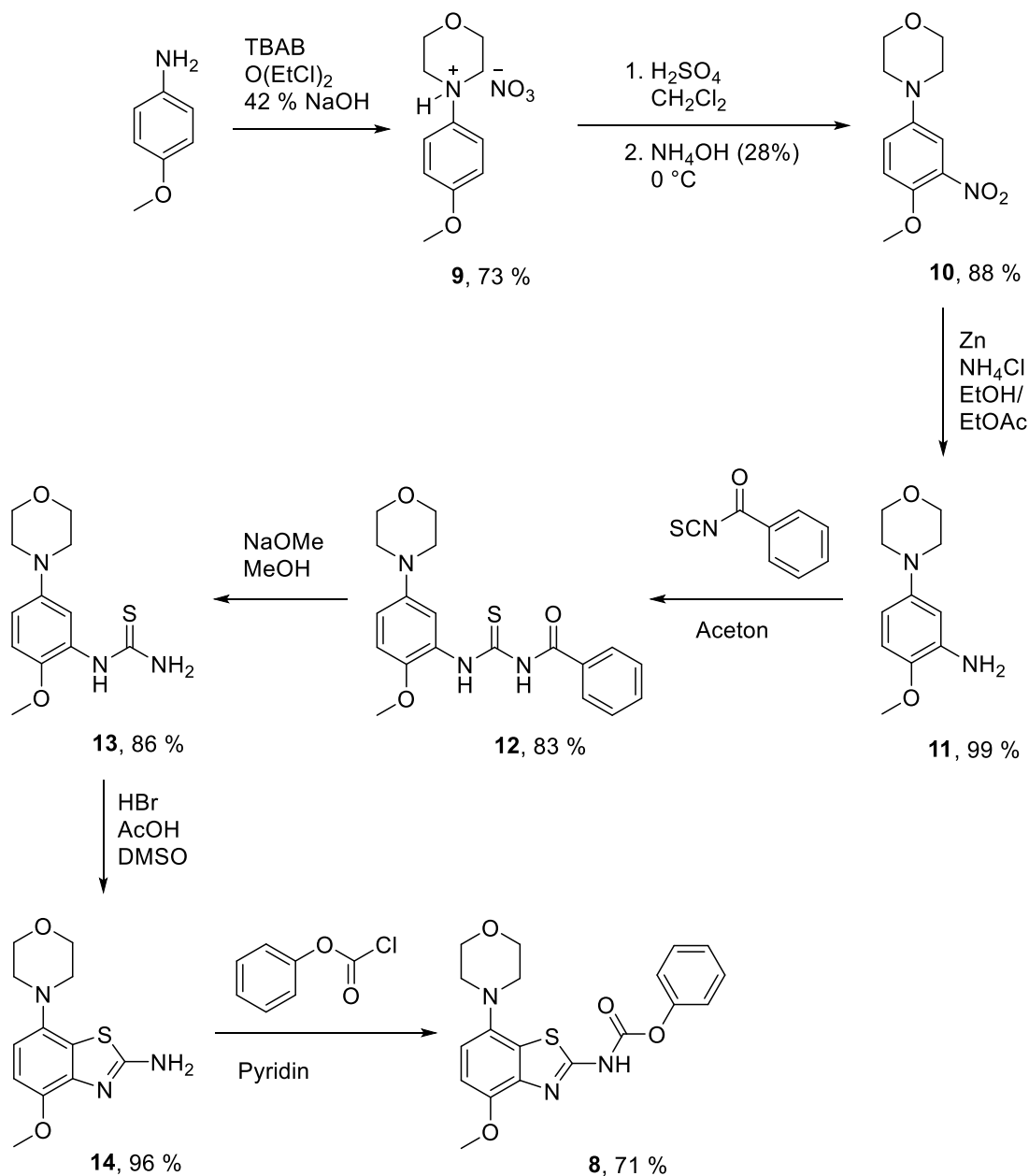
Anhand der allgemeinen Strukturformel der geplanten $A_{2A}R$ -Liganden wird ein retrosynthetischer Schnitt exemplarisch dargestellt (Schema 10). Durch den eingezeichneten, gedanklichen Bindungsbruch entstehen zwei Synthons. Die positive Ladung für das Aminobenzothiazol-Synthon **7** und die negative Ladung für das Piperidin-Synthon ergeben sich durch die Polarität der gebrochenen Bindung. Die Synthons müssen nun noch in synthetische Äquivalente, einerseits das Phenylcarbamat **8** und andererseits ein Piperidin, übersetzt werden, die ihrerseits auch retrosynthetisch zerteilt werden müssen. Für die $A_{2A}R$ -Liganden **1** – **6** ergibt sich so eine konvergente Synthesestrategie. In einer ersten Syntheseroute wird das Phenyl-(4-methoxy-7-morpholinobenzo[d]thiazol-2-yl)carbamate (**8**) über mehrere Stufen ausgehend von *p*-Anisidin hergestellt. Die unterschiedlichen Piperidin-Derivate werden durch unabhängige Syntheserouten gewonnen und schließlich mit dem Aminobenzothiazol-Fragment gekoppelt, um die $A_{2A}R$ -Liganden zu erhalten (Schema 11).



Schema 11: Konvergente Synthesestrategie für die A_{2A}R-Liganden.

3.2.1. Synthese von 4-Methoxy-7-morpholin-4-yl-benzo[*d*]thiazol-amin

Die Synthese des 4-Methoxy-7-morpholin-4-yl-benzo[*d*]thiazol-amin (**14**) erfolgte über sechs Stufen ausgehend von *p*-Anisidin. Mithilfe des Phasentransferkatalysators Tetrabutylammoniumbromid (TBAB) wurde *p*-Anisidin in einem Zweiphasengemisch aus 42 %iger Natronlauge und Dichlorethylether zu 4-(4-Methoxyphenyl)morpholin (**9**) umgesetzt, das als Nitrat-Salz aus der organischen Phase gefällt wurde.¹⁵⁴ Über eine elektrophile aromatische Substitution wurde eine Nitrogruppe in *ortho*-Position zur Methoxy-Gruppe eingeführt,¹⁵⁴ die im Anschluss zum Amin reduziert wurde. Das Amin wurde schließlich mit Benzoylisothiocyanat zu einem Benzoyl-geschützten Thioharnstoff **12** umgesetzt.¹⁵⁵ Nach Entschützung des Thioharnstoffs wurde in einer modifizierten Hugershoff-Reaktion der intramolekulare Ringschluss zum 4-Methoxy-7-morpholin-4-yl-benzo[*d*]thiazol-amin (**14**) mittels Bromwasserstoffsäure und DMSO durchgeführt.¹⁵⁵ Durch Reaktion des Benzothiazol-Amins **14** mit Phenylchloroformiat wurde das Phenylcarbamat **8** als kristalliner Feststoff erhalten.¹⁵²



Schema 12: Reaktionsschema für die Synthese von 4-Methoxy-7-morpholin-4-yl-benzo[d]thiazol-amin (**14**) ausgehend von p-Anisidin.

Die einzelnen Reaktionsschritte verliefen in guten bis sehr guten Ausbeuten. Die Reduktion der Nitro-Gruppe und die intramolekulare Zyklisierung zum Aminobenzothiazol **14** verliefen sogar nahezu quantitativ. Die Gesamtausbeute über sieben Stufen betrug 32 %. Das Phenylcarbamate **8** konnte als kristalliner Feststoff bis zur weiteren Verwendung gelagert werden.

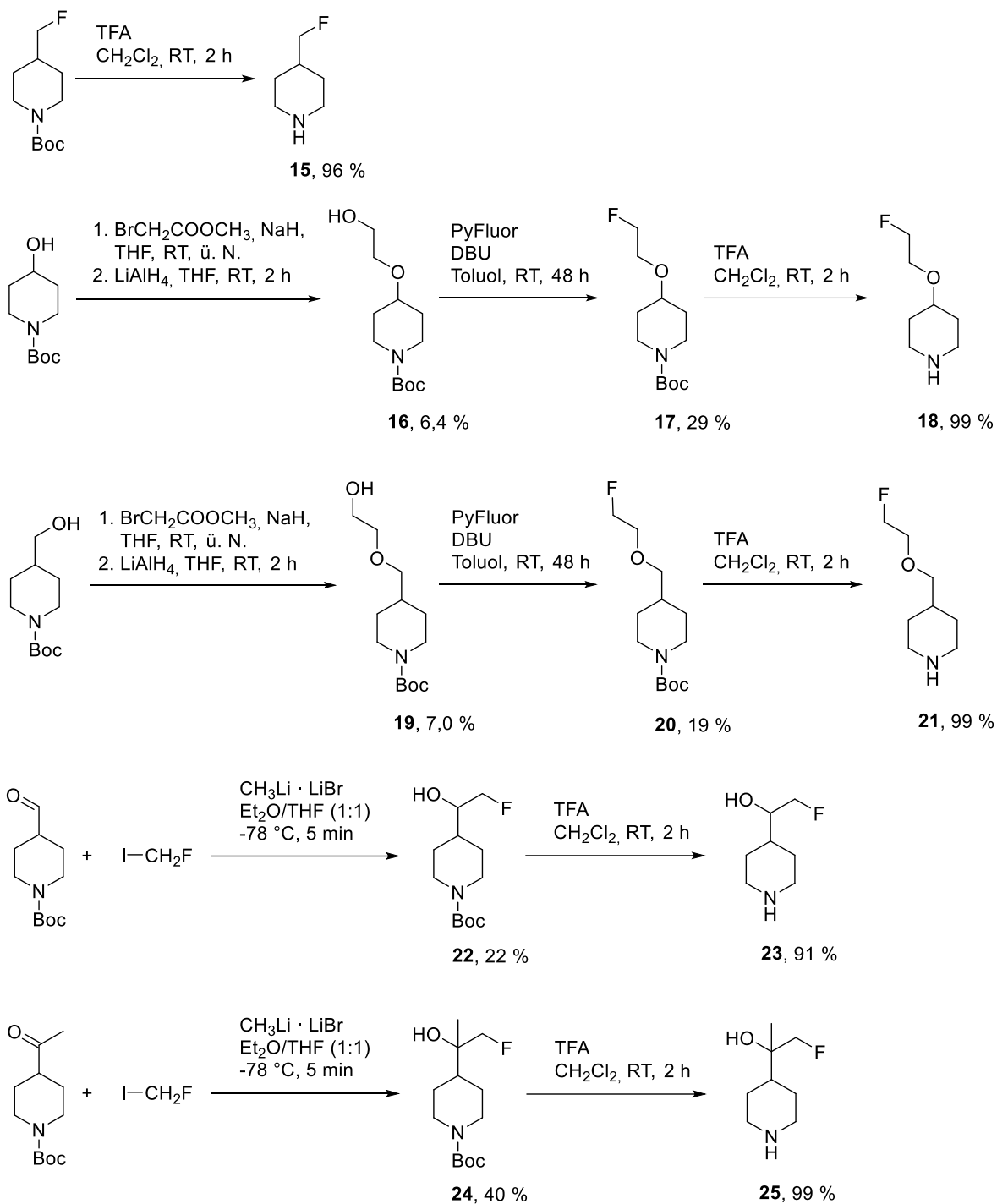
3.2.2. Synthese der Piperidin-Derivate als zweiter Synthesebaustein

Die Derivatisierung der potenziellen A_{2A}R-Liganden findet, wie bereits beschrieben, durch Variation der Reste in 4-Position des Piperidinrings statt. Die dazu benötigten Piperidin-Synthesebausteine wurden über unabhängige Syntheserouten hergestellt. Eine Ausnahme bildet das 4-Fluorpiperidin, das kommerziell erhältlich ist und direkt verwendet werden konnte.

Die Boc-geschützte Variante des 4-Fluormethylpiperidins (**15**) wurde in der Arbeitsgruppe synthetisiert und für diese Arbeit zur Verfügung gestellt. Die Entschützung mit Trifluoressigsäure (TFA) verlief in quantitativer Ausbeute.

Die Fluorethoxyderivate **18** und **21** wurden ausgehend von *N*-Boc-4-hydroxypiperidin bzw. *N*-Boc-4-hydroxymethylpiperidin über jeweils vier Stufen synthetisiert. Die *O*-Alkylierung erfolgte nach Deprotonierung durch Natriumhydrid mit Bromessigsäuremethylester.¹⁵⁶ Nach säulenchromatographischer Reinigung verblieb in beiden Fällen eine Verunreinigung, die die folgende Reduktion der Ester mit Lithiumaluminiumhydrid¹⁵⁶ nicht störte und im Anschluss daran entfernt werden konnte. Durch Desoxyfluorierung mit PyFluor¹⁵⁷ und anschließende Abspaltung der Boc-Schutzgruppen wurden 4-(2-Fluorethoxy)piperidin (**18**) bzw. 4-((2-Fluorethoxy)methyl)piperidin (**21**) in geringen Gesamtausbeuten von 1,8 % bzw. 1,3 % erhalten.

Die Fluorhydrin-Piperidine **23** und **25** wurden in zweistufigen Syntheserouten synthetisiert. Zunächst wurde mittels Fluoriodmethan und einem Methyllithium-Lithiumbromid-Komplex eine Fluormethylierung¹⁵⁸ an den entsprechenden Carbonylverbindungen *N*-Boc-piperidin-4-carboxaldehyd und *N*-Boc-4-acetylpiperidin durchgeführt. Trotz identischer Reaktionsbedingungen war die Ausbeute der Fluormethylierung im Falle des Aldehyds mit 22 % deutlich geringer als bei der Keton-Verbindung (40 % Ausbeute), was vermutlich auf eine größere Menge an Nebenprodukten zurückzuführen ist. Die folgende Boc-Entschützung mit TFA erfolgte in beiden Fällen in quantitativer Ausbeute.

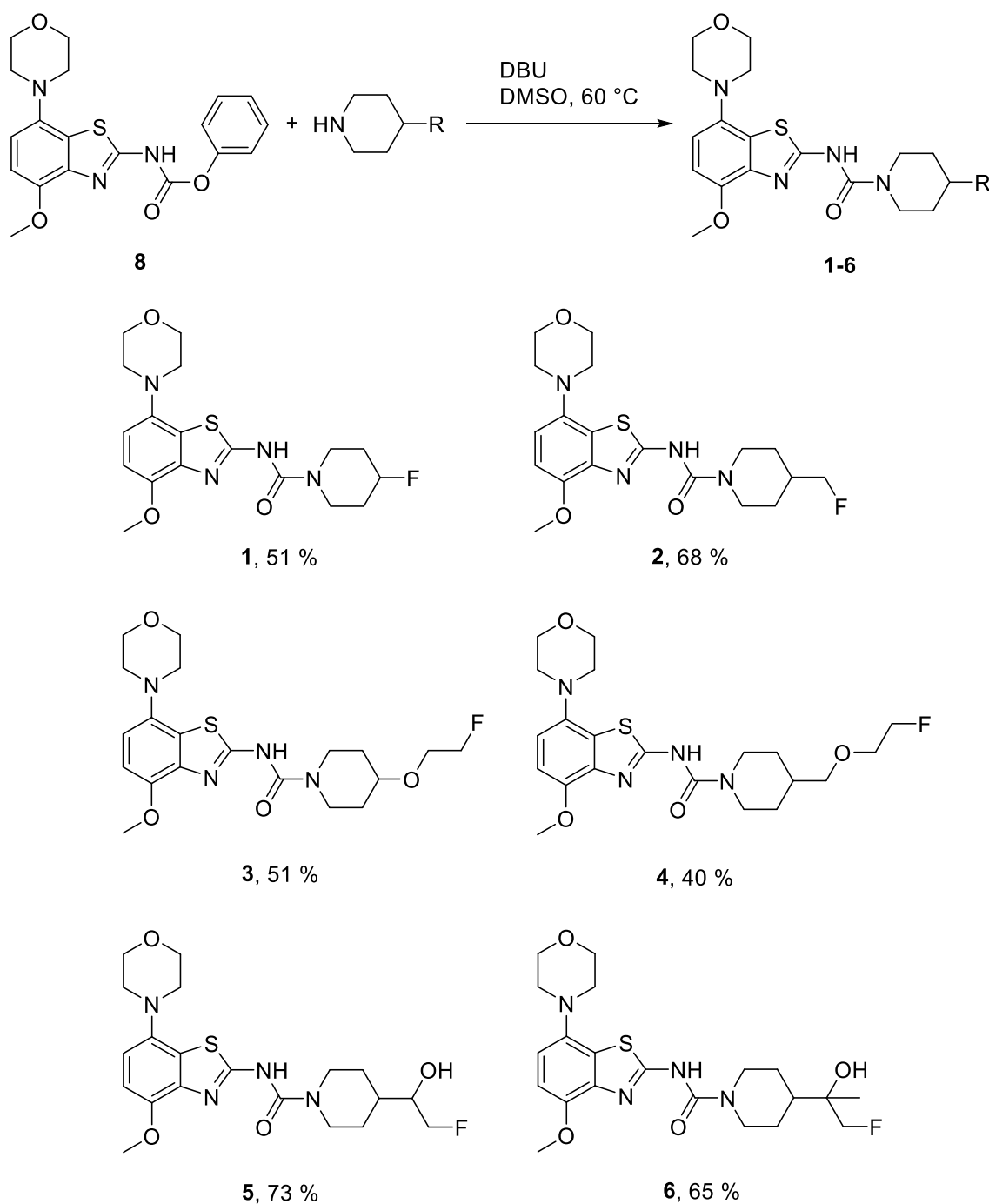


Schema 13: Syntheschemata für die verwendeten fluorierten Piperidin-Derivate.

3.2.3. Kopplung der Fragmente

Zur Synthese der A_{2A}R-Liganden wurden die Bausteine, das 4-Methoxy-7-morpholin-4-yl-benzo[d]thiazol-amin (**14**) und die jeweiligen Piperidine, miteinander verbunden.

Durch Verwendung des Phenylcarbamats **8** wurden in den Kondensationsreaktionen mit den jeweiligen Piperidinen unter basischen Bedingungen asymmetrisch *N-N'*-disubstituierte Harnstoffe hergestellt, während Phenol als Nebenprodukt abgespalten wurde.



Schema 14: Reaktionsgleichung der Kondensationsreaktion und Übersicht der synthetisierten $A_{2A}R$ -Liganden.

3.3. Biologische Evaluierung der sechs synthetisierten Aminobenzothiazol-Derivate

Die sechs synthetisierten A_{2A}R-Liganden wurden von der Arbeitsgruppe Medizinalchemie des INM-5 zunächst hinsichtlich ihrer Affinität zum humanen A_{2A}R untersucht. Auch die Selektivität gegenüber dem A₁R wurde überprüft. Anhand dieser Daten wurden die vielversprechendsten Kandidaten ausgewählt, für die dann eine Radiomarkierungsstrategie entwickelt wurde. Mit den radiofluorierten Tracern wurden Autoradiographien an Rattengehirnschnitten durchgeführt, um die in den Wettbewerbsassays bestimmte Bindungsaffinität und -selektivität zu überprüfen. Schließlich wurden auch Tierversuche an gesunden Ratten inklusive Metabolismusstudien durchgeführt.

3.3.1. Bestimmung der Dissoziationskonstanten und Auswahl eines Radiomarkierungskandidaten

In Wettbewerbsassays, die von der Arbeitsgruppe Medizinalchemie durchgeführt wurden, wurde die Bindungsaffinität zum A_{2A}R der sechs synthetisierten Aminobenzothiazole überprüft. Dazu wurden Homogenate von CHO-Zellen (chinese ovary hamster), die humane A_{2A}R exprimieren, mit dem Tritium-markierten, hochaffinen A_{2A}R-Liganden [³H]ZM241385¹⁵⁹ versetzt. Anschließend wurde der Radioligand durch die neuen Aminobenzothiazole kompetitiv verdrängt. Mit steigender Konzentration an Aminobenzothiazol je nach Affinität wird der Radioligand immer mehr verdrängt. Der Wert, bei dem 50 % der Bindungsstellen des A_{2A}R mit dem neuen Aminobenzothiazol-Liganden besetzt sind, wird als mittlere inhibitorische Konzentration (IC₅₀-Wert) bezeichnet. Anhand des IC₅₀-Werts sowie der Kenntnis über K_d-Wert und Konzentration des Radioliganden kann dann mithilfe der Cheng-Prusoff-Gleichung⁴⁰ die Dissoziationskonstante K_i berechnet werden.

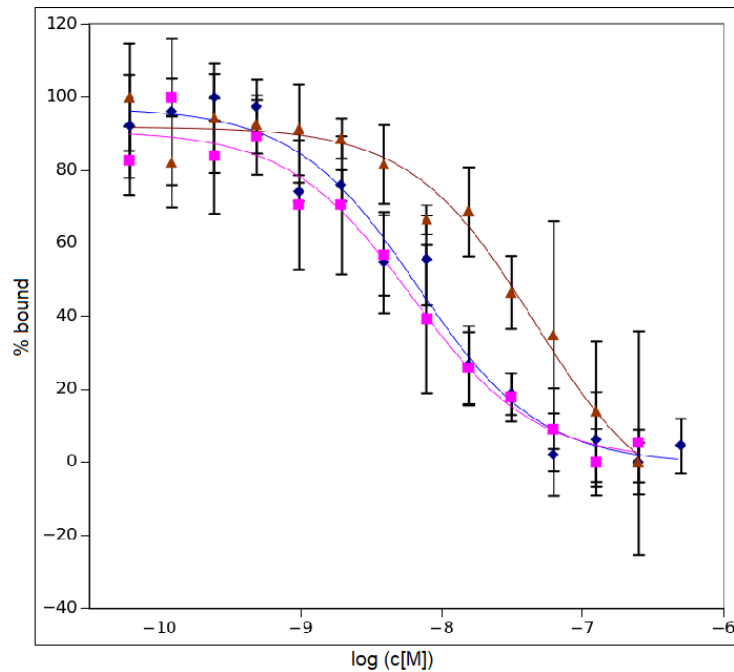


Abbildung 7: Kompetitionsstudien von Tozadenant (blau), Verbindung 2 (pink) und 6 (braun) an mit $hA_{2A}R$ exprimierenden CHO Zellen. Die Assays wurden mit $[^3H]ZM241385$ ($0,6 \text{ nM}$, $K_d = 1,02 \text{ nM}$) und $7,5 \mu\text{g}$ Gesamtprotein durchgeführt.

Neben den Bindungsaffinitäten zum $A_{2A}R$ wurden auch die Affinitäten zum A_{1R} gemessen, um die Selektivität der Verbindungen zu überprüfen. Als Radioligand diente hier das Tritium-markierte $[^3H]$ -8-Cyclopentyl-1,3-dipropylxanthin ($[^3H]CPDPX$).¹⁶⁰ Bei den vielversprechendsten Liganden mit der kleinsten Dissoziationskonstanten zum humanen $A_{2A}R$ wurde zusätzlich die Bindungsaffinität zum $A_{2A}R$ der Ratte gemessen, da die Selektivität von $A_{2A}R$ -Liganden bei unterschiedlichen Spezies variieren kann.¹⁶¹ Außerdem wurden die Dissoziationskonstanten von Tozadenant gemessen, um sie mit denen der neu synthetisierten Liganden vergleichen zu können. Die Ergebnisse sind in Tabelle 3 zusammengefasst.

Tabelle 3: Dissoziationskonstanten der $A_{2A}R$ -Liganden. K_i für humane und Ratten $A_{2A}R$ wurden durch Konkurrenzexperimente mit $0,5 \mu\text{M}$ $[^3H]ZM241385$, K_i für humane A_{1R} wurden durch Konkurrenzexperimente mit $0,5 \mu\text{M}$ $[^3H]CPDPX$ bestimmt. n beschreibt die Anzahl der Experimente. Alle Konkurrenzexperimente wurden von der Arbeitsgruppe Medizinalchemie am INM-5 durchgeführt. Die $\log P$ -Werte wurden mit ChemDraw Professional 16.0.1.4 berechnet.

Verbindung	hA _{2A} R		rA _{2A} R		hA ₁ R	hA _{2A} R/hA ₁ R	clog P
	K _i [nM]	n	K _i [nM]	n	K _i [nM]		
Tozadenant	3,9 ± 0,7	7	18,7 ± 5,4	10	3380	866	1,46
1	4,9 ± 1,3	3	19,2 ± 3,9	3	591	120	2,72
2	3,6 ± 0,18	3	20,4 ± 13,3	5	1198	332	2,82
3	23,9 ± 7,2	3	-		>20000 ^a	>830	1,77
4	35,1 ± 1,18	3	-		7975	227	2,39
5	6,4 ± 2,3	3	195 ± 65,3	4	16680	2606	1,59
6	37,9 ± 15,1	3	-		>20000 ^a	>520	1,99

Die synthetisierten A_{2A}R-Liganden besitzen mit K_i-Werten zwischen 3,6 nM und 37,9 nM hohe bis exzellente Bindungsaffinitäten zum A_{2A}R, wobei die Verbindungen **2**, **1** und **5** die affinsten Liganden darstellen. Auch die Selektivität gegenüber dem A₁R ist bei allen Liganden hoch. Das Einführen einer Fluorethoxygruppe verringert die Affinität deutlich, ebenso wie das Einführen einer sterisch anspruchsvollen Gruppe. Die besten Affinitäten zeigen demnach kleine, elektronenziehende Gruppen in 4-Position des Piperidinsubstituenten. Die An- bzw. Abwesenheit einer Hydroxygruppe scheint jedoch nur einen geringen Einfluss auf die Affinität zu haben (vgl. **JL-153**, K_i = 2,8 nM). Die A_{2A}R unterschiedlicher Spezies unterscheiden sich geringfügig voneinander, sodass auch die Selektivitäten der Antagonisten und Agonisten variieren können.¹⁶¹ Deswegen wurde für die vielversprechenden Kandidaten **2**, **1** und **5** sowie Tozadenant ebenfalls die Bindungsaffinität zum A_{2A}R der Ratte mit Gewebehomogenaten aus dem Corpus striatum gemessen. Für Tozadenant, **2** und **1** liegt die Dissoziationskonstante hier um das vier- bis sechsfache höher als für die humanen A_{2A}R, jedoch noch immer im niedrigen zweistellig nanomolaren Bereich. Auffallend ist jedoch der Unterschied bei Verbindung **5**, die von den affineren Liganden derjenige mit der sterisch anspruchsvollsten Gruppe ist. Während die Dissoziationskonstante für humane A_{2A}R noch bei 6,4 nM liegt, beträgt sie für die A_{2A}R der Ratte bereits 195 nM und ist damit um das dreißigfache größer. Dies

^a Auch bei der höchsten eingesetzten Konzentration von 5 µM konnte keine Verdrängung des Radioliganden beobachtet werden.

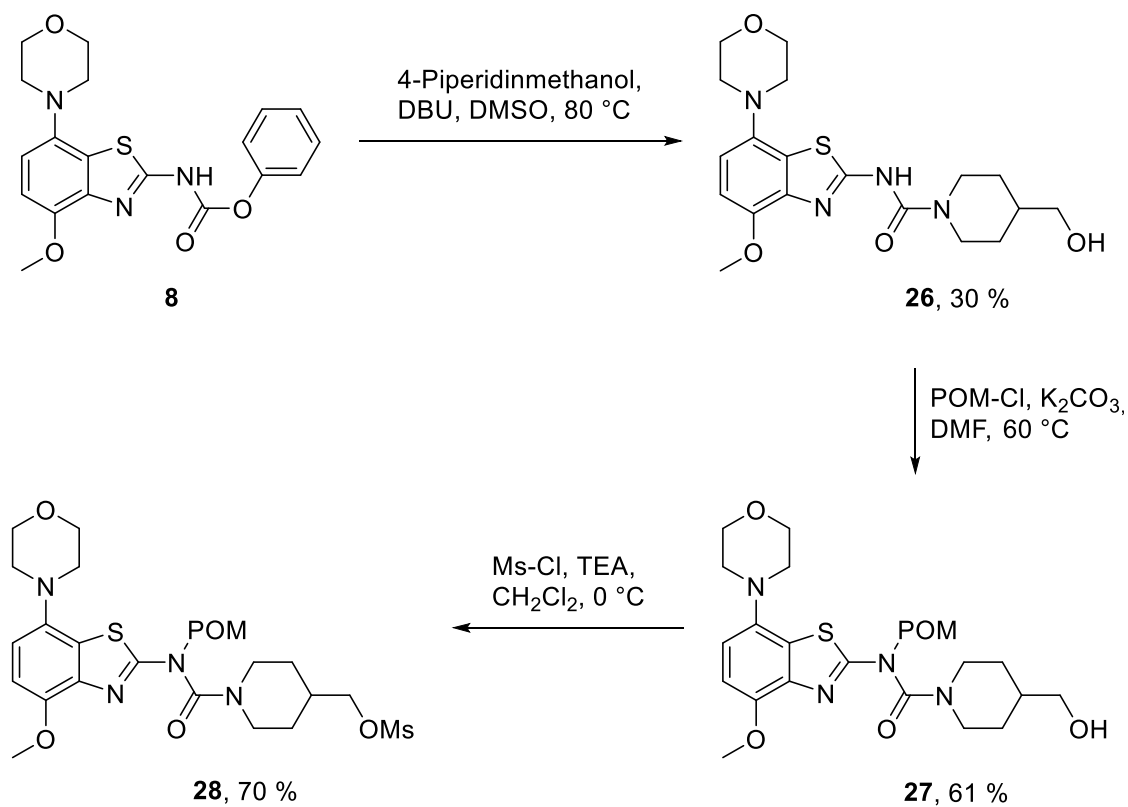
muss bei der Bewertung der präklinischen Tests, die an Ratten durchgeführt werden, berücksichtigt werden.

Verbindung **2** wurde für die weitere präklinische Evaluierung ausgewählt, sodass im Folgenden eine Radiofluorierungsstrategie entwickelt wurde.

3.3.2. Radiofluorierung von [¹⁸F]2

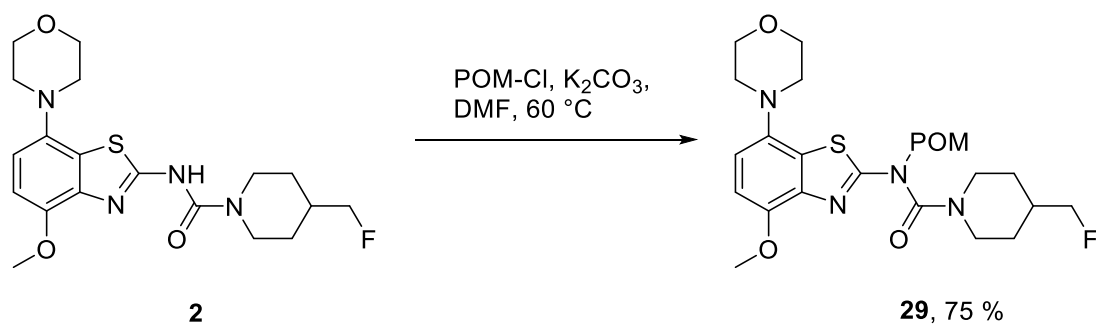
Zur Radiofluorierung mit n. c. a. [¹⁸F]Fluorid muss zunächst eine Vorläuferverbindung synthetisiert werden. Dazu wurde zuerst Carbamat **8** mit 4-Hydroxymethylpiperidin umgesetzt. Anschließend wurde die freie Aminogruppe durch eine POM-Schutzgruppe inaktiviert und eine Methansulfonylgruppe als Abgangsgruppe eingeführt.

Die Kondensationsreaktion zwischen Carbamat **8** und 4-Hydroxymethylpiperidin verlief in deutlich schlechterer Ausbeute als bei den Kondensationsreaktionen der fluorierten Piperidin-Derivate. Die Reaktionstemperatur musste von 60 °C auf 80 °C erhöht werden. Auch eine säulenchromatographische Reinigung des Reaktionsprodukts war nicht möglich. Die Umkristallisation aus Methanol und Wasser (Verhältnis 70/30) lieferte **26** schließlich mit 30 %-iger Ausbeute. Die folgende Schützung des sekundären Harnstoff-Stickstoffs erfolgte mit Pivaloyloxymethylchlorid unter basischen Bedingungen mit 61 % Ausbeute. Durch Umsetzen mit Mesylchlorid wurde zuletzt schließlich die Mesylat-Abgangsgruppe mit 70 % Ausbeute eingeführt. Für die dreistufige Vorläufersynthese ausgehend vom Carbamat **8** betrug die Gesamtausbeute 13 % (Schema 15). Betrachtet man die Gesamtausbeute für die gesamte zehnstufige Synthese ausgehend von *p*-Anisidin, kommt man auf 4 %.



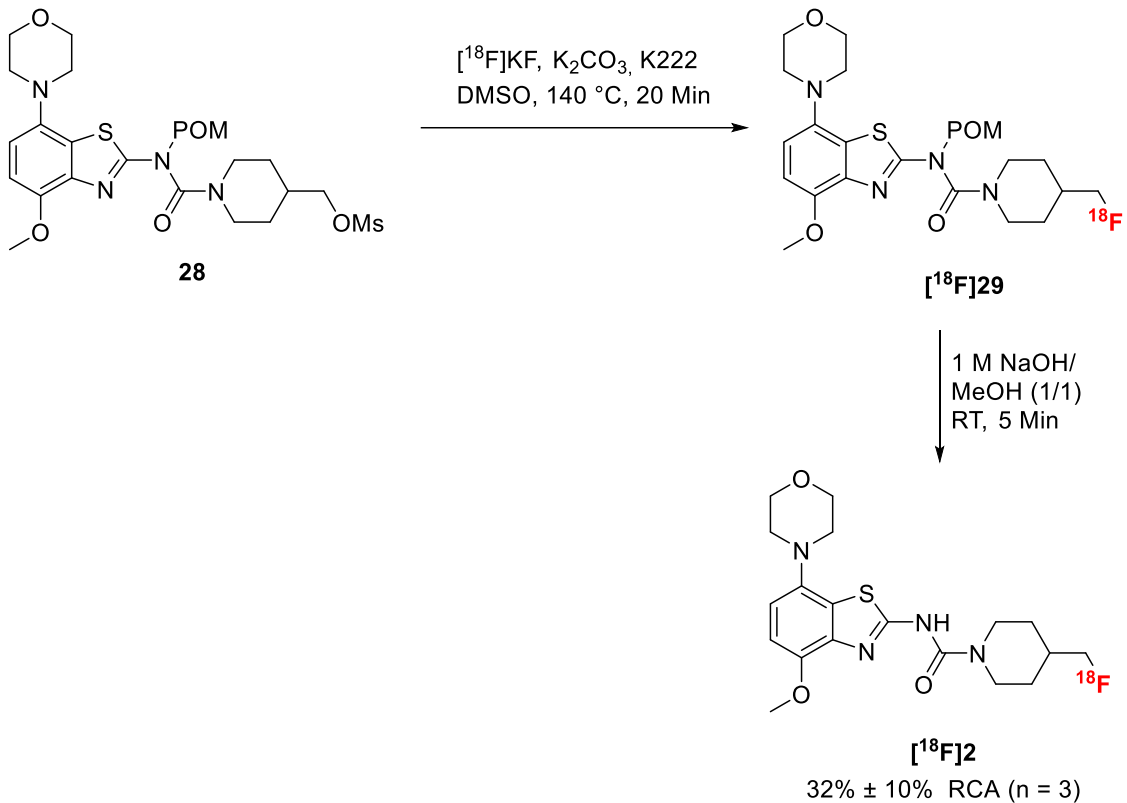
Schema 15: Synthese des Radiofluorierungsvorläufers für [¹⁸F]2.

