

**„Synthese und Evaluierung von
[¹⁸F]Fluormethyltosylat als
prosthetische Gruppe für die
¹⁸F-Fluormethylierung von
ZNS-Liganden für die PET“**

Dissertation

Zur Erlangung des Grades

„Doktorin der Naturwissenschaften“

im Promotionsfach Chemie

am Fachbereich Chemie, Pharmazie und Geowissenschaften
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

Friederike Beyerlein

geboren am 25.03.1983 in Borna

Mainz im April 2012

Zusammenfassung

Die ^{11}C -Methylierung von Radioliganden ist eine weit verbreitete Markierungsstrategie für PET-Liganden. Aber die kurze Halbwertszeit des Kohlenstoff-11 von 20,3 Minuten limitiert seinen Nutzen. Daher ist die ^{18}F -Fluoralkylierung eine Möglichkeit, Fluor-18, das eine Halbwertszeit von 109,8 Minuten hat, in Target-Moleküle einzuführen. Während die ^{18}F -Fluorethylierung eine weitverbreitete Markierungsstrategie ist, wird die ^{18}F -Fluormethylierung bisher nur selten angewendet. Eine Ursache dafür ist die geringe Stabilität der ^{18}F -Fluormethylgruppe *in vivo*. Durch Substitution des Wasserstoffs in der ^{18}F -Fluormethylgruppe durch Deuterium kann deren Stabilität jedoch deutlich erhöht werden. Dadurch kann die ^{18}F -Fluormethylierung eine wichtige Synthesestrategie für ZNS-Liganden sein, bei denen große strukturelle Varianz zum Einführen des Fluor-18 nicht möglich ist.

Als prosthetische Gruppen zur ^{18}F -Fluormethylierung wurden [^{18}F]Fluormethyltosylat und [^{18}F]Fluor- $[d_2]$ methyltosylat mit radiochemischen Ausbeuten <50% synthetisiert. Die Reaktionsbedingungen der ^{18}F -Fluormethylierung mit d_2 - $[^{18}\text{F}]$ FMT und die Abtrennung der Radioliganden wurden an einer Modellverbindungen und den drei Zielstrukturen [^{18}F]Fluor- $[d_2]$ methylharmol, [^{18}F]Fluor- $[d_2]$ methyl-MH.MZ und [^{18}F]Fluor- $[d_2]$ methylflumazenil optimiert. Es konnten radiochemischen Ausbeuten zwischen 25 und 60% erzielt werden.

Mit allen drei ZNS-Liganden wurden Kleintier-PET-Studien durchgeführt. Das d_2 - $[^{18}\text{F}]$ FMH zeigte eine schnelle und 1,5fach höhere Anreicherung im Hirn innerhalb der ersten fünf Minuten als die Vergleichssubstanz [^{18}F]FEH. Für d_2 - $[^{18}\text{F}]$ FM-MH.MZ wurde *in vivo* eine höhere spezifische Anreicherung des Radiotracers im frontalen Cortex beobachtet als bei der ^{18}F -fluorethylierten Vergleichssubstanz. Für das [^{18}F]Fluor- $[d_2]$ methylflumazenil konnte keine Aufnahme ins Hirn festgestellt werden, sondern es kam zur vollständigen Zersetzung des Radioliganden durch Defluorierung. d_2 - $[^{18}\text{F}]$ FMH und d_2 - $[^{18}\text{F}]$ FM-MH.MZ waren bei physiologischen Bedingungen zu mehr als 90% stabil.

Inhaltsverzeichnis

1	EINLEITUNG	9
1.1	PET in den Lebenswissenschaften	9
1.1.1	Grundlagen der Positronen-Emissions-Tomographie	11
1.1.2	PET-Nuklide.....	13
1.2	¹⁸F als kurzlebiger Positronenemitter	15
1.2.1	Kernchemische Aspekte der ¹⁸ F-Fluorierung	16
1.2.2	Kinetische Aspekte der ¹⁸ F-Fluorierung.....	17
1.2.3	Produktion des ¹⁸ F-Fluor.....	19
1.3	Einführung von ¹⁸F in organische Moleküle.....	20
1.3.1	Elektrophile Fluorierung.....	20
1.3.2	Nukleophile Fluorierung.....	22
1.3.3	Fluorierung über prosthetische Gruppen.....	26
1.4	Fluormethylierung.....	27
1.4.1	Brom-[¹⁸ F]Fluormethan und [¹⁸ F]Fluormethyltriflat	30
1.4.2	[¹⁸ F]Fluoriodmethan	31
1.4.3	[¹⁸ F]Fluormethyltosylat.....	32
1.5	Biologische Targets.....	33
1.5.1	Monoaminoxidase A	33
1.5.1.1	Aufbau und Funktion der Monoaminoxidasen	33
1.5.1.2	MAO-Inhibitoren	36
1.5.1.3	Harmin als MAO _A -Inhibitor	38
1.5.2	Das serotonerge System	42
1.5.2.1	5-HT _{2A} -Rezeptoren	42
1.5.2.2	Visualisierung der 5-HT _{2A} -Rezeptoren mittels PET	44
1.5.3	Das GABA-erge System	47
1.5.3.1	Struktur und Pharmakologie der GABA _A -Rezeptoren.....	47
1.5.3.2	Benzodiazepine.....	49
1.5.3.3	Flumazenil.....	50
2	PROBLEMSTELLUNG	55
3	ERGEBNISSE UND DISKUSSION.....	59
3.1	Synthese der Markierungsvorläufer & der inaktiven Referenzverbindungen ..	59

3.1.1	Synthese des Bis(tosyloxy)methans, des Bis(tosyloxy)-[di-deutero]methans und des Fluormethyltosylats	59
3.1.2	Synthese des Tetrabutylammoniumbicarbonats	61
3.1.3	Synthese des 3-((1-(4-Fluorphenethyl)piperidin-4-yl)(hydroxy) methyl)-2-methoxyphenols	62
3.1.4	Synthese der inaktiven Referenzverbindungen.....	63
3.1.4.1	Synthese des O-Fluormethylharmols.....	64
3.1.4.2	Synthese des (1-(4-Fluorphenethyl)piperidin-4-yl)(3-(fluormethoxy)-2-methoxyphenyl)methanols (Fluormethyl-MH.MZ).....	65
3.1.4.3	Synthese des N-Fluormethylflumazenils.....	66
3.2	Synthese von [¹⁸F]Fluormethyltosylat und [¹⁸F]Fluor-[d₂]methyltosylat.....	67
3.2.1	Synthese des [¹⁸ F]Fluormethyltosylats	67
3.2.1.1	Trocknen der wässrigen [¹⁸ F]F ⁻ -Lösung.....	67
3.2.1.2	Synthese des [¹⁸ F]Fluormethyltosylats im Heizblock.....	67
3.2.1.3	Mikrowellengestützte Synthese des [¹⁸ F]Fluormethyltosylats	73
3.2.1.4	Abtrennung und Qualitätskontrolle.....	77
3.2.2	Synthese des [¹⁸ F]Fluor-[d ₂]methyltosylats	77
3.2.2.1	Stabilitäten	79
3.3	¹⁸F-Fluormethylierung von Natriumphenolat mit [¹⁸F]Fluor-[d₂]methyltosylat als Modellverbindung	80
3.4	Synthese ¹⁸F-fluormethylierter ZNS-Liganden	83
3.4.1	[¹⁸ F]Fluor-[d ₂]methylharmol (d ₂ -[¹⁸ F]FMH)	83
3.4.2	[¹⁸ F]Fluor-[d ₂]methyl-MH.MZ (d ₂ -[¹⁸ F]FM-MH.MZ).....	86
3.4.3	[¹⁸ F]Fluor-[d ₂]methylflumazenil (d ₂ -[¹⁸ F]FMF)	90
3.5	μPET-Experimente	95
3.5.1	[¹⁸ F]Fluor-[d ₂]methylharmol (d ₂ -[¹⁸ F]FMH)	95
3.5.2	[¹⁸ F]Fluor-[d ₂]methyl-MH.MZ (d ₂ -[¹⁸ F]FM-MH.MZ).....	98
3.5.3	[¹⁸ F]Fluor-[d ₂]methylflumazenil (d ₂ -[¹⁸ F]FMF)	100
3.6	Diskussion	103
3.6.1	Synthese des [¹⁸ F]Fluormethyltosylats und des [¹⁸ F]Fluor-[d ₂]methyltosylats....	103
3.6.2	¹⁸ F-Fluormethylierungen mit d ₂ -[¹⁸ F]FMT	105
3.6.3	Stabilität der ¹⁸ F-fluormethylierten Liganden	107
3.6.4	μPET-Experimente	108
4	METHODEN	110
4.1	Verwendete Geräte und Chemikalien.....	110

4.1.1	Verwendete Chemikalien.....	110
4.1.2	Verwendete Geräte.....	110
4.2	Synthese der Markierungsvorläufer und inaktiven Referenzverbindungen ...	111
4.2.1	Synthese des Bis(tosyloxy)methans & des Bis(tosyloxy)-[di-deutero]methans .	111
4.2.1.1	Bis(tosyloxy)methan (2a)	111
4.2.1.2	Bis(tosyloxy)-[di-deutero]methan (2b).....	112
4.2.2	Synthese des Fluormethyltosylats (3a)	112
4.2.3	Synthese des Tetrabutylammoniumhydrogencarbonats (5).....	113
4.2.4	Synthese des 3-((1-(4-Fluorphenethyl)piperidin-4-yl)(hydroxy) methyl)-2-methoxyphenols	114
4.2.4.1	N-tert-Butoxycarbonyl-N-methyl-methoxyisonipecotamid (7)	114
4.2.4.2	tert-Butyldiphenylsilylguajacol (8)	114
4.2.4.3	tButyl-4-(3-(tertbutyldiphenylsilyloxy)-2-methoxybenzoyl)piperidin-1-carboxylat ...	115
4.2.4.4	(3-(tert-Butyldiphenylsilyloxy)-2-methoxyphenyl)(piperidin-4-yl)methanon (10)	116
4.2.4.5	(3-(tert-Butyldiphenylsilyloxy)-2-methoxyphenyl)(piperidin-4-yl)methanol (11)	116
4.2.4.6	(1-(4-Fluorphenethyl)piperidin-4-yl)(3-(tertbutyldiphenylsilyloxy)-2-methoxyphenyl) methanol (13)	117
4.2.4.7	3-((1-(4-Fluorphenethyl)piperidin-4-yl)(hydroxy)methyl)-2-methoxyphenol (14)	118
4.2.5	Fluormethylierungen mit Bromfluormethan	118
4.2.5.1	Allgemeine Synthesevorschrift zur Fluormethylierung mit Bromfluormethan	118
4.2.5.2	O-Fluormethylharmol (FMH, 16)	119
4.2.5.3	(1-(4-Fluorphenethyl)piperidin-4-yl)(3-(fluormethoxy)-2-methoxyphenyl) methanol (FM-MH.MZ, 17).....	119
4.2.5.4	N-Fluormethylflumazenil (FMF, 19)	120
4.3	Synthese von [¹⁸F]Fluormethyltosylat und [¹⁸F]Fluor-[d₂]methyltosylat.....	120
4.3.1	Konventionelle Synthese im Reactival.....	120
4.3.2	Mikrowellengestützte Synthese	121
4.4	Synthese von [¹⁸F]Fluormethylharmol, [¹⁸F]Fluormethyl-MH.MZ und [¹⁸F]Fluormethylflumazenil.....	122
4.4.1	Synthese des [¹⁸ F]Fluormethylharmols	122
4.4.2	Synthese des [¹⁸ F]Fluormethyl-MH.MZ	122
4.4.3	Synthese des [¹⁸ F]Fluormethylflumazenils	123
4.5	Serumstabilitäten	123
4.6	Kleintier-PET.....	124
5	ZUSAMMENFASSUNG UND AUSBLICK.....	125

5.1	Zusammenfassung	125
5.2	Ausblick	131
6	ANHANG	133
6.1	Aktivitätsbilanzen.....	133
6.2	Verwendete Abkürzungen	137
6.3	Abbildungsverzeichnis.....	139
6.4	Tabellenverzeichnis	141
6.5	Literatur.....	142

1 Einleitung

1.1 PET in den Lebenswissenschaften

In den letzten Jahren hat sich durch die Entwicklung neuer beziehungsweise verbesserter bildgebender Verfahren der Anspruch der Medizin an Diagnoseverfahren stark verändert. Heute werden zusätzlich zur eigentlichen Diagnose auch Informationen zum Therapieverlauf, z.B. bei Tumorthérapien, der Früherkennung bei Risikopatienten, vor allem bei neurodegenerativen Erkrankungen, und Möglichkeiten zur Prognose des weiteren Krankheitsverlaufs gewünscht. Dabei sollen die Patienten aber auch keinem unnötigen Stress durch zahlreiche unterschiedliche Untersuchungen ausgesetzt werden. Die klassischen Verfahren wie Ultraschall, Computertomographie (CT) oder Magnet-Resonanz-Tomographie (MRT), die nur morphologische Informationen liefern können, können diesen Ansprüchen meist nicht mehr gerecht werden. Vielmehr sind Möglichkeiten zur funktionellen oder „molekularen Bildgebung“ gefordert¹.