Um den Erfolg der zweistufigen Radiosynthese überprüfen zu können, wurde die POM-geschützte Referenzverbindung ausgehend von Verbindung **2** ebenfalls erfolgreich in einer Ausbeute von 75 % synthetisiert.



Schema 16: Synthese der POM-geschützten Referenzverbindung.

Die Radiofluorierung erfolgte mit [^{18}F]Fluorid in Gegenwart von Kryptofix und Kaliumcarbonat innerhalb von 10 Minuten. Zuvor wurde das [^{18}F]Fluorid azeotrop getrocknet. Nach dem eigentlichen Radiomarkierungsschritt folgte noch die basische Abspaltung der POM-Schutzgruppe. Die mittels HPLC gemessene radiochemische Ausbeute betrug 32 %.



Schema 17: Zweistufige Radiofluorierung von [^{18}F]2.

Zur Bestimmung der molaren Aktivität wurde eine Kalibriergerade aufgenommen. Dazu wurden von der nicht radioaktiv markierten Referenzverbindung **2** Lösungen mit unterschiedlichen Konzentrationen angefertigt und über HPLC (Injektionsvolumen 20 μL) vermessen. Durch Auftragen der Peakflächen des UV-Signals der Verbindung gegen die injizierte Stoffmenge wurde eine Kalibriergerade erhalten (Abbildung 8). Im Anschluss daran wurde von der radiofluorierten Verbindung [^{18}F]2 ebenfalls ein HPLC-Chromatogramm aufgenommen. Durch Integration des UV-Signals von [^{18}F]2 konnte die injizierte Stoffmenge über die Kalibriergerade berechnet werden, aus der zusammen mit

der Aktivitätskonzentration, die in diesem Fall 0,6 MBq/mL betrug, die molare Aktivität A_m berechnet wurde. Für die manuelle Radiofluorierung von $[^{18}\text{F}]\mathbf{2}$ wurde eine molare Aktivität von 2,91 GBq/ μmol erhalten.

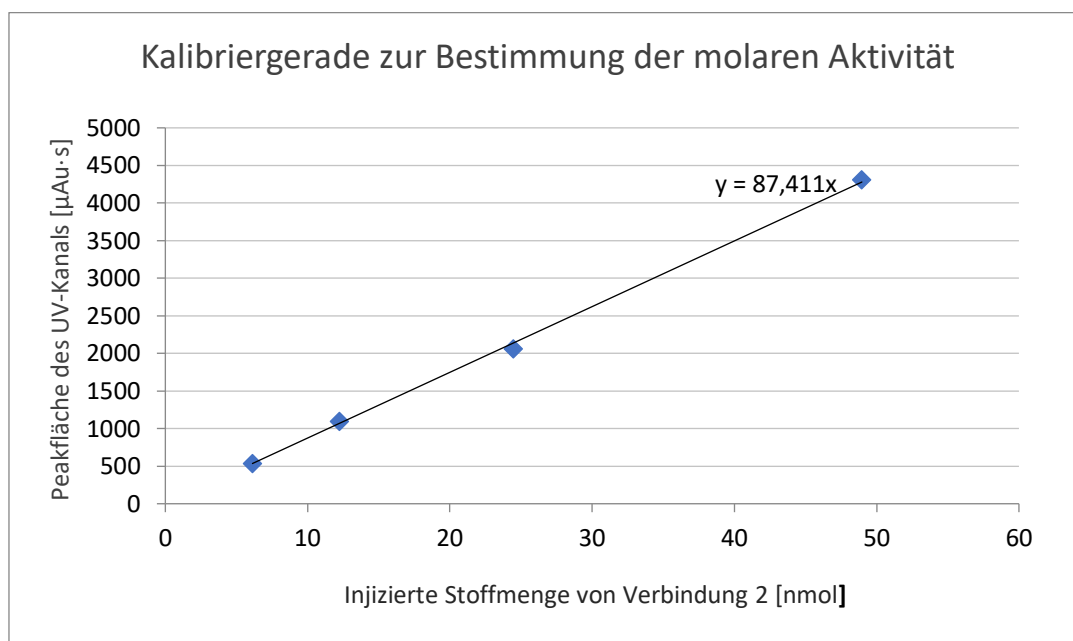


Abbildung 8: Kalibriergerade zur Bestimmung der molaren Aktivität von Verbindung $[^{18}\text{F}]\mathbf{2}$.

Tabelle 4: Bestimmung und Berechnung der molaren Aktivität A_m aus der manuellen Radiofluorierung von Verbindung $[^{18}\text{F}]\mathbf{2}$.

Peakfläche UV-Signal [$\mu\text{Au}\cdot\text{s}$]	Injizierte Stoffmenge [nmol]	Aktivitätskonzentration [MBq/mL]	Molare Aktivität A_m [GBq/ μmol]
0,36	0,00412	0,6	2,91

In der Arbeitsgruppe Radiopharmakaentwicklung wurde außerdem eine analoge Radiofluorierungsstrategie für Verbindung $\mathbf{1}$ entwickelt. Beide Radiosynthesen wurden von der Arbeitsgruppe Radiopharmakaproduktion auch erfolgreich automatisiert. $[^{18}\text{F}]\mathbf{1}$ und $[^{18}\text{F}]\mathbf{2}$ konnten so in RCAs von 25 – 30 % mit einer radiochemischen Reinheit von > 99 % und molaren Aktivitäten zwischen 249 und 300 GBq/ μmol produziert werden.

3.3.3. Präklinische Evaluierung von [¹⁸F]2 mittels *in vitro* Autoradiographie an Rattengehirnschnitten und *in vivo* PET-Experimenten an Ratten

Die *in vitro* Autoradiographien wurden von der Arbeitsgruppe Medizinalchemie des INM-5 durchgeführt. Die Rattengehirnschnitte wurden in einem TRIS-Puffer mit EDTA mit [¹⁸F]2 inkubiert. Durch gleichzeitige Inkubation mit 1 µM ZM241385 wurde der Radioligand kompetitiv verdrängt. Die Autoradiogramme werden in Abbildung 9 dargestellt.

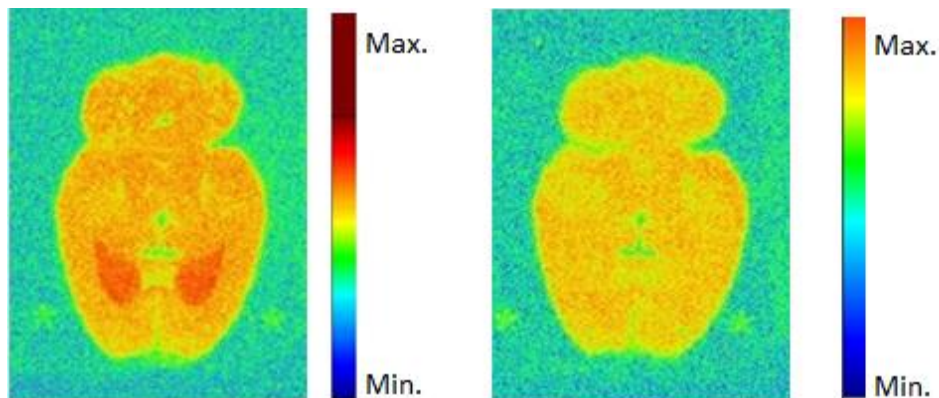


Abbildung 9: Autoradiographie in horizontalen Rattengehirnschnitten mit [¹⁸F]2. Die Schnitte wurden in einem 0,01 M TRIS-Puffer (pH 7,4), 1 µM EDTA mit einer Aktivitätskonzentration von 2,3 kBq/mL inkubiert. Die molare Aktivität Am betrug 2,9 GBq/µmol. Links: Totalbindung, rechts: Verdrängung durch 1 µM ZM241385.

Die Autoradiographien zeigen in der Totalbindung eine starke Anreicherung des Radioliganden im Corpus striatum. Die Expression ist des A_{2A}R ist in diesem Bereich des Gehirns besonders hoch.⁹⁰ Es kann keine Anreicherung des Radioliganden in Kleinhirn und Hippocampus beobachtet werden, was die große Selektivität gegenüber dem A₁R, der in diesen Bereichen stark exprimiert wird, bestätigt.⁹⁰ Durch Zugabe des hochaffinen A_{2A}R-Liganden ZM241385 konnte der Radioligand außerdem vollständig verdrängt werden und zeigte nur eine geringe unspezifische Bindung. Nach den Ergebnissen der Autoradiographie gibt [¹⁸F]2 die reale Verteilung des A_{2A}R wieder und stellt somit einen affinen und selektiven A_{2A}R-Radioliganden dar.

Auch für $[^{18}\text{F}]\mathbf{1}$ wurden autoradiographische Studien durchgeführt. Die Ergebnisse ähnelten jenen der Autoradiographien für $[^{18}\text{F}]\mathbf{2}$. Mit beiden Radiotracern wurden *in vivo* Tierversuche an gesunden Ratten von Kooperationspartnern am INM-2 durchgeführt.

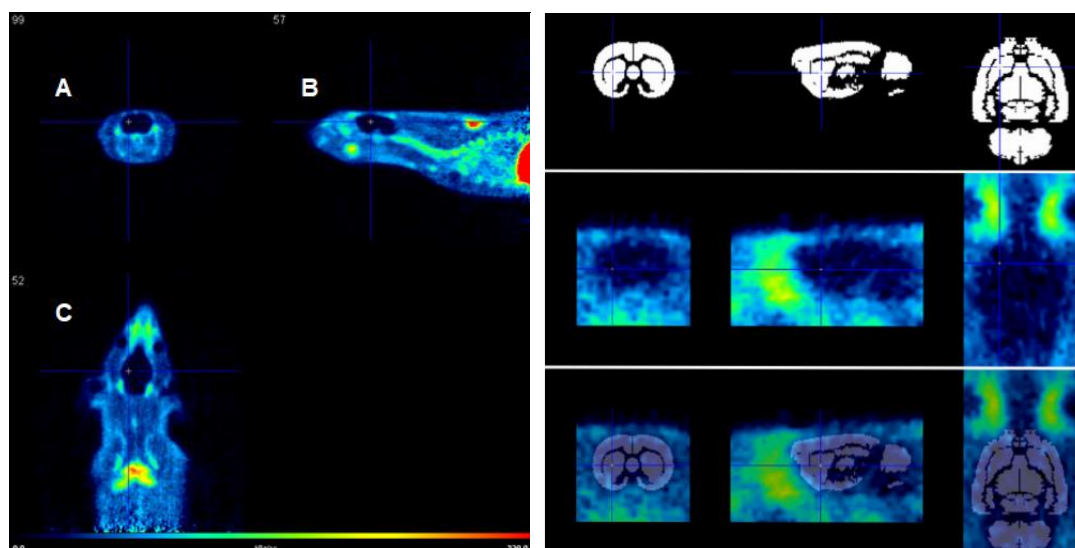


Abbildung 10: PET-Aufnahmen von gesunden Ratten mit $[^{18}\text{F}]\mathbf{2}$ (74 MBq) in drei Ebenen. A: coronal, B: sagittal, C: horizontal), gemittelt über 120 Minuten. Die PET-Experimente wurden am INM-2 im Forschungszentrum Jülich durchgeführt.

Die PET-Aufnahmen mit $[^{18}\text{F}]\mathbf{2}$ zeigten keinerlei Anreicherung des Radioliganden im Gehirn, jedoch eine starke Anreicherung des Tracers im Herzen. Auch bei anderen radiofluorierten Tozadenant-Derivaten wie $[^{18}\text{F}]\mathbf{JL-153}$ und $[^{18}\text{F}]\mathbf{1}$ zeigte sich in *in vivo* Experimenten an gesunden Ratten keinerlei Anreicherung im Gehirn. Bei $[^{18}\text{F}]\mathbf{1}$ reicherte sich jedoch Radioaktivität im Knochengewebe an, was auf eine schnelle Defluorierung des Tracers hinweist.

Während der Tierversuche wurde dem Versuchstier mehrfach Blut entnommen, das in Zusammenarbeit mit der Arbeitsgruppe Medizinalchemie aufgearbeitet und hinsichtlich möglicher Radiometabolite mittels Radio-DC untersucht wurde. Die Blutproben wurden zunächst zentrifugiert, um die Blutzellen abzutrennen. Das Plasma wurde schließlich mit Acetonitril vermischt und anschließend ebenfalls zentrifugiert, um Proteine auszufällen.

So wird zum einen überprüft, wie viel der Radioaktivität an Proteinen oder Zellen bindet. Zum anderen konnte im Anschluss das Plasmaextrakt mittels Radio-DC auf Radiometabolite untersucht werden.

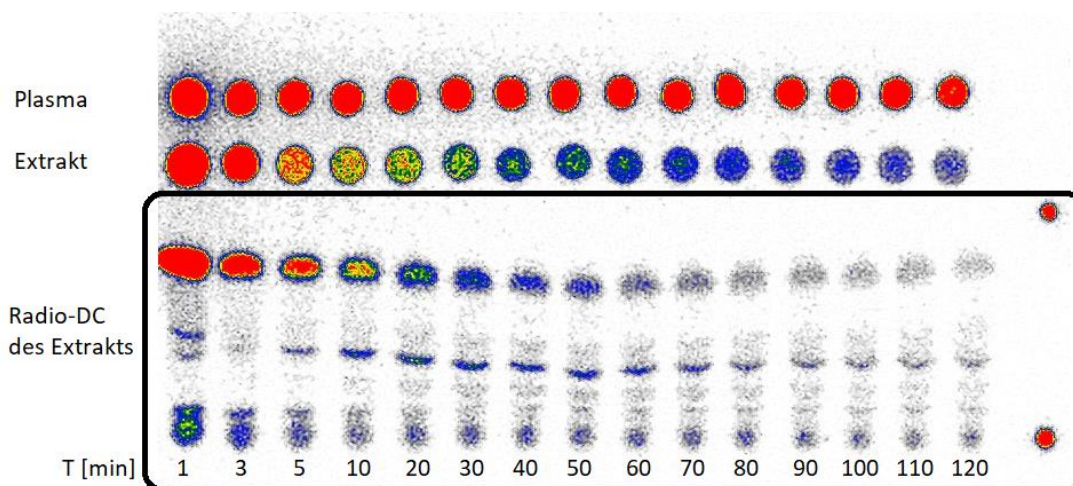


Abbildung 11: *In vivo* Metabolismusstudie von $[^{18}\text{F}]\mathbf{2}$ mittels Radio-DC. Pro Zeitpunkt wurden jeweils $5\ \mu\text{L}$ Plasma und Extrakt aufgetragen (oben). Jeweils $5\ \mu\text{L}$ des Extrakts wurden über DC entwickelt (unterer Bereich).

$[^{18}\text{F}]\mathbf{2}$ besitzt bei dieser dünnschichtchromatographischen Untersuchung einen R_f -Wert von 0,79. Die Bildung von mehreren polarereren Radiometaboliten (R_f -Wert = 0,43 bis 0) ist deutlich erkennbar und erreicht nach 20 – 30 Minuten ihr Maximum. Die Bildung von Radiometaboliten mit R_f -Werten >0 konnte bei den anderen radiofluorierten Aminobenzothiazol-Derivaten, $[^{18}\text{F}]\mathbf{JL-153}$ und $[^{18}\text{F}]\mathbf{1}$, die parallel zu diesem Projekt *in vivo* evaluiert wurden, nicht beobachtet werden. Aus diesem Grund wurde der Metabolismus von Verbindung **2** im Folgenden näher untersucht.

3.3.4. Untersuchungen des Metabolismus von Verbindung **2** an Lebermikrosomen

Mikrosome sind vesikuläre Membranstücke, die aus dem endoplasmatischen Retikulum eukaryotischer Zellen gewonnen werden. Da sie eine Reihe an Enzymen und Enzymfamilien enthalten, die am Metabolismus der meisten medizinischen Wirkstoffe

beteiligt sind, darunter die Multienzymfamilie Cytochrom P450 und Flavin-haltige Monooxygenasen, eignen sie sich zur *in vitro* Untersuchung neuer (Radio)-Pharmazeutika und können bereits in frühen Entwicklungsstadien neuartiger Verbindungen eingesetzt werden.¹⁶²

Die hier verwendeten Mikrosomen stammen aus dem Lebergewebe von Ratte oder Mensch. Die Assays können mit geringen Mengen der nicht-radioaktiv markierten Referenzverbindung durchgeführt werden und wurden mittels Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC) analysiert. Nach einer Vorinkubationszeit von fünf Minuten bei 37 °C aller zum Assay benötigten Komponenten, wurde 1 µL einer 10 µM Stammlösung von **2** in DMSO zugegeben. Nach gründlichem Durchmischen des Inkubationsvolumens wurde sofort ein Aliquot als Probe entnommen und aufgearbeitet. Diese zum Zeitpunkt t = 0 min entnommene Probe diente als Referenz für das jeweilige Assay. Weitere Proben wurden im Abstand von 60 Minuten entnommen. Über den UV-Detektor der HPLC wurde die relative Abnahme der Peakfläche des untersuchten Rezeptorliganden untersucht.

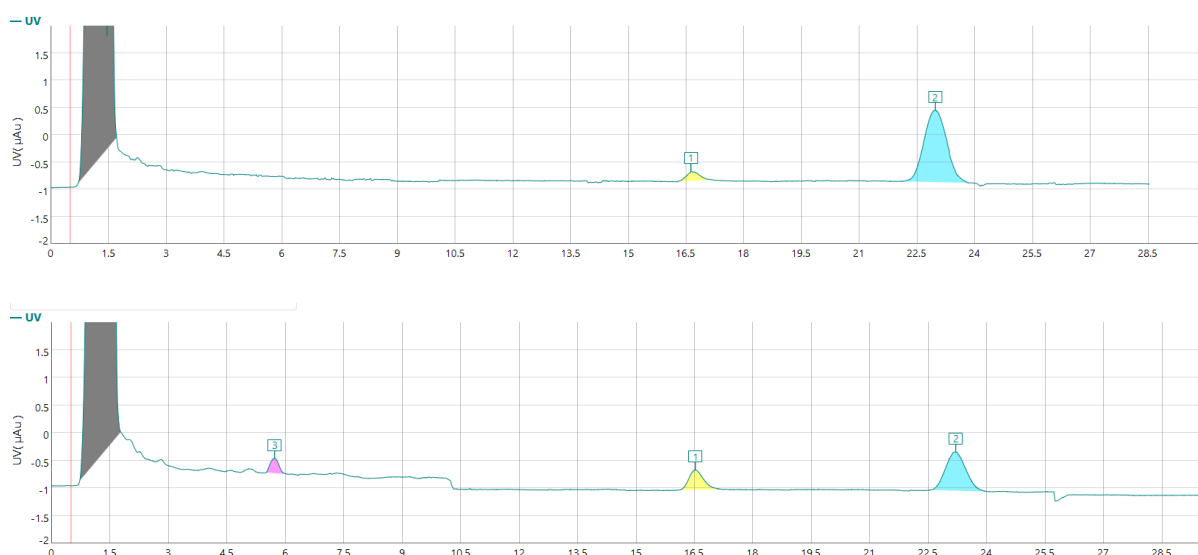


Abbildung 12: Ausgewählte Chromatogramme der Metabolismus-Assays an Lebermikrosomen der Ratte. Oben: t = 0 min, unten: t = 60 min. Peak: **2** blau, Peak: Metabolit pink, Matrix grau..

Der Vergleich der Chromatogramme des Metabolismus an Lebermikrosomen der Ratte (Abbildung 12) zeigt nicht nur, dass Verbindung **2** während des Assays metabolisch abgebaut wird, sondern auch die deutliche Ausbildung eines Metaboliten-Peaks (pink). Während der ersten Stunde des Assays nimmt die Menge an **2** um etwa 40 % ab (Abbildung 13). Gleichzeitig entsteht ein neuer Peak mit etwa 6 Minuten Retentionszeit. In einer LC/MS-Messung (engl.: *liquid chromatography mass spectrometry*) des Assays konnte für den neu gebildeten Peak eine Masse von 405 u [M+H⁺] bestimmt werden. Ob dies jedoch der einzige Metabolit oder einer von vielen ist, kann nicht abschließend geklärt werden, da der Matrix-Peak (grau) weitere Metaboliten enthalten kann.

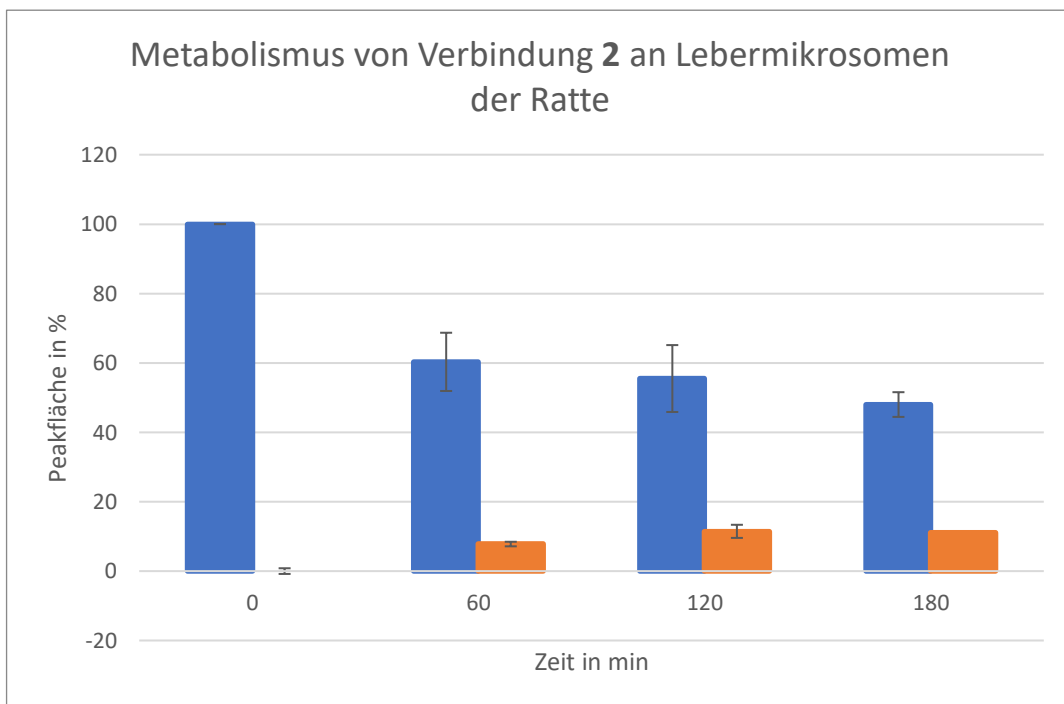


Abbildung 13: Grafische Auftragung der Peakflächen von **2** (blau) und des Metaboliten (orange) im Metabolismus-Assay an Lebermikrosomen von Ratten. Aufgetragen sind die relativen Peakflächen in % bezogen auf die Peakfläche von **2** zum Zeitpunkt $t = 0$ min.

Auch mit humanen Lebermikrosomen wurden Metabolismus-Assays durchgeführt (Abbildung 14). Auch hier konnte eine deutliche Abnahme der Menge an **2** im Assay beobachtet werden. Die Abnahme während der ersten Stunde des Assays war hier mit 55 % sogar größer als im Assay mit Lebermikrosomen von Ratten. Auch die Zunahme

des Metaboliten verlief etwas schneller. Die über LC/MS bestimmte Masse des Metaboliten, dessen Retentionszeit ebenfalls bei 6 Minuten lag, betrug ebenfalls 405 u $[M+H]^+$.

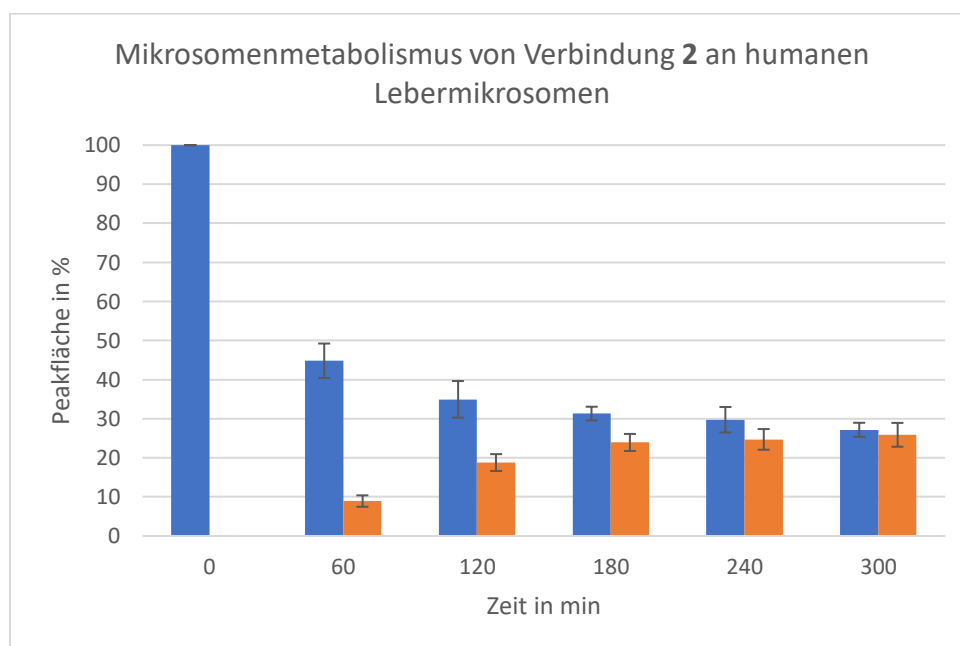


Abbildung 14: Grafische Auftragung der Peakflächen von **2** (blau) und des Metaboliten (orange) im Metabolismus-Assay an humanen Lebermikrosomen. Aufgetragen sind die relativen Peakflächen in % bezogen auf die Peakfläche von **2** zum Zeitpunkt $t = 0$ min.

Die Metabolismusstudien an den Lebermikrosomen von Ratte und Mensch zeigten für beide Spezies die Bildung eines möglicherweise identischen Metaboliten ($[M+H]^+ = 405$ u). In Abbildung 15 sind vier mögliche Strukturen des gebildeten Metaboliten dargestellt, die prinzipiell mögliche Produkte von Oxidations- und Eliminierungsprozessen der in den Lebermikrosomen enthaltenen Enzymfamilien sein könnten.¹⁶³ Mit Verbindung **33** ist darunter auch eine fluorierte Verbindung, die einem der in den *in vivo* Studien beobachteten Radiometaboliten entsprechen könnte. Jedoch sind alle der dargestellten Strukturen mögliche Produkte des Metabolismus der in den Lebermikrosomen enthaltenen Enzyme. Für eine abschließende Aufklärung der Struktur müssten die möglichen Metabolismusprodukte synthetisiert und chromatographisch über HPLC- und (fraktionierte) LC/MS-Messungen mit dem gebildeten Metaboliten

verglichen werden. Dies wurde jedoch aufgrund des notwendigen großen Aufwands nicht durchgeführt.

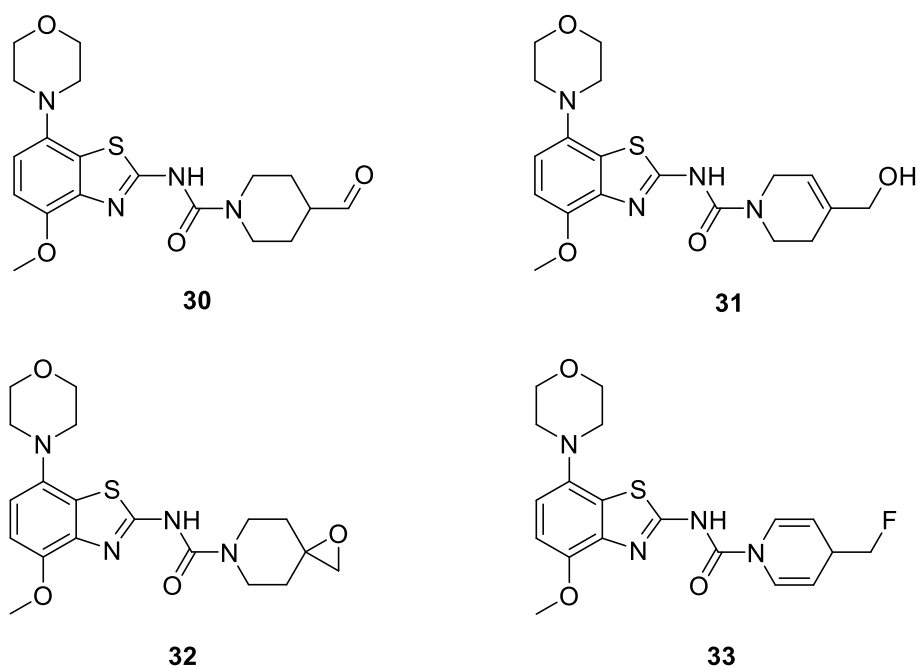


Abbildung 15: Mögliche Produkte des Mikrosomenmetabolismus von **2** mit $[M+H]^+ = 405$ u.

3.4. Entwicklung eines Fluorethylpiperazin-Derivats

Die bisherigen veröffentlichten und hier vorgestellten Tozadenant-Derivate besitzen alle einen Piperidinring als Strukturelement. Durch Austausch des Piperidins durch ein Piperazin könnte jedoch die metabolische Stabilität erhöht werden. Außerdem könnte so eine günstige Veränderung der Lipophilie herbeigeführt werden, was Einfluss auf die Überwindung der Blut-Hirn-Schranke haben könnte. Das Fluormethylpiperidin-Derivat besitzt einen $\log P$ -Wert von 2,62, während eine entsprechende Fluorethylpiperazin-Verbindung einen $\log P$ -Wert von 1,99 aufweist.

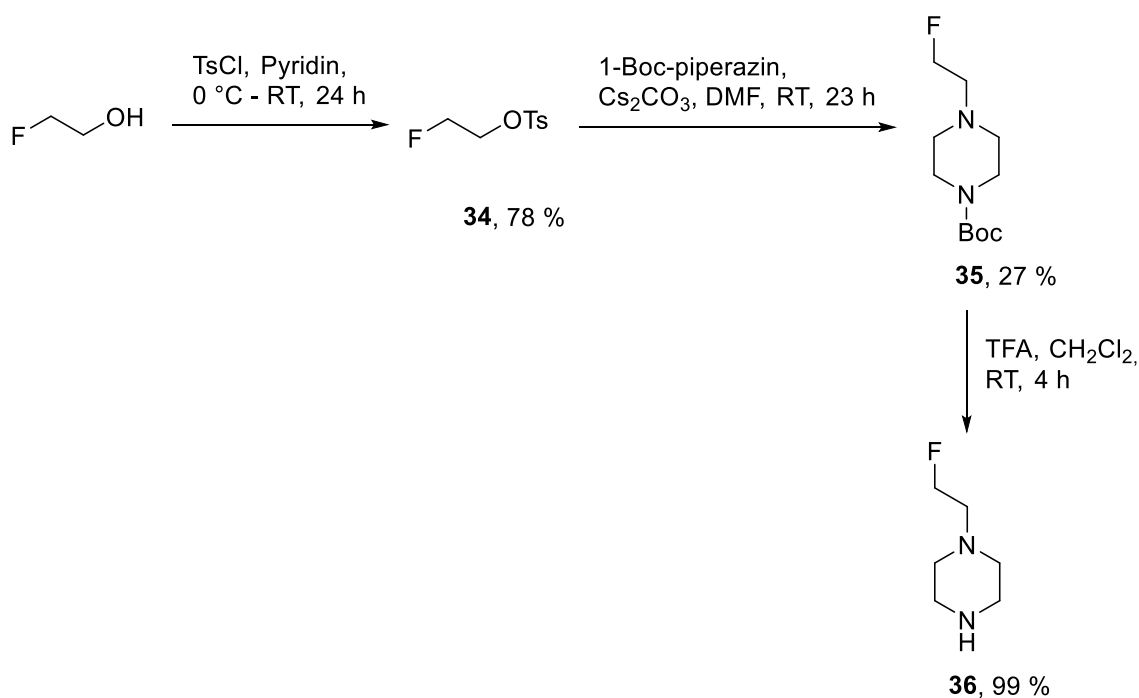
Die Bindungsaffinität gegenüber dem $A_{2A}R$ sollte im Wesentlichen erhalten bleiben. Sowohl ein Piperidin- als auch ein Piperazinrest liegen in nahezu idealer

Sesselkonformation vor. Das zusätzliche Stickstoff-Atom könnte zudem als Wasserstoffbrückenakzeptor fungieren.

Im weiteren Verlauf des Projekts wurde also ein Fluorethylpiperazin-Derivat von Tozadenant synthetisiert und biologisch evaluiert.

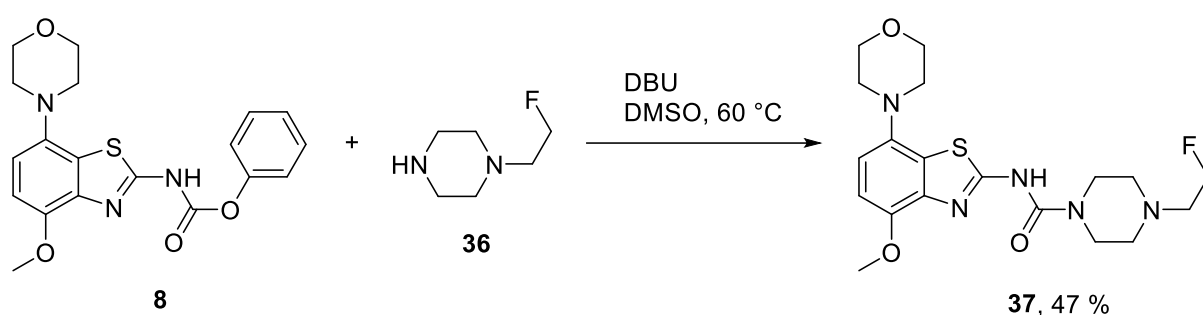
3.4.1. Synthese des Piperazin-Derivats

Wie die bereits vorgestellten A_{2A}R-Liganden wurde auch dieses Aminobenzothiazol über eine konvergente Synthese-Strategie synthetisiert. Dazu wurde erneut das Carbamat **8** verwendet. Als zweiter Baustein fungierte ein 1-(2-Fluorethyl)piperazin, das in einer dreistufigen Synthese hergestellt wurde. Zunächst wurde 2-Fluorethanol mit einer Tosylat-Abgangsgruppe versehen, um die Alkylierung des freienamins in 1-Boc-piperazin zu ermöglichen. Als letzter Schritt erfolgte die Abspaltung der Boc-Schutzgruppe durch TFA. Das gewünschte 1-(2-Fluorethyl)piperazin wurde in einer Gesamtausbeute von 21 % erhalten.



Schema 18: Synthese des Piperazin-Bausteins.

Durch die Kondensationsreaktion zwischen Carbamat **8** und Piperazin **36** konnte das gewünschte Aminobenzothiazol-Derivat **37** in 47 % Ausbeute gewonnen werden. Zur Bestimmung der Dissoziationskonstante K_i zum $A_{2A}R$ wurden erneut Wettbewerbsexperimente von der Arbeitsgruppe Medizinalchemie durchgeführt. Mit 10,2 nM ist sie zwar höher als die von **2** oder **1**, jedoch ist die Bindungsaffinität noch ausreichend hoch. Wegen des neuen Strukturelements des Piperazins, das ein anderes pharmakologisches Verhalten bedeuten könnte, wurde eine Radiofluorierungsstrategie entwickelt.

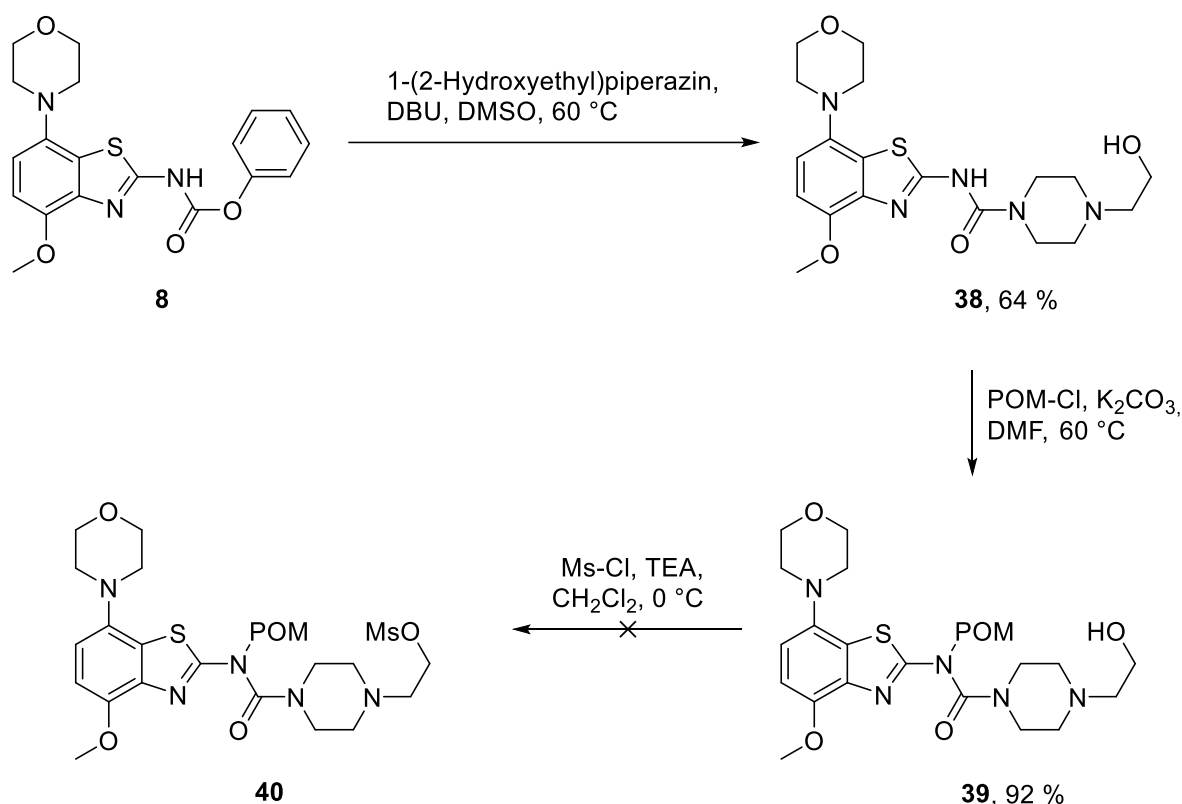


Schema 19: Synthese des Piperazin-Derivats **37**.

3.4.2. Versuche zur Synthese eines Radiomarkierungsvorläufers

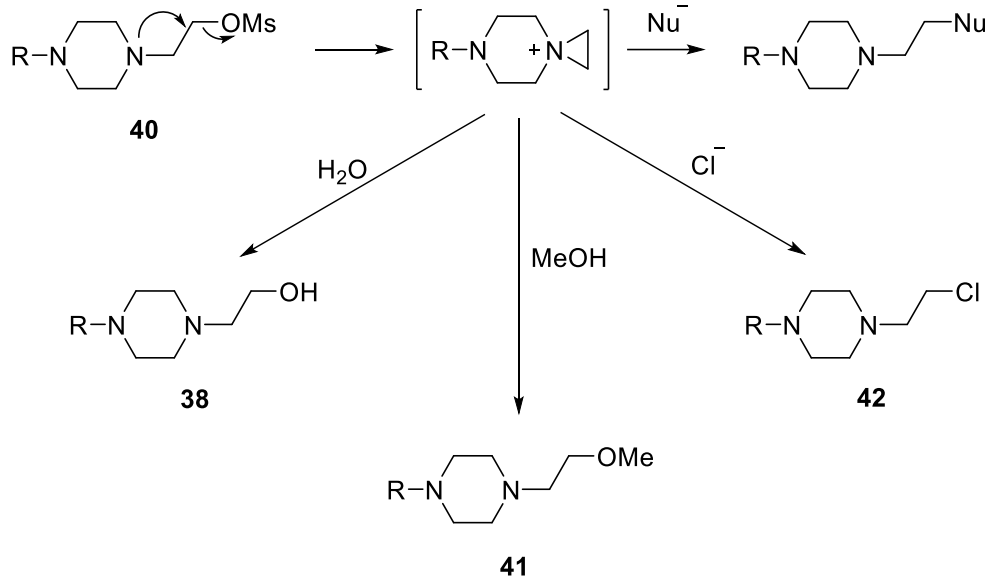
Die Radiofluorierung sollte erneut über den S_N2 -Mechanismus mit $[^{18}\text{F}]$ Fluorid als Nukleophil erfolgen. Es sollte ein Mesylat-Vorläufer mit einer POM-Schutzgruppe am freien Amin synthetisiert werden. Dazu wurde in einer ersten Stufe 1-(2-Hydroxyethyl)piperazin mit dem Carbamat **8** umgesetzt. Während der wässrigen Aufarbeitung ging jedoch ein Großteil der gewünschten Verbindung verloren, sodass nur sehr geringe Ausbeuten erzielt werden konnten. Durch Auslassen der wässrigen Aufarbeitung und direkter säulenchromatographischer Reinigung nach Abschluss der Reaktion konnte die Ausbeute auf 64 % gesteigert werden. Bei der nachfolgenden POM-Schätzung des sekundären Amins führte eine wässrige Aufarbeitung ebenfalls zu großen Ausbeuteverlusten. Statt der normalerweise durchgeführten Extraktion wurde die Reaktionslösung filtriert, um das verwendete Kaliumcarbonat zu entfernen, und anschließend nach Entfernen des Lösungsmittels säulenchromatographisch gereinigt. So

wurden schließlich Ausbeuten von bis zu 92 % erhalten. Die im letzten Syntheseschritt geplante Einführung der Mesylat-Abgangsgruppe gelang jedoch nicht. Weder die Variation der Aufarbeitung noch der chromatographischen Reinigung führte zur Isolierung der gewünschten Vorläuferverbindung.



Schema 20: Syntheseschema der Vorläufersynthese für $[^{18}\text{F}]\mathbf{37}$.

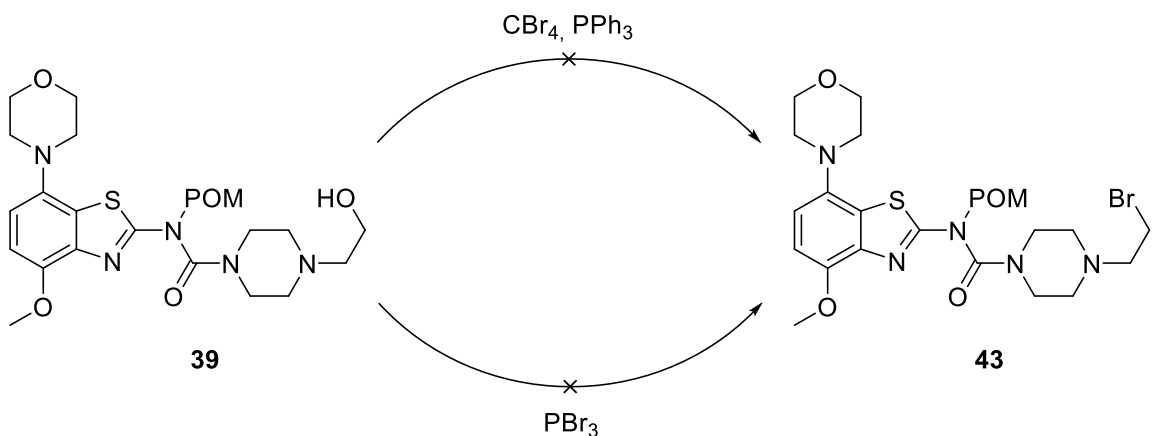
Unter Verwendung von Dichlormethan und Methanol als Laufmittelgemisch in der Säulenchromatographie konnte lediglich der Methylether **41** isoliert werden. Eine mögliche Erklärung für diese Beobachtung ist die Bildung eines Aziridinium-Ions. Die Mesylat-Abgangsgruppe wird unter Bildung des Aziridinium-Rings abgespalten. Die ionische Spezies ist sehr reaktiv und wird somit von jedem Nukleophil in der Umgebung angegriffen werden. Durch Verwendung von Methanol als Lösungsmittel könnte der Methylether **41** gebildet werden.



Schema 21: Mögliche Bildung eines Aziridinium-Ions und anschließender nukleophiler Angriff.

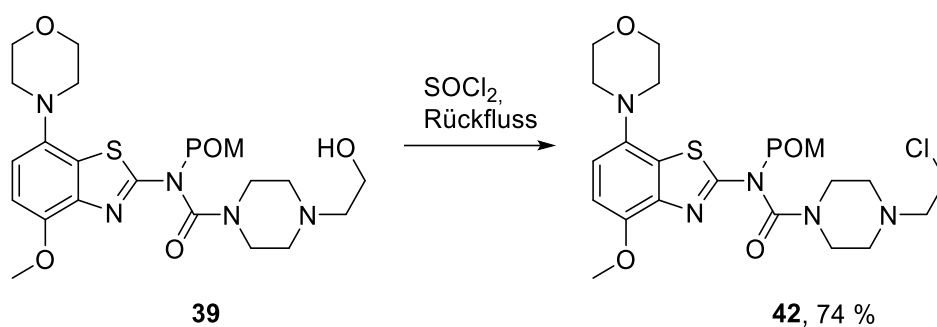
Durch einen Wechsel des Laufmittelgemischs bei der Säulenchromatographie von Dichlormethan und Methanol zu Petrolether und Ethylacetat konnte das Mesylat **40** aber ebenfalls nicht gewonnen werden. Lediglich sehr geringe Mengen der chlorierten Verbindung **42** wurden isoliert.

Um die Labilität der Vorläuferverbindung zu verringern, sollte im Folgenden eine schwächere Abgangsgruppe, ein Bromid, eingeführt werden. Die Bromierung des Alkohols gelang jedoch weder mit Tetrabrommethan und Triphenylphosphin noch unter Verwendung von Phosphortribromid. Auch die Variation der Aufarbeitung und Reinigung führte nicht zur Isolierung der gewünschten Vorläuferverbindung.



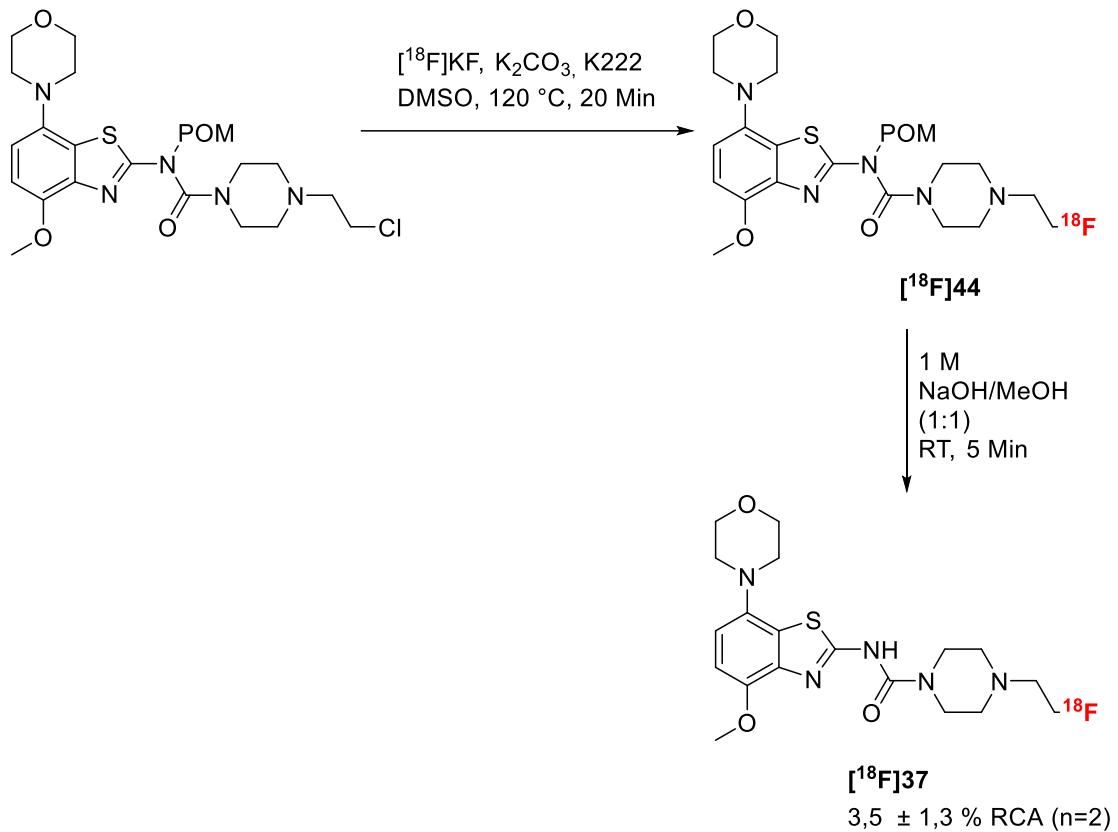
Schema 22: Reaktionsgleichungen der untersuchten Bromierungsreaktionen.

Da weder das Mesylat **40** noch das Bromid **43** erfolgreich synthetisiert und isoliert werden konnten, wurde stattdessen die chlorierte Verbindung **42** als Radiofluorierungsvorläufer eingesetzt. Dazu wurde der Alkohol **39** mit Thionylchlorid zum chlorierten Vorläufer **42** umgesetzt. Außerdem wurde, um den Reaktionsfortschritt während der zweistufigen Radiosynthese verfolgen zu können, die geschützte Referenzverbindung **44** durch POM-Schätzung des sekundären Amins in **37** hergestellt.



Schema 23: Synthese eines Radiomarkierungsläufers mit Chloridabgangsgruppe.

Die Radiofluorierung der chlorierten Vorläuferverbindung verlief in zwei Stufen. Als erster Schritt wurde das Chlorid in einem $\text{S}_{\text{N}}2$ -Mechanismus durch ^{18}F Fluorid in Gegenwart von Kryptofix[®] und Kaliumcarbonat substituiert. Die anschließende basische Abspaltung der POM-Schutzgruppe ergab ^{18}F **37** in einer geringen radiochemischen Ausbeute von $3,5 \pm 1,3$ % (HPLC).



Schema 24: Zweistufige Radiofluorierung von $[^{18}\text{F}]\text{37}$ über Chlor-Vorläuferverbindung.

Wegen der geringen radiochemischen Ausbeute waren keine weiteren präklinischen Evaluierungen mit $[^{18}\text{F}]\text{37}$ möglich. Alternative Radiofluorierungen der Verbindung könnten über direkte Desoxyfluorierung unter Verwendung von ^{18}F -markierten Desoxyfluorierungsreagenzien, z. B. $[^{18}\text{F}]\text{PyFluor}$, des Alkohols **39** verlaufen.¹⁵⁷

3.4.3. Metabolismusstudien mit Verbindung **37** an Lebermikrosomen

Die *in vitro* Metabolismusstudien mit Verbindung **37** wurden ebenfalls an Lebermikrosomen von Ratten und Mensch durchgeführt. Anders als bei Verbindung **2** konnte hier jedoch nur eine Abnahme der **37**-Konzentration mit voranschreitender Zeit des Assays beobachtet werden. Ein neuer Peak für einen Metaboliten war nicht detektierbar. Stattdessen wurden die Metaboliten vermutlich gemeinsam mit dem Matrix-Peak eluiert und konnten somit nicht quantifiziert werden.

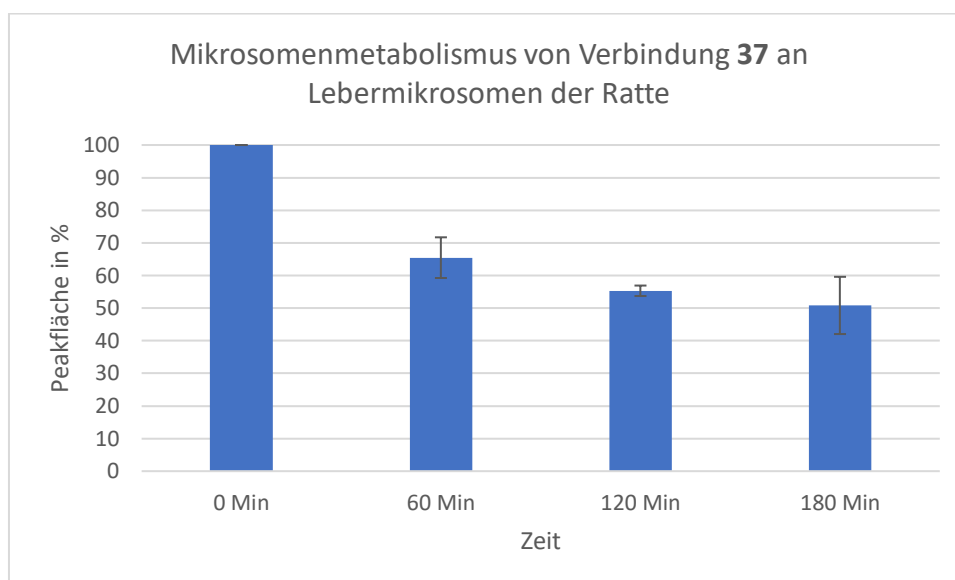


Abbildung 16: Grafische Auftragung der Peakflächen von **37** im Metabolismus-Assay an Lebermikrosomen der Ratte. Aufgetragen sind die relativen Peakflächen in % bezogen auf die Peakfläche von **37** zum Zeitpunkt $t = 0$ min.

Während des Metabolismus-Assays mit Lebermikrosomen der Ratte wurden während der ersten Stunde 35 % von **37** metabolisch abgebaut. **37** ist damit metabolisch etwas stabiler als Verbindung **2**, von der während der ersten Stunde 40 % der Verbindung abgebaut wurden. Deutlicher ist der Unterschied in den Metabolismus-Assays mit humanen Lebermikrosomen. Während bei Verbindung **2** während der ersten Stunde 55 % des Liganden abgebaut wurden, waren es bei **37** lediglich 21 %. Verbindung **37** wird demnach also langsamer metabolisiert als Verbindung **2** und scheint somit tatsächlich eine höhere metabolische Stabilität aufzuweisen. Für die Anwendung als PET-Tracer könnte dies vorteilhaft gegenüber Verbindung **2** sein.

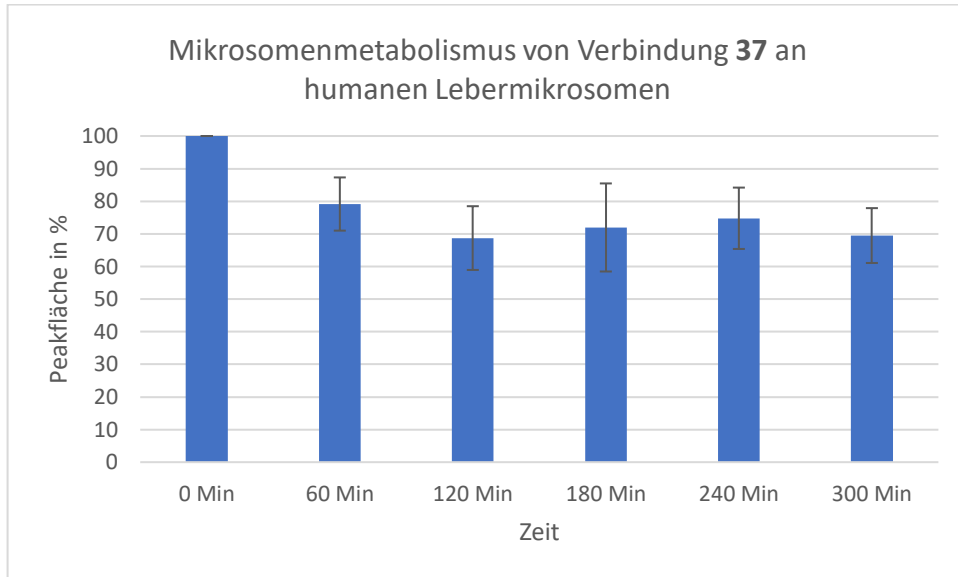


Abbildung 17: Grafische Auftragung der Peakflächen von **37** im Metabolismus-Assay an humanen Lebermikrosomen. Aufgetragen sind die relativen Peakflächen in % bezogen auf die Peakfläche von **37** zum Zeitpunkt $t = 0$ min.

4. Experimentalteil

4.1. Allgemeiner Teil

Alle kommerziell erhältlichen Chemikalien und Lösungsmittel wurden ohne vorherige Aufreinigung verwendet. Sofern nicht anders angegeben, wurden die Reaktionen bei Raumtemperatur und Normaldruck ohne Inertgas in Standard-Glasgeräten durchgeführt. Luft- und feuchtigkeitsempfindliche Reaktionen wurden unter Argonatmosphäre unter Verwendung von Standardtechniken zum inertem Arbeiten durchgeführt.

N. c. a. [^{18}F]Fluorid wurde durch Bestrahlung von isotonenangereichertem [^{18}O]Wasser entweder an einem Babyzyklotron BC 1710 oder an einem GE PETtrace hergestellt (INM-5, Forschungszentrum Jülich).

Schmelzpunkte wurden an einem Schmelzpunktmessgerät B-540 der Firma Büchi gemessen.

^1H -, ^{13}C - und ^{19}F -NMR-Spektren wurden auf einem Bruker Avance Neo 400 bei 400,13, 100,61 und 376,49 MHz und 299 K gemessen. Die Proben wurden in deuterierten Lösungsmitteln (CDCl_3 bzw. $\text{DMSO-}d_6$) als ca. 5 %ige Lösung gemessen. ^{13}C - und ^{19}F -NMR-Messungen wurden unter ^1H -Breitbandentkopplung durchgeführt. Die chemische Verschiebung δ ist in parts per million (ppm) angegeben. Als interne Referenz wurde das Lösungsmittelsignal (für CDCl_3 : $\delta_{\text{H}} = 7,26$; $\delta_{\text{C}} = 77,16$; für $\text{DMSO-}d_6$: $\delta_{\text{H}} = 2,50$; $\delta_{\text{C}} = 50,32$) verwendet.

Die IUPAC-Namen der Verbindungen wurden mithilfe der ChemDraw Professional Software Version 16.0.1.4 erstellt.

Niedrigauflösende Massenspektren wurden mit einem MSQ PlusTM Single Quadrupol-Massenspektrometer (Thermo Electron Corporation San Jose, USA) im Elektronenspray-Modus (ESI positiv) aufgenommen. Die Proben wurden mit einer Konzentration von 1 mg/mL in Methanol gelöst und direkt in das Ionisierungsinterface injiziert. Als Eluent wurde ein Gemisch aus Methanol, Wasser und Essigsäure im Verhältnis 50/50/0,2 (v/v/v) mit einem Fluss von 200 $\mu\text{L}/\text{min}$ verwendet.

Hochauflösende Massenspektren (HRMS) wurden am Zentralinstitut für Engineering, Elektronik und Analytik ZEA-3 am Forschungszentrum Jülich aufgenommen.

Dünnschichtchromatographie wurde zur Überprüfung des Reaktionsfortschritts und als Reinheitsüberprüfung der isolierten Zielverbindungen verwendet. Dazu wurden DC-Aluminiumfolien mit Kieselgelschicht und Fluoreszenzindikator (ALUGRAM SIL G UV254) der Firma Macherey-Nagel verwendet. Zur Visualisierung wurde UV-Licht verwendet. Radioaktive Bestandteile wurden mittels eines Packard Instant Imager gemessen.

Zur Säulenchromatographie wurde ein Pure C-815 Flash Chromatographiesystem der Firma Büchi mit vorgepackten FlashPure-Säulen (Silica, 40 µm, irregular; Büchi) als stationäre Phase verwendet. Als mobile Phasen wurden Lösungsmittelgemische, die aus Lösungsmitteln (Petrolether, Ethylacetat, Dichlormethan, Methanol) mit technischem Reinheitsgrad hergestellt wurden, verwendet. Das Mischungsverhältnis ist als Volumenverhältnis angegeben.

Die Radioaktivitätsmenge wurde an einem CRC® - 25 R der Firma Capintec gemessen.

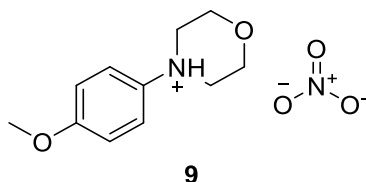
Zur Hochleistungsflüssigkeitschromatographie wurde ein modulares System bestehend aus Knauer P 6.1L Pumpe, einem Knauer 2.1S UV-Detektor und einem Szintillationsdetektor, bestehend aus einem Harschaw 3'' NaI Bohrlochkristall, einem Ortec Model 276 Photomultiplier sowie einem ACE Mate Spektroskopiesystem. Die Probenaufgabe erfolgte mittels eines Rheodyne 6-Wegeventils mit 20 µL Probenschleife. Ein zusätzliches baugleiches Ventil wurde zwischen dem Ausgang der HPLC-Säule und den Detektoren eingebaut. Die verwendeten Säulen waren eine MultoKrom 100 – 5 C18 der Firma CS sowie eine Synergi 4 µm Hydro-RP 80 Å der Firma Phenomenex.

Die Mikrosomenmetabolismus-Assays wurden in 1,5 mL-Eppendorfgefäßen in einem Thermomixer comfort der Firma Eppendorf bei 37 °C und 8000 rpm durchgeführt. Die verwendeten Lebermikrosomen wurden kommerziell erhalten und bis zur Verwendung bei - 80 °C gelagert.

4.2. Organische Synthese

4.2.1. Synthese von Phenyl-(4-methoxy-7-morpholinobenzo[*d*]thiazol-2-yl)carbammat

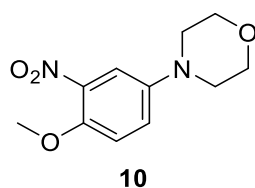
4-(4-Methoxyphenyl)morpholin-Nitrat (**9**)¹⁵⁴



p-Anisidin (61,7 g, 501 mmol, 1,00 Äq.) und Tetrabutylammoniumbromid (3,22 g, 10,0 mmol, 0,02 Äq.) wurden in 2-Chlorethylether (178 mL, 1,52 mol, 3,03 Äq.) und 42 %iger wässriger Natronlauge (320 g NaOH in 480 mL Wasser) gelöst und unter starkem Rühren bei 140 °C für sieben Stunden gerührt. Die Reaktion wurde anschließend auf Raumtemperatur abgekühlt und für fünf Tage gerührt. Danach wurde die Reaktionslösung mit jeweils 300 mL TBME und Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit Wasser gewaschen und auf 0 °C gekühlt. Durch die langsame Zugabe von 70 %iger Salpetersäure (32 mL) und Kühlen bei 5 °C über Nacht fiel ein Feststoff aus, der abfiltriert, mit TBME gewaschen und über Nacht im Vakuum bei 40 °C getrocknet wurde. Die gewünschte Verbindung **9** wurde als hellbrauner Feststoff (98.2 g, 383 mmol, 76 % [Lit.: 61 %]¹⁵⁴) erhalten.

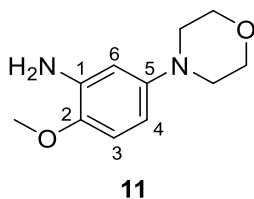
¹H-NMR (DMSO-*d*₆): δ = 3.44 – 3.56 (m, 4H, 2 x NCH₂), 3.78 (s, 3H, OCH₃), 3.87 – 3.98 (m, 4H, 2 x OCH₂), 7.07 (d, *J* = 9.1 Hz, 2H, 2 x Ar-*H*), 7.51 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H, 2 x Ar-*H*) ppm.

Die analytischen Daten der ¹H-NMR-Messung stimmen mit den in der Literatur bekannten Daten überein.¹⁵²

4-(4-Methoxy-3-nitrophenyl)morpholin (**10**)¹⁵⁴

Eine Lösung an 4-(4-Methoxyphenyl)morpholin-Nitrat (**9**) (111,7 g, 436 mmol) in Dichlormethan (690 mL) wurde langsam und unter starkem Rühren zu einer auf 0 °C abgekühlten konzentrierten Schwefelsäure (245 mL) getropft. Durch Kühlen im Eis-NaCl-Bad wurde die Temperatur dabei unter 5 °C gehalten. Nach Beenden der Zugabe wurde die Reaktion für vier Stunden unter Kühlung im Eis-NaCl-Bad gerührt und anschließend über Nacht im Kühlschrank gelagert. Die untere Phase wurde abgetrennt und mit Eiswasser (800 mL) verdünnt. Unter Kühlung im Eis-NaCl-Bad und weiterer Zugabe von Eis wurde eine Ammoniak-Lösung (25 %, 1,10 L) so langsam zugegeben, dass die Temperatur unter 10 °C gehalten werden konnte. Nach Beenden der Zugabe lag der pH-Wert > 10 und die Lösung hatte sich rot verfärbt. Bei der Lagerung über Nacht im Kühlschrank fiel ein rostroter Feststoff aus, der abfiltriert und mit Wasser gewaschen wurde. Durch Trocknen bei 50 °C im Vakuum wurde die gewünschte Verbindung **10** (91,6 g, 384 mmol, 88 % [Lit.: 95 %]¹⁵⁴) erhalten.

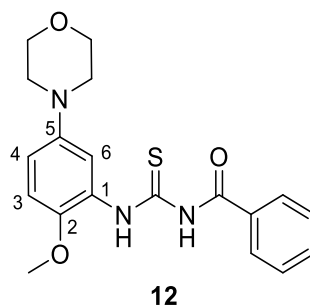
¹H-NMR (DMSO-d₆): δ = 3.05 – 3.09 (m, 4H, 2 x NCH₂), 3.70 – 3.75 (m, 4H, 2 x OCH₂), 3.84 (s, 3H, OCH₃), 7.22 – 7.29 (m, 2H, 2 x Ar-H), 7.37 (d, *J* = 2.6 Hz, 1H, Ar-H) ppm.

2-Methoxy-5-morpholinoanilin (**11**)

4-(4-Methoxy-3-nitrophenyl)morpholin (**10**) (12,6 g, 52,8 mmol, 1,00 Äq.) und Ammoniumchlorid (28,2 g, 528 mmol, 10,0 Äq.) wurden in Ethanol (300 mL) und Ethylacetat (300 mL) suspendiert und mit Zinkpulver (34,5 g, 528 mmol, 10,0 Äq.) versetzt. Die Reaktion wurde für 2,5 Stunden bei Raumtemperatur stark gerührt, wobei im Reaktionsgemisch ein Farbumschlag von braun zu gelb beobachtet wurde. Das Gemisch wurde über Celite® filtriert und der Filterkuchen mit Ethylacetat gewaschen. Nach Entfernen des Lösungsmittels *in vacuo* wurde die gewünschte Verbindung **11** als brauner Feststoff (10,9 g, 52,1 mmol, 99 %) erhalten.

¹H-NMR (DMSO-d₆): δ = 2.82 – 2.95 (m, 4H, 2 x NCH₂), 3.60 – 3.76 (m, 7H, 2 x OCH₂, OCH₃), 4.60 (s, 2H, NH₂), 6.09 (dd, *J* = 8.6, 2.9 Hz, 1H, C⁴H), 6.30 (d, *J* = 2.8 Hz, 1H, C⁶H), 6.65 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H, C³H) ppm.

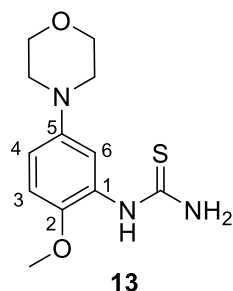
Die analytischen Daten der ¹H-NMR-Messung stimmen mit den in der Literatur bekannten Daten überein.¹⁵²

N-((2-Methoxy-5-morpholinophenyl)carbamoithioyl)benzamid(**12**)¹⁵⁵

Zu einer Lösung an 2-Methoxy-5-morpholinoanilin (**11**) (10,9 g, 52,1 mmol, 1,00 Äq.) in Aceton (250 mL) wurde über den Zeitraum einer halben Stunde eine Lösung an Benzoylisothiocyanat (8,05 mL, 9,71 g, 59,5 mmol, 1,14 Äq.) in Aceton (140 mL) getropft. Nach Beenden der Zugabe wurde die Reaktion für zwei Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Während der Entfernung des Lösungsmittels Aceton *in vacuo* wurden in mehreren Portionen insgesamt 250 mL Wasser zugegeben. Nach Kühlung im Kühlschrank über Nacht wurde der ausgefallene, braune Feststoff abfiltriert und mit Wasser gewaschen. Umkristallisation aus Methanol lieferte die gewünschte Verbindung **12** als gelbe Kristallnadeln (16,0 g, 43,0 mmol, 83 % [Lit.: 94 %]¹⁵⁵).

¹H-NMR (CDCl₃): δ = 3.09 – 3.14 (m, 4H, 2 x NCH₂), 3.85 – 3.89 (m, 4H, 2 x OCH₂), 3.92 (s, 3H, OCH₃), 6.75 (dd, J = 8.9, 2.9 Hz, 1H, C⁴H), 6.89 (d, J = 8.9 Hz, 1H, C³H), 7.51 – 7.56 (m, 2H, Ph-H), 7.61 – 7.66 (m, 1H, Ph-H), 7.88 – 7.93 (m, 2H, Ph-H), 8.71 (d, J = 2.9 Hz, 1H, C⁶H), 9.04 (s, 1H, NH), 12.98 (s, 1H, NH) ppm.

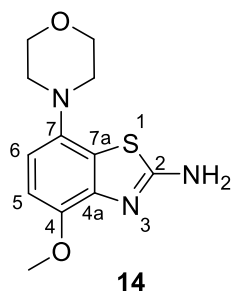
Die analytischen Daten der ¹H-NMR-Messung stimmen mit den in der Literatur bekannten Daten überein.¹⁵²

1-(2-Methoxy-5-morpholinophenyl)thioharnstoff (**13**)¹⁵⁵

N-((2-Methoxy-5-morpholinophenyl)carbamothioyl)benzamid (**12**) (20,4 g, 54,9 mmol, 1,00 Äq.) wurde in Methanol (100 mL) suspendiert und mit einer Lösung an Natriummethanolat in Methanol (25 %, 26 mL, 95,4 mmol, 1,74 Äq.) versetzt. Die dunkelbraune Lösung wurde für 18 Stunden bei Raumtemperatur gerührt, wobei ein heller Feststoff ausfiel. Die Suspension wurde im Anschluss für eine Stunde im Eisbad gekühlt. Der beige Feststoff (12,6 g, 47,2 mmol, 86 % [Lit.: 97 %]¹⁵⁵) wurde abfiltriert, nacheinander mit kaltem Methanol und *n*-Hexan gewaschen und *in vacuo* getrocknet.

¹H-NMR (DMSO-*d*₆): δ = 2.95 – 2.99 (m, 4H, 2 x NCH₂), 3.70 – 3.76 (m, 7H, 2 x OCH₂, OCH₃), 6.70 (dd, *J* = 8.9, 2.9 Hz, 1H, C⁴H), 6.92 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H, C³H), 7.22 – 7.74 (m, 3H, C⁶H, NH₂), 9.01 (s, 1H, NH) ppm.