Nuklearmedizinische Verfahren wie die Positronen-Emissions-Tomographie (PET) und die Single-Photon-Emissions-Tomographie (SPECT) erlauben die Verfolgung physiologischer Prozesse im lebenden Organismus (*in vivo*), ohne dabei in diese Prozesse einzugreifen². Diese Verfahren basieren auf dem Tracer-Prinzip von Georg de Hevesy. Es besagt, dass geringste Mengen radioaktiv markierter Moleküle sich im lebenden Organismus genauso verhalten wie ihre nicht-radioaktiven Analoga. Durch Messung der Radioaktivität von außen gelingt ein Blick in den natürlichen Zustand des untersuchten Organismus³.

Die PET bietet dabei einige Vorteile gegenüber der SPECT. Durch ihre hohe räumliche und zeitliche Auflösung ist sie die sensitivste Methode der molekularen Bildgebung. Zudem erlaubt sie neben der qualitativen auch eine quantitative Erfassung physiologischer Vorgänge und somit der untersuchten biologischen Prozesse⁴.

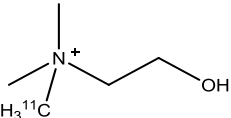
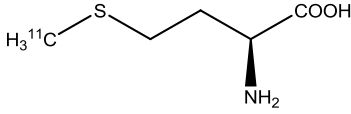
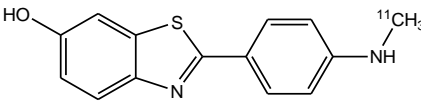
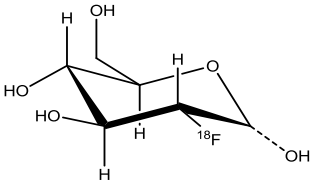
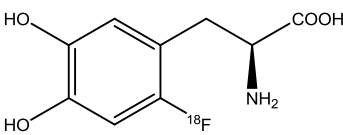
Dies ermöglicht die *in vivo*-Erfassung zahlreicher wichtiger physiologischer Parameter, wie z.B.:

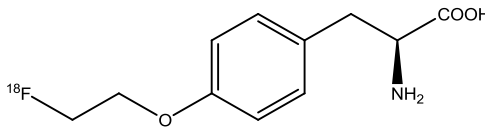
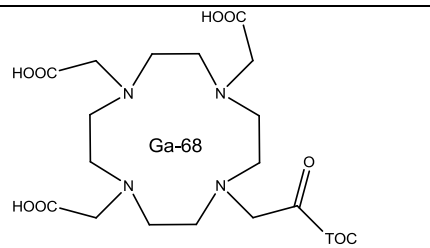
- Energie- und Synthesestoffwechsel
- Perfusionsraten
- Enzymkonzentrationen
- Rezeptorverfügbarkeiten
- Syntheseraten von Neurotransmittern

Bei der PET kommen hauptsächlich kurzlebige Positronenemitter mit Halbwertszeiten im Minuten- bis Stundenbereich zum Einsatz. Dadurch bleibt die Strahlendosis für den Patienten gering und eine schnelle Wiederholbarkeit von Untersuchungen ist möglich².

Eine Übersicht über die wichtigsten PET-Tracer und ihre Anwendung ist aus Tabelle 1 ersichtlich.

Tabelle 1: Wichtige PET-Tracer und ihre Anwendungen

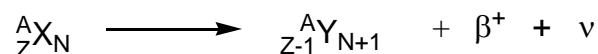
Radiopharmakon	Struktur	Anwendungsgebiet
[¹⁵ O]Wasser	[¹⁵ O]H ₂ O	Blutfluss
[¹³ N]Ammoniak	[¹³ N]NH ₃	Perfusion
[¹¹ C]Cholin		Prostatakarzinome
[¹¹ C]Methionin		Proteinsynthese/ maligne Gliome
[¹¹ C]PiB		Alzheimer
[¹⁸ F]FDG		Glucosemetabolismus/ Tumore
[¹⁸ F]Fluor-DOPA		Parkinson

Radiopharmakon	Struktur	Anwendungsgebiet
[¹⁸ F]Natriumfluorid	[¹⁸ F]NaF	Knochen- szintigraphie
[¹⁸ F]Fluorethyl-tyrosin		Proteinsynthese/ Hirntumore
[⁶⁸ Ga]DOTATOC	 TOC = D-Phe-cyclo[Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Cys]-Thr(ol)	neuroendokrine Tumore

Idealerweise werden die Verfahren der molekularen Bildgebung zusammen mit klassischen Detektionsverfahren wie CT und MRT angewendet, um die biologischen mit den morphologischen Informationen zu kombinieren.

1.1.1 Grundlagen der Positronen-Emissions-Tomographie

Das Prinzip der Positronen-Emissions-Tomographie beruht auf der Vernichtung von Positronen. Unter Positronemittern, auch β^+ -Emitter genannt, versteht man Atomkerne mit einem Protonenüberschuss, die sich durch Zerfall eines Protons in ein Neutron unter gleichzeitiger Emission eines Positrons und eines Elektron-Neutrinos stabilisieren⁵:



Das beim β^+ -Zerfall emittierte Positron gibt seine anfängliche kinetische Energie durch Kollision und Streuung an die umgebende Materie ab und kombiniert nach Abschluss der Thermalisierung mit seinem Antiteilchen, dem Elektron, zu einem intermediären Zustand, dem Positronium. Dieses kurzlebige Intermediat ($\sim 10^{-10}$ s) annihiliert anschließend fast ausschließlich unter Emission zweier γ -Quanten mit einer Energie von je 511 keV im Winkel von knapp 180° ⁶. Die Detektion dieser Strahlung kann durch eine externe Koinzidenzmessung erfolgen. Die Detektoren sind in mehreren aufeinander

liegenden Ringsystemen um die Strahlenquelle herum angeordnet. Trifft innerhalb einer kurzen Zeitspanne von einigen Nanosekunden auf zwei gegenüberliegenden Detektoren gleichzeitig je ein 511 keV- γ -Quant auf, so liegt der Ort der Annihilation auf der Verbindungslinie zwischen den beiden Detektoren.

Da Streu- und Absorptionseffekte durch Transmissionsmessungen exakt bestimmt und korrigiert werden können, ist eine quantitative Bestimmung der Aktivitätsverteilung möglich. Mit modernen Geräten wird die Quantifizierung der Aktivitätskonzentrationen im nano- bis picomolaren Bereich erreicht⁷.

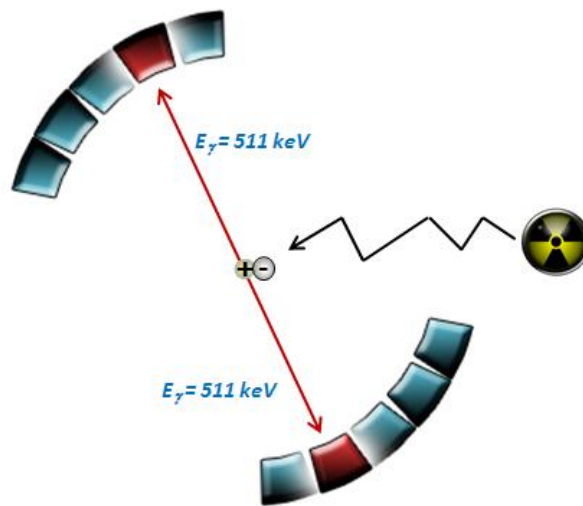


Abb. 1: Prinzip des β^+ -Zerfalls und der Koinzidenzmessung

Da nicht der Ort des Zerfalls, sondern der Ort der Annihilation detektiert wird, ergibt sich in Abhängigkeit von der maximalen kinetischen Energie des emittierten Positrons eine gewisse Unschärfe bezüglich des Ortes des radioaktiven Zerfalls, die sich nicht vermeiden lässt. Eine verbesserte Nachweiswahrscheinlichkeit für 511 keV-Photonen gegenüber den klassischen Thallium-dotierten Natriumiodid-Kristallen haben die bei den heutigen PET-Kameras meist verwendeten Bismutgermanat-(BGO)-Blockdetektoren. Daher beträgt die Ortsauflösung einer PET-Kamera je nach Gerätetyp zwischen 4 und 8 mm, wobei hochenergetische β^+ -Emitter eine größere Reichweite des β^+ -Teilchens in Gewebe und somit eine geringere Ortsauflösung als niedrigerenergetische Emitter haben. Bessere Auflösungswerte können mit Geräten erzielt werden, die für die

Untersuchung von Kleintieren entwickelt wurden, da hier der Abstand zwischen Detektoren und Quelle (Patient bzw. Kleintier) deutlich verringert ist. Hierbei wurde bereits eine Ortsauflösung von 1,5 mm erreicht^{7,8}.

Das Messprinzip eines Positronen-Emissions-Tomographen ist in Abbildung 2 dargestellt:

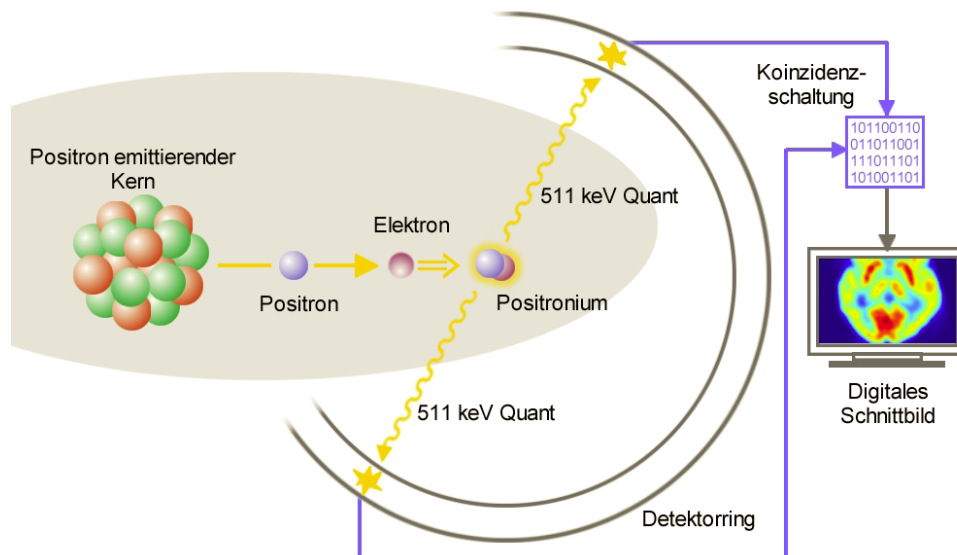


Abb. 2: Messprinzip der Positronen-Emissions-Tomographie⁹

1.1.2 PET-Nuklide

Bedingungen für eine gute Visualisierung eines biochemischen Prozesses sind das Vorhandensein eines geeigneten Biomoleküls und die Wahl eines geeigneten Positronenemitters. Biomoleküle, die zur *in vivo*-Untersuchung mittels PET verwendet werden können, bestehen zum größten Teil aus Kohlenstoff, Wasserstoff, Sauerstoff, Stickstoff, Phosphor und Schwefel. Eine Markierung mit Positron-emittierenden Isotopen dieser Elemente stellt aufgrund der chemischen und physiologischen Äquivalenz den Idealfall dar. Aufgrund ihrer nuklearen Eigenschaften geeignet wären ^{11}C , ^{13}N und ^{15}O . Alle drei Nuklide verfügen jedoch nur über sehr kurze Halbwertszeiten (vgl. Tabelle 2), was besonders ^{13}N und ^{15}O für breite Anwendungsbereiche untauglich macht. Radiochemische Synthesen sind dadurch nur begrenzt möglich. Ferner können nur mit langlebigeren Radionukliden biologische Vorgänge mit längerer biologischer Halbwertszeit untersucht werden. So

wird z.B. ^{15}O fast ausschließlich zur Blutfluss-Bestimmung durch [^{15}O]Wasser verwendet.

Tabelle 2: Wichtige Positronenemitter in der PET¹⁰

Nuklid	Halbwertszeit $T_{1/2}$	Zerfallsart [Häufigkeit %]	$E_{\beta^+, \text{max}}$	Reichweite (H_2O)
^{11}C	20,30 min	β^+ 99,8	0,96 MeV	4,1 mm
^{13}N	9,96 min	β^+ 100,0	1,19 MeV	5,4 mm
^{15}O	2,03 min	β^+ 99,9	1,70 MeV	8,2 mm
^{18}F	109,70 min	β^+ 96,9	0,63 MeV	2,4 mm
^{68}Ga	67,71 min	β^+ 89,1	1,90 MeV	13,6 mm
^{76}Br	16,7 h	β^+ 66,5	3,60 MeV	15,5 mm
^{86}Y	14,7 d	β^+ 31,4	1,18 MeV	5,3 mm
^{124}I	4,17 d	β^+ 23,0	2,14 MeV	9,8 mm

Von den genannten Nukliden ermöglicht lediglich ^{11}C mit einer Halbwertszeit von 20,3 Minuten die Synthese komplizierterer markierter Substrate, von denen einige auch routinemäßig in der Diagnostik eingesetzt werden.

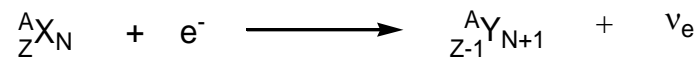
Bei größerem zeitlichem Anspruch werden längerlebige Analogtracer wie ^{18}F , ^{76}Br oder ^{124}I eingesetzt. Da es sich nicht um identische Isotoptracer handelt, wird angestrebt, dass die Markierung eines organischen Moleküls auf sterischen und chemischen Analogien mit den substituierten Atomen beruht. So stellt z.B. ^{76}Br ein Struktur analogon für Methylgruppen dar¹¹.