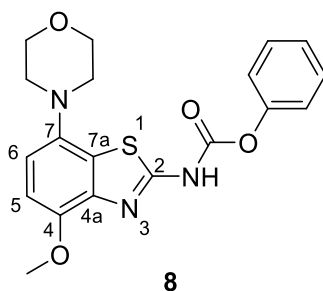
Die analytischen Daten der ¹H-NMR-Messung stimmen mit den in der Literatur bekannten Daten überein.¹⁵²

4-Methoxy-7-morpholinobenzo[d]thiazol-2-amin (**14**)¹⁵⁵

1-(2-Methoxy-5-morpholinophenyl)thioharnstoff (**13**) (12,6 g, 47,2 mmol, 1,00 Äq.) wurde in Ethylacetat (140 mL) suspendiert und auf 80 °C erhitzt. Über einen Zeitraum von 15 Minuten wurde eine Bromwasserstofflösung (45 % in Essigsäure, 12,4 mL, 93,4 mmol, 1,98 Äq.) tröpfchenweise zugegeben. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch für 15 Minuten auf 100 °C erhitzt, bevor DMSO (4,1 mL, 4,51 g, 57,7 mmol, 1,22 Äq.) in einer Portion zugegeben wurde. Nach weiteren 10 Minuten bei 100 °C wurde Ethylacetat (20 mL) zugegeben und die Reaktion für vier Stunden bei 100 °C gerührt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurde der ausgefallene Feststoff abfiltriert, mit Ethylacetat gewaschen und anschließend in Ethanol (110 mL) suspendiert, mit Wasser (145 mL) versetzt und die rote Lösung auf 50 °C erhitzt. Eine wässrige Ammoniaklösung (25 %, 11,0 mL, 146 mmol, 3,09 Äq.) wurde zugegeben und das Gemisch im Eisbad über Nacht gerührt. Währenddessen taute das Eisbad auf. Der ausgefallene graue Feststoff wurde abfiltriert und mit 50 % Ethanol in Wasser gewaschen. Nach Extraktion des Feststoffs mit kochendem THF und Trocknen wurde die gewünschte Verbindung **14** als grauer Feststoff (12,0 g, 45,2 mmol, 96 % [Lit.: 90 %]¹⁵⁵) erhalten.

¹H-NMR (DMSO-d₆): δ = 2.89 – 2.96 (m, 4H, 2 x NCH₂), 3.69 – 3.75 (m, 4H, OCH₂), 3.79 (s, 3H, OCH₃), 6.63 (d, J = 8.5 Hz, 1H, C⁶H), 6.77 (d, J = 8.6 Hz, 1H, C⁵H), 7.39 (s, 2H, NH₂) ppm.

Die analytischen Daten der ¹H-NMR-Messung stimmen mit den in der Literatur bekannten Daten überein.¹⁵²

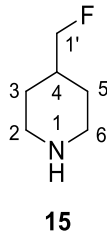
Phenyl-(4-methoxy-7-morpholinobenzo[d]thiazol-2-yl)carbammat (**8**)¹⁵²

4-Methoxy-7-morpholinobenzo[d]thiazol-2-amin (**14**) (5,39 g, 20,3 mmol, 1,00 Äq.) wurde in THF (80 mL) vorgelegt und die Suspension auf 0 °C gekühlt. Pyridin (4,95 mL, 61,5 mmol, 3,03 Äq.) wurde zugegeben und die Lösung für 10 Minuten bei 0 °C gerührt. Anschließend wurde Chlorameisensäurephenylester (3,0 mL, 23,9 mmol, 1,18 Äq.) zugegeben und die Reaktion für 22 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionslösung wurde mit Ethylacetat (200 mL) und Wasser (120 mL) verdünnt. Die organische Phase wurde abgetrennt und nacheinander zweimal mit 1 M HCl und je einmal mit Wasser und wässriger, gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel *in vacuo* entfernt. Umkristallisation aus Ethanol lieferte die gewünschte Verbindung **8** als beigen Feststoff (5,55 g, 14,4 mmol, 71 % [Lit.: 71 %]¹⁵²).

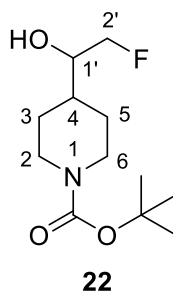
¹H-NMR (CDCl₃): δ = 3.08 – 3.15 (m, 4H, NCH₂), 3.86 – 3.91 (m, 4H, OCH₂), 3.98 (s, 3H, OCH₃), 6.83 – 6.90 (m, 2H, C⁶H, C⁵H), 7.21 – 7.33 (m, 3H, 3 x Ph-H), 7.37 – 7.42 (m, 2H, 2 x Ph-H), 9.65 (br, 1H, NH) ppm.

Die analytischen Daten der ¹H-NMR-Messung stimmen mit den in der Literatur bekannten Daten überein.¹⁵²

4.2.2. Synthese der Piperidin- und Piperazin-Derivate

4-(Fluoromethyl)piperidin-hydrochlorid (**15**)

1-Boc-4-fluoromethylpiperidin (208 mg, 1,34 mmol) wurden in Dichlormethan (5 mL) gelöst und mit Trifluoressigsäure (5 mL) versetzt. Die Lösung wurde 45 Minuten bei Raumtemperatur gerührt und anschließend *in vacuo* eingeeengt. Der Rückstand wurde mit 3 M methanolischer HCl versetzt. Entfernen des Lösungsmittels lieferte 4-(Fluoromethyl)piperidin-hydrochlorid (**15**) (196 mg, 1,28 mmol, 96 %) als gelbes Öl, das ohne weitere Aufreinigung benutzt wurde.

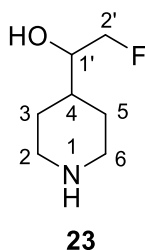
tert-Butyl-4-(2-fluoro-1-hydroxyethyl)piperidin-1-carboxylat (**22**)

N-Boc-piperidin-4-carboxaldehyd (960 mg, 4,5 mmol, 1,50 Äq.) und Fluoriodmethan (201 μ L, 474 mg, 3,00 mmol, 1,00 Äq.) wurden unter Argon-Atmosphäre in THF (10 mL) und Diethylether (10 mL) gelöst. Bei -78 °C wurde eine 1,5 M Lösung an Methyllithium-Lithiumbromid-Komplex in Diethylether (4,00 mL, 6,00 mmol, 2,00 Äq.) zugetropft. Das Reaktionsgemisch wurde für fünf Minuten bei -78 °C gerührt, bevor die Reaktion durch Zugabe von 3 mL gesättigter, wässriger Ammoniumchlorid-Lösung beendet wurde. Anschließend wurde die Lösung dreimal mit Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel *in vacuo* entfernt. Flash-Säulenchromatographie (Laufmittel: Petrolether/Ethylacetat: 3/1) lieferte *tert*-Butyl-4-(2-fluoro-1-hydroxyethyl)piperidin-1-carboxylat (**22**) (165 mg, 0,667 mmol, 22 %) als gelbes Öl.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 1.23 - 1.31$ (m, 2H, 0.5 C^3H_2 , 0.5 C^5H_2), 1.44 (s, 9H, Boc- CH_3), 1.54 – 1.65 (m, 2H, 0.5 C^3H_2 , 0.5 C^5H_2), 1.80 – 1.88 (m, 1H, C^4H), 2.18 (br, 1H, OH), 2.56 – 2.75 (m, 2H, 0.5 C^2H_2 , 0.5 C^6H_2), 3.54 – 3.69 (m, 1H, C^1H), 4.02 – 4.25 (m, 2H, 0.5 C^2H_2 , 0.5 C^6H_2), 4.29 – 4.60 (m, 2H, $\text{C}^2'\text{H}_2$) ppm.

$^{19}\text{F-NMR}$ (CDCl_3): $\delta = -234.69$ ppm.

HRMS m/z : $[\text{M}+\text{Na}]^+$ berechnet: 270.14759; gefunden: 270.14768.

2-Fluoro-1-(piperidin-4-yl)ethan-1-ol-hydrochlorid (**23**)

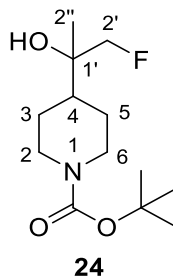
tert-Butyl-4-(2-fluoro-1-hydroxyethyl)piperidin-1-carboxylat (**22**) (165 mg, 0,667 mmol) wurden in Dichlormethan (5 mL) gelöst und mit Trifluoressigsäure (5 mL) versetzt. Die Lösung wurde eine Stunde bei Raumtemperatur gerührt und anschließend *in vacuo* eingengt. Der Rückstand wurde mit 3 M methanolischer HCl versetzt. Entfernen des Lösungsmittels lieferte 2-Fluoro-1-(piperidin-4-yl)ethan-1-ol-hydrochlorid (**23**) (112 mg, 0,610 mmol, 91 %) als gelbes Öl, das ohne weitere Aufreinigung benutzt wurde.

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6): $\delta = 1.40 - 1.60$ (m, 2H, 0.5 C^3H_2 , 0.5 C^5H_2), 1.60 – 1.72 (m, 2H, 0.5 C^3H_2 , 0.5 C^5H_2), 1,78 – 1.87 (m, 1H, C^4H), 2.70 – 2.85 (m, 2H, 0.5 C^2H_2 , 0.5 C^6H_2), 3.17 – 3.27 (m, 2H, 0.5 C^2H_2 , 0.5 C^6H_2), 3.36 – 3.53 (m, 1H, $\text{C}^{1'}\text{H}$), 4.22 – 4.47 (m, 2H, $\text{C}^{2'}\text{H}_2$), 5.14 (br, 1H), 8.81 (s, 1H), 9.05 (s, 1H) ppm.

$^{19}\text{F-NMR}$ (DMSO- d_6): $\delta = -227.48$ ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6): $\delta = 24.28$ (d, $J = 113.4$ Hz, C^3 , C^5), 35.53 (d, $J = 5.8$ Hz, C^4), 42.85 (d, $J = 14.4$ Hz, C^2 , C^6), 71.36 (d, $J = 18.4$ Hz, $\text{C}^{1'}$), 85.08 (d, $J = 168.1$ Hz, $\text{C}^{2'}$) ppm.

HRMS m/z : $[\text{M}+\text{H}]^+$ berechnet: 148.11322; gefunden: 148.11317.

tert-Butyl-4-(1-fluoro-2-hydroxypropan-2-yl)piperidin-1-carboxylat (**24**)

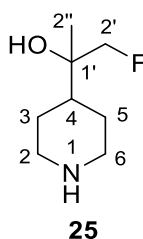
N-Boc-4-acetylpiperidin (681 mg, 3,00 mmol, 1,50 Äq.) und Fluoridmethan (134 μ L, 316 mg, 2,00 mmol, 1,00 Äq.) wurden unter Argon-Atmosphäre in THF (10 mL) und Diethylether (10 mL) gelöst. Bei -78 °C wurde eine 1,5 M Lösung an Methyllithium-Lithiumbromid-Komplex in Diethylether (2,66 mL, 4,00 mmol, 2,00 Äq.) zugetropft. Das Reaktionsgemisch wurde für fünf Minuten bei -78 °C gerührt, bevor die Reaktion durch Zugabe von 2 mL gesättigter, wässriger Ammoniumchlorid-Lösung beendet wurde. Anschließend wurde die Lösung dreimal mit Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel *in vacuo* entfernt. Flash-Säulenchromatographie (Laufmittel: Petrolether/Ethylacetat: 3/1) lieferte *tert*-Butyl-4-(1-fluoro-2-hydroxypropan-2-yl)piperidin-1-carboxylat (**24**) (207 mg, 0,792 mmol, 40 %) als gelbes Öl.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): δ = 1.10 (d, J = 2.4 Hz, 3H, CH_3), 1.15 – 1.33 (m, 2H, 0.5 C^3H_2 , 0.5 C^5H_2), 1.43 (s, 9H, Boc- CH_3), 1.57 – 1.68 (m, 2H, 0.5 C^3H_2 , 0.5 C^5H_2), 1.73 – 1.81 (m, 1H, C^4H), 2.08 (s, 1H, OH), 2.54 – 2.70 (m, 2H, 0.5 C^2H_2 , 0.5 C^6H_2), 4.05 – 4.39 (m, 4H, 0.5 C^2H_2 , 0.5 C^6H_2 , $\text{C}^2'\text{H}_2\text{F}$) ppm.

$^{19}\text{F-NMR}$ (CDCl_3): δ = -230.14 ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3): δ = 19.73 (CH_3), 25.87 (C^3 , C^5), 26.90 (C^2 , C^6), 28.55 (Boc- CH_3), 42.86 (C^4), 73.33 (d, J = 17.1 Hz, $\text{C}^{1'}$), 79.55 (Boc-C), 88.14 (d, J = 172.9 Hz, $\text{C}^{2'}$), 154.84 (Boc-CO) ppm.

HRMS m/z : $[\text{M}+\text{Na}]^+$ berechnet: 284.16324; gefunden: 284.16312.

1-Fluoro-2-(piperidin-4-yl)propan-2-ol-hydrochlorid (**25**)

tert-Butyl-4-(1-fluoro-2-hydroxypropan-2-yl)piperidin-1-carboxylat (**24**) (291 mg, 1,11 mmol) wurde in Dichlormethan (5 mL) gelöst und mit Trifluoressigsäure (5 mL) versetzt. Die Lösung wurde eine Stunde bei Raumtemperatur gerührt und anschließend *in vacuo* eingengt. Der Rückstand wurde mit 3 M methanolischer HCl versetzt. Entfernen des Lösungsmittels lieferte 1-Fluoro-2-(piperidin-4-yl)propan-2-ol-hydrochlorid (**25**) (217 mg, 1,10 mmol, 99 %) als gelbes Öl, das ohne weitere Aufreinigung benutzt wurde.

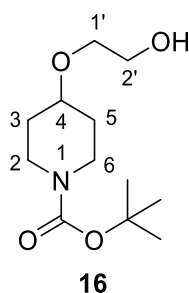
$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6): $\delta = 1.02$ (d, $J = 2.2$ Hz, 3H, CH_3), 1.41 – 1.69 (m, 3H, 0.5 C^3H_2 , 0.5 C^5H_2 , $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}$), 1.70 – 1.84 (m, 2H, 0.5 C^3H_2 , 0.5 C^5H_2), 2.62 – 2.89 (m, 2H, 0.5 C^2H_2 , 0.5 C^6H_2), 3.18 – 3.30 (m, 2H, 0.5 C^2H_2 , 0.5 C^6H_2), 4.18 (dq, $J = 47.8$, $J = 9.3$ Hz, $\text{C}^{2''}\text{H}_2$), 8.77 (br), 9.13 (br) ppm.

$^{19}\text{F-NMR}$ (DMSO- d_6): $\delta = -225.45$ ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6): $\delta = 20.29$ (d, $J = 4.8$ Hz, CH_3), 22.92 (d, $J = 63.3$ Hz, C^3 , C^5), 40.05 (s, C^4), 43.59 (d, $J = 12.0$ Hz, C^2 , C^6), 71.43 (d, $J = 17.2$ Hz, $\text{C}^{1'}$), 87.89 (d, $J = 173.3$ Hz, $\text{C}^{2'}$) ppm.

HRMS m/z : $[\text{M}+\text{H}]^+$ berechnet: 162.12887; gefunden: 162.12887.

tert-Butyl-4-(2-hydroxyethoxy)piperidin-1-carboxylat (**16**)¹⁵⁶



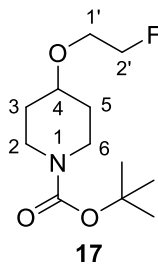
Natriumhydrid (60 % Dispersion in Mineralöl, 650 mg, 16,3 mmol, 1,01 Äq.) wurde unter Argon-Atmosphäre in THF (60 mL) vorgelegt und die Suspension im Eisbad gekühlt. Nach Zugabe von *N*-Boc-4-hydroxypiperidin (3,25 g, 16,3 mmol, 1,01 Äq.) wurde die Suspension für 20 Minuten bei 0 °C gerührt. Anschließend wurde Methylbromacetat (1,5 mL, 2,48 g, 16,2 mmol, 1,00 Äq.) zugegeben und die Reaktion für 22 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Durch Zugabe von Wasser wurde überschüssiges Natriumhydrid hydrolysiert und die Reaktion beendet. Die Lösung wurde dreimal mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit gesättigter, wässriger NaCl-Lösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und anschließend *in vacuo* eingeeengt. Durch Säulenchromatographie (Laufmittel: Petrolether/Ethylacetat: 4/1) wurde *tert*-Butyl-4-(2-methoxy-2-oxoethoxy)piperidin-1-carboxylat (1,262 g, verunreinigt) als farbloses Öl erhalten, das ohne weitere Aufreinigung verwendet wurde.

tert-Butyl-4-(2-methoxy-2-oxoethoxy)piperidin-1-carboxylat (1,262 g, verunreinigt) wurde unter Argon-Atmosphäre in trockenem THF (50 mL) gelöst und auf 0 °C gekühlt. Lithiumaluminiumhydrid (205 mg, 5,40 mmol) wurde portionsweise zugegeben. Die Reaktion wurde für drei Stunden bei Raumtemperatur gerührt, bevor sie erneut auf 0 °C gekühlt wurde. Durch Zugabe einer 10 %igen Natronlauge wurde überschüssiges Lithiumaluminiumhydrid hydrolysiert. Die Lösung wurde mit reichlich Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit gesättigter NaCl-Lösung gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Entfernen des Lösungsmittels und anschließende säulenchromatographische Reinigung (Laufmittel: Petrolether/Ethyl-

acetat: 55/45) lieferte *tert*-Butyl-4-(2-hydroxyethoxy)piperidin-1-carboxylat (**16**) (256 mg, 1,04 mmol, 6,4 % [Lit.: 32 %]¹⁵⁶) als farbloses Öl.

¹H-NMR (CDCl₃): δ = 1.44 (s, 9H, Boc-CH₃), 1.51 (ddd, J = 13.4, 8.5, 4.5 Hz, 2H, 0.5 C³H₂, 0.5 C⁵H₂), 1.79 – 1.88 (m, 2H, 0.5 C³H₂, 0.5 C⁵H₂), 2.01 (br, 1H, OH), 3.06 (ddd, J = 13.6, 8.5, 3.9 Hz, 2H, 0.5 C²H₂, 0.5 C⁶H₂), 3.45 – 3.52 (m, 1H, C⁴H), 3.54 – 3.59 (m, 2H, C¹H₂), 3.69 – 3.80 (m, 4H, C²H₂, 0.5 C²H₂, 0.5 C⁶H₂) ppm.

Die analytischen Daten der ¹H-NMR-Messung stimmen mit den in der Literatur bekannten Daten überein.¹⁶⁴

tert-Butyl-4-(2-fluoroethoxy)piperidin-1-carboxylat (**17**)

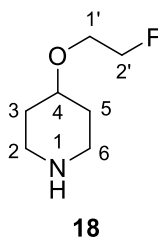
tert-Butyl-4-(2-hydroxyethoxy)piperidin-1-carboxylat (**16**) (256 mg, 1,04 mmol, 1,00 Äq.) und PyFluor (184 mg, 1,14 mmol, 1,10 Äq.) wurden in Toluol (1 mL) gelöst. DBU (310 μ L, 316 mg, 2,08 mmol, 2,00 Äq.) wurde zugegeben und die Reaktion wurde für 48 Stunden bei Raumtemperatur gerührt, wobei ein Farbumschlag von farblos über gelb zu rot und die Bildung eines Feststoffs beobachtet wurde. Das Reaktionsgemisch wurde mit Wasser verdünnt und mit reichlich Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit einer gesättigten, wässrigen Natriumchloridlösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und eingeeengt. Säulenchromatographische Reinigung (Petrolether/Ethylacetat: 4/1) des Rückstands lieferte *tert*-Butyl-4-(2-fluoroethoxy)piperidin-1-carboxylat (**17**) (74 mg, 0,299 mmol, 29 %) als farbloses Öl.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 1.44$ (s, 9H, Boc- CH_3), 1.47 – 1.58 (m, 2H, 0.5 C^3H_2 , 0.5 C^5H_2), 1.77 – 1.88 (m, 2H, 0.5 C^3H_2 , 0.5 C^5H_2), 3.07 (ddd, $J = 15.8, 9.6, 5.1$ Hz, 2H, 0.5 C^2H_2 , 0.5 C^6H_2), 3.45 – 3.55 (m, 1H, C^4H), 3.65 – 3.80 (m, 4H, C^1H_2 , 0.5 C^2H_2 , 0.5 C^6H_2), 4.46 – 4.61 (m, 2H, C^2H_2) ppm.

$^{19}\text{F-NMR}$ (CDCl_3): $\delta = -223.16$ ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 28.55$ (Boc- CH_3), 31.06 (C^3 , C^5), 43.28 (C^2 , C^6), 67.25 (d, $J = 20.1$ Hz, C^1), 68.35, 75.36 (C^4), 79.59 (Boc-C), 83.38 (d, $J = 169.3$ Hz, C^2), 154.96 (Boc-CO) ppm.

HRMS m/z: $[\text{M}+\text{Na}]^+$ berechnet: 270.14759; gefunden: 270.14760.

4-(2-Fluoroethoxy)piperidin-Hydrochlorid (**18**)

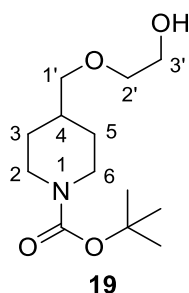
tert-Butyl-4-(2-fluoroethoxy)piperidin-1-carboxylat (**17**) (74 mg, 0,299 mmol) wurde in Dichlormethan (2 mL) gelöst und mit Trifluoressigsäure (2 mL) versetzt. Die Reaktionslösung wurde für zwei Stunden bei Raumtemperatur gerührt, bevor anschließend das Lösungsmittel *in vacuo* entfernt wurde. Der Rückstand wurde in Methanol aufgenommen und mit 3 M methanolischer HCl versetzt. Entfernen des Lösungsmittels lieferte 4-(2-Fluoroethoxy)piperidin-Hydrochlorid (**18**) (55 mg, 0,299 mmol, > 99 %) als farbloses Öl.

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6): $\delta = 1.65 - 1.76$ (m, 2H, 0.5 C^3H_2 , 0.5 C^5H_2), 1.92 – 2.01 (m, 2H, 0.5 C^3H_2 , 0.5 C^5H_2), 2.86 – 2.96 (m, 2H, 0.5 C^2H_2 , 0.5 C^6H_2), 3.03 – 3.15 (m, 2H, 0.5 C^2H_2 , 0.5 C^6H_2), 3.57 – 3.73 (m, 2H, C^1H_2 , C^4H), 4.27 (s, 2H), 4.43 – 4.59 (m, 2H, C^2H_2), 9.20 (s, 2H) ppm.

$^{19}\text{F-NMR}$ (DMSO- d_6): $\delta = -221.69$ ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6): $\delta = 27.20$ (C^3 , C^5), 40.29 (C^2 , C^6), 66.78 (d, $J = 18.9$ Hz, C^1), 70.94 (C^4), 83.15 (d, $J = 165.8$ Hz, C^2) ppm.

HRMS m/z : $[\text{M}+\text{H}]^+$ berechnet: 148.11322; gefunden: 148.11320.

tert-Butyl-4-((2-hydroxyethoxy)methyl)piperidin-1-carboxylat (**19**)

Natriumhydrid (60 % Dispersion in Mineralöl, 1,00 g, 25,0 mmol, 1,01 Äq.) wurde unter Argon-Atmosphäre in THF (100 mL) vorgelegt und die Suspension im Eisbad gekühlt. Nach Zugabe von *N*-Boc-4-hydroxymethylpiperidin (5,35 g, 24,8 mmol, 1,00 Äq.) wurde die Suspension für 20 Minuten bei 0°C gerührt. Anschließend wurde Methylbromacetat (2,4 mL, 3,96 g, 25,9 mmol, 1,04 Äq.) zugegeben und die Reaktion für 24 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Durch Zugabe von Wasser wurde überschüssiges Natriumhydrid hydrolysiert und die Reaktion beendet. Die Lösung wurde dreimal mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit gesättigter, wässriger NaCl-Lösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und anschließend *in vacuo* eingeeengt. Durch Säulenchromatographie (Laufmittel: Petrolether/Ethylacetat: 4/1) wurde *tert*-Butyl-4-(2-methoxy-2-oxoethoxy)piperidin-1-carboxylat (4,113 g, verunreinigt) als farbloses Öl erhalten, das ohne weitere Aufreinigung verwendet wurde.

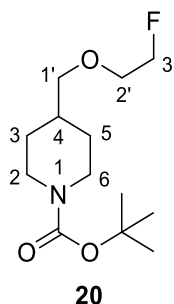
Lithiumaluminiumhydrid (568 mg, 15,0 mmol, 1,10 Äq.) wurde unter Argon-Atmosphäre in THF (100 mL) suspendiert. Bei 0 °C wurde eine Lösung aus *tert*-Butyl-4-(2-methoxy-2-oxoethoxy)piperidin-1-carboxylat (4,113 g, verunreinigt) in THF (50 mL) tröpfchenweise zugegeben. Anschließend wurde die Reaktion bei Raumtemperatur für drei Stunden gerührt, bevor sie durch Zugabe von 15 %iger Natronlauge abgebrochen wurde. Das Reaktionsgemisch wurde mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit gesättigter, wässriger NaCl-Lösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und anschließend *in vacuo* eingeeengt. Säulenchromatographische Reinigung (Petrolether/Ethylacetat: 55/45) lieferte *tert*-Butyl 4-((2-

hydroxyethoxy)methyl)piperidin-1-carboxylat (**19**) (454 mg, 1,75 mmol, 7,0 %) als farbloses Öl.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 1.13$ (qd, $J = 12.6, 4.3$ Hz, 2H, 0.5 C^3H_2 , 0.5 C^5H_2), 1.44 (s, 9H, Boc- CH_3), 1.65 – 1.81 (m, 3H, 0.5 C^3H_2 , 0.5 C^5H_2 , C^4H), 2.03 (br, 1H, OH), 2.68 (t, $J = 12.4$ Hz, 2H, 0.5 C^2H_2 , 0.5 C^6H_2), 3.31 (d, $J = 6.3$ Hz, 2H, C^1H_2), 3.49 – 3.53 (m, 2H, C^2H_2), 3.69 – 3.73 (m, 2H, C^3H_2), 4.02 – 4.16 (m, 2H, 0.5 C^2H_2 , 0.5 C^6H_2) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 28.58$ (Boc- CH_3), 29.13 (C^3 , C^5), 36.61 (C^4), 61.94 (C^2 , C^6), 67.67 (C^3'), 72.20 (C^2'), 76.13 (C^1'), 79.43 (Boc-C), 155.0 (Boc-CO) ppm.

HRMS m/z : $[\text{M}+\text{Na}]^+$ berechnet: 182.16758; gefunden: 182.16756.

tert-Butyl-4-((2-fluoroethoxy)methyl)piperidin-1-carboxylat (**20**)

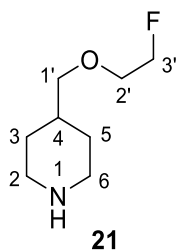
tert-Butyl-4-((2-hydroxyethoxy)methyl)piperidin-1-carboxylat (**19**) (417 mg, 1,61 mmol, 1,00 Äq.) und PyFluor (285 mg, 1,77 mmol, 1,10 Äq.) wurden in Toluol (1,6 mL) gelöst. DBU (480 μ L, 490 mg, 3,22 mmol, 2,00 Äq.) wurde zugegeben und die Reaktion wurde für 69 Stunden bei Raumtemperatur gerührt, wobei ein Farbumschlag von farblos über gelb zu rot und die Bildung eines Feststoffs beobachtet wurde. Nach Entfernen des Lösungsmittels wurde der Rückstand in Dichlormethan aufgenommen und mit Wasser gewaschen. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet und *in vacuo* eingeeengt. Säulenchromatographische Reinigung (Laufmittel Petrolether/Ethylacetat: 5/1) lieferte *tert*-Butyl-4-((2-fluoroethoxy)methyl)piperidin-1-carboxylat (**20**) (80 mg, 0,306 mmol, 19 %) als farbloses Öl.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 1.06 - 1.19$ (m, 2H, 0.5 C^3H_2 , 0.5 C^5H_2), 1.44 (s, 9H, Boc- CH_3), 1.67 – 1.80 (m, 3H, 0.5 C^3H_2 , 0.5 C^5H_2 , C^4H), 2.68 (td, $J = 13.2, 2.6$ Hz, 2H, 0.5 C^2H_2 , 0.5 C^6H_2), 3.33 (d, $J = 6.3$ Hz, 2H, C^1H_2), 3.59 – 3.71 (m, 2H, C^2H_2), 4.05 – 4.12 (m, 2H, 0.5 C^2H_2 , 0.5 C^6H_2), 4.45 – 4.61 (m, 2H, C^3H_2) ppm.

$^{19}\text{F-NMR}$ (CDCl_3): $\delta = -222.92$ ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 28.58$ (Boc- CH_3), 29.10 (C^3 , C^5), 36.62 (C^4), 43.74 (C^2 , C^6), 70.33 (d, $J = 19.6$ Hz, C^2'), 76.41 (C^1), 79.39 (Boc-C), 83.23 (d, $J = 169.0$ Hz, C^3'), 155.00 (Boc-CO) ppm.

HRMS m/z : $[\text{M}+\text{H}]^+$ berechnet: 284.16324; gefunden: 284.16326.

4-((2-Fluoroethoxy)methyl)piperidin-Hydrochlorid (**21**)

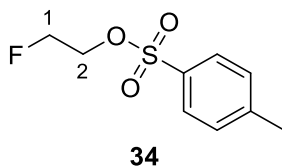
tert-Butyl-4-((2-fluoroethoxy)methyl)piperidin-1-carboxylat (**20**) (75 mg, 0,287 mmol) wurde in Dichlormethan (2 mL) gelöst und mit Trifluoressigsäure (2 mL) versetzt. Die Reaktionslösung wurde für vier Stunden bei Raumtemperatur gerührt, bevor das Lösungsmittel anschließend *in vacuo* entfernt wurde. Der Rückstand wurde in Methanol aufgenommen und mit 3 M methanolischer HCl versetzt. Entfernen des Lösungsmittels lieferte 4-((2-Fluoroethoxy)methyl)piperidin-Hydrochlorid (**21**) (67 mg, 0,287 mmol, > 99 %) als farbloses Öl.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 1.59 - 1.76$ (m, 2H, 0.5 C^3H_2 , 0.5 C^5H_2), 1.82 – 2.04 (m, 3H, 0.5 C^3H_2 , 0.5 C^5H_2 , C^4H), 2.24 (br, 1H), 2.77 – 2.98 (m, 2H, 0.5 C^2H_2 , 0.5 C^6H_2), 3.38 (d, $J = 5.1$ Hz, 2H, C^1H_2), 3.44 – 3.55 (m, 2H, 0.5 C^2H_2 , 0.5 C^6H_2), 3.59 – 3.72 (m, 2H, C^2H_2), 4.44 – 4.61 (m, 2H, C^3H_2), 9.26 (s, 1H), 9.56 (s, 1H) ppm.

$^{19}\text{F-NMR}$ (CDCl_3): $\delta = -222.92$ ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 25.90$ (C^3 , C^5), 34.76 (C^4), 44.00 (C^2 , C^6), 70.49 (d, $J = 19.6$ Hz, C^2), 75.18 (C^1), 83.12 (d, $J = 169.3$ Hz, C^3) ppm.

HRMS m/z : $[\text{M}+\text{H}]^+$ berechnet: 162.12887; gefunden: 162.12885.

2-Fluoroethyl-4-methylbenzylsulfonat (**34**)

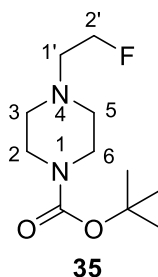
2-Fluorethanol (1,0 mL, 0,906 g, 14,1 mmol, 1,00 Äq.) wurde in Pyridin (7 mL) gelöst und die Lösung auf 0 °C im Eisbad gekühlt. Nach Zugabe von Tosylchlorid (4,04 g, 21,2 mmol, 1,50 Äq.) wurde die Reaktion für 24 Stunden gerührt, wobei das Eisbad langsam auftaute. Die Reaktion wurde durch Zugabe von 30 mL Wasser beendet. Die Reaktionslösung wurde dreimal mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden nacheinander dreimal mit 1 M wässriger HCl, einmal mit gesättigter, wässriger NaHCO₃- und einmal mit gesättigter, wässriger NaCl-Lösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und *in vacuo* eingengt. Das Produkt **34** wurde als farbloses Öl (2,40 g, 11,0 mmol, 78 %) erhalten.

¹H-NMR (CDCl₃): δ = 2.45 (s, 3H, Ts-CH₃), 4.21 – 4.32 (m, 2H, C²H₂), 4.49 – 4.65 (m, 2H, C¹H₂), 7.34 – 7.38 (m, 2H, Ts-Ar), 7.79 – 7.83 (m, 2H, Ts-Ar) ppm.

¹⁹F-NMR (CDCl₃): δ = –224.65 ppm.

Die analytischen Daten der ¹H-NMR- und ¹⁹F-NMR-Messung stimmen mit den in der Literatur bekannten Daten überein.¹⁶⁵

tert-Butyl-4-(2-fluoroethyl)piperazin-1-carboxylat (**35**)¹⁶⁶

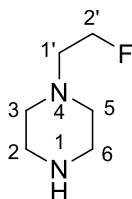


2-Fluoroethyl-4-methylbenzylsulfonat (**34**) (1,091 g, 5,00 mmol, 1,00 Äq.) und Cäsiumcarbonat (1,629 g, 5,00 mmol, 1,00 Äq.) wurden in trockenem DMF (50 mL) vorgelegt. Zu der gelben Lösung wurde 1-Boc-Piperazin zugegeben. Die Reaktionslösung wurde für 23 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktion wurde durch die Zugabe von Wasser beendet und anschließend mit reichlich Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit gesättigter, wässriger Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und *in vacuo* eingengt. Der Rückstand wurde säulenchromatographisch (Petrolether/Ethylacetat: 1/1 bis 1/2) gereinigt. Das Produkt **35** wurde als gelber Feststoff (313 mg, 1,35 mmol, 27 % [Lit.: 33 %]¹⁶⁶) erhalten.

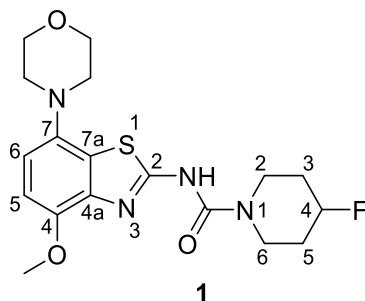
¹H-NMR (CDCl₃): δ = 1.45 (s, 9H, Boc-CH₃), 2.47 (t, J = 5.0 Hz, 4H, C³H₂, C⁵H₂), 2.70 (dt, J = 4.9 Hz, J = 28.4 Hz), 2H, C^{1'}H₂), 3.45 (t, J = 5.1 Hz, 4H, C²H₂, C⁶H₂), 4.49 – 4.65 (dt, J = 5.0 Hz, J = 47.6 Hz, 2H, C^{2'}H₂) ppm.

¹⁹F-NMR (CDCl₃): δ = -218.23 ppm.