Der wichtigste Analogtracer ist ^{18}F . Obwohl es nur verhältnismäßig selten in biologischen Molekülen vorhanden ist, wird es aufgrund seiner guten Nuklideigenschaften sehr häufig in der PET eingesetzt.

Neben der Halbwertszeit sind auch andere Nuklideigenschaften im Hinblick auf die Wahl des Positronemitters entscheidend. Dazu zählen neben der Positronenergie auch der Anteil des β^+ -Zerfalls.

Für Nuklide mit einem Protonenüberschuss gibt es noch einen weiteren Zerfallsweg, sie können sich auch über Elektroneneinfang (EC) stabilisieren.

Dabei wird jedoch kein Positron frei. Dieser Zerfall ist also für die PET ungeeignet:



Bei Elementen mit höherer Ordnungszahl verschiebt sich das Verhältnis von Elektroneneinfang zu Positronenemission zugunsten des Elektroneneinfangs. Daher eignen sich Elemente mit niedriger Ordnungszahl besonders gut für die Positronen-Emissions-Tomographie.

1.2 ^{18}F als kurzlebiger Positronenemitter

Fluor-18 ist derzeit das wichtigste Radionuklid für die Positronen-Emissions-Tomographie, was sich auch an der ständig steigenden Zahl der fluorierten Radiopharmaka zeigt. Die Ursachen für seine besondere Stellung liegen hierbei sowohl in den chemischen Eigenschaften des Elements Fluor als auch in den physikalischen Eigenschaften des Radionuklids Fluor-18.

Das Fluoratom besitzt einen ähnlichen Van-der-Waals-Radius wie das Wasserstoffatom und bildet zudem eine deutlich stabilere Bindung zu Kohlenstoffatomen aus. Aufgrund der unterschiedlichen Elektronegativität zwischen Fluor und Wasserstoff zeigen sich allerdings elektronisch eher Analogien zur Hydroxylgruppe, wie zum Beispiel die Bindungslänge der C-F-Bindung oder das veränderte Dipolmoment. Dies führt teilweise zu signifikanten Änderungen der physiologischen Eigenschaften der Verbindungen. Eine Substitution mit Fluor kann dadurch zu Derivaten mit verbesserten pharmakologischen Eigenschaften führen. Ein Beispiel für eine solche Veränderung ist der sogenannte „Trapping-Effekt“ bei 2-[^{18}F]Fluor-2-deoxy-D-glucose¹². Diese wird ebenso wie native Glucose in die Zellen aufgenommen und phosphoryliert, dann aber von der Glucose-6-phosphat-Isomerase nicht mehr als Substrat erkannt und somit nicht weiter verstoffwechselt. Aufgrund der Phosphorylierung kann es die Zellmembran auch nicht mehr passiv durch Diffusion durchdringen und es kommt zu einer Anreicherung der Radioaktivität in der Zelle¹³.

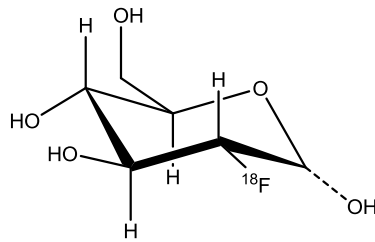


Abb. 3: Struktur von 2-[^{18}F]Fluor-2-deoxy-D-glucose (^{18}F FDG)

Die bedeutende Rolle von ^{18}F als PET-Nuklid beruht jedoch vor allem auf seinen günstigen physikalischen Eigenschaften. So zerfällt Fluor-18 zu 97% über Positronen-Emission mit einer relativ geringen maximalen β^+ -Energie von 635 keV und einer mittleren Reichweite von 2,39 mm in Wasser (Gewebe). Dadurch ist die räumliche Ortsauflösung für die PET sehr gut. Seine Halbwertszeit von 109,7 Minuten ermöglicht zum einen auch komplizierte mehrstufige Radiosynthesen, zum anderen sind zusätzlich Messungen langsamer Pharmakokinetiken mit 4 bis 6 Stunden möglich¹⁴.

1.2.1 Kernchemische Aspekte der ^{18}F -Fluorierung

Für die PET ist die Verwendung von Radiotracer mit hoher spezifischer Aktivität von zentraler Bedeutung. Unter spezifischer Aktivität A_s versteht man die Aktivität A_{ges} bezogen auf die gesamte Stoffmenge n_{ges} isotoper Atome. Sie wird in $[\text{GBq}/\mu\text{mol}]$ oder $[\text{GBq}/\text{g}]$ angegeben. Die spezifische Aktivität steht in direktem Zusammenhang mit dem Zustand der Trägerfreiheit. In der Praxis können drei Fälle unterschieden werden:

- trägerfrei (carrier free, cf)
- ohne zugesetzten Träger (no carrier added, nca)
- geträgert (carrier added, ca)

Der Zustand der Trägerfreiheit lässt sich nur bei künstlichen Elementen erzielen, z.B. Technetium oder Astat. Bei Synthesen mit allen anderen Radioisotopen lassen sich aufgrund der Allgegenwärtigkeit der natürlichen Isotope Verunreinigungen des Isotops nicht vermeiden. Das Ausmaß der Verunreinigung hängt von der natürlichen Häufigkeit des betreffenden Elements ab. So ist bei ^{11}C die Verunreinigung durch natürliche Isotope um

das zehnfache bis dreißigfache höher als bei den seltener vorkommenden Halogenen¹⁵.

Bei kernchemischen Synthesen wird daher häufig der Begriff „ohne zugesetzten Träger“ verwendet. Der gezielte Zusatz von Träger ist jedoch in einigen Fällen aus experimentellen Gründen notwendig, z.B. zur Steigerung der radiochemischen Ausbeute, zur Verhinderung von Nebenreaktionen oder bei der Produktion von $[^{18}\text{F}]\text{F}_2$. Man spricht dann von einem geträgerten Zustand.

Im Allgemeinen ist ein Trägerzusatz nicht erwünscht, da er die spezifische Aktivität stark erniedrigt. Besonders bei toxischen oder auf das ZNS wirkenden Radiopharmaka wirkt sich der Zusatz von Träger negativ aus, da nicht mehr davon ausgegangen werden kann, dass das Radiopharmakon nicht in den natürlichen Stoffwechsel eingreift¹⁶.

1.2.2 Kinetische Aspekte der ^{18}F -Fluorierung

Bei nca-Synthesen mit Stoffmengen im subnanomolaren Bereich haben verschiedene Effekte Einfluss auf den Reaktionsverlauf, die in der makroskopischen Synthesechemie keine oder nur eine untergeordnete Rolle spielen. Dies betrifft z.B. Adsorption des $[^{18}\text{F}]\text{Fluorids}$ an Glasoberflächen oder unerwünschte Nebenreaktionen bereits mit geringsten Mengen an Verunreinigungen, beispielsweise im Lösungsmittel, da diese meist in deutlich größerer Stoffmenge als das Radionuklid vorliegen. Die radiochemische Ausbeute kann daher viel geringer als die chemische Ausbeute ausfallen.

Der Reaktionsverlauf bei nca-Markierungen wird sich aufgrund der nicht-stöchiometrischen Stoffmengenverhältnisse und der chemischen Ungleichgewichtsbedingungen erheblich vom makroskopischen Fall unterscheiden.

Die allgemeine Formel für den Zerfall eines Nuklids lautet:

$$A = -\frac{dN}{dt} = N * \lambda = \frac{N * \ln 2}{T_{1/2}}$$

A: Aktivität, N: Teilchenzahl, λ : Zerfallskonstante, $T_{1/2}$: Halbwertszeit

Folglich handelt es sich um eine Reaktion 2. Ordnung:

$$-\frac{d[A]}{dt} = k * [MV] * [A] \quad \text{mit } -d[A] = d[P]$$

[A]: Konzentration des Radionuklids, [P]: Konzentration des Produktes, [MV]: Konzentration des Markierungsvorläufers

Bei nca-Synthesen ist die Konzentration des Radionuklids im Vergleich zu der des eingesetzten Markierungsvorläufers verschwindend gering: oft wird mit 10^{10} fachem Überschuss gearbeitet. Die Veränderung in der Konzentration des Markierungsvorläufers kann damit vernachlässigt werden, was zu einem Geschwindigkeitsgesetz pseudo-erster Ordnung führt:

$$-\frac{dA}{dt} = k' * [A] \quad \text{mit } k' = k * [MV]$$

Damit ergibt sich für die Aktivität zum Zeitpunkt t:

$$\ln \frac{[A_t]}{[A_0]} = -k' * t$$

$$[A_t] = [A_0] * e^{(-k' * t)}$$

Mit $[A_0] = [P] + [A_t]$ folgt:

$$[P] = [A_0] * (1 - e^{(-k' * t)})$$

Die radiochemische Ausbeute nimmt also einen exponentiellen Verlauf gegen einen Grenzwert an, der der maximalen radiochemischen Ausbeute entspricht. Die Sättigungsausbeute wird wegen des hohen Vorläuferüberschusses aber oft bereits nach wenigen Minuten erreicht⁵.

Die Anfangssteigung setzt sich zusammen aus der eigentlichen Geschwindigkeitskonstanten k und der Konzentration des Markierungsvorläufers. Daher gilt: Je reaktiver der Markierungsvorläufer, umso größer ist die Anfangssteigung.

Für die Synthese eines Radiopharmakons ergeben sich einige Bedingungen. Die Synthese sollte einschließlich Reinigung und Qualitätskontrolle in zwei

bis drei Halbwertszeiten abgeschlossen sein und es sollten nur sehr reine Chemikalien verwendet werden, um Nebenreaktionen zu vermeiden. Weiterhin sollte das Radionuklid erst zu einem möglichst späten Zeitpunkt der Synthese eingeführt werden.

1.2.3 Produktion des ^{18}F -Fluor

Zur Produktion von Fluor-18 sind über 20 verschiedene Kernreaktionen untersucht worden. Seit den 1980er Jahren wird die Produktion an Teilchenbeschleunigern durchgeführt, vorher wurde es am Kernreaktor über die $^6\text{Li}(n,\alpha)^3\text{H}$ - und $^{16}\text{O}(^3\text{H},n)^{18}\text{F}$ -Reaktionen hergestellt¹⁷. Vier der 20 Reaktionen sind heute von Bedeutung. Das Fluor-18 fällt hierbei in Abhängigkeit von der verwendeten Kernreaktion und dem Targetmaterial in zwei unterschiedlichen chemischen Formen an, als $[^{18}\text{F}]\text{F}_{\text{aq}}^-$ in einer nukleophilen, ungeträgerten Form oder als elektrophiles, geträgertes $[^{18}\text{F}]\text{F}_2$.

Tabelle 3: Kernreaktionen zur Produktion von Fluor-18 im Zyklotron¹⁷

Kernreaktion	Target	Chemische Form des Fluors	Spezifische Aktivität (GBq/ μmol)
$^{18}\text{O}(p,n)^{18}\text{F}$	H_2^{18}O	$[^{18}\text{F}]\text{F}_{\text{aq}}^-$	bis zu $3,7 \cdot 10^6$
$^{16}\text{O}(^3\text{He},p)^{18}\text{F}$	H_2O	$[^{18}\text{F}]\text{F}_{\text{aq}}^-$	bis zu $3,7 \cdot 10^6$
$^{20}\text{Ne}(d,\alpha)^{18}\text{F}$	Ne, 0,1-0,2% F_2 , 18 bar	$[^{18}\text{F}]\text{F}_2$	$3,7 \cdot 10^1$ - $3,7 \cdot 10^2$
$^{18}\text{O}(p,n)^{18}\text{F}$	$^{18}\text{O}_2$, Kr, 0,1% F_2 , 20 bar	$[^{18}\text{F}]\text{F}_2$	$3,7 \cdot 10^1$ - $1,85 \cdot 10^3$

Die wichtigste Reaktion ist hierbei die $^{18}\text{O}(p,n)^{18}\text{F}$ -Reaktion, nach der heute fast das gesamte benötigte ^{18}F -Fluor produziert wird. Dadurch kann der Großteil des Radionuklids als $[^{18}\text{F}]\text{F}^-$ in wässriger Lösung erhalten werden. Die dabei erzielten spezifischen Aktivitäten betragen bis zu 7400 TBq/mmol und es können sehr hohe Aktivitäten in einer Bestrahlung erzeugt werden¹⁴.

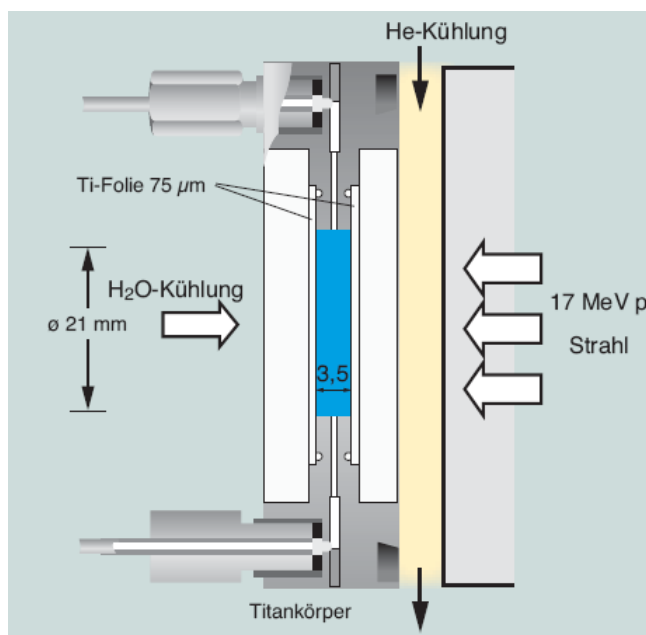


Abb. 4: Aufbau eines Wasser-Target-Systems zur Produktion von $[^{18}\text{F}]\text{F}^-_{\text{aq}}$ durch $^{16}\text{O}(^3\text{He},\text{p})^{18}\text{F}$ -Kernreaktion⁷

Die Darstellung des gasförmigen, elektrophilen $[^{18}\text{F}]\text{F}_2$ erfolgt durch die Bestrahlung von Gastargets entweder über die $^{20}\text{Ne}(\text{d},\alpha)^{18}\text{F}$ -oder die $^{18}\text{O}(\text{p},\text{n})^{18}\text{F}$ -Kernreaktion^{17,18}. Das gebildete ^{18}F -Fluor würde ohne den Zusatz von Träger jedoch an den Gefäßwänden haften bleiben. Deshalb wird bei diesen Methoden F_2 -Träger zugesetzt, das ^{18}F -Fluor durch Isotopenaustausch mit dem $[^{19}\text{F}]\text{F}_2$ stabilisiert und aus dem Target entfernt. Daher können nur geringe spezifische Aktivitäten erzielt werden.

1.3 Einführung von ^{18}F in organische Moleküle

Hinsichtlich der Einführung von Fluor-18 in organische Verbindungen lassen sich drei grundlegende Synthesestrategien unterscheiden:

- Elektrophile ^{18}F -Fluorierung mit c.a. $[^{18}\text{F}]\text{F}_2$
- Nukleophile ^{18}F -Fluorierung mit nca $[^{18}\text{F}]\text{F}^-$
- ^{18}F -Fluorierung über eine prosthetische Gruppe

1.3.1 Elektrophile Fluorierung

Die elektrophile Fluorierung eignet sich zur Einführung von ^{18}F in elektronenreiche organische Moleküle. Als Reaktanden dienen hierbei

entweder primäre Markierungsvorläufer wie $[^{18}\text{F}]\text{F}_2$ oder weniger reaktive sekundäre Markierungsvorläufer wie Acetylhypofluorit $[^{18}\text{F}]\text{CH}_3\text{COOF}$ oder Xenondifluorid $[^{18}\text{F}]\text{XeF}_2$.

Die elektrophile Markierung mit $[^{18}\text{F}]\text{F}_2$ kann nur für Verbindungen verwendet werden, deren biochemische bzw. pharmakologische Eigenschaften eine hohe molare Aktivität nicht unbedingt erforderlich machen (z. B. körpereigene Amino- und Fettsäuren) oder für die keine alternative Fluorierungsmethode existiert, da nur radiochemische Ausbeuten von maximal 50% erreicht werden können. Ursache hierfür ist der produktionsbedingte Trägerzusatz bei der Herstellung von $[^{18}\text{F}]\text{F}_2$ aus ^{20}Ne . Das derzeit wichtigste ^{18}F -Fluor-markierte Radiopharmazeutikum nach elektrophiler Synthese ist das 6- $[^{18}\text{F}]\text{Fluor-L-dopa}$ ¹⁹.

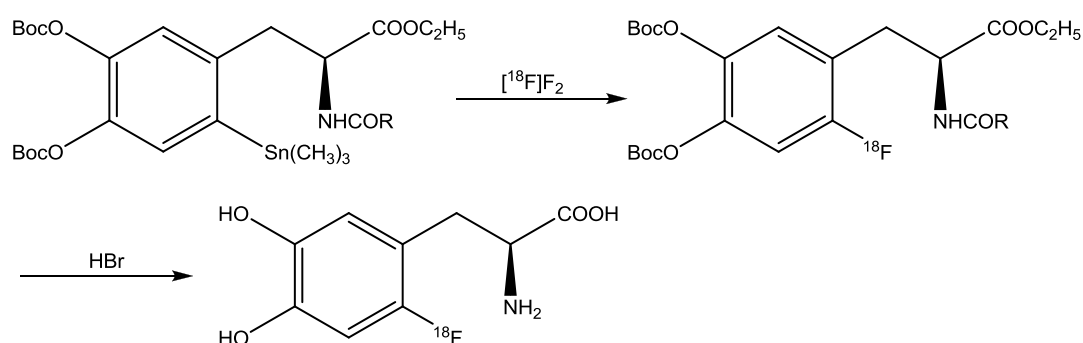


Abb. 5: Synthese des 6- $[^{18}\text{F}]\text{Fluor-L-dopa}$ durch elektrophile ^{18}F -Fluorierung

Darüber hinaus kann es trotz Durchführung der Markierung in gegen Fluor inerten Lösungsmitteln wie z. B. Tetrachlorkohlenstoff oder Trifluoressigsäure durch die hohe Reaktivität der elektrophilen ^{18}F -Fluorierungsreagenzien zu zahlreichen Nebenreaktionen wie Mehrfachfluorierungen, Reaktionen mit Verunreinigungen im Lösungsmittel oder radikalischen Nebenreaktionen kommen. Zudem zeichnet sich die elektrophile Fluorierung durch geringe Regioselektivität aus.

Um die Regioselektivität zu erhöhen, können, je nach Struktur des Markierungsvorläufers, Erstsübstüenteneinflüsse oder Demetallierungsreaktionen zur ^{18}F -Fluorierung genutzt werden. Hierbei werden bevorzugt tiefe Temperaturen und die etwas mildereren sekundären ^{18}F -Fluorspezies wie

$[^{18}\text{F}]\text{XeF}_2$ oder $[^{18}\text{F}]\text{CH}_3\text{COOF}$ genutzt. Die höchsten radiochemischen Ausbeuten werden mit Organozinnverbindungen erzielt, möglich sind jedoch auch Organosilicium- und Organogermaniumverbindungen. So konnte bei der Synthese von 6- $[^{18}\text{F}]\text{Fluor-L-m}$ -tyrosin mit $[^{18}\text{F}]\text{F}_2$ eine radiochemische Ausbeute von 23% erreicht werden²⁰.

Ein vielversprechender Ansatz ist die Katalysator-vermittelte Umpolung von nukleophilem $[^{18}\text{F}]\text{F}^-$ zu einem elektrophilen ^{18}F -Fluorierungsreagenz. Abb. 6 gibt die Syntheseroute wieder. Durch den Zusatz von Palladium(II)-Aryl-Komplexen zum ^{18}F -Fluorierungsreagenz $[^{18}\text{F}]\text{2}$ können innerhalb kurzer Reaktionszeiten zufriedenstellende radiochemische Ausbeuten erzielt werden. Dadurch gelingt die Synthese von ^{18}F -fluorierten Radiotracern, die mit nukleophiler aromatischer Substitution nicht zugänglich sind, mit hohen spezifischen Aktivitäten, die sonst durch elektrophile Substitution nicht zu erzielen sind²¹.

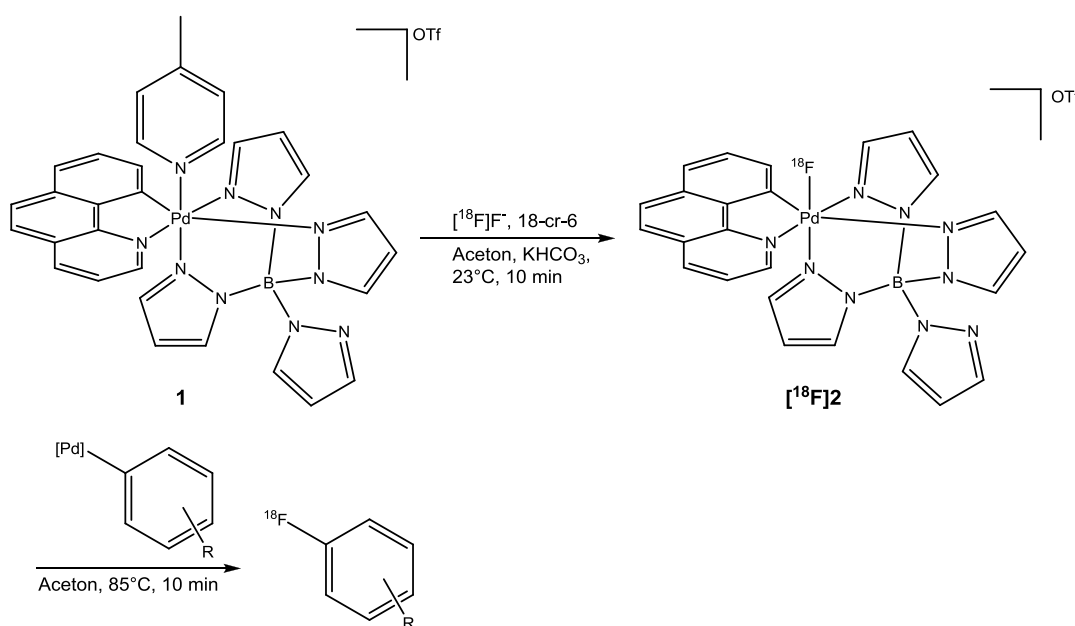


Abb. 6: Umsetzung des Pd(IV) Komplex **1** mit $[^{18}\text{F}]\text{F}^-$ zum elektrophilen ^{18}F -Fluorierungsreagenz $[^{18}\text{F}]\text{2}$ und anschließende Umsetzung zu ^{18}F -fluorierten Aromaten²¹

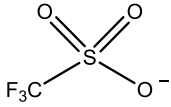
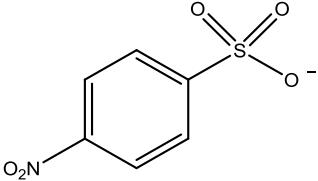
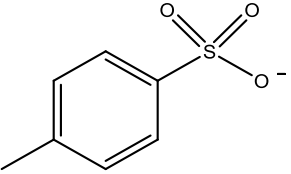
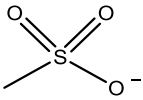
1.3.2 Nukleophile Fluorierung

Die nukleophile Fluorierung mit $[^{18}\text{F}]\text{F}^-$ ist die wichtigste Methode zur Darstellung ^{18}F -fluorierter Radiopharmaka, denn sie erlaubt die Synthese

ungeträgerter (nca) Produkte. Es handelt sich im Allgemeinen um eine Substitutionsreaktion an nukleofugen Gruppen wie z. B. Halogenen.

Aliphatische nukleophile Substitutionen mit $[^{18}\text{F}]\text{F}^-$ laufen in dipolar aprotischen Lösungsmitteln nach einem $\text{S}_{\text{N}}2$ -Mechanismus. Bevorzugte Abgangsgruppen sind Halogene oder Sulfonsäureester wie Tosylate, Mesylate oder Triflate²². Die Strukturen der Abgangsgruppen und ihre relativen Bildungskonstanten sind in Tabelle 4 dargestellt.

Tabelle 4: Abgangsgruppen für aliphatische nukleophile Fluorierungen, K_{rel} ist die relative Bildungskonstante²³

Name	Struktur	K_{rel}
Triflat		$1,4 \cdot 10^8$
Nosylat		$4,4 \cdot 10^5$
Tosylate		$3,7 \cdot 10^4$
Mesylat		$3,0 \cdot 10^4$
Iodid	I^-	91
Bromid	Br^-	14
Chlorid	Cl^-	1
Fluorid	F^-	$9 \cdot 10^{-6}$

Die Abgangsgruppe mit den besten nukleofugen Eigenschaften ist somit das Triflat, gefolgt von Nosylat und Tosylat. Allerdings nimmt die Stabilität der Markierungsvorläufer durch das Einführen einer Triflat-Gruppe ab und die Verbindungen sind oft nicht gut lagerbar. Aus diesem Grund werden in vielen

Fällen Precursor mit Tosylgruppen für die nukleophile ^{18}F -Fluorierung bevorzugt.

Bei chiralen Verbindungen kommt es zu einer Inversion der Konfiguration (Walden-Umkehr). Wichtigstes synthetisches Beispiel ist die Darstellung von 2- ^{18}F Fluor-2-deoxy-D-glucose aus einem Mannosevorläufer²⁴.