Die analytischen Daten der ¹H-NMR-Messung stimmen mit den in der Literatur bekannten Daten überein.¹⁶⁶

1-(2-Fluoroethyl)piperazin-Hydrochlorid (**36**)

Tert-Butyl-4-(2-fluoroethyl)piperazin-1-carboxylat (**35**) (300 mg, 1,29 mmol) wurde in Dichlormethan (3 mL) gelöst und anschließend mit Trifluoressigsäure (3 mL) versetzt. Die Reaktion wurde für vier Stunden bei Raumtemperatur gerührt und dann *in vacuo* eingengt. Der Rückstand wurde mit 3 M methanolischer HCl versetzt. Entfernen des Lösungsmittels lieferte das Produkt **36** als gelbes Öl (213 mg, 1,26 mmol, 98 %), das ohne weitere Aufreinigung verwendet wurde.

4.2.3. Synthese der Adenosin-A_{2A}-Rezeptorliganden4-Fluoro-N-(4-methoxy-7-morpholinobenzo[d]thiazol-2-yl)piperidin-1-carboxamid (**1**)

Phenyl-(4-methoxy-7-morpholinobenzo[d]thiazol-2-yl)carbamate (**8**) (385 mg, 1,00 mmol, 1,00 Äq.) und 4-Fluoropiperidin-Hydrochlorid (190 mg, 1,36 mmol, 1,36 Äq.) wurden unter Argon-Atmosphäre in trockenem DMSO (10 mL) gelöst. DBU (420 µL, 2,81 mmol, 2,81 Äq.) wurde zugegeben und die Reaktion für sechs Stunden auf 60 °C erhitzt. Anschließend wurde die Reaktionslösung auf Raumtemperatur abgekühlt und die Reaktion über Nacht gerührt. Die Lösung wurde mit Ethylacetat verdünnt und nacheinander einmal mit einer gesättigten, wässrigen Lösung an Natriumhydrogencarbonat, zweimal mit Wasser und einmal mit einer gesättigten, wässrigen Lösung an Natriumchlorid gewaschen. Die organische Phase wurde anschließend über Natriumsulfat getrocknet und *in vacuo* eingeeignet. Säulenchromatographische Reinigung des Rückstands (Eluent: Petrolether/Ethylacetat 1/1) lieferte das Produkt **1** als gelben Feststoff (200 mg, 0,507 mmol, 51 %).

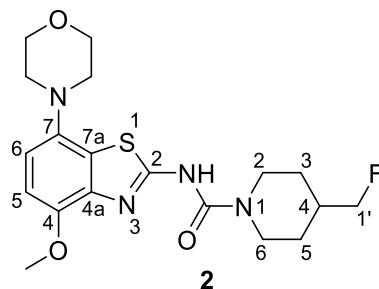
Schmelzpunkt: 194 °C.

¹H-NMR (CDCl₃): δ = 1.76 – 1.91 (m, 4H, Pip-C³H₂, Pip-C⁵H₂), 3.05 – 3.11 (m, 4H, 2 NCH₂), 3.53 – 3.73 (m, 4H, Pip-C²H₂, Pip-C⁶H₂), 3.84 – 3.88 (m, 7H, 2 OCH₂, CH₃), 4.74 – 4.92 (m, 1H, Pip-C⁴H), 6.76 (s, 2H, C⁵H, C⁶H), 10.25 (br, 1H, NH) ppm.

¹⁹F-NMR (CDCl₃): δ = –183.71 ppm.

^{13}C -NMR (CDCl_3): $\delta = 31.01$ (d, $J = 20.1$ Hz, Pip- C^3 , Pip- C^5), 40.19 (d, $J = 3.7$ Hz, Pip- C^2 , Pip- C^6), 51.84 (NCH_2), 55.95 (CH_3), 67.45 (OCH_2), 87.46 (d, $J = 171.5$ Hz, Pip- C^4), 107.31 (C^6), 112.33 (C^5), 126.67 (C^{7a}), 136.8 (C^7), 140.62 (C^{4a}), 146.81 (C^2), 154.90 (C^4), 162.34 (CO) ppm.

HRMS m/z : $[\text{M}+\text{H}]^+$ berechnet: 395.15477; gefunden: 395.15475.

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

Phenyl-(4-methoxy-7-morpholinobenzo[*d*]thiazol-2-yl)carbamat (**8**) (385 mg, 1,00 mmol, 1,00 Äq.) und 4-(Fluoromethyl)-piperidin-Hydrochlorid (**15**) (196 mg, 1,28 mmol, 1,28 Äq.) wurden unter Argon-Atmosphäre in trockenem DMSO (10 mL) gelöst. DBU (420 μ L, 2,81 mmol, 2,81 Äq.) wurde zugegeben und die Reaktion für vier Stunden auf 60 °C erhitzt. Anschließend wurde die Reaktionslösung auf Raumtemperatur abgekühlt und die Reaktion für 66 Stunden gerührt. Die Lösung wurde mit Ethylacetat verdünnt und nacheinander einmal mit einer gesättigten, wässrigen Lösung an Natriumhydrogencarbonat, zweimal mit Wasser und einmal mit einer gesättigten, wässrigen Lösung an Natriumchlorid gewaschen. Die organische Phase wurde anschließend über Natriumsulfat getrocknet und *in vacuo* eingeeengt. Säulenchromatographische Reinigung des Rückstands (Eluent: Petrolether/Ethylacetat 45/55 bis 55/45) lieferte das Produkt **2** als rosa Feststoff (277 mg, 0,678 mmol, 68 %).

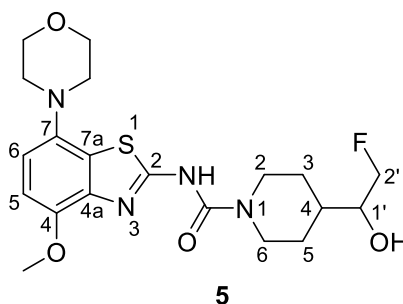
Schmelzpunkt: 110 °C

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 1.22 - 1.36$ (m, 2H, 0.5 Pip- C^3H_2 , 0.5 Pip- C^5H_2), 1.70 – 1.78 (m, 2H, 0.5 Pip- C^3H_2 , 0.5 Pip- C^5H_2), 1.82 – 1.96 (m, 1H, Pip- C^4H), 2.84 – 2.94 (m, 2H, 0.5 Pip- C^2H_2 , 0.5 Pip- C^6H_2), 3.06 – 3.11 (m, 4H, 2 NCH_2), 3.83 – 3.90 (m, 7H, 2 OCH_2 , CH_3), 4.16 – 4.34 (m, 4H, 0.5 Pip- C^2H_2 , 0.5 Pip- C^6H_2 , Pip- C^1H_2), 6.76 (s, 2H, C^5H , C^6H), 9.82 (br, 1H, NH) ppm.

$^{19}\text{F-NMR}$ (CDCl_3): $\delta = -223.96$ ppm.

^{13}C -NMR (CDCl_3): $\delta = 27.50$ (d, $J = 5.7$ Hz, Pip- C^3 , Pip- C^5), 36.83 (d, $J = 19.0$ Hz, Pip- C^4), 44.00 (Pip- C^2 , Pip- C^6), 51.84 (NCH_2), 55.94 (CH_3), 67.49 (OCH_2), 87.10 (d, $J = 169.5$ Hz, Pip- $\text{C}^{1'}$), 107.14 (C^6), 112.24 (C^5), 126.99 (C^{7a}), 137.51 (C^7), 140.57 (C^{4a}), 147.15 (C^2), 154.33 (C^4), 161.79 (CO) ppm.

HRMS m/z : $[\text{M}+\text{H}]^+$ berechnet: 409.17042; gefunden: 409.17027.

4-(2-Fluoro-1-hydroxyethyl)-N-(4-methoxy-7-morpholinobenzo[d]thiazol-2-yl)piperidin-1-carboxamid (**5**)

Phenyl-(4-methoxy-7-morpholinobenzo[d]thiazol-2-yl)carbamat (**8**) (150 mg, 0,389 mmol, 1,00 Äq.) und 2-Fluoro-1-(piperidin-4-yl)ethan-1-ol-Hydrochlorid (**23**) (100 mg, 0,545 mmol, 1,40 Äq.) wurden unter Argon-Atmosphäre in trockenem DMSO (10 mL) gelöst. DBU (83,4 μ L, 0,559 mmol, 1,43 Äq.) wurde zugegeben und die Reaktion für vier Stunden auf 60 °C erhitzt. Anschließend wurde die Reaktionslösung auf Raumtemperatur abgekühlt und die Reaktion für 46 Stunden gerührt. Die Lösung wurde mit Ethylacetat verdünnt und nacheinander einmal mit einer gesättigten, wässrigen Lösung an Natriumhydrogencarbonat, zweimal mit Wasser und einmal mit einer gesättigten, wässrigen Lösung an Natriumchlorid gewaschen. Die organische Phase wurde anschließend über Natriumsulfat getrocknet und *in vacuo* eingeeengt. Säulenchromatographische Reinigung des Rückstands (Eluent: Dichlormethan/Methanol 99/1 bis 97/3) lieferte das Produkt **5** als weißen Feststoff (124 mg, 0,283 mmol, 73 %).

Schmelzpunkt: 219 °C.

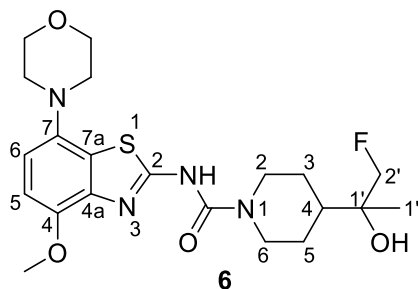
$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6): $\delta = 1.18 - 1.37$ (m, 2H, 0.5 Pip- C^3H_2 , 0.5 Pip- C^5H_2), 1.55 – 1.68 (m, 2H, 0.5 Pip- C^3H_2 , 0.5 Pip- C^5H_2), 1.74 – 1.81 (m, 1H, C^4H), 2.70 – 2.83 (m, 2H, 0.5 Pip- C^2H_2 , 0.5 Pip- C^6H_2), 2.97 – 3.02 (m, 4H, 2 NCH_2), 3.40 – 3.51 (m, 1H, Pip- C^1H), 3.72 – 3.86 (m, 7H, 2 OCH_2 , CH_3), 4.22 – 4.45 (m, 4H, 0.5 Pip- C^2H_2 , 0.5 Pip- C^6H_2 , Pip- $\text{C}^{2'}\text{H}_2$), 4.88 – 4.94 (m, 1H), 6.69 – 6.79 (m, 2H, C^5H , C^6H), 11.19 (s, 1H, NH) ppm.

$^{19}\text{F-NMR}$ (DMSO- d_6): $\delta = -227.90$ ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6): $\delta = 27.33$ (d, $J = 104.4$ Hz, Pip- C^3 , Pip- C^5), 37.75 (d, $J = 5.8$ Hz, Pip- C^4), 43.68 (d, $J = 8.8$ Hz, Pip- C^2 , Pip- C^6), 51.23 (NCH_2), 55.44 (CH_3), 66.50 (OCH_2), 71.81 (d, $J = 18.4$ Hz, Pip- C^1), 84.93 (d, $J = 169.1$ Hz, Pip- $\text{C}^{2'}$), 107.17 (C^6), 111.27 (C^5), 139.75 (CO) ppm.

HRMS m/z : $[\text{M}+\text{H}]^+$ berechnet: 439.18098; gefunden: 439.18096.

4-(1-Fluoro-2-hydroxypropan-2-yl)-*N*-(4-methoxy-7-morpholinobenzo[*d*]thiazol-2-yl)piperidin-1-carboxamid (**6**)

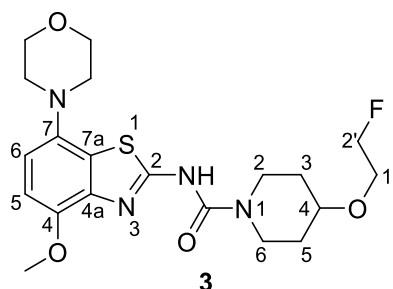


Phenyl-(4-methoxy-7-morpholinobenzo[*d*]thiazol-2-yl)carbamat (**8**) (316 mg, 0,821 mmol, 1,00 Äq.) und 2-Fluoro-2-(piperidin-4-yl)propan-2-ol-Hydrochlorid (**25**) (228 mg, 1,15 mmol, 1,40 Äq.) wurden unter Argon-Atmosphäre in trockenem DMSO (10 mL) gelöst. DBU (175 μ L, 1,17 mmol, 1,43 Äq.) wurde zugegeben und die Reaktion für vier Stunden auf 60 °C erhitzt. Anschließend wurde die Reaktionslösung auf Raumtemperatur abgekühlt und die Reaktion für 46 Stunden gerührt. Die Lösung wurde mit Ethylacetat verdünnt und nacheinander einmal mit einer gesättigten, wässrigen Lösung an Natriumhydrogencarbonat, zweimal mit Wasser und einmal mit einer gesättigten, wässrigen Lösung an Natriumchlorid gewaschen. Die organische Phase wurde anschließend über Natriumsulfat getrocknet und *in vacuo* eingeeengt. Säulenchromatographische Reinigung des Rückstands (Eluent: Dichlormethan/Methanol 99/1 bis 97/3) lieferte das Produkt **6** als weißen Feststoff (241 mg, 0,533 mmol, 65 %).

Schmelzpunkt: 218 °C.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 1.10$ (d, $J = 2.2$ Hz, 3H, Pip- $\text{C}^{1''}\text{H}_3$), 1.28 – 1.44 (m, 1H, C^4H), 1.66 – 1.76 (m, 2H, 0.5 Pip- C^3H_2 , 0.5 Pip- C^5H_2), 1.81 – 1.88 (m, 2H, 0.5 Pip- C^3H_2 , 0.5 Pip- C^5H_2), 2.76 – 2.89 (m, 2H, 0.5 Pip- C^2H_2 , 0.5 Pip- C^6H_2), 3.04 – 3.13 (m, 4H, 2 NCH_2), 3.81 – 3.90 (m, 7H, 2 OCH_2 , CH_3), 4.14 – 4.38 (m, 4H, 0.5 Pip- C^2H_2 , 0.5 Pip- C^6H_2 , Pip- $\text{C}^2'\text{H}_2$), 6.75 (s, 2H, C^5H , C^6H), 9.99 (br, 1H, NH) ppm.

^{19}F -NMR (CDCl_3):	$\delta = -229.57$ ppm.
^{13}C -NMR (CDCl_3):	$\delta = 19.83$ (d, $J = 5.1$ Hz, Pip- $\text{C}^{1''}$), 26.25 (d, $J = 93.4$ Hz, Pip- C^3 , Pip- C^5), 42.57 (d, $J = 2.8$ Hz, Pip- C^4), 44.64 (d, $J = 20.6$ Hz, Pip- C^2 , Pip- C^6), 51.83 (NCH_2), 55.93 (CH_3), 67.46 (OCH_2), 73.17 (d, $J = 17.3$ Hz, Pip- $\text{C}^{1'}$), 87.97 (d, $J = 173.5$ Hz, Pip- $\text{C}^{2'}$), 107.15 (C^6), 112.24 (C^5), 127.04 (C^{7a}), 137.64 (C^7), 140.56 (C^{4a}), 147.21 (C^2), 154.11 (C^4), 161.72 (CO) ppm.
HRMS m/z :	$[\text{M}+\text{H}]^+$ berechnet: 453.19663; gefunden: 453.19656.

4-(2-Fluoroethoxy)-N-(4-methoxy-7-morpholinobenzo[d]thiazol-2-yl)piperidin-1-carboxamid (**3**)

Phenyl-(4-methoxy-7-morpholinobenzo[d]thiazol-2-yl)carbamat (**8**) (55 mg, 0,143 mmol, 1,00 Äq.) und 1-4-(2-Fluoroethoxy)piperidin-Hydrochlorid (**18**) (60 mg, 0,327 mmol, 2,28 Äq.) wurden unter Argon-Atmosphäre in trockenem DMSO (4 mL) gelöst. DBU (60,1 μ L, 0,402 mmol, 2,82 Äq.) wurde zugegeben und die Reaktion für zwei Stunden auf 60 °C erhitzt. Anschließend wurde die Reaktionslösung auf Raumtemperatur abgekühlt und die Reaktion über Nacht gerührt. Die Lösung wurde mit Ethylacetat verdünnt und nacheinander einmal mit einer gesättigten, wässrigen Lösung an Natriumhydrogencarbonat, zweimal mit Wasser und einmal mit einer gesättigten, wässrigen Lösung an Natriumchlorid gewaschen. Die organische Phase wurde anschließend über Natriumsulfat getrocknet und *in vacuo* eingeeengt. Säulenchromatographische Reinigung des Rückstands (Eluent: Dichlormethan/Methanol 99/1 bis 97/3) lieferte das Produkt **3** als weißen Feststoff (32 mg, 73,0 μ mol, 51 %).

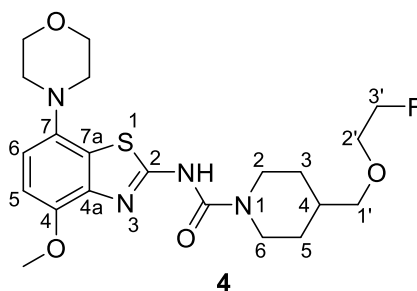
Schmelzpunkt: 95 °C.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 1.61 - 1.70$ (m, 2H, 0.5 Pip- C^3H_2 , 0.5 Pip- C^5H_2), 1.81 – 1.90 (m, 2H, 0.5 Pip- C^3H_2 , 0.5 Pip- C^5H_2), 3.06 – 3.11 (m, 4H, 2 NCH_2), 3.32 – 3.41 (m, 2H, 0.5 Pip- C^2H_2 , 0.5 Pip- C^6H_2), 3.56 – 3.90 (m, 11H, 0.5 Pip- C^2H_2 , 0.5 Pip- C^6H_2 , Pip- C^1H_2 , 2 OCH_2 , CH_3), 4.44 – 4.60 (m, 2H, C^2H_2), 6.76 (s, 2H, C^5H , C^6H), 9.86 (br, 1H, NH) ppm.

$^{19}\text{F-NMR}$ (CDCl_3): $\delta = -223.11$ ppm.

^{13}C -NMR (CDCl_3): $\delta = 30.66$ (Pip- C^3 , Pip- C^5), 41.31 (Pip- C^2 , Pip- C^6), 51.85 (NCH_2), 55.97 (CH_3), 67.30 ($\text{C}^{1'}$), 67.48 (OCH_2), 74.15 (Pip- C^4), 83.29 (d, $J = 169.7$ Hz, $\text{C}^{2'}$), 107.17 (C^6), 112.24 (C^5), 127.03 (C^{7a}), 137.56 (C^7), 140.58 (C^{4a}), 147.18 (C^2), 154.33 (C^4), 161.68 (CO) ppm.

HRMS m/z : $[\text{M}+\text{H}]^+$ berechnet: 439.18098; gefunden: 439.18096.

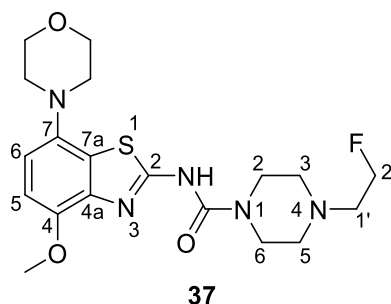
4-((2-Fluoroethoxy)methyl)-*N*-(4-methoxy-7-morpholinobenzo[*d*]thiazol-2-yl)piperidin-1-carboxamid (**4**)

Phenyl-(4-methoxy-7-morpholinobenzo[*d*]thiazol-2-yl)carbamate (**8**) (96 mg, 0,250 mmol, 1,00 Äq.) und 1-4-((2-Fluoroethoxy)methyl)piperidin-Hydrochlorid (**21**) (70 mg, 0,354 mmol, 1,42 Äq.) wurden unter Argon-Atmosphäre in trockenem DMSO (4 mL) gelöst. DBU (104 μ L, 0,697 mmol, 2,79 Äq.) wurde zugegeben und die Reaktion für drei Stunden auf 60 °C erhitzt. Anschließend wurde die Reaktionslösung auf Raumtemperatur abgekühlt und die Reaktion für 69 Stunden gerührt. Die Lösung wurde mit Ethylacetat verdünnt und nacheinander einmal mit einer gesättigten, wässrigen Lösung an Natriumhydrogencarbonat, zweimal mit Wasser und einmal mit einer gesättigten, wässrigen Lösung an Natriumchlorid gewaschen. Die organische Phase wurde anschließend über Natriumsulfat getrocknet und *in vacuo* eingeeengt. Säulenchromatographische Reinigung des Rückstands (Eluent: Dichlormethan/Methanol 100/0 bis 98/2) lieferte das Produkt **4** als weißen Feststoff (64 mg, 141 μ mol, 40 %).

Schmelzpunkt: 112 °C.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 1.18 - 1.32$ (m, 2H, 0.5 Pip- C^3H_2 , 0.5 Pip- C^5H_2), 1.76 – 1.91 (m, 2H, 0.5 Pip- C^3H_2 , 0.5 Pip- C^5H_2 , Pip- C^4H), 2.85 – 2.96 (m, 2H, 0.5 Pip- C^2H_2 , 0.5 Pip- C^6H_2), 3.06 – 3.13 (m, 4H, 2 NCH_2), 3.34 (d, $J = 6.1$ Hz, 2H, Pip- $\text{C}^{1'}\text{H}_2$), 3.59 – 3.72 (m, 2H, Pip- $\text{C}^{2'}\text{H}_2$), 3.82 – 3.93 (m, 7H, 2 OCH_2 , CH_3), 4.11 – 4.24 (m, 2H, , 0.5 Pip- C^2H_2 , 0.5 Pip- C^6H_2), 4.44 – 4.61 (m, 2H, Pip- C^3H_2), 6.77 (s, 2H, C^5H , C^6H), 9.42 (br, 1H, NH) ppm.

^{19}F -NMR (CDCl_3):	$\delta = -222.84$ ppm.
^{13}C -NMR (CDCl_3):	$\delta = 28.83$ (Pip- C^3 , Pip- C^5), 36.42 (Pip- C^4), 44.28 (Pip- C^2 , Pip- C^6), 51.85 (NCH ₂), 55.95 (CH ₃), 67.48 (OCH ₂), 70.34 (d, $J = 19.6$ Hz, $\text{C}^{2'}$), 75.93 ($\text{C}^{1'}$), 83.18 (d, $J = 169.1$ Hz, $\text{C}^{3'}$), 107.06 (C^6), 112.20 (C^5), 127.21 (C^{7a}), 137.98 (C^7), 140.55 (C^{4a}), 147.37 (C^2), 153.93 (C^4), 161.38 (CO) ppm.
HRMS m/z :	[M+H] ⁺ berechnet: 453.19663; gefunden: 453.19660.

4-(2-Fluoroethyl)-*N*-(4-methoxy-7-morpholinobenzo[*d*]thiazol-2-yl)piperazin-1-carboxamid (**37**)

Phenyl-(4-methoxy-7-morpholinobenzo[*d*]thiazol-2-yl)carbammat (**8**) (385 mg, 1,00 mmol, 1,00 Äq.) und 1-(2-Fluoroethyl)piperazin-Hydrochlorid (**36**) (290 mg, 1,72 mmol, 1,72 Äq.) wurden unter Argon-Atmosphäre in trockenem DMSO (4 mL) gelöst. DBU (420 μ L, 2,81 mmol, 2,81 Äq.) wurde zugegeben und die Reaktion für vier Stunden auf 60 °C erhitzt. Anschließend wurde die Reaktionslösung auf Raumtemperatur abgekühlt und die Reaktion über Nacht gerührt. Die Lösung wurde mit Ethylacetat verdünnt und nacheinander einmal mit einer gesättigten, wässrigen Lösung an Natriumhydrogencarbonat, zweimal mit Wasser und einmal mit einer gesättigten, wässrigen Lösung an Natriumchlorid gewaschen. Die organische Phase wurde anschließend über Natriumsulfat getrocknet und *in vacuo* eingeeengt. Säulenchromatographische Reinigung des Rückstands (Eluent: Dichlormethan/Methanol 99/1 bis 97/3) lieferte das Produkt **37** als weißen Feststoff (198 mg, 468 μ mol, 47 %).

Schmelzpunkt: 241 °C.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): δ = 2.51 – 2.56 (m, 2H, Pip- C^3H_2 , Pip- C^5H_2), 2.70 (dt, J = 28.4, 4.8 Hz, 2H, Pip- $\text{C}^{1'}\text{H}_2$), 3.06 – 3.12 (m, 4H, 2 NCH_2), 3.56 – 3.64 (m, 4H, Pip- C^2H_2 , Pip- C^6H_2), 3.84 – 3.90 (m, 7H, 2 OCH_2 , CH_3), 4.56 (dt, J = 47.6, 4.8 Hz, 2H, Pip- $\text{C}^{2'}\text{H}_2$), 6.70 – 6.81 (m, 2H, C^5H , C^6H), 10.06 (br, 1H, NH) ppm.

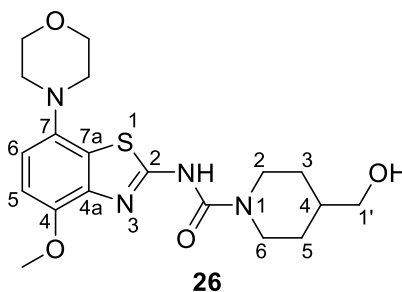
$^{19}\text{F-NMR}$ (CDCl_3): δ = –218.13 ppm.

^{13}C -NMR (CDCl_3): $\delta = 43.99$ (Pip- C^2 , Pip- C^6), 51.83 (NCH_2), 53.05 (Pip- C^3 , Pip- C^5), 55.93 (CH_3), 58.14 (d, $J = 19.7$ Hz, Pip- $\text{C}^{1'}$), 67.46 (OCH_2), 81.90 (d, $J = 168.0$ Hz, Pip- $\text{C}^{2'}$), 107.20 (C^6), 112.28 (C^5), 126.74 (C^{7a}), 137.02 (C^7), 140.57 (C^{4a}), 146.90 (C^2), 154.79 (C^4), 162.19 (CO) ppm.

HRMS m/z : $[\text{M}+\text{H}]^+$ berechnet: 424.18132; gefunden: 424.18131.

4.2.4. Synthese der Radiomarkierungsvorläufer und POM-geschützten Referenzverbindungen

4-(Hydroxymethyl)-*N*-(4-methoxy-7-morpholinobenzo[*d*]thiazol-2-yl)piperidin-1-carboxamid (**26**)



N-Boc-4-piperidinmethanol (775 mg, 3,60 mmol, 1,20 Äq.) wurden in Dichlormethan (2,0 mL) gelöst und mit Trifluoressigsäure (2,0 mL) versetzt. Die Reaktion wurde für zwei Stunden bei Raumtemperatur gerührt, bevor Lösungsmittel und Säure *in vacuo* entfernt wurden. Der Rückstand wurde in trockenem DMSO (5,0 mL) unter Argon-Atmosphäre aufgenommen und mit Phenyl-(4-methoxy-7-morpholinobenzo[*d*]thiazol-2-yl)carbamat (**8**) (1,16 g, 3,00 mmol, 1,00 Äq.) und DBU (1,30 mL, 1,33 g, 8,74 mmol, 2,91 Äq.) versetzt. Die Reaktion wurde für fünf Stunden auf 80 °C erhitzt und anschließend auf Raumtemperatur abgekühlt und über Nacht gerührt. Die Lösung wurde mit Ethylacetat und Diethylether verdünnt und nacheinander einmal mit einer gesättigten, wässrigen Lösung an Natriumhydrogencarbonat, zweimal mit Wasser und einmal mit einer gesättigten, wässrigen Lösung an Natriumchlorid gewaschen. Die organische Phase wurde anschließend über Natriumsulfat getrocknet und *in vacuo* eingeeengt. Umkristallisation des Rückstands aus Methanol und Wasser (Verhältnis: 70/30) lieferte das Produkt **26** als weißen Feststoff (365 mg, 0,898 mmol, 30 %).

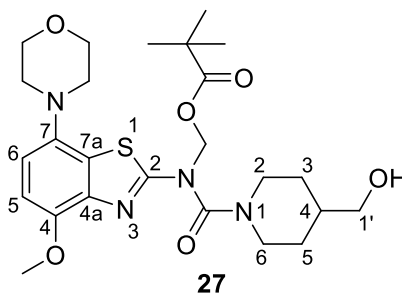
Schmelzpunkt: 206 °C.

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6): $\delta = 0.99 - 1.13$ (m, 2H, 0.5 Pip- C^3H_2 , 0.5 Pip- C^5H_2), 1.54 – 1.72 (m, 3H, Pip- C^4H , 0.5 Pip- C^3H_2 , 0.5 Pip- C^5H_2), 2.76 – 2.86 (m, 2H, 0.5 Pip- C^2H_2 , 0.5 Pip- C^6H_2), 2.95 – 3.02 (m, 4H, 2 NCH₂), 3.26 (d, $J = 6.1$ Hz, 2H, Pip- C^1H_2), 3.74 – 3.79 (m, 4H, 2 OCH₂), 3.84 (s, 3H, CH₃), 4.20 – 4.28 (m, 4H, 0.5 Pip- C^2H_2 , 0.5 Pip- C^6H_2), 4.48 (br, 1H, OH), 6.79 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H, C⁶H), 6.87 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H, C⁵H), 11.25 (br, 1H, NH) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6): $\delta = 28.55$ (Pip- C^3 , Pip- C^5), 33.30 (Pip- C^4), 43.70 (Pip- C^2 , Pip- C^6), 51.43 (NCH₂), 55.86 (CH₃), 65.53 (NCH₂), 66.57 (Pip- C^1), 107.94 (C⁶), 111.76 (C⁵), 139.99 (CO) ppm.

HRMS m/z : [M+H]⁺ berechnet: 407.17475; gefunden: 407.17463.

(4-(Hydroxymethyl)-*N*-(4-methoxy-7-morpholinobenzo[*d*]thiazol-2-yl)piperidin-1-carboxamido)methyl-pivalat (**27**)



4-(Hydroxymethyl)-*N*-(4-methoxy-7-morpholinobenzo[*d*]thiazol-2-yl)piperidin-1-carboxamid (**26**) (335 mg, 0,824 mmol, 1,00 Äq.) und Kaliumcarbonat (185 mg, 1,34 mmol, 1,62 Äq.) wurden in DMF (15 mL) suspendiert und bei 60 °C für 30 Minuten gerührt. Eine Lösung aus Chlormethylpivalat (378 μ L, 2,62 mmol, 3,18 Äq.) in DMF (1,0 mL) wurde zugegeben und die Reaktion bei 60 °C für drei Stunden gerührt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurde die Reaktion für weitere 20 Stunden gerührt und danach auf Eis gegeben und mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden nacheinander je einmal mit einer wässrigen, 10 %igen Lösung an Zitronensäure, Wasser und gesättigter, wässriger Natriumchlorid-Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde anschließend über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel *in vacuo* entfernt. Säulenchromatographische Reinigung des Rückstands (Eluent: Dichlormethan/Methanol 99/1 bis 95/5) lieferte das Produkt **27** als braunen Feststoff (260 mg, 0,499 mmol, 61 %).

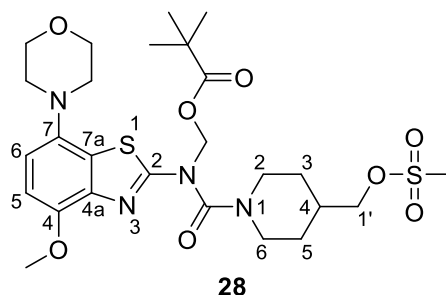
Schmelzpunkt: 100 °C.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): δ = 1.09 – 1.26 (m, 11H, 3 POM- CH_3 , 0.5 Pip- C^3H_2 , 0.5 Pip- C^5H_2), 1.69 – 1.83 (m, 3H, 0.5 Pip- C^3H_2 , 0.5 Pip- C^5H_2 , Pip- C^4H), 2.72 – 3.08 (m, 6H, 0.5 Pip- C^2H_2 , 0.5 Pip- C^6H_2 , 2 NCH_2), 3.50 (d, J = 6.1 Hz, 2H, Pip- C^1H_2), 3.80 – 3.86 (m, 7H, 2 OCH_2 , CH_3), 4.52 – 4.75 (m, 2H, 0.5 Pip- C^2H_2 , 0.5 Pip- C^6H_2), 6.51 (s, 2H, POM- CH_2), 6.78 (d, J = 8.7 Hz, 1H, C^6H), 6.83 (d, J = 8.7 Hz, 1H, C^5H) ppm.

^{13}C -NMR (CDCl_3): $\delta = 27.14$ (s, POM-C(CH_3) $_3$), 28.79 (0.5 Pip- C^3 , 0.5 Pip- C^5), 29.19 (0.5 Pip- C^3 , 0.5 Pip- C^5), 39.20 (s, Pip- C^4), 42.94 (0.5 Pip- C^2 , 0.5 Pip- C^6), 44.63 (0.5 Pip- C^2 , 0.5 Pip- C^6), 51.98 (NCH $_2$), 56.45 (OCH $_3$), 67.42 (OCH $_2$), 67.74 (s, Pip- $\text{C}^{1'}$), 69.97 (s, POM-CH $_2$), 110.03 (C^6), 113.29 (C^5), 123.23 (C^{7a}), 125.77 (C^7), 141.03 (C^{4a}), 143.31 (C^4), 161.05 (CO), 167.30 (C^2), 177.96 (POM-CO) ppm.

HRMS m/z: $[\text{M}+\text{H}]^+$ berechnet: 521.24283; gefunden: 521.24262.

(*N*-(4-methoxy-7-morpholinobenzo[*d*]thiazol-2-yl)-4-
(((methylsulfonyl)oxy)methyl)piperidin-1-carboxamido)methyl-pivalat (**28**)



(4-(Hydroxymethyl)-*N*-(4-methoxy-7-morpholinobenzo[*d*]thiazol-2-yl)piperidin-1-carboxamido)methyl-pivalate (**27**) (230 mg, 0,442 mmol, 1,00 Äq.) wurde in Dichlormethan (3 mL) gelöst und im Eisbad auf 0 °C gekühlt. Die Lösung wurde mit Triethylamin (91,7 µL, 0,657 mmol, 1,49 Äq.) und Methansulfonsäurechlorid (44,4 µL, 0,574 mmol, 1,30 Äq.) versetzt und bei 0 °C gerührt. Nach 1,5 Stunden wurden weitere 1,49 Äquivalente an Triethylamin und 1,30 Äquivalente an Methansulfonsäurechlorid zugegeben und die Reaktion für weitere 1,5 Stunden bei 0 °C gerührt. Die Reaktionslösung wurde anschließend mit Dichlormethan verdünnt und nacheinander je einmal mit einer gesättigten, wässrigen Lösung an Ammoniumchlorid, einer gesättigten, wässrigen Lösung an Natriumhydrogencarbonat und einer gesättigten, wässrigen Lösung an Natriumchlorid gewaschen. Die organische Phase wurde dann über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel *in vacuo* entfernt. Säulenchromatographische Reinigung (Eluent: Petrolether/Ethylacetat 30/70 des Rückstands lieferte das Produkt **28** als weißen Feststoff (184 mg, 0,307 mmol, 70 %).