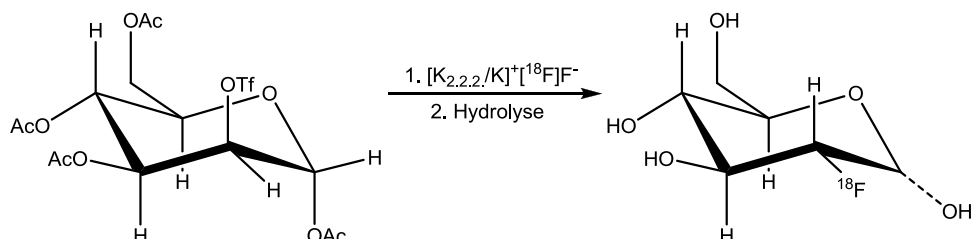


Abb. 7: Synthese von 2- ^{18}F FDG

Die nukleophile Direktfluorierung mit $[^{18}\text{F}]\text{F}^-$ erfordert bestimmte Reaktionsbedingungen bzw. Voraussetzungen. So führt die hohe Ladungsdichte des Fluoridions in der Gegenwart von Metallionen zu Komplexen, in Gegenwart von Protonen zur Bildung von $[^{18}\text{F}]\text{Fluorwasserstoff}$ und in wässriger Lösung bildet sich eine starke Hydrathülle aus. In allen Fällen wird die Reaktivität des Fluorids deutlich gesenkt. Durch eine geschickte Wahl der Reaktionsbedingungen kann dies jedoch verhindert werden. So verwendet man dipolar aprotische Lösungsmittel mit hoher Dielektrizitätskonstante, wie Acetonitril, Dimethylsulfoxid (DMSO) oder N,N-Dimethylformamid (DMF), da diese im Gegensatz zu aprotischen Lösungsmitteln mit niedriger Dielektrizitätskonstante wie Tetrahydrofuran (THF) oder Aceton auf Salze dissoziierend wirken. Weiterhin wird das Fluoridanion durch Zusatz nicht-nukleophiler, basischer Anionen wie Carbonaten, Hydrogencarbonaten oder Oxalaten aktiviert, da sie seine Nukleophilie erhöhen und gleichzeitig die Bildung von $[^{18}\text{F}]\text{HF}$ verhindern. Eine weitere Aktivierung des Fluoridions erfolgt durch die Verwendung von Phasentransferkatalysatoren wie Tetraalkylammoniumhydrogencarbonaten, Tetraalkylammoniumhydroxid oder Aminopolyethern, insbesondere Kryptofix[®]2.2.2, welches durch Komplexbildung mit Kationen dem nun „nackten“ Fluorid seinen möglichen Bindungspartner entzieht und seine Löslichkeit erhöht. Unter diesen Bedingungen sind auch Adsorptionsverluste an den Wänden der Reaktionsgefäße zu vernachlässigen²⁵.

Relativ neu ist die nukleophile ^{18}F -Fluorierung in unpolaren, protischen Lösungsmitteln, wie z.B. tertiären Alkoholen. Diese erhöhen die Nukleophilie des $[\text{}^{18}\text{F}]\text{F}^-$ in Verbindung mit quaternären Ammoniumsalzen als Phasentransferkatalysator und Sulfonsäureestern als Abgangsgruppen stark. So konnte das 3'-Deoxy-3'- $[\text{}^{18}\text{F}]$ fluorthymidin ($[\text{}^{18}\text{F}]\text{FLT}$) mit durchschnittlich 65% radiochemischer Ausbeute nach 20 Minuten bei 120 °C erhalten werden. Bei Verwendung von DMF und Kryptofix[®]2.2.2 können innerhalb derselben Reaktionszeit bei 150 °C nur durchschnittlich 50% $[\text{}^{18}\text{F}]\text{FLT}$ erzeugt werden²⁶.

Neue Möglichkeiten für die nukleophile ^{18}F -Fluorierung bieten sich auch durch die Entdeckung einer enzymatischen C-F-Bindungsknüpfung. 2005 gelang die Synthese von 5'- $[\text{}^{18}\text{F}]$ Fluor-5'-deoxyadenosin durch den Einsatz einer Fluorinase aus *Streptomyces cattleya*²⁷.

Zu beachten ist außerdem, dass für eine nukleophile Fluorierung mit $[\text{}^{18}\text{F}]\text{F}^-$ an Molekülen mit mehreren nukleofugen Gruppen alle reaktiven Zentren, an denen keine Markierung stattfinden soll, durch Schutzgruppen zu schützen sind. Diese können erst nach der Fluorierung wieder abgespalten werden.

Die nukleophile aromatische Substitution ($\text{S}_{\text{N}}\text{Ar}$) zur Markierung mit $[\text{}^{18}\text{F}]\text{F}^-$ hat eine besondere Position inne. Da Aromaten elektronenreiche Verbindungen sind, ist eine nukleophile Substitution mit $[\text{}^{18}\text{F}]\text{F}^-$ oft nur dann möglich, wenn der Aromat durch elektronenziehende Substituenten aktiviert wurde. Desweiteren werden andere Abgangsgruppen als bei $\text{S}_{\text{N}}2$ -Reaktionen an aliphatischen Verbindungen benötigt. Besonders geeignet sind Fluor, Brom, die Nitro- und die Trimethylammoniumgruppe²⁸. Eine Ausnahme bilden Diaryliodoniumsalze. Sie erlauben aufgrund ihrer sehr guten nukleofugen Eigenschaften für die $\text{S}_{\text{N}}\text{Ar}$ auch die direkte Markierung von nichtaktivierten Aromaten. Da die ^{18}F -Fluorierung prinzipiell an beiden Aromaten erfolgen kann, ist das Verhältnis der Produktverteilung von der Art des Substituentenmusters abhängig²⁹.

1.3.3 Fluorierung über prosthetische Gruppen

Markierungen organischer Moleküle mit prosthetischen Gruppen werden dann eingesetzt, wenn eine direkte ^{18}F -Fluorierung nicht möglich ist. Es handelt sich bei diesen sekundären Markierungsvorläufern um kleine, reaktive, gut fluorierbare Moleküle, die zuerst nca mit $[^{18}\text{F}]\text{F}^-$ markiert und anschließend mit dem eigentlichen Zielmolekül gekoppelt werden. Für diese Reaktionen kommen vor allem die ^{18}F -Fluoralkylierung, -acylierung und -amidierung in Betracht¹⁷.

Aufgrund der guten Zugänglichkeit, der einfachen Handhabung und der oftmals höheren Markierungsausbeuten verglichen mit einer Direktfluorierung kommen heute zahlreiche sekundäre Markierungsvorläufer zum Einsatz. Neben der klassischen ^{18}F -Fluoralkylierung haben sich auch ^{18}F -Fluoracylierungen und -amidierungen für die Peptidmarkierung sowie Kopplungsreagenzien wie $[^{18}\text{F}]$ Fluorphenolat, $[^{18}\text{F}]$ Fluoranilin oder $[^{18}\text{F}]$ Fluorphenyllithium durchgesetzt³⁰. Durch die zum Teil sehr milden Reaktionsbedingungen wurde eine Vielzahl neuer Radiopharmaka zugänglich.

Die bedeutendste Markierungsstrategie bleibt die ^{18}F -Fluoralkylierung von Alkoholen, Phenolen, Thiolen oder Aminen. Als Synthons haben sich insbesondere Alkyltosylate, -triflate und -bromide durchgesetzt. Bislang wichtigstes Reagenz ist das 2- $[^{18}\text{F}]$ Fluorethyltosylat ($[^{18}\text{F}]$ FETos), da es sich einfach, schnell und im Allgemeinen mit hohen Ausbeuten über Festphasen-Kartuschen-Abtrennung herstellen lässt. Zudem ermöglicht es eine einfache Analytik durch Radiodünnschichtchromatographie^{31,32}.

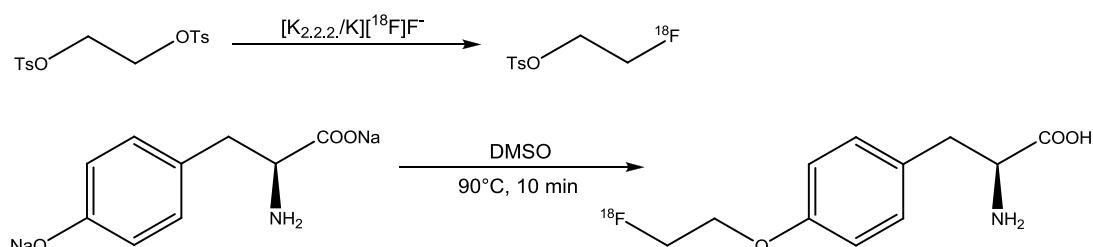


Abb. 8: Synthese von $[^{18}\text{F}]$ Fluorethyltyrosin durch ^{18}F -Fluorethylierung

Für die Fluorethylierung kommt auch 1-Brom-2- $[^{18}\text{F}]$ fluorethan zum Einsatz. Die Cu(I)-katalysierte 1,3-dipolare Cycloaddition („Click“-Reaktion) zwischen

einem ^{18}F -fluorierten Azid und einem Acetylen oder einem ^{18}F -fluorierten Acetylen und einem Azid hat in neuerer Zeit viel Aufmerksamkeit erfahren. Aufgrund der kurzen Reaktionszeiten, der hohen Ausbeuten und der milden Reaktionsbedingungen ist diese Methode besonders für die Markierung von Peptiden gut geeignet³³.

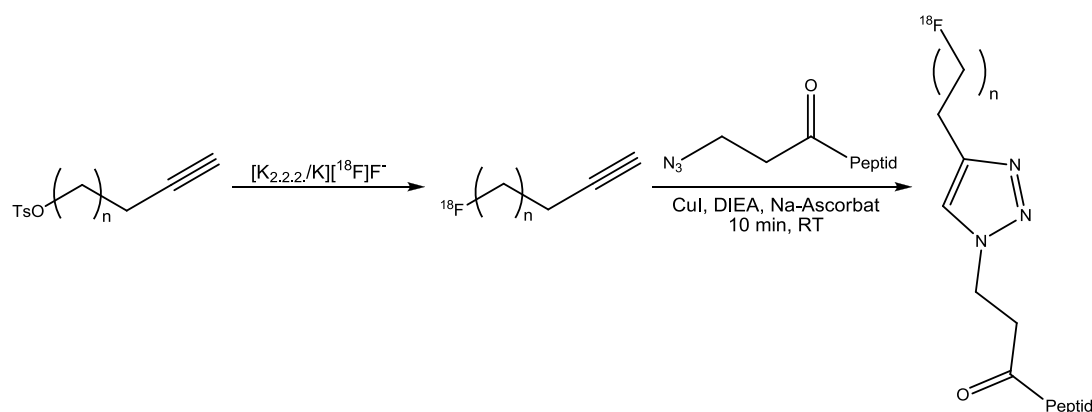


Abb. 9: ^{18}F -Fluorierung mittels „Click“-Reaktion

1.4 Fluormethylierung

^{18}F -Fluormethylierte ZNS-Liganden sind von großem Interesse für die Untersuchung zahlreicher neurodegenerativer Erkrankungen mittels Positronen-Emissions-Tomographie. Die ^{18}F -Fluormethylgruppe unterscheidet sich einerseits aufgrund der ähnlichen Van-der-Waals-Radien von Fluor und Wasserstoff sterisch nur wenig von der für viele Radiopharmaka bereits etablierten ^{11}C -Methylgruppe. Andererseits bringt sie die Vorteile des Nuklids Fluor-18 wie eine längere Halbwertszeit und eine niedrigere β -Energie und somit eine bessere Auflösung mit. Ihr Einsatz ist jedoch aufgrund der geringen Stabilität der ^{18}F -Fluormethylgruppe *in vivo* bisher eingeschränkt.

Für die *in vivo*-Defluorierung der ^{18}F -Fluormethylgruppe wurde der in Abbildung 10 dargestellte Mechanismus vorgeschlagen:

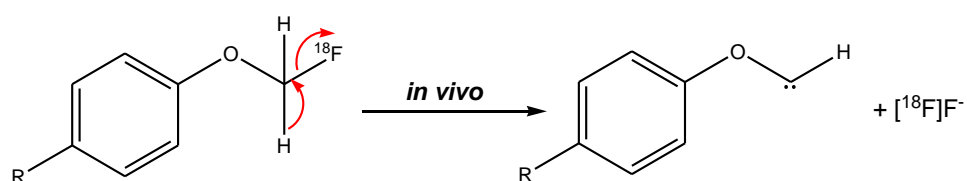


Abb. 10: *In vivo*-Metabolismus der ^{18}F -Fluormethylgruppe

Als erstes wird enzymatisch eine Kohlenstoff-Wasserstoff-Bindung in der Fluormethylgruppe gespalten. Anschließend wird [^{18}F]Fluorwasserstoff an demselben α -Kohlenstoffatom eliminiert, welcher *in vivo* dissoziiert in [^{18}F]F $^-$ und H $^+$ vorliegt. Das gebildete Carben wird durch das benachbarte Sauerstoffatom stabilisiert, was die Zersetzung der ^{18}F -Fluormethylgruppe zusätzlich beschleunigt³⁴.

Es gibt einige Beispiele für deuterierte Radiotracer, die *in vivo* langsamer metabolisiert werden als ihre nichtdeuterierten Analoga³⁵. Durch die Substitution des Wasserstoffs in der Fluormethylgruppe durch Deuterium kann eine deutlich höhere *in vivo*-Stabilität erzielt werden³⁴. Aufgrund der geringeren Nullpunktsenergie und der geringeren Vibrationsfrequenz der Kohlenstoff-Deuterium-Bindung ist diese viel stabiler als die Kohlenstoff-Wasserstoff-Bindung. Die Spaltrate der C-H-Bindung ist bei 25 °C 6,7 mal schneller als die der C-D-Bindung, bei 200 °C immer noch 3,3 mal schneller³⁴. Durch die höhere Stabilität der C-D-Bindung wird eine enzymatische Abspaltung von [^{18}F]DF *in vivo* erschwert.

Die ^{18}F -Fluormethylierung findet bisher hauptsächlich Anwendung in der Synthese von Liganden für onkologische Fragestellungen, beispielweise mit [^{18}F]Cholin^{36,37} oder [^{18}F]Fluormethyltyrosin^{38,39}. Informationen über die Auswirkung der ^{18}F -Fluormethylierung auf Affinität und Selektivität von ZNS-Liganden, speziell im Vergleich mit den ^{18}F -fluorethylierten und ^{11}C -methylierten Analoga, sind rar. Zhang et al. untersuchten 2003 die Unterschiede der ^{11}C -Methyl-, ^{18}F -Fluormethyl- und ^{18}F -Fluorethylgruppe anhand des peripheren Benzodiazepinrezeptor-Liganden (PBR-Liganden) DAA 1106⁴⁰. Die Strukturen der drei untersuchten Verbindungen sind in Abbildung 11 dargestellt.

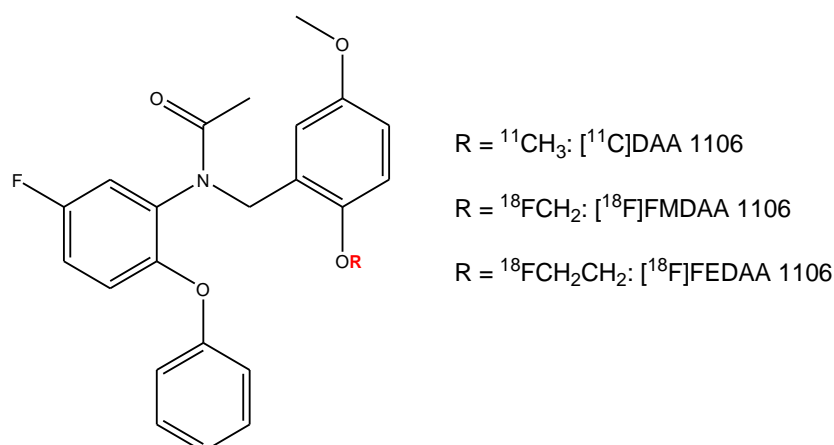


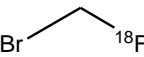
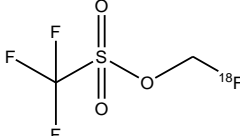
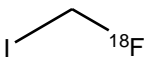
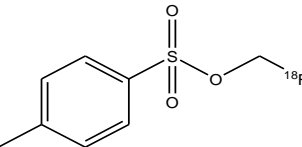
Abb. 11: Strukturen der peripheren Benzodiazepinrezeptor-Liganden [${}^{11}\text{C}$]DAA 1106, [${}^{18}\text{F}$]FMDAA 1106 und [${}^{18}\text{F}$]FEDAA 1106⁴⁰

DAA 1106 hat eine hohe Affinität zum PBR und nur geringe Cross-Affinität zu anderen Rezeptoren. Daher war die Synthese ${}^{18}\text{F}$ -fluoralkylierter Analoga und deren Vergleich mit DAA 1106 nahe liegend. Die durch Verdrängungsstudien bestimmten Affinitäten zum PBR für FEDAA 1106 ($\text{IC}_{50} = 0,77 \text{ nmol/l}$) und FMDAA 1106 ($\text{IC}_{50} = 1,71 \text{ nmol/l}$) unterschieden sich kaum von der des DAA 1106 ($\text{IC}_{50} = 1,62 \text{ nmol/l}$). FEDAA 1106 zeigte sogar eine höhere Affinität⁴⁰. *In vivo* zeigte [${}^{18}\text{F}$]FMDAA 1106 eine deutlich geringere Hirnaufnahme, als die Affinität des Liganden vermuten ließ. Stattdessen wurde eine schnelle Zersetzung des Radioliganden durch Defluorierung beobachtet. Erst durch Substitution des Wasserstoffs in der ${}^{18}\text{F}$ -Fluormethylgruppe durch Deuterium konnte die Stabilität des d_2 -[${}^{18}\text{F}$]FMDAA 1106 erhöht werden und bei Autoradiographien konnte eine ähnlich gute Bindung wie bei [${}^{18}\text{F}$]FEDAA 1106 erhalten werden³⁴.

Für ZNS-Liganden, bei denen die ${}^{18}\text{F}$ -Fluorethylierung zu einer Verschlechterung der Affinität gegenüber der ${}^{11}\text{C}$ -methylierten Verbindung führt, ist der Einfluss der ${}^{18}\text{F}$ -Fluormethylierung bisher nicht untersucht.

Für die ${}^{18}\text{F}$ -Fluormethylierung sind vier verschiedene Synthons bekannt, die in den folgenden Kapiteln näher erläutert werden. Sie sind in Tabelle 5 zusammengefasst.

Tabelle 5: Übersicht über die ^{18}F -Fluormethylierungssynthons^{37,39,41–43}

Verbindung	Struktur	Vorläufer	RCA /%
Brom- ^{18}F Fluormethan		Dibrommethan	20-40
^{18}F Fluormethyltriflat		Brom- ^{18}F Fluormethan	quantitativ
^{18}F Fluoriodmethan		Diiodmethan	bis zu 42
^{18}F Fluormethyltosylat		Bis(tosyloxy)-methan	bis zu 85

1.4.1 Brom- ^{18}F Fluormethan und ^{18}F Fluormethyltriflat

Das am häufigsten verwendete Synthon für die ^{18}F -Fluormethylierung ist Brom- ^{18}F Fluormethan (^{18}F FBM). Es kann durch nukleophile Fluorierung von Dibrommethan mit $^{18}\text{F}\text{F}^-$ und Kryptofix[®] 2.2.2./ K_2CO_3 hergestellt werden. Die radiochemischen Ausbeuten sind dabei generell gering^{44,45}. Da der Siedepunkt des Brom- ^{18}F Fluormethans bei 17,5 °C bei Normaldruck liegt⁴⁶, muss die Abtrennung des Produkts von Edukten und $^{18}\text{F}\text{F}^-$ durch Gaschromatographie erfolgen. Für die Synthese von ^{18}F Fluorcholin wird beispielsweise der Gasstrom anschließend direkt in ein Reaktionsgefäß mit N,N-Dimethylaminoethanol eingeleitet. So können radiochemische Ausbeuten zwischen 20% und 40% erzielt werden. Eine einfachere Möglichkeit, ^{18}F FBM von Dibrommethan abzutrennen, ist die Verwendung mehrerer hintereinander geschalteter Sep-Pak[®]-Kartuschen, über die die Reaktionslösung mit einem Heliumstrom gegeben wird. Ein angeschlossener Radioaktivitätsdetektor ermöglicht die Detektion des ^{18}F FBM, das anschließend in einem Reaktionsgefäß aufgefangen wird und direkt verwendet werden kann. Dadurch kann die Reaktionszeit erheblich verkürzt werden^{41,45}.

Ausgehend von [^{18}F]FBM kann leicht ein noch reaktiveres Synthon für die ^{18}F -Fluormethylierung erzeugt werden. Dafür wird der [^{18}F]FBM-Heliumstrom nach der Aufreinigung über Sep Pak-Kartuschen über erhitztes Silbertriflat geleitet. Das [^{18}F]Fluormethyltriflat entsteht quantitativ und wird am besten in DMSO aufgefangen. Dadurch gelang die Synthese von [^{18}F]Fluormethyl-L-tyrosin ausgehend vom Dinatriumsalz des Tyrosins mit einer maximalen radiochemischen Ausbeute von 84% bei 110 °C³⁹.

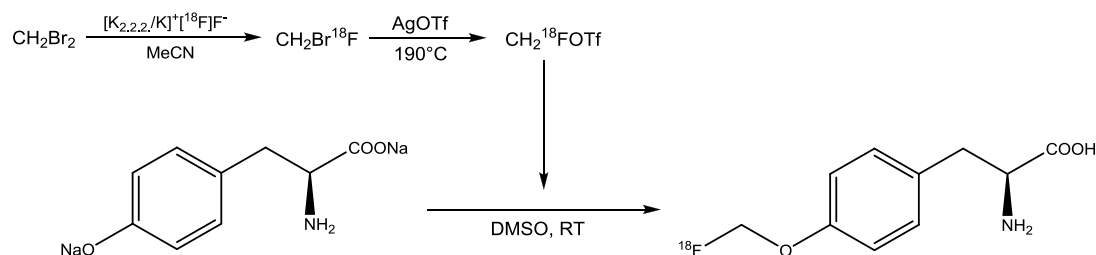


Abb. 12: Dreistufige Radiosynthese des [^{18}F]Fluormethyl-L-tyrosins ausgehend von Dibrommethan³⁹

1.4.2 [^{18}F]Fluoriodmethan

Ein weiterer sekundärer Markierungsvorläufer für die ^{18}F -Fluormethylierung ist das [^{18}F]Fluoriodmethan ([^{18}F]FIM). Da sein Siedepunkt bei 53 °C bei Normaldruck liegt⁴⁶, erlaubt dieses Synthon eine einfachere Handhabung als das Bromderivat. Außerdem handelt es sich um das ^{18}F -Fluoranalogen des [^{11}C]Methyliodids, das als Vorläufer für den Großteil aller Markierungen mit Kohlenstoff-11 verwendet wird. Aufgrund des elektronenziehenden Effekts des Fluors sollte seine Reaktivität in $\text{S}_{\text{N}}2$ -Reaktionen sogar erhöht sein. Dadurch ermöglicht [^{18}F]FIM die Einführung von Fluor-18 in eine Vielzahl von Molekülen, bei denen eine Methylierung mit [^{11}C]Methyliodid bereits gelungen ist⁴².

[^{18}F]Fluoriodmethan wird ausgehend von Diiodmethan mit nca [^{18}F]F⁻ und Kryptofix[®]2.2.2./K₂CO₃ bei Raumtemperatur innerhalb einer Minute erzeugt und anschließend durch Destillation mithilfe eines Heliumstroms bei -20 °C in einem zweiten Reaktionsvial aufgefangen. So konnten radiochemische Ausbeuten von maximal 42% erzielt werden. Bei der anschließenden

Markierung mehrerer Modellverbindungen mit [^{18}F]FIM in Acetonitril lagen die radiochemischen Ausbeuten für die ^{18}F -Fluormethylierung zwischen 12 und 95%⁴².

1.4.3 [^{18}F]Fluormethyltosylat

Analog zur ^{18}F -Fluorethylierung ist auch für die ^{18}F -Fluormethylierung der Einsatz von [^{18}F]Fluormethyltosylat als Synthone möglich. Dieses kann durch nukleophile ^{18}F -Fluorierung des Bis(tosyloxy)methans erhalten werden. Erste Markierungen mit [^{18}F]F $^-$ ausgehend von Bis(tosyloxy)methan zeigten jedoch nur eine sehr geringe Umsetzung zum [^{18}F]Fluormethyltosylat⁴⁴. Die Variation der Lösungsmittel, Phasentransferkatalysatoren und Reaktionstemperaturen führten zu keiner Verbesserung der radiochemischen Ausbeute. Lediglich die Erhöhung der Bis(tosyloxy)methan-Konzentration auf 0,2-0,3 mol/l hatte positiven Einfluss auf die Reaktion. Die radiochemischen Ausbeuten konnten so auf 25-40% erhöht werden.

Eine Ursache für die geringen Ausbeuten des [^{18}F]FMT ist die Bildung eines ^{18}F -fluorierten Nebenprodukts, das als [^{18}F]Tosylfluorid ([^{18}F]TF) identifiziert werden konnte und das, je nach Reaktionsbedingungen, sogar mit höheren radiochemischen Ausbeuten gebildet wird als das [^{18}F]Fluormethyltosylat. 2005 gelang Neal et al. durch den Zusatz kleiner Mengen Wasser während der Reaktion, die Bildung des [^{18}F]TF jedoch um ein Vielfaches zu verringern. Die radiochemische Ausbeute des [^{18}F]FMT konnte in Acetonitril und 5% Wasser auf 83% gesteigert werden⁴³. Für diese Ausbeutesteigerung durch Wasserzusatz gibt es verschiedene Erklärungen. Zum einen kann sie auf die erhöhte Löslichkeit des [^{18}F]F $^-$ im Reaktionsmedium zurückzuführen sein. Zum anderen kann durch Wasser die Reaktivität des [^{18}F]F $^-$ soweit gesenkt werden, dass die Bildung des Nebenprodukts erschwert wird.

Die Reproduktion dieser Ergebnisse ist jedoch schwierig. Andere Arbeitsgruppen berichten von deutlich niedrigen radiochemischen Ausbeuten des [^{18}F]FMT (28%) unter denselben Reaktionsbedingungen⁴⁷.

Smith et al. berichteten 2011 von einer Steigerung der radiochemischen Ausbeute auf 57% durch Verwendung von Kronenether wie z.B. 18-Krone-6

als Phasentransferkatalysator, da der Markierungsvorläufer Bis(tosyl-oxy)methan unter den Reaktionsbedingungen offenbar instabil gegenüber Kryptofix[®] 2.2.2. ist⁴⁷.

1.5 Biologische Targets

1.5.1 Monoaminoxidase A

Die Monoaminoxidasen (MAO) sind Enzyme der äußeren Mitochondrienmembran, die die oxidative Deaminierung biogener und xenobiotischer Amine katalysieren. Im Gehirn sind sie unter anderem für die Degeneration der Neurotransmitter Serotonin, Noradrenalin und Dopamin verantwortlich, wodurch sie eine wesentliche Rolle in der Regulierung dieser Neurotransmitter spielen^{48,49}.

1.5.1.1 *Aufbau und Funktion der Monoaminoxidasen*

Die Monoaminoxidasen sind Flavoproteine, deren Flavin-Adenosin-Dinukleotideinheit kovalent an einen Cysteinrest des Proteins gebunden ist und die über eine C-terminale Transmembranhelix fest in der äußeren Zellmembran der Mitochondrien verankert sind, während der Rest des Proteins in das Cytoplasma ragt⁵⁰. Diese Verankerung scheint für die biologischen Funktionen des Enzyms wichtig zu sein, da bei einem Bruch die katalytische Aktivität stark abnimmt⁵¹.