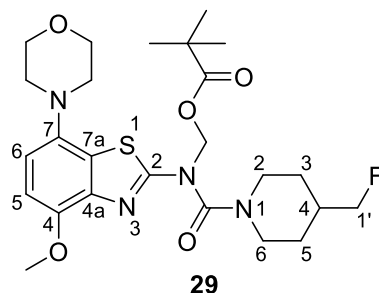
Schmelzpunkt: 163 °C.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 1.17$ (s, 9H, 3 POM- CH_3), 1.19 – 1.37 (m, 2H, 0.5 Pip- C^3H_2 , 0.5 Pip- C^5H_2), 1.74 – 1.86 (m, 2H, 0.5 Pip- C^3H_2 , 0.5 Pip- C^5H_2), 1.93 – 2.06 (m, 1H, Pip- C^4H), 2.74 – 3.09 (m, 9H, 0.5 Pip- C^2H_2 , 0.5 Pip- C^6H_2 , 2 NCH₂, Ms- CH_3), 3.82 – 3.89 (m, 7H, 2 OCH₂, OCH₃), 4.08 (d, $J = 6.5$ Hz, 2H, Pip- C^1H_2), 4.56 – 4.80 (m, 2H, 0.5 Pip- C^2H_2 , 0.5 Pip- C^6H_2), 6.52 (s, 2H, POM- CH_2), 6.80 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H, C^6H), 6.84 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H, C^5H) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 27.17$ (s, POM- $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 28.42 (0.5 Pip- C^3 , 0.5 Pip- C^5), 28.82 (0.5 Pip- C^3 , 0.5 Pip- C^5), 36.40 (s, Pip- C^4), 37.49 (s, Ms- CH_3), 42.52 (0.5 Pip- C^2 , 0.5 Pip- C^6), 44.22 (0.5 Pip- C^2 , 0.5 Pip- C^6), 52.03 (NCH₂), 56.49 (OCH₃), 67.45 (OCH₂), 69.91 (s, POM- CH_2), 73.51 (s, Pip- C^1), 110.11 (C^6), 113.43 (C^5), 123.23 (C^{7a}), 125.77 (C^7), 141.09 (C^{4a}), 143.39 (C^4), 161.10 (CO), 167.59 (C^2), 177.93 (POM-CO) ppm.

HRMS m/z : $[\text{M}+\text{H}]^+$ berechnet: 599.22038; gefunden: 599.22026.

(4-(Fluoromethyl)-*N*-(4-methoxy-7-morpholinobenzo[*d*]thiazol-2-yl)piperidin-1-carboxamido)methyl-pivalat (**29**)



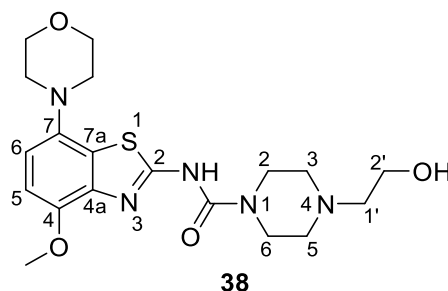
4-(Fluoromethyl)-*N*-(4-methoxy-7-morpholinobenzo[*d*]thiazol-2-yl)piperidin-1-carboxamid (**2**) (100 mg, 0,245 mmol, 1,00 Äq.) und Kaliumcarbonat (51 mg, 0,368 mmol, 1,50 Äq.) wurden in DMF (5 mL) suspendiert und bei 60 °C für 30 Minuten gerührt. Eine Lösung aus Chlormethylpivalat (71 µL, 0,368 mmol, 1,50 Äq.) in DMF (100 µL) wurde zugegeben und die Reaktion bei 60 °C für sechs Stunden gerührt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurde die Reaktionslösung auf Eis gegeben und mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden nacheinander je einmal mit einer wässrigen, 10 %igen Lösung an Zitronensäure, Wasser und gesättigter, wässriger Natriumchlorid-Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde anschließend über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel *in vacuo* entfernt. Säulenchromatographische Reinigung des Rückstands (Eluent: Dichlormethan/Methanol 100/0 bis 99/1) lieferte das Produkt (**29**) als braunen Feststoff (96 mg, 0,183 mmol, 75 %).

Schmelzpunkt: 224 °C.

¹H-NMR (CDCl₃): δ = 1.16 (s, 9H, 3 POM-CH₃), 1.21 – 1.30 (m, 2H, 0.5 Pip-C³H₂, 0.5 Pip-C⁵H₂), 1.71 – 1.81 (m, 2H, 0.5 Pip-C³H₂, 0.5 Pip-C⁵H₂), 1.86 – 2.00 (m, 1H, Pip-C⁴H), 2.73 – 2.94 (m, 2H, 0.5 Pip-C²H₂, 0.5 Pip-C⁶H₂), 2.98 – 3.04 (m, 4H, 2 NCH₂), 3.81 – 3.88 (m, 7H, 2 OCH₂, OCH₃), 4.27 (dd, *J* = 47.3, 6.3 Hz, 2H, Pip-C¹H₂), 4.54 – 4.78 (m, 2H, 0.5 Pip-C²H₂, 0.5 Pip-C⁶H₂), 6.56 (s, 2H, POM-CH₂), 6.79 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H, C⁶H), 6.83 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H, C⁵H) ppm.

^{19}F -NMR (CDCl_3):	$\delta = -223.38$ ppm.
^{13}C -NMR (CDCl_3):	$\delta = 27.12$ (s, POM-C(CH_3) $_3$), 27.74 (d, $J = 5.8$ Hz, 0.5 Pip- C^3 , 0.5 Pip- C^5), 28.19 (d, $J = 5.8$ Hz, 0.5 Pip- C^3 , 0.5 Pip- C^5), 37.38 (d, $J = 18.8$ Hz, Pip- C^4), 42.66 (0.5 Pip- C^2 , 0.5 Pip- C^6), 44.35 (0.5 Pip- C^2 , 0.5 Pip- C^6), 52.00 (NCH $_2$), 56.47 (OCH $_3$), 67.43 (OCH $_2$), 69.94 (POM-CH $_2$), 87.61 (d, $J = 168,8$ Hz, Pip- $\text{C}^{1'}$), 110.06 (C^6), 113.34 (C^5), 123.24 (C^{7a}), 125.77 (C^7), 141.07 (C^{4a}), 143.33 (C^4), 161.08 (CO), 167.47 (C^2), 177.93 (POM-CO) ppm.
HRMS m/z:	[M+H] $^+$ berechnet: 523.23850; gefunden: 523.23825.

4-(2-Hydroxyethyl)-*N*-(4-methoxy-7-morpholinobenzo[*d*]thiazol-2-yl)piperazin-1-carboxamid (**38**)



Phenyl-(4-methoxy-7-morpholinobenzo[*d*]thiazol-2-yl)carbamat (**8**) (385 mg, 1,00 mmol, 1,00 Äq.) und 1-(2-Hydroxyethyl)piperazin (157 mg, 1,21 mmol, 1,21 Äq.) wurden unter Argon-Atmosphäre in trockenem DMSO (3 mL) gelöst. DBU (450 μ L, 3,01 mmol, 3,01 Äq.) wurde zugegeben und die Reaktion für sieben Stunden auf 60 °C erhitzt. Anschließend wurde die Reaktionslösung auf Raumtemperatur abgekühlt und die Reaktion über Nacht gerührt. Die Lösung wurde mit Ethylacetat verdünnt und nacheinander zweimal mit einer gesättigten, wässrigen Lösung an Natriumhydrogencarbonat, einmal mit Wasser und einmal mit einer gesättigten, wässrigen Lösung an Natriumchlorid gewaschen. Die organische Phase wurde anschließend über Natriumsulfat getrocknet und *in vacuo* eingeeengt. Säulenchromatographische Reinigung des Rückstands (Eluent: Dichlormethan/Methanol 95/5) lieferte das Produkt **38** als weißen Feststoff (268 mg, 636 μ mol, 64 %).

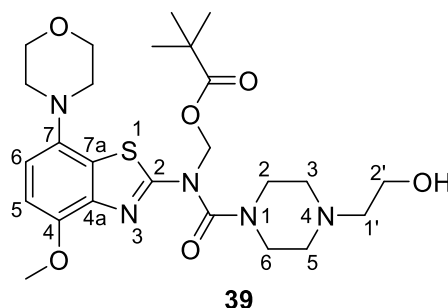
Schmelzpunkt: 140 °C

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 2.48 - 2.52$ (m, 4H, Pip- C^3H_2 , Pip- C^5H_2), $2.52 - 2.57$ (m, 2H, Pip- $\text{C}^{1'}\text{H}_2$), $3.05 - 3.11$ (m, 4H, 2 NCH₂), $3.55 - 3.65$ (m, 6H, Pip- C^2H_2 , Pip- C^6H_2 , Pip- $\text{C}^{2'}\text{H}_2$), $3.83 - 3.89$ (m, 7H, 2 OCH₂, CH₃), 6.75 (s, 2H, C⁵H, C⁶H) ppm.

^{13}C -NMR (CDCl_3): $\delta = 44.05$ (Pip- C^2 , Pip- C^6), 51.82 (NCH_2), 52.60 (Pip- C^3 , Pip- C^5), 55.96 (CH_3), 57.90 (Pip- $\text{C}^{1'}$), 59.48 (Pip- $\text{C}^{2'}$), 67.44 (OCH_2), 107.32 (C^6), 112.34 (C^5), 126.71 (C^{7a}), 136.76 (C^7), 140.61 (C^{4a}), 146.73 (C^2), 155.01 (C^4), 162.37 (CO) ppm.

ESI-MS m/z : $[\text{M}+\text{H}]^+$ berechnet: 422.19; gefunden: 422.22.

(4-(2-Hydroxyethyl)-*N*-(4-methoxy-7-morpholinobenzo[*d*]thiazol-2-yl)piperazin-1-carboxamido)methyl-pivalat (**39**)



4-(2-Hydroxyethyl)-*N*-(4-methoxy-7-morpholinobenzo[*d*]thiazol-2-yl)piperazin-1-carboxamid (**38**) (300 mg, 0,712 mmol, 1,00 Äq.) und Kaliumcarbonat (147 mg, 1,06 mmol, 1,49 Äq.) wurden in DMF (3 mL) suspendiert und bei 60 °C für 30 Minuten gerührt. Eine Lösung aus Chlormethylpivalat (205 µL, 1,42 mmol, 2,00 Äq.) in DMF (600 µL) wurde zugegeben und die Reaktion bei 60 °C für drei Stunden gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde *in vacuo* eingeeengt. Der Rückstand wurde in Dichlormethan aufgenommen und filtriert, um das Kaliumcarbonat zu entfernen. Säulenchromatographische Reinigung des Filtrats (Eluent: Dichlormethan/Methanol 95/5 bis 85/15) lieferte das Produkt **39** als braunen Feststoff (353 mg, 0,658 mmol, 92 %).

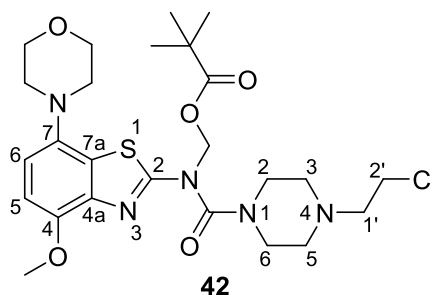
Schmelzpunkt: 160 °C

¹H-NMR (CDCl₃): δ = 1.15 (s, 9H, 3 POM-CH₃), 2.46 – 2.53 (m, 4H, Pip-C³H₂, Pip-C⁵H₂), 2.54 – 2.59 (m, 2H, Pip-C^{1'}H₂), 2.98 – 3.03 (m, 4H, 2 NCH₂), 3.61 – 3.73 (m, 4H, Pip-C²H₂, Pip-C⁶H₂), 3.81 – 3.87 (m, 9H, Pip-C^{2'}H₂, 2 OCH₂, CH₃), 6.51 (s, 2H, POM-CH₂), 6.80 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H, C⁶H), 6.83 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H, C⁵H) ppm.

^{13}C -NMR (CDCl_3): $\delta = 27.13$ (s, POM- $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 39.07 (s, POM- $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 43.75 (Pip- C^2 , Pip- C^6), 51.98 (NCH $_2$), 53.04 (Pip- C^3 , Pip- C^5), 56.46 (CH $_3$), 57.87 (Pip- $\text{C}^{1'}$), 59.52 (Pip- $\text{C}^{2'}$), 67.40 (OCH $_2$), 69.82 (POM-OCH $_2$) 110.09 (C^6), 118.42 (C^5), 122.38 (C^{7a}), 125.70 (C^7), 141.03 (C^{4a}), 143.35 (C^2), 161.09 (C^4), 167.55 (CO), 177.90 (POM-CO) ppm.

ESI-MS m/z: $[\text{M}+\text{H}]^+$ berechnet: 536.25; gefunden: 536.35.

(4-(2-Chloroethyl)-*N*-(4-methoxy-7-morpholinobenzo[*d*]thiazol-2-yl)piperazin-1-carboxamido)methyl-pivalate (**42**)



(4-(2-Hydroxyethyl)-*N*-(4-methoxy-7-morpholinobenzo[*d*]thiazol-2-yl)piperazin-1-carboxamido)methyl-pivalat (**39**) (50 mg, 93,3 μmol , 1,00 Äq.) wurde in Chloroform (5 mL) gelöst und unter Argon-Atmosphäre mit Thionylchlorid (13,5 μL , 187 μmol , 2,00 Äq.) versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde anschließend für sieben Stunden zum Rückfluss erhitzt und dann *in vacuo* eingeeengt. Säulenchromatographische Reinigung (Petrolether/Ethylacetat: 15/85 bis 0/100) des Rückstands lieferte das gewünschte Produkt **42** als gelben Feststoff (38 mg, 68,6 μmol , 74 %).

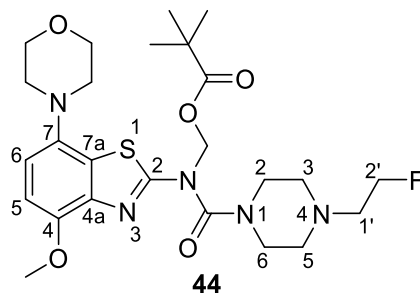
Schmelzpunkt: 105 °C.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): δ = 1.16 (s, 9H, 3 POM- CH_3), 2.54 – 2.67 (m, 4H, Pip- C^3H_2 , Pip- C^5H_2), 2.78 – 2.88 (m, 2H, Pip- C^1H_2), 2.99 – 3.04 (m, 4H, 2 NCH_2), 3.63 – 3.93 (m, 13H, Pip- C^2H_2 , Pip- C^2H_2 , Pip- C^6H_2 , 2 OCH_2 , CH_3), 6.53 (s, 2H, POM- CH_2), 6.81 (d, J = 8.7 Hz, 1H, C^6H), 6.85 (d, J = 8.7 Hz, 1H, C^5H) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3): δ = 27.17 (s, POM- $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 29.82 (Pip- C^2 , Pip- C^6), 32.19 (d, J = 27.6 Hz, Pip- C^1), 52.03 (NCH_2), 53.04 (Pip- C^3 , Pip- C^5), 53.21 (d, J = 32.6 Hz, Pip- C^1), 56.51 (CH_3), 67.43 (OCH_2), 69.78 (POM- OCH_2), 110.18 (C^6), 113.54 (C^5), 125.16 (C^7), 141.10 (C^{4a}), 143.43 (C^2), 161.07 (CO), 177.88 (POM- CO) ppm.

ESI-MS m/z : $[\text{M}+\text{H}]^+$ berechnet: 554.22; gefunden: 554.37.

(4-(2-Fluoroethyl)-*N*-(4-methoxy-7-morpholinobenzo[*d*]thiazol-2-yl)piperazin-1-carboxamido)methyl-pivalat (**44**)



4-(2-Fluoroethyl)-*N*-(4-methoxy-7-morpholinobenzo[*d*]thiazol-2-yl)piperazin-1-carboxamid (**37**) (50 mg, 0,118 mmol, 1,00 Äq.) und Kaliumcarbonat (26 mg, 0,188 mmol, 1,59 Äq.) wurden in DMF (3 mL) suspendiert und bei 60 °C für 30 Minuten gerührt. Eine Lösung aus Chlormethylpivalat (36 µL, 0,250 mmol, 2,11 Äq.) in DMF (100 µL) wurde zugegeben und die Reaktion bei 60 °C für vier Stunden gerührt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurde das Reaktionsgemisch filtriert und das Filtrat *in vacuo* eingengt. Säulenchromatographische Reinigung des Rückstands (Eluent: Dichlormethan/Methanol 99/1 bis 97/3) lieferte das Produkt **44** als beigen Feststoff (63 mg, 0,117 mmol, 99 %).

Schmelzpunkt: 163 °C.

¹H-NMR (CDCl₃): δ = 1.16 (s, 9H, 3 POM-CH₃), 2.50 – 2.65 (m, 4H, Pip-C³H₂, Pip-C⁵H₂), 2.67 – 2.84 (m, 2H, Pip-C^{1'}H₂), 2.97 – 3.05 (m, 4H, 2 NCH₂), 3.67 – 3.94 (m, 11H, Pip-C²H₂, Pip-C⁶H₂, 2 OCH₂, CH₃), 4.53 – 4,71 (m, 2H, Pip-C^{2'}H₂), 6.53 (s, 2H, POM-CH₂), 6.81 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H, C⁶H), 6.85 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H, C⁵H) ppm.

¹⁹F-NMR (CDCl₃): δ = –218.16 ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 27.17$ (s, POM-C(CH_3) $_3$), 42.66 (Pip- C^2 , Pip- C^6), 52.03 (NCH $_2$), 53.04 (Pip- C^3 , Pip- C^5), 56.51 (CH_3), 53.59 (d, $J = 32.1$ Hz, Pip- $\text{C}^{2'}$), 58.33 (d, $J = 19.8$ Hz, Pip- $\text{C}^{1'}$), 67.44 (OCH $_2$), 70.48 (POM-OCH $_2$) 110.15 (C^6), 113.47 (C^5), 123.20 (C^{7a}), 125.99 (C^7), 141.03 (C^{4a}), 143.35 (C^2), 161.11 (C^4), 161.11 (CO), 177.32 (POM-CO) ppm.

ESI-MS m/z : $[\text{M}+\text{H}]^+$ berechnet: 538.25; gefunden: 538.41.

4.3. Radiomarkierungen

4.3.1. Allgemeine Vorschrift für die Radiofluorierungsreaktionen

N. c. a. [^{18}F]Fluorid (ca. 20 MBq), Kryptofix[®] (20 mg, 53,1 μmol) und Kaliumcarbonat (15 μmol) wurden im V-Vial vorgelegt. Nach Zugabe von Acetonitril (1 mL) wurde das [^{18}F]Fluorid unter vermindertem Druck bei 80 °C azeotrop getrocknet. Der Trocknungsvorgang wurde zweimal wiederholt, bevor das Reaktionsgefäß mit Argon geflutet wurde. Die jeweilige Vorläuferverbindung (10 μmol) wurde in trockenem DMSO (1 mL) gelöst und in das Reaktionsgefäß überführt. Die Radiomarkierungsreaktion wurde bei 140 °C für 20 Minuten gerührt, bevor der Reaktor im Wasserbad auf Raumtemperatur abgekühlt wurde. Anschließend wurde eine 50 %ige Lösung aus 1 M wässriger NaOH in Methanol (100 μL) zugegeben und die Reaktion für weitere fünf Minuten gerührt. Durch Verdünnen des Reaktionsgemischs mit Wasser wurde die Reaktion beendet.

Nach jedem Reaktionsschritt wurde ein Aliquot der Reaktionslösung entnommen, mit Wasser verdünnt und über die HPLC analysiert. Um den tatsächlichen Anteil des Radiomarkierungsproduktes zu bestimmen, wurde die Aktivität des Injektionsvolumens über einen Referenzpeak auf der HPLC bestimmt.

4.4. Mikrosomenmetabolismus-Assays

4.4.1. Allgemeine Versuchsvorschrift

Das Gesamtinkubationsvolumen betrug je Assay 1 mL. Die Lebermikrosomen mit einer Soll-Proteinkonzentration von 0,8 mg/mL pro Assay wurden mit Natriumphosphat-Puffer (pH 7,4; 0,1 M), Magnesiumchlorid (3,3 mM im Assay), NADP (1,3 mM im Assay), Glukose-6-Phosphat (3,3 mM im Assay) und Glukose-6-Phosphat-Dehydrogenase (0,4 U/Assay) bei 37 °C für fünf Minuten vorinkubiert. Für die untersuchten A_{2A}R-Liganden wurde eine 10 µM Stammlösung in DMSO angesetzt. Pro Assay wurden nach der Vorinkubationszeit 1 µL der jeweiligen Stammlösung hinzu pipettiert. Das Assay-Volumen wurde durch dreimaliges Invertieren durchmischt, ein Aliquot (60 µL) des Mediums entnommen und schließlich das Assay bei 37 °C inkubiert. Weitere Aliquots (je 60 µL) wurden zu verschiedenen Zeitpunkten der Inkubation entnommen.

Die Proben wurden mit jeweils 60 µL Acetonitril versetzt, für zwei Minuten mit einem Vortexmischer homogenisiert und schließlich zentrifugiert (20000 g/2 min). Der Überstand der Probe wurde mittels HPLC analysiert.

Für die LC-MS-Messungen wurde das Gesamtinkubationsvolumen nach zwei (bei Lebermikrosomen von Ratten) bzw. drei (bei humanen Lebermikrosomen) Stunden mit jeweils 2 mL Acetonitril versetzt und für 2 Minuten mit einem Vortexmischer homogenisiert. Jeder Ansatz wurde auf drei Eppendorfgefäße aufgeteilt und zentrifugiert (20000 g/2 min). Der Überstand wurde abpipettiert und *in vacuo* eingeeengt. Der Rückstand wurde mit dem Eluenten (35 % Acetonitril in Wasser) versetzt und anschließend im Ultraschallbad behandelt (2 min). Die Proben wurden erneut zentrifugiert (20000 g/2 min) und der Überstand über LC-MS analysiert.

4.5. *In vitro* Evaluierung der A_{2A}R-Liganden

Die im Folgenden beschriebenen Bindungsstudien und Autoradiographien zur biologischen Evaluierung der A_{2A}R-Liganden wurden von der Arbeitsgruppe Radiopharmakologie durchgeführt und werden hier der Vollständigkeit wegen aufgeführt.

4.5.1. Untersuchung der Bindungsaffinitäten mittels Kompetitions-Assays

Zur Durchführung der Assays für den humanen A_{2A}R und A₁R wurden Homogenate von CHO-Zellen (Chinese Hamster Ovary), die entweder den A_{2A}R oder den A₁R exprimieren, verwendet. Zur Untersuchung der Bindungsaffinität zum A_{2A}R der Ratte wurde homogenisiertes Corpus striatum-Gewebe der Ratte verwendet. Für die Untersuchung der Bindungsaffinität für den A_{2A}R wurde [³H]ZM241385, für die Untersuchung am A₁R [³H]CPDPX verwendet. Je Assay wurden Membranhomogenate mit 7,5 µg Proteingehalt in einer Gel Matrix immobilisiert und mit den Radioliganden und dem zu untersuchenden neuen A_{2A}R-Liganden in einem Gesamtvolumen von 1,5 mL (50 mM Tris/HCl-Puffer, pH 7,4) inkubiert. Nach einer Inkubationszeit von 70 Minuten wurden die immobilisierten Membranhomogenate mit Wasser gewaschen und in einen Szintillationscocktail (5 mL, Ultima Gold, Perkin Elmer) überführt. Die gebundene Radioaktivität wurde mit einem Beckman Liquid Scintillation Counter gemessen und die Kompetitionskurven mittels nicht linearer Regression mit dem Computerprogramm Prism version 4.0 (GraphPad Software, Inc., La Jolla, USA) ausgewertet.

4.5.2. Autoradiographien an Rattengehirnschnitten

Für die Autoradiographien wurden tiefgefrorene horizontale Rattengehirnschnitte (20 µm) verwendet. Nach fünfminütigem Inkubieren in einem 50 mM Tris/HCl-Puffer (pH 7,4) wurden die Schnitte im gleichen Puffer, der zusätzlich 2,3 kBq/mL [¹⁸F]2 enthielt, für 60 Minuten inkubiert. Für die Messung des unspezifischen Bindungsanteils wurde ZM241385 (1 µmol/L) zugegeben. Die Schnitte wurden anschließend zweimal mit Puffer und einmal mit Wasser gewaschen und für 45 Minuten bei 37 °C getrocknet. Anschließend wurden sie für 30 Minuten auf einer Phosphor Imaging Platte platziert und dann mit einem Phosphor Imager BAS 500 (Fujifilm, Tokio, Japan) vermessen. Die Auswertung erfolgte mittels entsprechender Computersoftware.

5. Zusammenfassung

Viele neurodegenerative, -psychiatrische und -inflammatorische Erkrankungen haben Veränderungen im Expressionsprofil der Adenosin-A_{2A}-Rezeptoren (A_{2A}R) im Gehirn zur Folge. Diese molekularen Veränderungen in der A_{2A}-Rezeptordichte aufgrund der pathologischen Prozesse sind schon in einem frühen Krankheitsstadium mittels PET-Bildgebung darstellbar. Auch in peripheren Organen, wie beispielsweise dem Herzen, wird der A_{2A}R exprimiert und mithilfe eines affinen und selektiven PET-Tracers könnten auch dort Veränderungen in der A_{2A}R-Dichte sensitiv erfasst werden und zur Untersuchung pathologischer Prozesse beitragen. Ziel der vorliegenden Arbeit war daher die Entwicklung, Synthese und biologische Evaluierung eines affinen und selektiven radiofluorierten Liganden für die Visualisierung des Adenosin-A_{2A}-Rezeptors mittels Positronen-Emissions-Tomographie (PET).

Basierend auf vorherigen Arbeiten auf dem Gebiet selektiver A_{2A}-Rezeptorliganden am Institut für Neurowissenschaften und Medizin, Nuklearchemie (INM-5) am Forschungszentrum Jülich wurden sechs fluorierte Tozadenant-Derivate in einer konvergenten Synthesestrategie hergestellt. Die Grundstruktur der Liganden bestand aus dem substituierten Heterobizyklus des 4-Methoxy-7-morpholin-4-yl-benzo[*d*]thiazol-amin der über eine Carboxamid-Bindung mit einem Piperidin-Rest verknüpft wurde (vgl. Abbildung 18). Die Derivatisierung der Verbindungen gelang durch die Variation des Restes R in 4-Position des Piperidinrings. Die Synthese von 4-Methoxy-7-morpholin-4-yl-benzo[*d*]thiazol-amin (**14**) erfolgte über sechs Stufen ausgehend von *p*-Anisidin in einer Gesamtausbeute von 44 %. Das anschließend synthetisierte Phenyl-(4-methoxy-7-morpholinobenzo[*d*]thiazol-2-yl)carbamat (**8**) fungierte als Ausgangsverbindung für die Derivatisierung. Aus den Kondensationsreaktionen mit sechs unterschiedlichen Piperidin-Derivaten, von denen vier zunächst in unabhängigen Syntheserouten hergestellt werden mussten, wurden schließlich sechs unterschiedliche A_{2A}R-Liganden dargestellt.

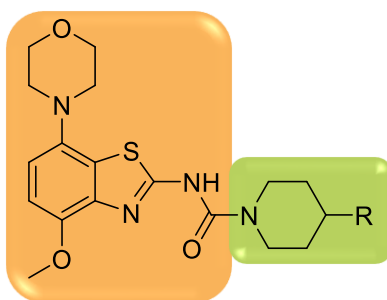


Abbildung 18: Allgemeine Strukturformel der synthetisierten Aminobenzothiazol-Derivate. Orange hinterlegt ist der 4-Methoxy-7-morpholin-4-yl-benzo[d]thiazol-amin-Baustein, grün hinterlegt der Piperidinring, an dem die Derivatisierung der Verbindungen durch Variation des Restes R durchgeführt wurde.

Zur Derivatisierung der asymmetrisch substituierten Harnstoffe wurden zwei Piperidine mit einem 2-Fluorethoxyrest (Verbindung **18**) bzw. einem (2-Fluorethoxy)methyl-Rest (Verbindung **21**) über jeweils vier Stufen in Gesamtausbeuten von 1,8 % bzw. 1,3 % erfolgreich hergestellt. Des Weiteren wurden zwei Piperidine mit den Fluorhydrin-haltigen Resten, einem 2-Fluor-1-hydroxyethyl- (Verbindung **23**) und einem 1-Fluor-2-hydroxypropan-2-yl-Rest (Verbindung **25**), synthetisiert. Verbindung **23** und **25** wurden über jeweils zwei Stufen in Gesamtausbeuten von 22 % bzw. 40 % erhalten. Außerdem wurden das kommerziell erhältliche 4-Fluorpiperidin und das vom Arbeitskreis zur Verfügung gestellte 4-Fluormethylpiperidin, bei dem eine Boc-Schutzgruppe zuvor in quantitativer Ausbeute abgespalten wurde, zur Synthese neuer A_{2A}R-Liganden verwendet.

Die Kondensationsreaktion zwischen dem Phenylcarbammat **8** und den unterschiedlichen Piperidinen verlief in guten bis sehr guten Ausbeuten von 40 – 73 % und lieferte sechs A_{2A}R-Liganden, die in Konkurrenzexperimenten hinsichtlich ihrer Affinität zum A_{2A}R und A₁R untersucht wurden. Alle synthetisierten Derivate waren selektiv in ihrer Bindung zum humanen A_{2A}R. Auch die Affinität zum A_{2A}R war bei allen synthetisierten Liganden hoch, wobei drei der fluorierten Derivate, das 4-Fluormethylpiperidin-Derivat **2**, das 4-Fluorpiperidin-Derivat **1** und das Fluorhydrin-Derivat **5**, sehr niedrige Dissoziationskonstanten im einstellig nanomolaren Bereich von $3,6 \pm 0,18$ nM, $4,9 \pm 1,3$ nM bzw. $6,4 \pm 2,3$ nM besaßen.

Für die Radiomarkierung und weitere biologische Evaluierung wurde Verbindung **2** mit dem Fluormethylrest in 4-Position des Piperidinrings ausgewählt. Im Gegensatz zu der bereits zuvor am INM-5 entwickelten Verbindung **JL-153** besitzt Verbindung **2** keine zum Fluor β -ständige Hydroxygruppe. Dies vereinfachte insbesondere die Synthese des Radiofluorierungsvorläufers, der im Fall von Verbindung **2** ohne komplexe Schutzgruppenstrategie oder die aufwendige Synthese eines cyclischen Sulfits auskam. Der Radiomarkierungsvorläufer mit Mesylat-Abgangsgruppe und POM-Schutzgruppe am sekundären Stickstoff des Harnstoffs wurde in einer dreistufigen Synthese ausgehend von Carbamat **8** hergestellt. Um den Erfolg der Radiofluorierungsreaktion bereits auf der ersten Stufe der zweistufigen Radiosynthese mittels HPLC überprüfen zu können, wurde die POM-geschützte Referenzverbindung **29** synthetisiert und eine entsprechende HPLC-Methode entwickelt. Die zweistufige Radiomarkierung von [^{18}F]**2** verlief dann reproduzierbar in radiochemischen Ausbeuten von $32 \pm 10\%$ in Gegenwart von Kryptofix[®] und Kaliumcarbonat. Bei der von der Arbeitsgruppe Radiopharmakaproduktion durchgeführten Automatisierung der Radiosynthese von [^{18}F]**2** und dem 4-Fluorpiperidin-Derivat [^{18}F]**1** konnten schließlich radiochemische Ausbeuten von 25 – 30 %, molare Aktivitäten von 249 – 300 GBq/ μmol und radiochemische Reinheiten von > 99 % erhalten werden.

Durch autoradiographische Studien an horizontalen Rattengehirnschnitten mit [^{18}F]**2** konnte die selektive Bindung des Radioliganden im Corpus striatum – in dieser Hirnregion wird der $\text{A}_{2\text{A}}\text{R}$ stark exprimiert – gezeigt werden. Eine spezifische Bindung im Cortex und Kleinhirn, die Bereiche des Gehirns, in denen bevorzugt der A_{1}R exprimiert wird, war nicht sichtbar. Durch die Verdrängung des Radioliganden mit dem hochaffinen $\text{A}_{2\text{A}}\text{R}$ -Liganden ZM241385 konnte die Reversibilität der Bindung an den $\text{A}_{2\text{A}}\text{R}$ sowie eine geringe unspezifische Bindung gezeigt werden. Aufgrund dieser guten Bindungseigenschaften wurde der Tracer in weiteren präklinischen und in *in vivo* Experimenten untersucht.

Die präklinische Evaluation, die am INM-2 mit gesunden Ratten durchgeführt wurde, zeigte keine Anreicherung des Fluormethyl-Derivats [^{18}F]**2** im Rattenhirn. Allerdings zeigte sich eine starke Akkumulation des Tracers im Herzgewebe, das ebenfalls $\text{A}_{2\text{A}}\text{R}$ exprimiert. Die überraschend geringe Hirnaufnahme des Fluormethyl-Derivats [^{18}F]**2**

wurde auch für andere radiofluorierten Tozadenant-Derivate, wie [¹⁸F]**JL-153** und [¹⁸F]**1**, gefunden. Bei Untersuchungen von Blutproben des Versuchstiers wurde für [¹⁸F]**2** die Bildung mehrerer Radiometabolite beobachtet. Auch in Metabolismusstudien an Lebermikrosomen mit der nicht radioaktiv markierten Verbindung konnte die Metabolisierung von Verbindung **2** beobachten werden. Für einen gebildeten Metaboliten konnte die Masse von 405 u bestimmt werden. Ein solcher Metabolit könnte durch die enzymatische Hydroxylierung mit anschließender Eliminierung von Wasser oder HF entstehen. Die Struktur des Metaboliten wurde jedoch nicht näher aufgeklärt.

Die radiofluorierte Verbindung [¹⁸F]**2** zeigt zwar prinzipiell eine hohe Bindungsaffinität und Selektivität für den A_{2A}R, konnte die Blut-Hirn-Schranke jedoch nicht überwinden. Eine mögliche Erklärung dafür könnte die recht hohe Lipophilie der Verbindung mit einem clog P-Wert von 2,82 darstellen. Während der *in vivo* Studien konnte außerdem die Bildung von Radiometaboliten beobachtet werden, die aber ebenfalls nicht ins Gehirn gelangten. Um die Hirngängigkeit und die metabolische Stabilität in Bezug auf eine Defluorierung zu erhöhen, wurde eine weitere Derivatisierung der Verbindung durchgeführt. Anstatt eines Piperidin-Restes wurde ein fluorierter Piperazin-Rest in die Aminobenzothiazol-Grundstruktur eingeführt.

Für die Synthese des neuen A_{2A}R-Liganden **37** wurde – ausgehend von 2-Fluorethanol – zunächst 1-(2-Fluorethyl)piperazin (**36**) über drei Stufen in 19 % Gesamtausbeute hergestellt. Die Kondensationsreaktion von Carbamat **8** mit dem substituierten Piperazin-Rest **36** lieferte **37** in 47 % Ausbeute. Die Bindungsaffinitätsstudie ergab für Verbindung **37** eine Dissoziationskonstante von $10,2 \pm 2,3$ nM. Verbindung **37** besitzt also eine geringere Affinität zum A_{2A}R als Verbindung **2**. Die Lipophilie der Verbindung liegt mit einem clog P-Wert von 1,99 zwischen der Lipophilie von **JL-153** (clog P = 1,18) und der Verbindung **2** (clog P = 2,82). Ein clogP-Wert von 2 sollte potenziell einen Übertritt des Liganden über Blut-Hirn-Schranke ermöglichen. Durch *in vitro* Metabolismusstudien mit Verbindung **37** an Lebermikrosomen von Ratten und Menschen konnte außerdem gezeigt werden, dass der Metabolismus von Verbindung **37** insgesamt langsamer verläuft als für Verbindung **2**. Während bei Verbindung **2** innerhalb der ersten 60 Minuten des Assays mit humanen Lebermikrosomen nur noch

45 % der Ausgangsverbindung intakt war, war es im Fall von Verbindung **37** noch 79 %. Da die Verbindung ein vielversprechender Kandidat für die Bildgebung des A_{2A}R aufwies, wurde eine Synthese für das radiofluorierte Analogon von Verbindung **37** ausgearbeitet.