Es existieren zwei Isoenzyme, MAO_A und MAO_B, deren Aminosäuresequenzen eine Übereinstimmung von 70% zeigen. Sie kommen bei Säugetieren in fast allen Geweben vor, wobei sich die Verteilung der Isoenzyme von Gewebe zu Gewebe unterscheidet. Im menschlichen Gehirn unterscheidet sich die Enzymaktivität der Monoaminoxidasen in verschiedenen Hirnregionen. Hohe Enzymaktivität zeigt sich vor allem in Basalganglien und Hypothalamus, während im Cerebellum und im Neocortex nur geringe Enzymaktivität zu beobachten ist⁵². Studien haben gezeigt, dass MAO_B vor allem in serotonergen Neuronen und Astrocyten vorkommt, während catecholaminerge Neuronen in der Substantia nigra und den

periventriculären Regionen des Hypothalamus größtenteils MAO_A enthalten⁵³.

MAO_A und MAO_B unterscheiden sich deutlich in ihren biochemischen Eigenschaften und Substratspezifitäten⁵⁴. MAO_A wird bereits von geringen Konzentrationen des Inhibitors Chlorgyline gehemmt und oxidiert Serotonin und Noradrenalin, welche keine Substrate der MAO_B sind. MAO_B oxidiert Phenylethylamin oder Benzylamin und wird bereits durch geringe Konzentrationen L-Deprenyl gehemmt. Dopamin, Adrenalin und Tyramin sind Substrate beider Isoenzyme. Die unterschiedlichen Michaelis-Menten-Konstanten der oxidativen Deaminierung verschiedener Substrate an beiden Isoenzymen sind aus Tabelle 6 ersichtlich⁴⁹.

Tabelle 6: Substratspezifität der Monoaminoxidasen im cerebralen Cortex

Substrat	MAO _A K _m (μM)	V _{max} (pmol×min ⁻¹ ×mg Prot ⁻¹)	MAO _B K _m (μM)	V _{max} (pmol×min ⁻¹ ×mg Prot ⁻¹)
Adrenalin	125 ± 42	379 ± 54	266 ± 9	465 ± 61
Dopamin	212 ± 33	680 ± 123	229 ± 33	702 ± 158
Serotonin	137 ± 24	228 ± 31	1093 ± 20	6,6 ± 1,3
Noradrenalin	284 ± 17	561 ± 42	238 ± 30	321 ± 13
Phenylethylamin	140 ± 22	20 ± 8	4 ± 2	309 ± 24
Tryptamin	35 ± 6	58 ± 5	35 ± 8	108 ± 2
Tyramin	127 ± 18	182 ± 28	107 ± 21	343 ± 48

Die physiologischen Bedeutungen von MAO_A und MAO_B sind von ihren Substraten abhängig und eine selektive Hemmung der Isoformen ist bei vielen Fragestellungen von Bedeutung. So ist eine Hemmung der MAO_A bei der Behandlung von Depressionen oder Verhaltensstörungen sinnvoll⁵⁵, während selektive Inhibitoren der MAO_B bei der Behandlung neurodegenerativer Erkrankungen, wie zum Beispiel bei Parkinson'schen Erkrankung, angewandt werden⁵⁶.

Um die Bedeutung der Monoaminoxidasen zu verdeutlichen, sind in Abbildung 13 die Dopaminsynthese und ihr Abbau über MAO_A und MAO_B dargestellt.

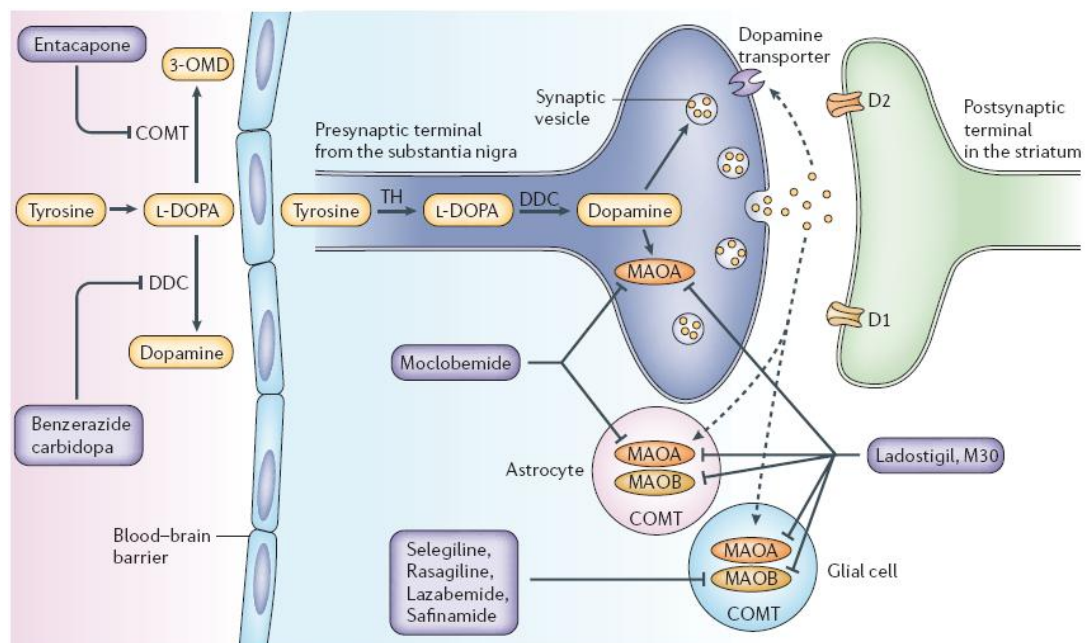


Abb. 13: Dopaminsynthese und Metabolismus über MAO_A und MAO_B⁴⁹

Dopamin wird biosynthetisch in zwei Schritten aus der Aminosäure L-Tyrosin gewonnen. Durch die Katalyse der Tyrosinhydroxylase entsteht L-Dihydroxyphenylalanin (L-DOPA), das der direkte biologische Vorläufer des Dopamins ist. Nachfolgende Decarboxylierung durch die DOPA-Decarboxylase führt anschließend zur Bildung von Dopamin. Der Dopaminabbau im synaptischen Spalt erfolgt durch Monoaminoxidasen und Catechol-O-methyltransferase (COMT) oder es erfolgt eine Wiederaufnahme in die präsynaptische Zelle über den Dopamin-Transporter (DAT), wo es in Vesikeln gespeichert oder ebenfalls durch die oben genannten Enzyme abgebaut wird^{4,57}. Intraneuronal wird Dopamin durch MAO_A abgebaut, in Gliazellen und Astrocyten sind MAO_A und MAO_B am Abbau beteiligt. Selektive Hemmung von MAO_A oder MAO_B ändert nichts am striatalen Dopaminlevel, aber eine chronische Behandlung mit unselektiven MAO-Inhibitoren führt zu einer verstärkten Dopaminfreisetzung im Striatum und anderen Hirnregionen⁴⁹.

1.5.1.2 MAO-Inhibitoren

Aufgrund der Bedeutung der Monoaminoxidasen im Metabolismus zahlreicher Neurotransmitter haben MAO-Inhibitoren einen hohen therapeutischen Stellenwert. Der erste entdeckte MAO-Inhibitor war Iproniazid, ein Hydrazin-Derivat, das als Antidepressivum verwendet wurde. Weitere Hydrazin-Derivate wie das Phenelzin wurden entwickelt, alle hatten jedoch starke Nebenwirkungen wie hohe Lebertoxizität, starke Erhöhung des Blutdrucks und schwere Blutungen. Die Lebertoxizität konnte durch die Entwicklung von Inhibitoren, die nicht auf Hydrazin basieren, zum Beispiel Tranylcypromin oder Pargylin, vermindert werden, die starke Blutdrucksteigerung blieb aber auch bei diesen Derivaten ein Problem.

Diese Nebenwirkung, die sogenannte „Cheese-Reaction“, entsteht, wenn Tyramin oder andere sympathomimetische Amine, die in fermentierten Lebensmitteln wie zum Beispiel Käse vorkommen, in den Blutkreislauf gelangen und die cardiovaskuläre Aktivität des Sympathikus durch Noradrenalinausschüttung erhöhen⁴⁹. Der Mechanismus der „Cheese-Reaction“ ist in Abbildung 14 dargestellt.

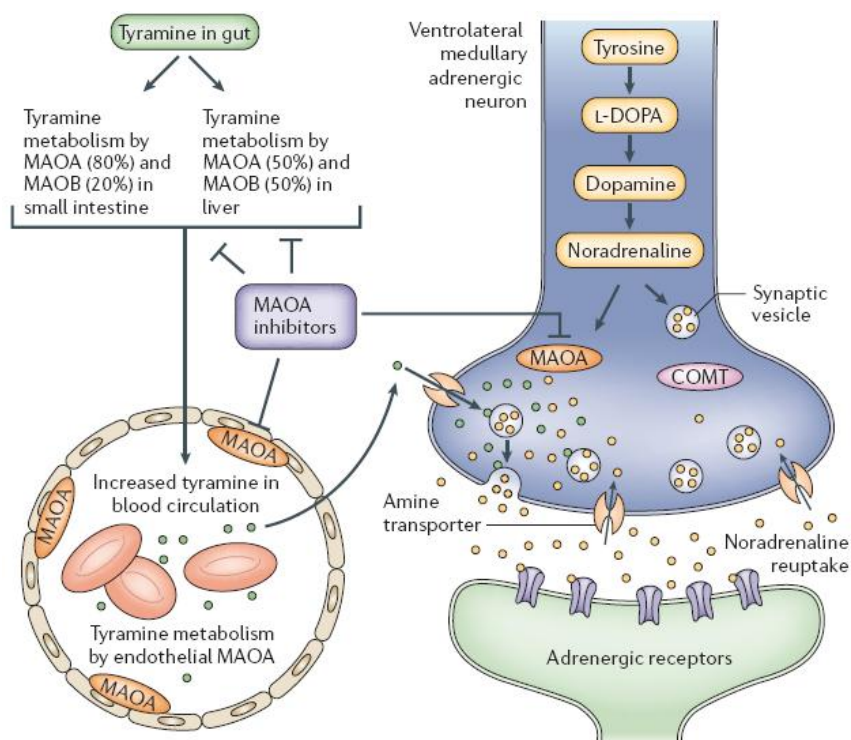


Abb. 14: Erhöhung der cardiovaskulären Aktivität des Sympathikus durch MAO-Inhibitoren („Cheese-Reaction“)⁴⁹

Die Hemmung der Monoaminoxidasen in Zellen des Dünndarms, Leberzellen und Endothelzellen führt dazu, dass Tyramin, ein Substrat von MAO_A und MAO_B, nicht mehr abgebaut wird und vermehrt im Blutkreislauf zirkuliert. Seine Aufnahme in die präsynaptischen adrenergen Neuronen führt zu einer vermehrten Freisetzung von Noradrenalin, einem Substrat der gehemmten MAO_A, in den synaptischen Spalt. Infolgedessen kommt es zu einer konsequenten Stimulation des Sympathikus⁴⁸. Weil MAO_B in adrenergen Neuronen nicht vorkommt, wird die „Cheese-Reaktion“ bei selektiven, irreversiblen MAO_B-Inhibitoren nicht beobachtet, da Tyramin größtenteils durch intestinale MAO_A abgebaut wird⁵⁸. Die Verwendung reversibler MAO_A-Inhibitoren wie Moclobemid und Lazabemid umgeht dieses Problem ebenfalls, da diese die Monoaminoxidase A im ZNS ausreichend blockieren, während Tyramin die Inhibitoren von peripherer MAO_A verdrängen kann⁵⁹.

MAO-Inhibitoren haben bei verschiedenen Erkrankungen einen therapeutischen Nutzen. So wurden sie zum Beispiel über Jahrzehnte in der Bekämpfung von Depressionen eingesetzt. Die antidepressive Wirkung dieser Medikamente beruht auf ihrer selektiven MAO_A-Hemmung im ZNS, was zu einem höheren Dopamin-, Noradrenalin- und Serotoninspiegel im Gehirn führt. Reversible MAO_A-Inhibitoren wurden als effektive Mittel zur Bekämpfung von Depressionen bei älteren Patienten beschrieben⁶⁰. Außerdem können sie, ebenso wie unselektive MAO-Inhibitoren, bei Phobien und atypischen Depressionen, wie Hysterie, Bulimie, Müdigkeit oder dem Gefühl der Zurückweisung, eingesetzt werden⁶¹. Bei geringer Dosierung zeigen selektive MAO_B-Inhibitoren keine antidepressiven Eigenschaften und auch keine „Cheese-Reaktion“. Hohe Konzentrationen führen jedoch zu einer Hemmung der Monoaminoxidase A. MAO-Inhibitoren wird zudem eine positive Wirkung bei der Nikotinentwöhnung von Rauchern zugeschrieben. Ursache hierfür ist wahrscheinlich ein Gewöhnungseffekt an die Hemmung der Monoaminoxidasen bei Rauchern, da MAO-Inhibitoren im Tabak enthalten sind⁶².