Für die Radiofluorierung von [¹⁸F]**37** wurde ebenfalls ein Mesylat-Vorläufer mit POM-Schutzgruppe am sekundären Amin des Harnstoffs entwickelt. Durch die hohe Reaktivität der Mesylat-Abgangsgruppe war eine Isolierung der Vorläuferverbindung jedoch nicht möglich. Auch die Einführung einer weniger guten Abgangsgruppe, einem Bromid, gelang nicht. Eine chlorierte Vorläuferverbindung **42** konnte schließlich zwar radiofluoriert werden, jedoch betrug die radiochemische Ausbeute lediglich 3,5 ± 1,3 %. Da die Isolierung einer Vorläuferverbindung mit guter Abgangsgruppe am Ethylrest des Piperazins offenbar nicht möglich ist, scheint [¹⁸F]**37** nicht in ausreichend hohen radiochemischen Ausbeuten über die konventionelle Radiofluorierung über den S_N2-Mechanismus zugänglich zu sein.

Im Verlauf des Promotionsprojekts konnte eine Reihe von sieben affinen und selektiven A_{2A}R-Liganden erfolgreich synthetisiert werden. Da der radiofluorierte Tracer [¹⁸F]**2** jedoch nur eine sehr geringe Hirnaufnahme zeigte, kommt er nicht zur molekularen Bildgebung des A_{2A}R im Gehirn in Frage. Auch für das ¹¹C-markierte Analogon n. c. a. [¹¹C]Tozadenant mit einem 4-Hydroxy-4-methyl-piperidin-Substituenten, das parallel zu diesem Projekt am INM-2 hergestellt wurde, konnte keine Aufnahme des Tracers im Gehirn gefunden werden. Dies ist jedoch ebenfalls unerwartet, da in der Literatur nicht radiomarkiertes Tozadenant dazu verwendet wurde, selektive A_{2A}R-Radioliganden aus dem Gehirn zu verdrängen. Eine Arbeitshypothese ist, dass für Tozadenant und vermutlich auch für die vorgestellten Analoga eine Dosisabhängigkeit für die Überwindung der Blut-Hirn-Schranke vorliegen könnte. Diese Hypothese wäre eine Erklärung dafür, dass bei den sehr geringen Stoffmengen, die unter n. c. a. Bedingungen hergestellt werden, die Blut-Hirn-Schranke nicht passiert wird. Die hohe Tracerakkumulation im Herzgewebe sowie die guten Bindungs- und metabolischen Eigenschaften von [¹⁸F]**2** und anderen radiofluorierten Tozadenant-Derivaten machen diese zu potenziellen Kandidaten für die Detektion von pathologischen Prozessen, in die der A_{2A}R involviert ist. So könnte durch die vorgestellten Radioliganden die kardiale Überexpression des A_{2A}R bei z. B. ischämischen Reperfusionsschäden abgebildet und so

koronare Erkrankungen diagnostiziert und behandelt werden. Um die Einsatzgebiete von radiofluorierten Aminobenzothiazolen als A_{2A}R-Liganden zu evaluieren, sind jedoch weitere Studien nötig.

Literaturverzeichnis

- (1) Hevesy, G. V.; Paneth, F. Die Löslichkeit des Bleisulfids und Bleichromats. *Z. Anorg. Chem.* **1913**, *82*, 323–328.
- (2) Niese, S. George de Hevesy (1885–1966): discoverer of hafnium, founder of radioanalytical chemistry and X-ray fluorescence analysis and father of nuclear medicine. *J. Radioanal. Nucl. Chem.* **2017**, *311*, 1035–1041.
- (3) Hevesy, G. The absorption and translocation of lead by plants: a contribution to the application of the method of radioactive indicators in the investigation of the change of substance in plants. *Biochem. J.* **1923**, *17*, 439–445.
- (4) Chievitz, O.; Hevesy, G. Radioactive indicators in the study of phosphorus metabolism in rats. *Nature* **1935**, *136*, 754–755.
- (5) NobelPrize.org. The Nobel Prize in Chemistry 1943. <https://www.nobelprize.org/prizes/chemistry/1943/summary/> (aufgerufen am 14. Oktober 2020).
- (6) Ter-Pogossian, M. M.; Phelps, M. E.; Hoffman, E. J.; Mullani, N. A. A positron-emission transaxial tomograph for nuclear imaging (PETT). *Radiology* **1975**, *114*, 89–98.
- (7) Phelps, M. E.; Hoffman, E. J.; Mullani, N. A.; Ter-Pogossian, M. M. Application of annihilation coincidence detection to transaxial reconstruction tomography. *J. Nucl. Med.* **1975**, *16*, 210–224.
- (8) Vandenberghe, S.; Mikhaylova, E.; D'Hoe, E.; Mollet, P.; Karp, J. S. Recent developments in time-of-flight PET. *EJNMMI Phys* **2016**, *3*, 3.
- (9) Karp, J. S.; Surti, S.; Daube-Witherspoon, M. E.; Muehllehner, G. Benefit of time-of-flight in PET: experimental and clinical results. *J. Nucl. Med.* **2008**, *49*, 462–470.
- (10) Surti, S.; Karp, J. S.; Popescu, L. M.; Daube-Witherspoon, M. E.; Werner, M. Investigation of time-of-flight benefit for fully 3-D PET. *IEEE Transactions on Medical Imaging* **2006**, *25*, 529–538.
- (11) Vandenberghe, S.; Moskal, P.; Karp, J. S. State of the art in total body PET. *EJNMMI Phys* **2020**, *7*, 1–33.
- (12) Moses, W. W. Fundamental limits of spatial resolution in PET. *Nucl. Instrum. Methods Phys. Res.* **2011**, *648 Supplement 1*, 236–240.

- (13) Rachel Bar-Shalom; Nikolai Yefremov; Ludmila Guralnik; Diana Gaitini; Alex Frenkel; Abraham Kuten; Hernan Altman; Zohar Keidar; Ora Israel. Clinical performance of PET/CT in evaluation of cancer: additional value for diagnostic imaging and patient management. *J. Nucl. Med.* **2003**, *44*, 1200–1209.
- (14) Antoch, G.; Bockisch, A. Combined PET/MRI: a new dimension in whole-body oncology imaging? *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging* **2009**, *36 Suppl 1*, 113-120.
- (15) International Atomic Energy Agency - Nuclear Data Section. Live Chart of Nuclides. <https://www-nds.iaea.org/relnsd/vcharthtml/VChartHTML.html> (aufgerufen am 18. November 2020).
- (16) Miller, P. W.; Long, N. J.; Vilar, R.; Gee, A. D. Synthese von ^{11}C -, ^{18}F -, ^{15}O - und ^{13}N -Radiotracer für die Positronenemissionstomographie. *Angew. Chem.* **2008**, *120*, 9136–9172.
- (17) Miller, P. W.; Long, N. J.; Vilar, R.; Gee, A. D. Synthesis of ^{11}C , ^{18}F , ^{15}O , and ^{13}N radiolabels for positron emission tomography. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2008**, *47*, 8998–9033.
- (18) Dash, A.; Chakravarty, R. Radionuclide generators: the prospect of availing PET radiotracers to meet current clinical needs and future research demands. *Am. J. Nucl. Med. Mol. Imaging* **2019**, *9*, 30–66.
- (19) Conti, M.; Eriksson, L. Physics of pure and non-pure positron emitters for PET: a review and a discussion. *EJNMMI Phys* **2016**, *3*, 8.
- (20) Ametamey, S. M.; Honer, M.; Schubiger, P. A. Molecular imaging with PET. *Chem. Rev.* **2008**, *108*, 1501–1516.
- (21) Brix, G.; Lechel, U.; Glatting, G.; Ziegler, S. I.; Münzing, W.; Müller, S. P.; Beyer, T. Radiation exposure of patients undergoing whole-body dual-modality [^{18}F]-FDG PET/CT examinations. *J. Nucl. Med.* **2005**, *46*, 608–613.
- (22) Tsuchida, T.; Takeuchi, H.; Okazawa, H.; Tsujikawa, T.; Fujibayashi, Y. Grading of brain glioma with 1- ^{11}C -acetate PET: comparison with ^{18}F -FDG PET. *Nucl. Med. Biol.* **2008**, *35*, 171–176.
- (23) Phelps, M. E. Positron emission tomography provides molecular imaging of biological processes. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2000**, *97*, 9226–9233.
- (24) Lawrence, E. O.; Livingston, M. S. The production of high speed light ions without the use of high voltages. *Phys. Rev.* **1932**, *40*, 19–35.

- (25) Casella, V.; Ido, T.; Wolf, A. P.; Fowler, J. S.; MacGregor, R. R.; Ruth, T. J. Anhydrous F-18 labeled elemental fluorine for radiopharmaceutical preparation. *J. Nucl. Med.* **1980**, *21*, 750–757.
- (26) Jacobson, O.; Chen, X. PET designated fluoride-18 production and chemistry. *Curr. Top. Med. Chem.* **2010**, *10*, 1048–1059.
- (27) Nickles, R. J.; Daube, M. E.; Ruth, T. J. An $^{18}\text{O}_2$ target for the production of $^{18}\text{F}\text{F}_2$. *Appl. Radiat. Isot.* **1984**, *35*, 117–122.
- (28) Coenen, H. H.; Gee, A. D.; Adam, M.; Antoni, G.; Cutler, C. S.; Fujibayashi, Y.; Jeong, J. M.; Mach, R. H.; Mindt, T. L.; Pike, V. W.; *et al.* Consensus nomenclature rules for radiopharmaceutical chemistry - Setting the record straight. *Nucl. Med. Biol.* **2017**, *55*, v–xi.
- (29) Guillaume, M.; Luxen, A.; Nebeling, B.; Argentini, M.; Clark, J. C.; Pike, V. W. Recommendations for fluorine-18 production. *Appl. Radiat. Isot.* **1991**, *42*, 749–762.
- (30) Schlyer, D. J.; Bastos, M. A.; Alexoff, D.; Wolf, A. P. Separation of ^{18}F fluoride from ^{18}O water using anion exchange resin. *Appl. Radiat. Isot.* **1990**, *41*, 531–533.
- (31) Todorov, B.; Belovezhdova, I.; Alanen, O.; Airaksinen, A. J.; Djingova, R. Recycling of ^{18}O enriched water used in ^{18}F cyclotron production. *Appl. Radiat. Isot.* **2019**, *145*, 109–115.
- (32) Link, J. M.; Shoner, S. C.; Krohn, K. A. Sources of carrier F-19 in F-18 fluoride. *AIP Conf. Proc.* **2012**, *1509*, 61–65.
- (33) Hagmann, W. K. The many roles for fluorine in medicinal chemistry. *J. Med. Chem.* **2008**, *51*, 4359–4369.
- (34) Johnson, B. M.; Shu, Y.-Z.; Zhuo, X.; Meanwell, N. A. Metabolic and pharmaceutical aspects of fluorinated compounds. *J. Med. Chem.* **2020**, *63*, 6315–6386.
- (35) van de Bittner, G. C.; Ricq, E. L.; Hooker, J. M. A philosophy for CNS radiotracer design. *Acc. Chem. Res.* **2014**, *47*, 3127–3134.
- (36) Armstrong, J. F.; Faccenda, E.; Harding, S. D.; Pawson, A. J.; Southan, C.; Sharman, J. L.; Campo, B.; Cavanagh, D. R.; Alexander, S. P. H.; Davenport, A. P.; *et al.* The IUPHAR/BPS Guide to PHARMACOLOGY in 2020: extending immunopharmacology content and introducing the IUPHAR/MMV Guide to MALARIA PHARMACOLOGY. *Nucleic Acids Res.* **2020**, *48*, D1006-D1021.

- (37) International Union of Basic and Clinical Pharmacology (IUPHAR) / British Pharmacological Society (BPS) Guide to PHARMACOLOGY. <https://www.guidetopharmacology.org/> (aufgerufen am 1. Januar 2021).
- (38) Pike, V. W. Considerations in the development of reversibly binding PET radioligands for brain imaging. *Curr. Med. Chem.* **2016**, *23*, 1818–1869.
- (39) Lipinski, C. A.; Lombardo, F.; Dominy, B. W.; Feeney, P. J. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Adv. Drug Delivery Rev.* **2001**, *46*, 3–26.
- (40) Cheng, Y.-C.; Prusoff, W. H. Relationship between the inhibition constant (K_i) and the concentration of inhibitor which causes 50 per cent inhibition (I_{50}) of an enzymatic reaction. *Biochem. Pharmacol.* **1973**, *22*, 3099–3108.
- (41) Mabondzo, A.; Bottlaender, M.; Guyot, A.-C.; Tsaouin, K.; Deverre, J. R.; Balimane, P. V. Validation of in vitro cell-based human blood-brain barrier model using clinical positron emission tomography radioligands to predict in vivo human brain penetration. *Mol. Pharmaceutics* **2010**, *7*, 1805–1815.
- (42) Kuntner, C. Kinetic modeling in pre-clinical positron emission tomography. *Z. Med. Phys.* **2014**, *24*, 274–285.
- (43) Chirakal, R.; Firnau, G.; Couse, J.; Garnett, E. S. Radiofluorination with ^{18}F -labelled acetyl hypofluorite: [^{18}F]L-6-fluorodopa. *Appl. Radiat. Isot.* **1984**, *35*, 651–653.
- (44) Satyamurthy, N.; Bida, G. T.; Phelps, M. E.; Barrio, J. R. Novel reagents for mild and regioselective radiofluorination. *Appl. Radiat. Isot.* **1990**, *41*, 733–738.
- (45) Petroni, D.; Menichetti, L.; Poli, M. Historical and radiopharmaceutical relevance of [^{18}F]FDG. *J. Radioanal. Nucl. Chem.* **2020**, *323*, 1017–1031.
- (46) Ido, T.; Wan, C.-N.; Casella, V.; Fowler, J. S.; Wolf, A. P.; Reivich, M.; Kuhl, D. E. Labeled 2-deoxy-D-glucose analogs. ^{18}F -labeled 2-deoxy-2-fluoro-D-glucose, 2-deoxy-2-fluoro-D-mannose and ^{14}C -2-deoxy-2-fluoro-D-glucose. *J. Labelled Compd. Radiopharm.* **1978**, *14*, 175–183.
- (47) Diksic, M.; Jolly, D. New high-yield synthesis of ^{18}F -labelled 2-deoxy-2-fluoro-D-glucose. *Appl. Radiat. Isot.* **1983**, *34*, 893–896.
- (48) Shiue, C. Y.; Salvadori, P. A.; Wolf, A. P.; Fowler, J. S.; MacGregor, R. R. A new improved synthesis of 2-deoxy-2-[^{18}F]fluoro-d-glucose from ^{18}F -labeled acetyl hypofluorite. *J. Nucl. Med.* **1982**, *23*, 899–903.

- (49) Coenen, H. H.; Moerlein, S. M. Regiospecific aromatic fluorodemetalation of group IVb metalloarenes using elemental fluorine or acetyl hypofluorite. *J. Fluorine Chem.* **1987**, *36*, 63–75.
- (50) Namavari, M.; Bishop, A.; Satyamurthy, N.; Bida, G.; Barrio, J. R. Regioselective radiofluorodestannylation with $[^{18}\text{F}]\text{F}_2$ and $[^{18}\text{F}]\text{CH}_3\text{COOF}$: A high yield synthesis of 6- $[^{18}\text{F}]$ fluoro-L-dopa. *Appl. Radiat. Isot.* **1992**, *43*, 989–996.
- (51) Köhler, M.; Degering, D.; Zessin, J.; Füchtner, F.; Konheiser, J. Radionuclide impurities in $[^{18}\text{F}]\text{F}^-$ and $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$ for positron emission tomography. *Appl. Radiat. Isot.* **2013**, *81*, 268–271.
- (52) Bowden, L.; Vintró, L. L.; Mitchell, P. I.; O'Donnell, R. G.; Seymour, A. M.; Duffy, G. J. Radionuclide impurities in proton-irradiated $[^{18}\text{O}]\text{H}_2\text{O}$ for the production of ^{18}F : activities and distribution in the $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$ synthesis process. *Appl. Radiat. Isot.* **2009**, *67*, 248–255.
- (53) Aerts, J.; Voccia, S.; Lemaire, C.; Giacomelli, F.; Goblet, D.; Thonon, D.; Plenevaux, A.; Warnock, G.; Luxen, A. Fast production of highly concentrated reactive $[^{18}\text{F}]$ fluoride for aliphatic and aromatic nucleophilic radiolabelling. *Tetrahedron Lett.* **2010**, *51*, 64–66.
- (54) Lemaire, C. F.; Aerts, J. J.; Voccia, S.; Libert, L. C.; Mercier, F.; Goblet, D.; Plenevaux, A. R.; Luxen, A. J. Fast production of highly reactive no-carrier-added $[^{18}\text{F}]$ fluoride for the labeling of radiopharmaceuticals. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2010**, *49*, 3161–3164.
- (55) Wessmann, S. H.; Henriksen, G.; Wester, H.-J. Cryptate mediated nucleophilic ^{18}F -fluorination without azeotropic drying. *Nuklearmedizin* **2012**, *51*, 1–8.
- (56) Richarz, R.; Krapf, P.; Zarrad, F.; Urusova, E. A.; Neumaier, B.; Zlatopolskiy, B. D. Neither azeotropic drying, nor base nor other additives: a minimalist approach to ^{18}F -labeling. *Org. Biomol. Chem.* **2014**, *12*, 8094–8099.
- (57) Hamacher, K.; Coenen, H. H.; Stöcklin, G. Efficient stereospecific synthesis of no-carrier-added 2- $[^{18}\text{F}]$ -fluoro-2-deoxy-D-glucose using aminopolyether supported nucleophilic substitution. *J. Nucl. Med.* **1986**, *27*, 235–238.
- (58) Hamacher, K.; Coenen, H. H. Efficient routine production of the ^{18}F -labelled amino acid O-(2- $[^{18}\text{F}]$ fluoroethyl)-L-tyrosine. *Appl. Radiat. Isot.* **2002**, *57*, 853–856.
- (59) Holschbach, M. H.; Olsson, R. A.; Bier, D.; Wutz, W.; Sihver, W.; Schüller, M.; Palm, B.; Coenen, H. H. Synthesis and evaluation of no-carrier-added 8-cyclopentyl-3-(3-

- [¹⁸F]fluoropropyl)-1-propylxanthine ([¹⁸F]CPFPX): a potent and selective A1-adenosine receptor antagonist for in vivo imaging. *J. Med. Chem.* **2002**, *45*, 5150–5156.
- (60) Tewson, T. J. Cyclic sulfur esters as substrates for nucleophilic substitution. A new synthesis of 2-deoxy-2-fluoro-D-glucose. *J. Org. Chem.* **1983**, *48*, 3507–3510.
- (61) Tewson, T. J.; Soderlind, M. 1-Propenyl 4,6-O-benzylidene-β-D-mannopyranoside-2,3-cyclic sulfate: a substrate for the synthesis of [¹⁸F] 2-deoxy-2-fluoro-D-glucose. *J. Carbohydr. Chem.* **1985**, *4*, 529–543.
- (62) Tewson, T. J.; Berridge, M. S.; Bolomey, L.; Gould, K. L. Routine production of reactive fluorine-18 fluoride salts from an oxygen-18 water target. *Nucl. Med. Biol.* **1988**, *15*, 499–504.
- (63) Schjoeth-Eskesen, C.; Hansen, P. R.; Kjaer, A.; Gillings, N. Efficient regioselective ring opening of activated aziridine-2-carboxylates with [¹⁸F]fluoride. *ChemistryOpen* **2015**, *4*, 65–71.
- (64) Revunov, E.; Zhuravlev, F. Co(salen)-mediated enantioselective radiofluorination of epoxides. Radiosynthesis of enantiomerically enriched [¹⁸F]F-MISO via kinetic resolution. *J. Fluorine Chem.* **2013**, *156*, 130–135.
- (65) Verhoog, S.; Brooks, A. F.; Winton, W. P.; Viglianti, B. L.; Sanford, M. S.; Scott, P. J. H. Ring opening of epoxides with [¹⁸F]FeF species to produce [¹⁸F]fluorohydrin PET imaging agents. *Chem. Commun. (Cambridge)* **2019**, *55*, 6361–6364.
- (66) Coenen, H. H.; Ermert, J. ¹⁸F-labelling innovations and their potential for clinical application. *Clin. Transl. Imaging* **2018**, *6*, 169–193.
- (67) Lemaire, C.; Cantineau, R.; Guillaume, M.; Plenevaux, A.; Christiaens, L. Fluorine-18-altanserine: a radioligand for the study of serotonin receptors with PET: radiolabeling and in vivo biologic behavior in rats. *J. Nucl. Med.* **1991**, *32*, 2266–2272.
- (68) Castillo Meleán, J.; Ermert, J.; Coenen, H. H. Enantiospecific synthesis of 2-[¹⁸F]fluoro-L-phenylalanine and 2-[¹⁸F]fluoro-L-tyrosine by isotopic exchange. *Org. Biomol. Chem.* **2011**, *9*, 765–769.
- (69) Lemaire, C.; Guillaume, M.; Cantineau, R.; Christiaens, L. No-carrier-added regioselective preparation of 6-[¹⁸F]fluoro-L-dopa. *J. Nucl. Med.* **1990**, *31*, 1247–1251.
- (70) Lemaire, C.; Damhaut, P.; Plenevaux, A.; Comar, D. Enantioselective synthesis of 6-fluorine-18-fluoro-L-dopa from no-carrier-added fluorine-18-fluoride. *J. Nucl. Med.* **1994**, *35*, 1996–2002.

- (71) Lemaire, C.; Gillet, S.; Guillouet, S.; Plenevaux, A.; Aerts, J.; Luxen, A. Highly enantioselective synthesis of no-carrier-added 6-[¹⁸F]fluoro-L-dopa by chiral phase-transfer alkylation. *Eur. J. Org. Chem.* **2004**, *2004*, 2899–2904.
- (72) Corey, E. J.; Xu, F.; Noe, M. C. A rational approach to catalytic enantioselective enolate alkylation using a structurally rigidified and defined chiral quaternary ammonium salt under phase transfer conditions. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 12414–12415.
- (73) Tierling, T.; Hamacher, K.; Coenen, H. H. A new nucleophilic asymmetric synthesis of 6-[¹⁸F]fluoro-DOPA. *J. Labelled Compd. Radiopharm.* **2001**, *44*, S146-S147.
- (74) Pretze, M.; Franck, D.; Kunkel, F.; Foßhag, E.; Wängler, C.; Wängler, B. Evaluation of two nucleophilic syntheses routes for the automated synthesis of 6-[¹⁸F]fluoro-L-DOPA. *Nucl. Med. Biol.* **2017**, *45*, 35–42.
- (75) Pike, V. W.; Aigbirhio, F. I. Reactions of cyclotron-produced [¹⁸F]fluoride with diaryliodonium salts—a novel single-step route to no-carrier-added [¹⁸F]fluoroarenes. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1995**, 2215–2216.
- (76) Merritt, E. A.; Olofsson, B. Diaryliodonium salts: a journey from obscurity to fame. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2009**, *48*, 9052–9070.
- (77) Kuik, W.-J.; Kema, I. P.; Brouwers, A. H.; Zijlma, R.; Neumann, K. D.; Dierckx, R. A. J. O.; DiMugno, S. G.; Elsinga, P. H. In vivo biodistribution of no-carrier-added 6-¹⁸F-fluoro-3,4-dihydroxy-L-phenylalanine (¹⁸F-DOPA), produced by a new nucleophilic substitution approach, compared with carrier-added ¹⁸F-DOPA, prepared by conventional electrophilic substitution. *J. Nucl. Med.* **2015**, *56*, 106–112.
- (78) Warnier, C.; Lemaire, C.; Becker, G.; Zaragoza, G.; Giacomelli, F.; Aerts, J.; Otabashi, M.; Bahri, M. A.; Mercier, J.; Plenevaux, A.; *et al.* Enabling efficient positron emission tomography (PET) imaging of synaptic vesicle glycoprotein 2A (SV2A) with a robust and one-step radiosynthesis of a highly potent ¹⁸F-labeled ligand ([¹⁸F]UCB-H). *J. Med. Chem.* **2016**, *59*, 8955–8966.
- (79) Lee, E.; Kamlet, A. S.; Powers, D. C.; Neumann, C. N.; Boursalian, G. B.; Furuya, T.; Choi, D. C.; Hooker, J. M.; Ritter, T. A fluoride-derived electrophilic late-stage fluorination reagent for PET imaging. *Science* **2011**, *334*, 639–642.
- (80) Lee, E.; Hooker, J. M.; Ritter, T. Nickel-mediated oxidative fluorination for PET with aqueous ¹⁸F fluoride. *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 17456–17458.

- (81) Tredwell, M.; Preshlock, S. M.; Taylor, N. J.; Gruber, S.; Huiban, M.; Passchier, J.; Mercier, J.; Génicot, C.; Gouverneur, V. A general copper-mediated nucleophilic ^{18}F fluorination of arenes. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2014**, *53*, 7751–7755.
- (82) Mossine, A. V.; Brooks, A. F.; Makaravage, K. J.; Miller, J. M.; Ichiishi, N.; Sanford, M. S.; Scott, P. J. H. Synthesis of [^{18}F]arenes via the copper-mediated [^{18}F]fluorination of boronic acids. *Org. Lett.* **2015**, *17*, 5780–5783.
- (83) Makaravage, K. J.; Brooks, A. F.; Mossine, A. V.; Sanford, M. S.; Scott, P. J. H. Copper-mediated radiofluorination of arylstannanes with [^{18}F]KF. *Org. Lett.* **2016**, *18*, 5440–5443.
- (84) Preshlock, S.; Calderwood, S.; Verhoog, S.; Tredwell, M.; Huiban, M.; Hienzsch, A.; Gruber, S.; Wilson, T. C.; Taylor, N. J.; Cailly, T.; *et al.* Enhanced copper-mediated ^{18}F -fluorination of aryl boronic esters provides eight radiotracers for PET applications. *Chem. Commun.* **2016**, *52*, 8361–8364.
- (85) Modemann, D.; Zlatopolskiy, B.; Urusova, E.; Zischler, J.; Craig, A.; Ermert, J.; Guliyev, M.; Endepols, H.; Neumaier, B. 2- [^{18}F]Fluorophenylalanine: synthesis by nucleophilic [^{18}F]-fluorination and preliminary biological evaluation. *Synthesis* **2019**, *51*, 664–676.
- (86) Craig, A.; Kolks, N.; Urusova, E. A.; Zischler, J.; Brugger, M.; Endepols, H.; Neumaier, B.; Zlatopolskiy, B. D. Preparation of labeled aromatic amino acids via late-stage ^{18}F -fluorination of chiral nickel and copper complexes. *Chem. Commun.* **2020**, *56*, 9505–9508.
- (87) Zarrad, F.; Zlatopolskiy, B. D.; Krapf, P.; Zischler, J.; Neumaier, B. A practical method for the preparation of [^{18}F]-labeled aromatic amino acids from nucleophilic [^{18}F]fluoride and stannyl precursors for electrophilic radiohalogenation. *Molecules (Basel, Switzerland)* **2017**, *22*, 2231.
- (88) Schirrmacher, R.; Wängler, B.; Bailey, J.; Bernard-Gauthier, V.; Schirrmacher, E.; Wängler, C. Small prosthetic groups in ^{18}F -radiochemistry: useful auxiliaries for the design of ^{18}F -PET tracers. *Semin. Nucl. Med.* **2017**, *47*, 474–492.
- (89) Sheth, S.; Brito, R.; Mukherjea, D.; Rybak, L. P.; Ramkumar, V. Adenosine receptors: expression, function and regulation. *Int. J. Mol. Sci.* **2014**, 2024–2052.
- (90) van Waarde, A.; Dierckx, R. A. J. O.; Zhou, X.; Khanapur, S.; Tsukada, H.; Ishiwata, K.; Luurtsema, G.; Vries, E. F. J. de; Elsinga, P. H. Potential therapeutic applications of

adenosine A_{2A} receptor ligands and opportunities for A_{2A} receptor imaging. *Med. Res. Rev.* **2018**, *38*, 5–56.

(91) Shryock, J. C.; Belardinelli, L. Adenosine and adenosine receptors in the cardiovascular system: biochemistry, physiology, and pharmacology. *Am. J. Cardiol.* **1997**, *79*, 2–10.

(92) Cronstein, B. N. Adenosine receptors and wound healing. *Sci. World J.* **2004**, 1–8.

(93) Ohta, A.; Sitkovsky, M. Role of G-protein-coupled adenosine receptors in downregulation of inflammation and protection from tissue damage. *Nature* **2001**, *414*, 916–920.

(94) Cunha, R. A. Neuroprotection by adenosine in the brain: From A₁ receptor activation to A_{2A} receptor blockade. *Purinergic Signal.* **2005**, *1*, 111–134.

(95) Porkka-Heiskanen, T. Adenosine in sleep and wakefulness. *Ann. Med. (Abingdon, U. K.)* **1999**, *31*, 125–129.

(96) Prediger, R. D. S.; Batista, L. C.; Takahashi, R. N. Caffeine reverses age-related deficits in olfactory discrimination and social recognition memory in rats. Involvement of adenosine A₁ and A_{2A} receptors. *Neurobiol. Aging* **2005**, *26*, 957–964.

(97) Latini, S.; Pedata, F. Adenosine in the central nervous system: release mechanisms and extracellular concentrations. *J. Neurochem.* **2001**, *79*, 463–484.

(98) Londos, C.; Cooper, D. M.; Wolff, J. Subclasses of external adenosine receptors. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **1980**, *77*, 2551–2554.

(99) Libert, F.; Parmentier, M.; Lefort, A.; Dinsart, C.; van Sande, J.; Maenhaut, C.; Simons, M. J.; Dumont, J. E.; Vassart, G. Selective amplification and cloning of four new members of the G protein-coupled receptor family. *Science (New York, N.Y.)* **1989**, *244*, 569–572.

(100) Neubig, R. R.; Spedding, M.; Kenakin, T.; Christopoulos, A. International Union of Pharmacology Committee on Receptor Nomenclature and Drug Classification. XXXVIII. Update on terms and symbols in quantitative pharmacology. *Pharmacol. Rev.* **2003**, *55*, 597–606.

(101) Poulsen, S.-A.; Quinn, R. J. Adenosine receptors: new opportunities for future drugs. *Bioorg. Med. Chem.* **1998**, *6*, 619–641.

(102) Jacobson, K. A.; Gao, Z.-G. Adenosine receptors as therapeutic targets. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2006**, *5*, 247–264.

- (103) Borea, P. A.; Gessi, S.; Merighi, S.; Vincenzi, F.; Varani, K. Pharmacology of Adenosine Receptors: The State of the Art. *Physiol. Rev.* **2018**, *98*, 1591–1625.
- (104) Ferré, S.; Fuxe, K.; B. Fredholm, B.; Morelli, M.; Popoli, P. Adenosine–dopamine receptor–receptor interactions as an integrative mechanism in the basal ganglia. *Trends Neurosci.* **1997**, *20*, 482–487.
- (105) Chen, J.-F.; Eltzschig, H. K.; Fredholm, B. B. Adenosine receptors as drug targets--what are the challenges? *Nat. Rev. Drug Discov.* **2013**, *12*, 265–286.
- (106) Villar-Menéndez, I.; Porta, S.; Buira, S. P.; Pereira-Veiga, T.; Díaz-Sánchez, S.; Albasanz, J. L.; Ferrer, I.; Martín, M.; Barrachina, M. Increased striatal adenosine A_{2A} receptor levels is an early event in Parkinson's disease-related pathology and it is potentially regulated by miR-34b. *Neurobiol. Dis.* **2014**, *69*, 206–214.
- (107) Glass, M.; Dragunow, M.; Faull, R. The pattern of neurodegeneration in Huntington's disease: a comparative study of cannabinoid, dopamine, adenosine and GABAA receptor alterations in the human basal ganglia in Huntington's disease. *Neuroscience* **2000**, *97*, 505–519.
- (108) Martini, C.; Tuscano, D.; Trincavelli, M. L.; Cerrai, E.; Bianchi, M.; Ciapparelli, A.; Alessio, L.; Novelli, L.; Catena, M.; Lucacchini, A.; *et al.* Upregulation of A_{2A} adenosine receptors in platelets from patients affected by bipolar disorders under treatment with typical antipsychotics. *J. Psychiatr. Res.* **2006**, *40*, 81–88.
- (109) Arosio, B.; Viazzoli, C.; Mastronardi, L.; Bilotta, C.; Vergani, C.; Bergamaschini, L. Adenosine A_{2A} receptor expression in peripheral blood mononuclear cells of patients with mild cognitive impairment. *J. Alzheimer's Dis.* **2010**, *20*, 991–996.
- (110) Albasanz, J. L.; Rodríguez, A.; Ferrer, I.; Martín, M. Adenosine A_{2A} receptors are up-regulated in Pick's disease frontal cortex. *Brain Pathol.* **2006**, *16*, 249–255.
- (111) Li, J.; Hong, X.; Li, G.; Conti, P. S.; Zhang, X.; Chen, K. PET Imaging of Adenosine Receptors in Diseases. *Curr. Top. Med. Chem.* **2019**, *19*, 1445–1463.
- (112) Deckert, J.; Brenner, M.; Durany, N.; Zöchling, R.; Paulus, W.; Ransmayr, G.; Tatschner, T.; Danielczyk, W.; Jellinger, K.; Riederer, P. Up-regulation of striatal adenosine A_{2A} receptors in schizophrenia. *NeuroReport* **2003**, *14*, 313–316.
- (113) Villar-Menéndez, I.; Díaz-Sánchez, S.; Blanch, M.; Albasanz, J. L.; Pereira-Veiga, T.; Monje, A.; Planchat, L. M.; Ferrer, I.; Martín, M.; Barrachina, M. Reduced striatal

adenosine A_{2A} receptor levels define a molecular subgroup in schizophrenia. *J. Psychiatr. Res.* **2014**, *51*, 49–59.

(114) Zhang, J.; Abdallah, C. G.; Wang, J.; Wan, X.; Liang, C.; Jiang, L.; Liu, Y.; Huang, H.; Hong, X.; Huang, Q.; *et al.* Upregulation of adenosine A_{2A} receptors induced by atypical antipsychotics and its correlation with sensory gating in schizophrenia patients. *Psychiatry Res.* **2012**, *200*, 126–132.

(115) Vuorimaa, A.; Rissanen, E.; Airas, L. In vivo PET imaging of adenosine 2A receptors in neuroinflammatory and neurodegenerative disease. *Contrast Media Mol. Imaging* **2017**, *2017*, 6975841.

(116) Varani, K.; Padovan, M.; Vincenzi, F.; Targa, M.; Trotta, F.; Govoni, M.; Borea, P. A. A_{2A} and A₃ adenosine receptor expression in rheumatoid arthritis: upregulation, inverse correlation with disease activity score and suppression of inflammatory cytokine and metalloproteinase release. *Arthritis Res. Ther.* **2011**, *13*, R197.

(117) Vincenzi, F.; Corciulo, C.; Targa, M.; Merighi, S.; Gessi, S.; Casetta, I.; Gentile, M.; Granieri, E.; Borea, P. A.; Varani, K. Multiple sclerosis lymphocytes upregulate A_{2A} adenosine receptors that are antiinflammatory when stimulated. *Eur. J. Immunol.* **2013**, *43*, 2206–2216.

(118) Varani, K.; Laghi-Pasini, F.; Camurri, A.; Capecchi, P. L.; Maccherini, M.; Diciolla, F.; Ceccatelli, L.; Lazzerini, P. E.; Ulouglu, C.; Cattabeni, F.; *et al.* Changes of peripheral A_{2A} adenosine receptors in chronic heart failure and cardiac transplantation. *FASEB J.* **2003**, *17*, 280–282.

(119) Polosa, R.; Blackburn, M. R. Adenosine receptors as targets for therapeutic intervention in asthma and chronic obstructive pulmonary disease. *Trends Pharmacol. Sci.* **2009**, *30*, 528–535.

(120) Yu, F.; Zhu, C.; Xie, Q.; Wang, Y. Adenosine A_{2A} Receptor Antagonists for Cancer Immunotherapy. *J. Med. Chem.* **2020**, *63*, 12196–12212.

(121) Sun, M.-J.; Liu, F.; Zhao, Y.-F.; Wu, X.-A. In vivo positron emission tomography imaging of adenosine A_{2A} receptors. *Front. Pharmacol.* **2020**, *11*, 599857.

(122) Seale, T. W.; Abla, K. A.; Shamim, M. T.; Carney, J. M.; Daly, J. W. 3,7-Dimethyl-1-propargylxanthine: A potent and selective in vivo antagonist of adenosine analogs. *Life Sci.* **1988**, *43*, 1671–1684.

- (123) Zocchi, C.; Ongini, E.; Conti, A.; Monopoli, A.; Negretti, A.; Baraldi, P. G.; Dionisotti, S. The non-xanthine heterocyclic compound SCH 58261 is a new potent and selective A_{2a} adenosine receptor antagonist. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **1996**, *276*, 398–404.
- (124) Poucher, S. M.; Keddie, J. R.; Singh, P.; Stoggall, S. M.; Caulkett, P. W.; Jones, G.; Coll, M. G. The in vitro pharmacology of ZM 241385, a potent, non-xanthine A_{2a} selective adenosine receptor antagonist. *Br. J. Pharmacol.* **1995**, *115*, 1096–1102.
- (125) Schröder, S.; Lai, T. H.; Toussaint, M.; Kranz, M.; Chovsepian, A.; Shang, Q.; Dukić-Stefanović, S.; Deuther-Conrad, W.; Teodoro, R.; Wenzel, B.; *et al.* PET Imaging of the adenosine A_{2A} receptor in the rotenone-based mouse model of Parkinson's Disease with [¹⁸F]FESCH synthesized by a simplified two-step one-pot radiolabeling strategy. *Molecules (Basel, Switzerland)* **2020**, *25*, 1633.
- (126) Lai, T. H.; Teodoro, R.; Toussaint, M.; Gündel, D.; Dukic-Stefanovic, S.; Deuther-Conrad, W.; Schröder, S.; Moldovan, R. P.; Brust, P. Molekulare Bildgebung des Adenosin-A_{2A}-Rezeptors: Synthese und Evaluierung des hochaffinen ¹⁸F-markierten Radiotracers [¹⁸F]FLUDA. In *58. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Nuklearmedizin*; © Georg Thieme Verlag KG, 2020.
- (127) Ishiwata, K.; Noguchi, J.; Toyama, H.; Sakiyama, Y.; Koike, N.; Ishii, S.-I.; Oda, K.; Endo, K.; Suzuki, F.; Senda, M. Synthesis and preliminary evaluation of [¹¹C]KF17837, a selective adenosine A_{2A} antagonist. *Appl. Radiat. Isot.* **1996**, *47*, 507–511.
- (128) Ishiwata, K.; Kawamura, K.; Kimura, Y.; Oda, K.; Ishii, K. Potential of an adenosine A_{2A} receptor antagonist [¹¹C]TMSX for myocardial imaging by positron emission tomography: a first human study. *Ann. Nucl. Med.* **2003**, *17*, 457–462.
- (129) Hirani, E.; Gillies, J.; Karasawa, A.; Shimada, J.; Kase, H.; Opacka-Juffry, J.; Osman, S.; Luthra, S. K.; Hume, S. P.; Brooks, D. J. Evaluation of 4-O-methyl-[¹¹C]KW-6002 as a potential PET ligand for mapping central adenosine A_{2A} receptors in rats. *Synapse* **2001**, *42*, 164–176.
- (130) Wang, W.-F.; Ishiwata, K.; Nonaka, H.; Ishii, S.-I.; Kiyosawa, M.; Shimada, J.; Suzuki, F.; Senda, M. Carbon-11-labeled KF21213: a highly selective ligand for mapping CNS adenosine A_{2A} receptors with positron emission tomography. *Nucl. Med. Biol.* **2000**, *27*, 541–546.
- (131) Hauser, R. A.; Hubble, J. P.; Truong, D. D. Randomized trial of the adenosine A_{2A} receptor antagonist istradefylline in advanced PD. *Neurology* **2003**, *61*, 297–303.

- (132) Dungo, R.; Deeks, E. D. Istradefylline: first global approval. *Drugs* **2013**, *73*, 875–882.
- (133) Todde, S.; Moresco, R. M.; Simonelli, P.; Baraldi, P. G.; Cacciari, B.; Spalluto, G.; Varani, K.; Monopoli, A.; Matarrese, M.; Carpinelli, A.; *et al.* Design, radiosynthesis, and biodistribution of a new potent and selective ligand for in vivo imaging of the adenosine A_{2A} receptor system using positron emission tomography. *J. Med. Chem.* **2000**, *43*, 4359–4362.
- (134) Khanapur, S.; van Waarde, A.; Dierckx, R. A. J. O.; Elsinga, P. H.; Koole, M. J. B. Preclinical Evaluation and Quantification of ¹⁸F-Fluoroethyl and ¹⁸F-Fluoropropyl Analogs of SCH442416 as Radioligands for PET Imaging of the Adenosine A_{2A} Receptor in Rat Brain. *J. Nucl. Med.* **2017**, *58*, 466–472.
- (135) Barret, O.; Hannestad, J.; Vala, C.; Alagille, D.; Tavares, A.; Laruelle, M.; Jennings, D.; Marek, K.; Russell, D.; Seibyl, J.; *et al.* Characterization in humans of ¹⁸F-MNI-444, a PET radiotracer for brain adenosine 2A receptors. *J. Nucl. Med.* **2015**, *56*, 586–591.
- (136) Zhou, X.; Khanapur, S.; Huizing, A. P.; Zijlma, R.; Schepers, M.; Dierckx, R. A. J. O.; van Waarde, A.; Vries, E. F. J. de; Elsinga, P. H. Synthesis and preclinical evaluation of 2-(2-furanyl)-7-[2-[4-[4-(2-[¹¹C]methoxyethoxy)phenyl]-1-piperazinyl]ethyl]7H-pyrazolo[4,3-e][1,2,4]triazolo[1,5-c]pyrimidine-5-amine ([¹¹C]Preladenant) as a PET tracer for the imaging of cerebral adenosine A_{2A} receptors. *J. Med. Chem.* **2014**, *57*, 9204–9210.
- (137) Khanapur, S.; van Waarde, A.; Ishiwata, K.; Leenders, K. L.; Dierckx, R. A. J. O.; Elsinga, P. H. Adenosine A_{2A} receptor antagonists as positron emission tomography (PET) tracers. *Curr. Med. Chem.* **2014**, *21*, 312–328.
- (138) Mishina, M.; Ishiwata, K.; Naganawa, M.; Kimura, Y.; Kitamura, S.; Suzuki, M.; Hashimoto, M.; Ishibashi, K.; Oda, K.; Sakata, M.; *et al.* Adenosine A_{2A} receptors measured with CTMSX PET in the striata of Parkinson's disease patients. *PLoS One* **2011**, *6*, e17338.
- (139) Ramlackhansingh, A. F.; Bose, S. K.; Ahmed, I.; Turkheimer, F. E.; Pavese, N.; Brooks, D. J. Adenosine 2A receptor availability in dyskinetic and nondyskinetic patients with Parkinson disease. *Neurology* **2011**, *76*, 1811–1816.

- (140) Rissanen, E.; Virta, J. R.; Paavilainen, T.; Tuisku, J.; Helin, S.; Luoto, P.; Parkkola, R.; Rinne, J. O.; Airas, L. Adenosine A_{2A} receptors in secondary progressive multiple sclerosis: a [¹¹C]TMSX brain PET study. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* **2013**, *33*, 1394–1401.
- (141) Mizuno, M.; Kimura, Y.; Tokizawa, K.; Ishii, K.; Oda, K.; Sasaki, T.; Nakamura, Y.; Muraoka, I.; Ishiwata, K. Greater adenosine A_{2A} receptor densities in cardiac and skeletal muscle in endurance-trained men: a [¹¹C]TMSX PET study. *Nucl. Med. Biol.* **2005**, *32*, 831–836.
- (142) Heinonen, I.; Nesterov, S. V.; Liukko, K.; Kempainen, J.; Någren, K.; Luotolahti, M.; Virsu, P.; Oikonen, V.; Nuutila, P.; Kujala, U. M.; *et al.* Myocardial blood flow and adenosine A_{2A} receptor density in endurance athletes and untrained men. *J. Physiol.* **2008**, *586*, 5193–5202.
- (143) Gündel, D.; Lai, T. H.; Dukic-Stefanovic, S.; Toussaint, M.; Deuther-Conrad, W.; Teodoro, R.; Boknik, P.; Gergs, U.; Neumann, J.; Brust, P. [¹⁸F]FLUDA ist geeignet eine kardiale Überexpression des Adenosin-A_{2A}-Rezeptors (A_{2A}R) in der Maus nachzuweisen. In *58. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Nuklearmedizin*; © Georg Thieme Verlag KG, 2020.
- (144) Lahesmaa, M.; Oikonen, V.; Helin, S.; Luoto, P.; U Din, M.; Pfeifer, A.; Nuutila, P.; Virtanen, K. A. Regulation of human brown adipose tissue by adenosine and A_{2A} receptors - studies with [¹⁵O]H₂O and [¹¹C]TMSX PET/CT. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging* **2019**, *46*, 743–750.
- (145) Ishibashi, K.; Miura, Y.; Wagatsuma, K.; Toyohara, J.; Ishiwata, K.; Ishii, K. Occupancy of adenosine A_{2A} receptors by istradefylline in patients with Parkinson's disease using ¹¹C-prelabeled PET. *Neuropharmacology* **2018**, *143*, 106–112.
- (146) Flohr, A.; Moreau, J.-L.; Poli, S. M.; Riemer, C.; Steward, L. 4-Hydroxy-4-methylpiperidine-1-carboxylic acid (4-methoxy-7-morpholin-4-yl-benzothiazol-2-yl)-amide, Patent-Nr. US7368446B2, 6. Mai 2008.
- (147) LeWitt, P. A.; Aradi, S. D.; Hauser, R. A.; Rascol, O. The challenge of developing adenosine A_{2A} antagonists for Parkinson disease: Istradefylline, prelabeled, and tozadenant. *Parkinsonism Relat. Disord.* **2020**, *80 Suppl 1*, S54-S63.
- (148) Hauser, R. A.; Olanow, C. W.; Kieburtz, K. D.; Pourcher, E.; Docu-Axelerad, A.; Lew, M.; Kozyolkin, O.; Neale, A.; Resburg, C.; Meya, U.; *et al.* Tozadenant (SYN115) in patients

with Parkinson's disease who have motor fluctuations on levodopa: a phase 2b, double-blind, randomised trial. *Lancet* **2014**, *13*, 767–776.

(149) Karl Kieburtz; C. Warren Olanow; Jayshree Krishnaswami; Chris Resburg; Fred Kerwood; Andrew Glass; Christopher Kenney. A Phase 3 Study of Tozadenant (TOZ-PD) as a Maintenance Therapy for Patients With Parkinson's Disease Experiencing Motor Fluctuations: Characterization of Study Population (P2.045). *Neurology* **2018**, *90*, 15 Supplement.

(150) Barret, O.; Hannestad, J.; Alagille, D.; Vala, C.; Tavares, A.; Papin, C.; Morley, T.; Fowles, K.; Lee, H.; Seibyl, J.; *et al.* Adenosine 2A receptor occupancy by tozadenant and preladenant. *J. Nucl. Med.* **2014**, *55*, 1712–1718.

(151) Basu, S.; Barawkar, D. A.; Thorat, S.; Shejul, Y. D.; Patel, M.; Naykodi, M.; Jain, V.; Salve, Y.; Prasad, V.; Chaudhary, S.; *et al.* Design, synthesis of novel, potent, selective, orally bioavailable adenosine A_{2A} receptor antagonists and their biological evaluation. *J. Med. Chem.* **2017**, *60*, 681–694.

(152) Skraban, M. A. R. Synthese und trägerarme Radiofluorierung von A_{2A}-Adenosin-Rezeptorliganden für die Positronen-Emissions-Tomographie. Dissertation, Universität zu Köln, Köln, 2017.

(153) NobelPrize.org. The Nobel Prize in Chemistry 1990. <https://www.nobelprize.org/prizes/chemistry/1990/summary/> (aufgerufen am 25. January 2021).

(154) Zhang, P.; Shankar, A.; Cleary, T. P.; Cedilote, M.; Locklear, D.; Pierce, M. E. A Novel, Safe, and Robust Nitration Process for the Synthesis of 4-(4-Methoxy-3-nitrophenyl)morpholine. *Org. Process Res. Dev.* **2007**, *11*, 861–864.

(155) Spurr, P. Cyclization process for substituted benzothiazole derivatives, Patent-Nr. US20040138465A1, 8. August 2006.

(156) Verner, E.; Brameld, K. A. Quinolone Derivatives as Fibroblast Growth Factor Receptor Inhibitors, Patent-Nr. WO2015120049A1, 13. August 2015.

(157) Nielsen, M. K.; Ugaz, C. R.; Li, W.; Doyle, A. G. PyFluor: a low-cost, stable, and selective deoxyfluorination reagent. *J. Am. Chem. Soc.* **2015**, *137*, 9571–9574.

(158) Parisi, G.; Colella, M.; Monticelli, S.; Romanazzi, G.; Holzer, W.; Langer, T.; Degennaro, L.; Pace, V.; Luisi, R. Exploiting a "beast" in carbenoid chemistry: development of a straightforward direct nucleophilic fluoromethylation strategy. *J. Am. Chem. Soc.* **2017**, *139*, 13648–13651.

- (159) Uustare, A.; Vonk, A.; Terasmaa, A.; Fuxe, K.; Rinken, A. Kinetic and functional properties of [³H]ZM241385, a high affinity antagonist for adenosine A_{2A} receptors. *Life Sci.* **2005**, *76*, 1513–1526.
- (160) Lohse, M. J.; Klotz, K. N.; Lindenborn-Fotinos, J.; Reddington, M.; Schwabe, U.; Olsson, R. A. 8-Cyclopentyl-1,3-dipropylxanthine (DPCPX)--a selective high affinity antagonist radioligand for A₁ adenosine receptors. *Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology* **1987**, *336*, 204–210.
- (161) Alnouri, M. W.; Jepards, S.; Casari, A.; Schiedel, A. C.; Hinz, S.; Müller, C. E. Selectivity is species-dependent: Characterization of standard agonists and antagonists at human, rat, and mouse adenosine receptors. *Purinergic Signal.* **2015**, *11*, 389–407.
- (162) Schneider, D.; Oskamp, A.; Holschbach, M.; Neumaier, B.; Bauer, A.; Bier, D. Relevance of in vitro metabolism models to PET radiotracer development: prediction of in vivo clearance in rats from microsomal stability data. *Pharmaceuticals (Basel)* **2019**, *12*, 57.
- (163) Kuchar, M.; Mamat, C. Methods to Increase the Metabolic Stability of ¹⁸F-Radiotracers. *Molecules (Basel, Switzerland)* **2015**, *20*, 16186–16220.
- (164) Nishi, T., Takemoto, T., Ikeda, T., Morimoto, K. Indanol derivative, Patent-Nr. EP1746095A1, 24. Januar 2007.
- (165) Radaram, B.; Pisaneschi, F.; Rao, Y.; Yang, P.; Piwnica-Worms, D.; Alauddin, M. M. Novel derivatives of anaplastic lymphoma kinase inhibitors: Synthesis, radiolabeling, and preliminary biological studies of fluoroethyl analogues of crizotinib, alectinib, and ceritinib. *Eur. J. Med. Chem.* **2019**, *182*, 111571.
- (166) Breyholz, H.-J.; Wagner, S.; Faust, A.; Riemann, B.; Höltnke, C.; Hermann, S.; Schober, O.; Schäfers, M.; Kopka, K. Radiofluorinated pyrimidine-2,4,6-triones as molecular probes for noninvasive MMP-targeted imaging. *ChemMedChem* **2010**, *5*, 777–789.

Anhang

Chromatogramme der LC-MS Messungen der Mikrosomenmetabolismusstudien

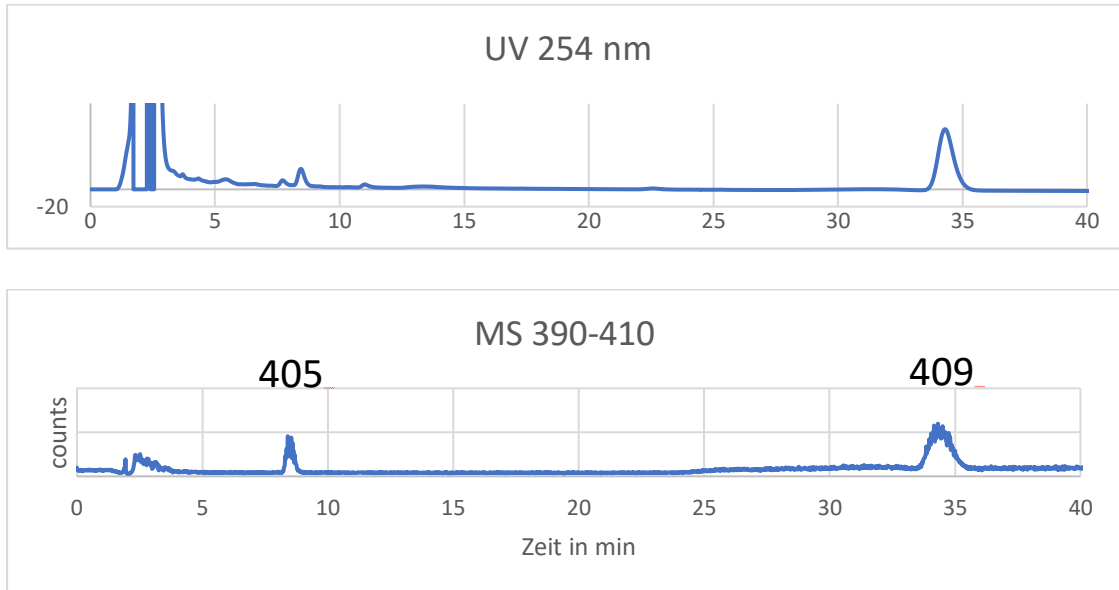


Abbildung 19: Chromatogramm der LC/MS-Messung des Mikrosomenmetabolismus-Assays mit Verbindung **2** an Lebermikrosomen der Ratte. Eluent: 35 % Acetonitril in Wasser, Flow 1 mL/min.

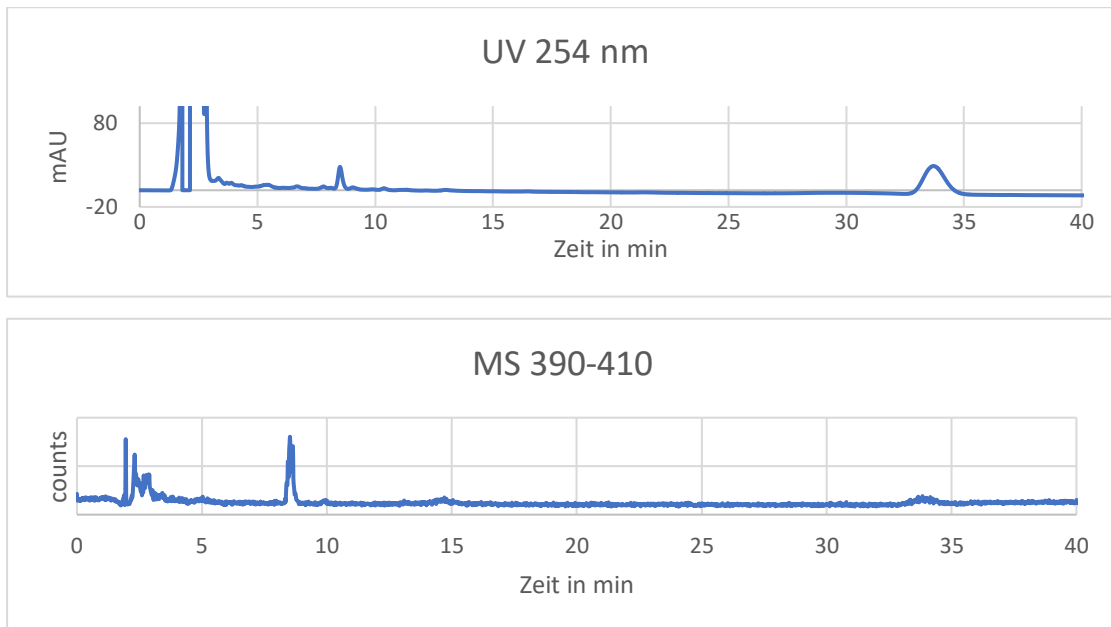


Abbildung 20: Chromatogramme der Mikrosomenmetabolismus-Assays mit Verbindung **2** an humanen Lebermikrosomen. Eluent: 35 % Acetonitril in Wasser, Flow: 1 mL/min.

Chromatogramme der Radiofluorierungsreaktionen

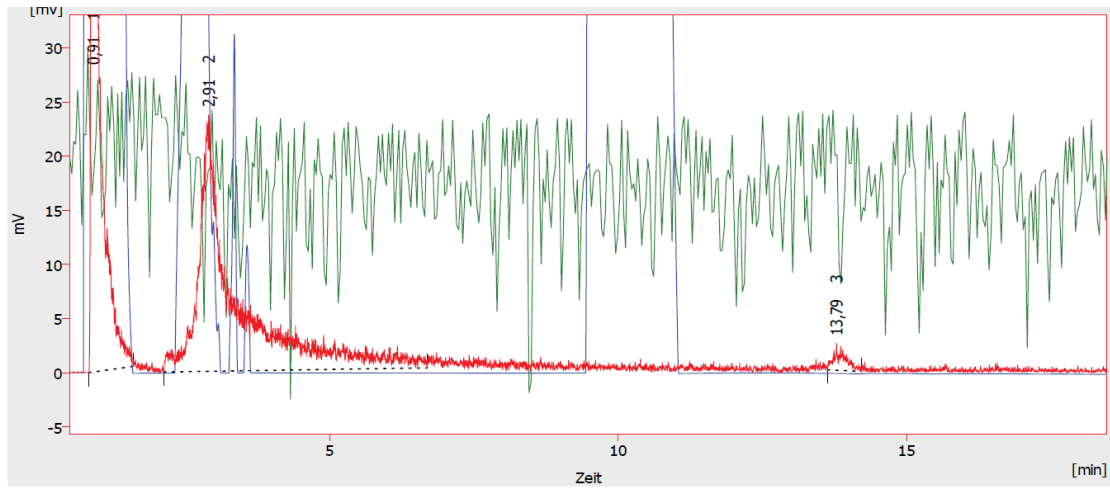


Abbildung 21: Chromatogramm der Radiofluorierung von $[^{18}\text{F}]37$. Eluent: 23 % Acetonitril in Wasser, Flow: 1 mL/min.

In vivo Evaluierungsversuche am INM-2

Alle *in vivo* Versuche wurden vom Institut für Nuklearwissenschaften und Medizin, Molekulare Organisation des Gehirns (INM-2) durchgeführt. Den Versuchstieren wurde kontinuierlich Blut entnommen, das von der Arbeitsgruppe Medizinalchemie des INM-5 chromatographisch auf Radiometabolite untersucht wurde.

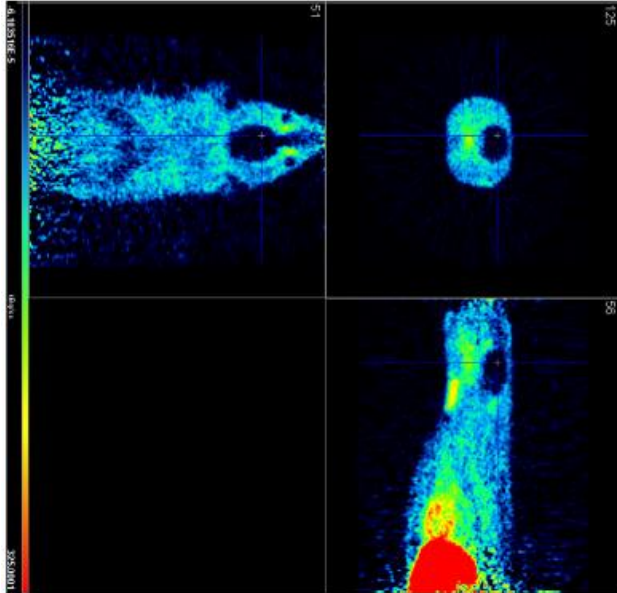


Abbildung 22: Tier-PET-Aufnahme an einer gesunden Ratte mit $[^{18}\text{F}]\text{JL-153}$, gemittelt über 0-10 min.

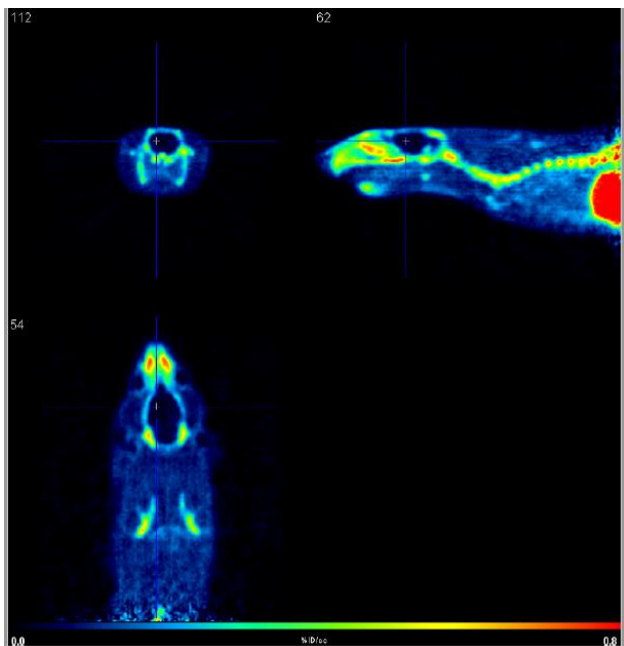


Abbildung 23: Tier-PET-Aufnahme an einer gesunden Ratte mit $[^{18}\text{F}]\text{1}$, gemittelt von 0-120 min.

Abkürzungen

°C	Grad Celsius
μ	Mikro
Å	Ångstrom
Ac	Acetyl
ADP	Adenosindiphosphat
A_m	Molare Aktivität
AMP	Adenosinmonophosphat
aq.	aqueos
Äq.	Äquivalente
Ar	Aryl
AR	Adenosinrezeptor
ATP	Adenosintriphosphat
Boc	tert-Butyloxycarbonyl
Bq	Becquerel
br	broad
Bu	Butyl
bzw.	Beziehungsweise
c. a.	<i>carrier added</i> , geträgert
c. f.	<i>carrier free</i> , trägerfrei
cAMP	Cyclisches Adenosinmonophosphat
CHO	Chinese Hamster Ovary
COPD	<i>chronic obstructive pulmonary disease</i> , chronisch obstructive Lungenerkrankung
CPDPX	8-Cyclopentyl-1,3-dipropylxanthin
CPFPX	8-Cyclopentyl-3-(3-fluoropropyl)-1-propylxanthin
cPTC	Chiraler Phasentransfer-Katalysator
CT	Computer-Tomographie
d	Deuteron oder Duplett

ABKÜRZUNGEN

DC	Dünnschichtchromatographie
dd	Duplett vom Duplett
DMF	Dimethylformamid
DMPX	3,7-Dimethyl-1-propargylxanthin
DMSO	Dimethylsulfoxid
DNA	Desoxyribonukleinsäure
DOPA	Dihydroxyphenylalanine
dt	Duplett vom Triplett
e⁻	Elektron
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
Et	Ethyl
eV	Elektronenvolt
EWG	<i>Electron withdrawing group</i> , elektronenziehende Gruppe
E_{β+}	Emissionsenergie
FDG	Fluordesoxyglucose
FDOPA	Fluordopa
FET	Fluorethyltyrosin
FPhe	Fluorphenylalanin
FTyr	Fluortyrosin
G	Giga
g	Gramm
h	Human oder Stunde
hAR	Humane Adenosinrezeptoren
HPLC	Hochleistungsflüssigkeitschromatographie
HRMS	<i>High resolution mass spectrometry</i> , hochauflösende Massenspektrometrie
Hz	Herzt
IC₅₀	Mittlere inhibitorische Konzentration
I-Effekt	Induktiver Effekt
IUPAC	<i>International Union of Pure and Applied Chemistry</i>
IUPHAR/BPS	<i>International Union of Basic and Clinical Pharmacology</i>

K	Kelvin
k	Kilo
K222	Kryptofix®
K_i/K_d	Dissoziationskonstante
L	Liter
LC/MS	<i>Liquid chromatography mass spectrometry</i>
Lit.	Literaturwert
M	Mega
m	Molar
m	Milli oder Multiplett
Max.	Maximal
mCPBA	<i>meta</i> -Chlorperbenzoesäure
Me	Methyl
M-Effekt	Mesomerer Effekt
min	Minute
Min.	Mindestens
MOM	Methoxymethyl
Ms	Mesyl
n	nano oder Neutron
n. c. a.	<i>no carrier added</i> , trägerarm
NADP/NADPH	Nicotinamidadenindinukleotidphosphat
NAWM	<i>Normal appearing white matter</i> , normal erscheinende weiße Substanz
NK-Zellen	Natürliche Killer-Zellen
NMR	<i>Nuclear magnetic resonance</i> , Kernspinresonanz
Nu	Nukleophil
p	Proton
PBMC	<i>Peripheral blood mononuclear cell</i> , mononukleäre Zellen des peripheren Blutes
PET	Positronen-Emissions-Tomographie
Ph	Phenyl

Pip	Piperidin- oder Piperazin-Rest
PLC	Phospholipase C
POM	Pivaloyl-oxymethyl
ppm	Parts per million
Py	Pyridin
PyFluor	2-Pyridinesulfonyl-Fluorid
rAR	Adenosinrezeptoren der Ratte
RCA	Ribonukleinsäure
R_f	<i>Retarding front</i> oder <i>relate to front</i>
RNA	Ribonukleinsäure
RT	Raumtemperatur
s	Singulett oder Sekunde
S_N2	Nukleophile Substitution im bimolekularen Mechanismus
S_NAr	Nukleophile Substitution am Aromaten
SPECT	<i>Single photon emission computer tomography</i> , Einzelphotonen-Emissionscomputertomographie
SPMS	Sekundär progrediente Multiple Sklerose
t	Tertiär oder Triplett oder Zeit
TBAB	Tetrabutylammoniumbromid
TBME	<i>Tert</i> -Butylmethylether
^tBu	<i>Tert</i> -Butyl
TEA	Triethylamin
Tf	Triflat
TFA	Trifluoressigsäure
THF	Tetrahydrofuran
TMSX	(<i>E</i>)-8-(3,4,5-trimethoxystyryl)-1,3,7-trimethylxanthin
TOF	<i>Time-of-flight</i>
Tr	Triphenylmethyl
Tris	Tris(hydroxymethyl)aminomethan
Ts	Tosyl
U	Einheit für Enzymaktivität

u	Atomare Masseneinheit
ü. N.	Über Nacht
UV	Ultraviolett
z. B.	Zum Beispiel
ZNS	Zentrales Nervensystem
α	Alpha-Teilchen, alpha-Zerfall
β^+	Positron
δ	Chemische Verschiebung

Erklärung

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 dem Sinn nach entnommen sind, in jedem Einzelfall als Entlehnung kenntlich gemacht habe; dass diese Dissertation noch keiner anderen Fakultät oder Universität zur Prüfung vorgelegen hat; dass sie – abgesehen von unten angegebenen Teilpublikationen – noch nicht veröffentlicht worden ist, sowie, dass ich eine solche Veröffentlichung vor Abschluss des Promotionsverfahrens nicht vornehmen werde. Die Bestimmungen der Promotionsordnung sind mir bekannt. Die von mir vorgelegte Dissertation ist von Prof. Dr. Bernd Neumaier betreut worden.

Alpen, 16.02.2021

(Dana Rebecca Renk)

Teilpublikationen:

- D. Renk, D. Bier, B. Neumaier, M. Holschbach, Synthese von Aminobenzothiazolderivaten mit unterschiedlichen fluorhaltigen Piperidin-Substituenten für die PET Bildgebung des Adenosin-A_{2A}-Rezeptors (Vortrag), 27. Jahrestagung der Arbeitsgemeinschaft Radiochemie/Radiopharmazie, 12. – 14. September 2019, Pamhagen, Österreich.
- D. Renk, M. Holschbach, D. Bier, B. Neumaier, Synthese von Aminobenzothiazolderivaten mit unterschiedlichen fluorhaltigen Piperidin- und Piperazin-Substituenten für die PET-Bildgebung des Adenosin-A_{2A}-Rezeptors (ePoster), 58. Jahrestagung der deutschen Gesellschaft für Nuklearmedizin, 7. – 9. Juli 2020, digital. Abstract veröffentlicht in: *Nuklearmedizin* **2020**, *59*, 137-138. Doi: 10.1055/s-0040-1708273.

- D. R. Renk, M. Skraban, D. Bier, A. Schulze, E. Wabbels, F. Wedekind, F. Neumaier, B. Neumaier, M. Holschbach, Design, synthesis and biological evaluation of Tozadenant analogues as adenosine A_{2A} receptor ligands, *Eur. J. Med. Chem.* **2021**, *214*, 113214. Doi: 10.1016/j.ejmech.2021.113214.

Lebenslauf

Persönliche Daten:

Name: Dana Rebecca Renk
Geburtsdatum und -ort: 02.02.1991 in Dinslaken
Staatsangehörigkeit: deutsch

Studium und Ausbildung:

12/2017-heute Promotionsstudium bei Prof. Dr. Bernd Neumaier am Institut für Neurowissenschaften und Medizin, Nuklearchemie (INM-5), Forschungszentrum Jülich

10/2014-02/2017 Heinrich-Heine-Universität, Düsseldorf:
Masterstudiengang Chemie. Abschluss M.Sc. mit der Note 1,8

Thema der Masterarbeit: „*Neue Histondeacetylase-Inhibitoren mit Präferenz für HDAC 1 und 6*“

10/2011-11/2014 Heinrich-Heine-Universität, Düsseldorf:
Bachelorstudiengang Chemie. Abschluss: B.Sc. mit der Note 2,3

Thema der Bachelorarbeit: „*Synthese fluorierter EGCG-Derivate*“

09/2010-09/2011 Hochschule Rhein-Waal, Kleve: Bachelorstudiengang Bio Science and Health.

08/2001-06/2010 Amplonius Gymnasium Rheinberg
Abitur mit der Note 2,7

Berufserfahrung:

12/2017-02/2021 Forschungszentrum Jülich, Institut für Neurowissenschaften und Medizin: INM-5,
Doktorandin im Fach Nuklearchemie