MAO-Inhibitoren waren schon früh für die Behandlung der Parkinson'schen Erkrankung in Kombination mit L-DOPA im Gespräch, ihr Einsatz war

aufgrund der „Cheese-Reaktion“ jedoch nicht möglich. Da aber bei Menschen mit Morbus Parkinson der MAO_B-Spiegel gegenüber MAO_A erhöht ist und Dopamin von beiden Isoformen metabolisiert wird, wurde der selektive MAO_B-Inhibitor L-Deprenyl als erstes Kombimedikament mit L-DOPA getestet. Außerdem zeigte die Gabe von L-Deprenyl auch als Monotherapie Erfolge. Allerdings konnte bei langfristigen Studien nach einem Jahr kein signifikanter Effekt auf den Krankheitsverlauf festgestellt werden⁶³. Ursache hierfür könnte sein, dass die neuroprotektiven Eigenschaften des Deprenyls bei höheren Konzentrationen verloren gehen und diese sogar pro-apoptotisch sein können⁶⁴.

Auch bei anderen Erkrankungen wie Alzheimer oder Morbus Huntington wurde der Einsatz von MAO-Inhibitoren getestet, ein Effekt konnte jedoch nicht nachgewiesen werden. L-Deprenyl vermindert jedoch die Schädigung peripheren Gewebes nach einem Herzinfarkt und Phase II-Studien zeigen auch eine Wirksamkeit bei der Behandlung von Schlaganfall-Patienten^{49,65}.

1.5.1.3 Harmin als MAO_A-Inhibitor

Selektive, reversible MAO_A-Inhibitoren sind von großem Interesse für die Untersuchung und die Therapie von Depressionen. Die Monoamin-Theorie sieht als Ursache für Depressionen den geringen Spiegel an Serotonin, Norepinephrin und Dopamin, die alle Substrate der MAO_A sind. Abnormitäten bei der Monoaminsynthese oder Hinweise auf verringerte Monoamin-Transporter-Aktivitäten konnten nicht gefunden werden⁶⁶. Die Untersuchung der MAO_A-Enzymaktivität bei Depressionen war daher ein logischer Schluss, aber erst der Einsatz von radioaktiv markierten, selektiven MAO_A-Inhibitoren half beim Verständnis der Rolle der Monoaminoxidase A⁶⁷.

1997 gelang die Synthese fünf verschiedener ¹¹C-markierter MAO_A-Inhibitoren für die *in vivo*-Bildgebung mit PET⁶⁸. Unter ihnen war auch [¹¹C]Harmin, ein β-Carbolin-Alkaloid, das sehr gute Eigenschaften für die Bildgebung aufweist. [¹¹C]Harmin zeichnet sich durch hohe Affinität ($K_i = 2 \text{ nM}$), hohe Aufnahme ins menschliche Gehirn, reversible Kinetiken mit spezifischer Bindung in allen Hirnregionen und eine hohe Selektivität gegenüber MAO_A aus. Es kann bereits mit nanomolaren Konzentrationen

Chlorgyline verdrängt werden, während es von L-Deprenyl nur geringfügig beeinflusst wird^{67,69}.

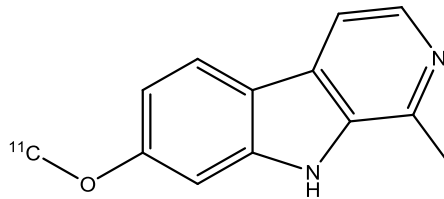


Abb. 15: Struktur des [¹¹C]Harmins

Als Maß für die MAO_A-Dichte im Gehirn wurde das spezifische Verteilungsvolumen (specific distribution volume, DV_S) als Vergleichsparameter eingeführt. Es gibt die spezifische Bindung des [¹¹C]Harmins an und ist definiert als

$$DV_S = \frac{K_1}{k_2} \cdot \frac{k_3}{k_4}$$

K₁, k₂: Influx- und Effluxrate des Radiotracers für die Blut-Hirn-Schranke, k₃, k₄:Transferraten zwischen freier, unspezifischer und spezifischer Bindung

Abbildung 16 zeigt die Zeit-Aktivitäts-Kurven für die Aufnahme von [¹¹C]Harmin in verschiedene Hirnregionen. Dabei erkennt man die erhöhte Aufnahme bei Patienten mit unbehandelter Depression gegenüber den Kontrollen⁶⁷.

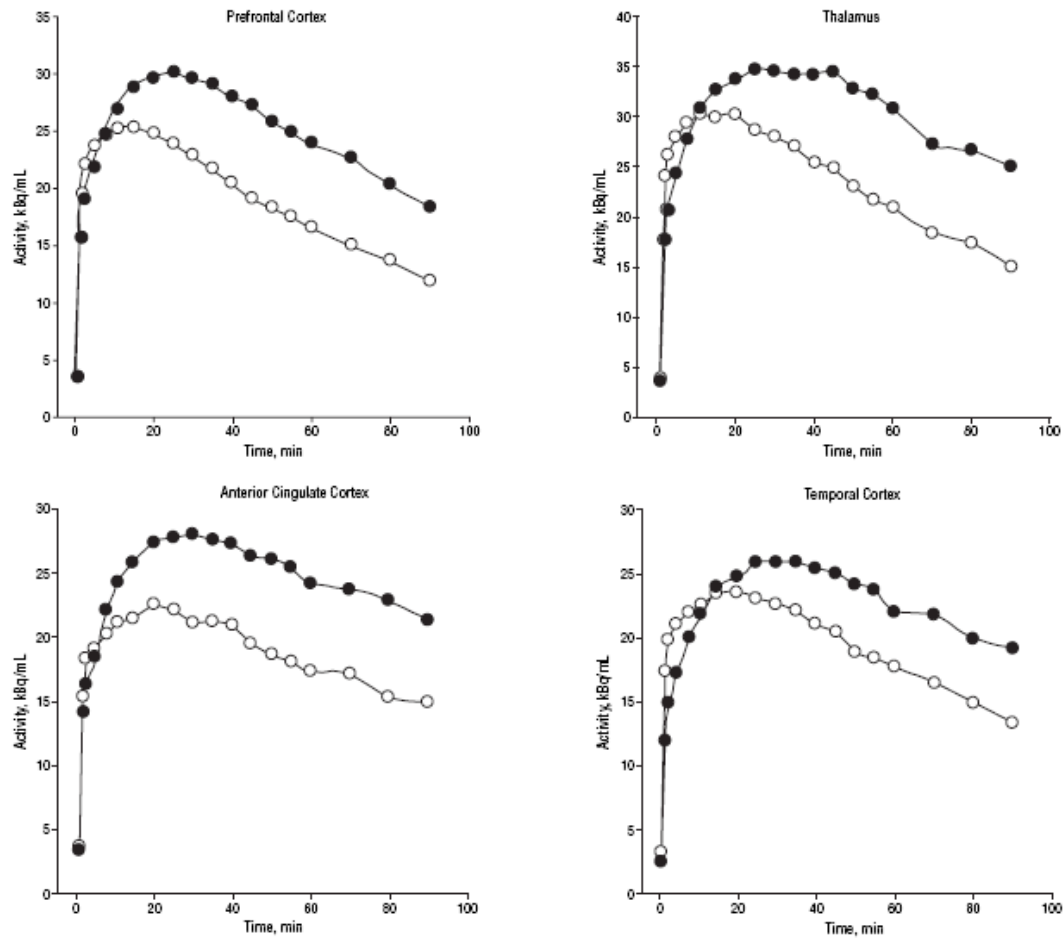


Abb. 16: Zeit-Aktivitäts-Kurven für $[^{11}\text{C}]\text{Harmin}^{67}$. Schwarze Kreise zeigen Patienten mit unbehandelter Depression, weiße Kreise stehen für die Kontrollpatienten

Von Blom et al.⁷⁰ wurden erste Versuche zur ^{18}F -Markierung von Harminderivaten durchgeführt. Dadurch wollte man einerseits die guten Eigenschaften des Harmins bezüglich Affinität, Selektivität und Reversibilität und andererseits gleichzeitig die Vorteile von Fluor-18 wie die längere Halbwertszeit und die geringere Reichweite in wässrigem Medium für die Bildgebung nutzen. Eine Modifikation des Carbolin-Grundgerüsts durch Poyethylenglykol-Einheiten (PEG) führte zu einer Erniedrigung der Lipophilie und damit zu einer Erhöhung der spezifischen Bindung, was mit Autoradiographien nachgewiesen werden konnte.

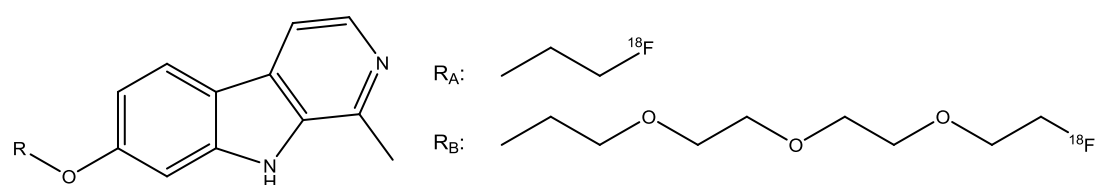


Abb. 17: Strukturen von [^{18}F]Fluorethylharmol (A) und [^{18}F]Fluor-PEG3-Harmol (B)

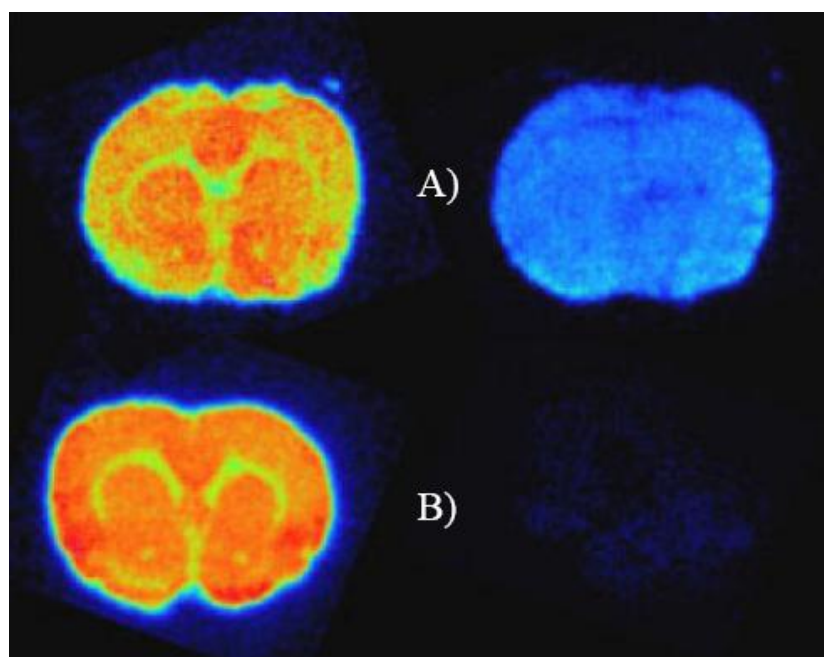


Abb. 18: Autoradiographien von [^{18}F]Fluorethylharmol (A) und [^{18}F]Fluor-PEG3-Harmol (B), links ist die totale Bindung zu sehen, rechts unspezifische Bindung⁷⁰

Weiterführende Arbeiten zeigten jedoch *in vivo* nur eine geringe Anreicherung der ^{18}F -fluorierten PEG-Harminderivate im Hirn. Auch im peripheren Gewebe wie Nieren oder Blase reicherten sich die PEG-Derivate nur sehr gering an⁷¹. Trotz höherer Lipophilie zeigte das Fluorethylharmol die besten Ergebnisse. Offenbar konnten die Derivate mit einer Verlängerung der Seitenkette schlechter ins Hirn aufgenommen werden. Beim Vergleich von [^{18}F]Fluorethylharmol und [^{11}C]Harmin zeigte sich, dass das fluorierte Derivat mit der längeren Seitenkette von der MAO_A schlechter als Substrat erkannt wurde. Dabei ist nicht geklärt, ob dies an der Einführung des Fluor-18 und der damit verbundenen Erhöhung der Polarität oder der Kettenverlängerung durch die ^{18}F -Fluorethylgruppe liegt. Eine ^{18}F -Fluormethylierung könnte diese Fragestellung klären.

1.5.2 Das serotonerge System

Serotonin (5-Hydroxytryptamin (5-HT)) ist ein biogenes Amin, das in Säugtieren sowohl als Neurotransmitter im Gehirn als auch als Hormon im peripheren Gewebe wirkt. Als Neurotransmitter ist Serotonin an der Regulierung zahlreicher sensorischer, motorischer und kortikaler Funktionen beteiligt. Aber auch im peripheren Gewebe reguliert es viele physiologische Prozesse wie Blutdruck, Zellaggregation, Muskelkontraktion und Phagozytose⁷². Daher wird eine Beteiligung des 5-HT-Systems auch bei zahlreichen neurodegenerativen und psychischen Erkrankungen angenommen. Dazu gehören Depressionen, Schizophrenie oder auch Alzheimer⁷³.

1.5.2.1 5-HT_{2A}-Rezeptoren

Die 5-HT-Rezeptorsuperfamilie besteht aus sieben verschiedenen Rezeptorfamilien 5-HT₁₋₇, die sich aus insgesamt 14 strukturell und pharmakologisch unterschiedlichen Rezeptoren zusammensetzen. Nur die 5-HT₃-Rezeptoren sind ligandengesteuerte Ionenkanäle, bei allen anderen handelt es sich um G-Protein gekoppelte Rezeptoren. Diese bestehen aus sieben hydrophoben, membranständigen α -Helices, die über jeweils drei intra- und drei extrazelluläre Schleifen verbunden sind, sowie einen extrazellulären N-Terminus und einen cytoplasmatischen C-Terminus^{72,74}.

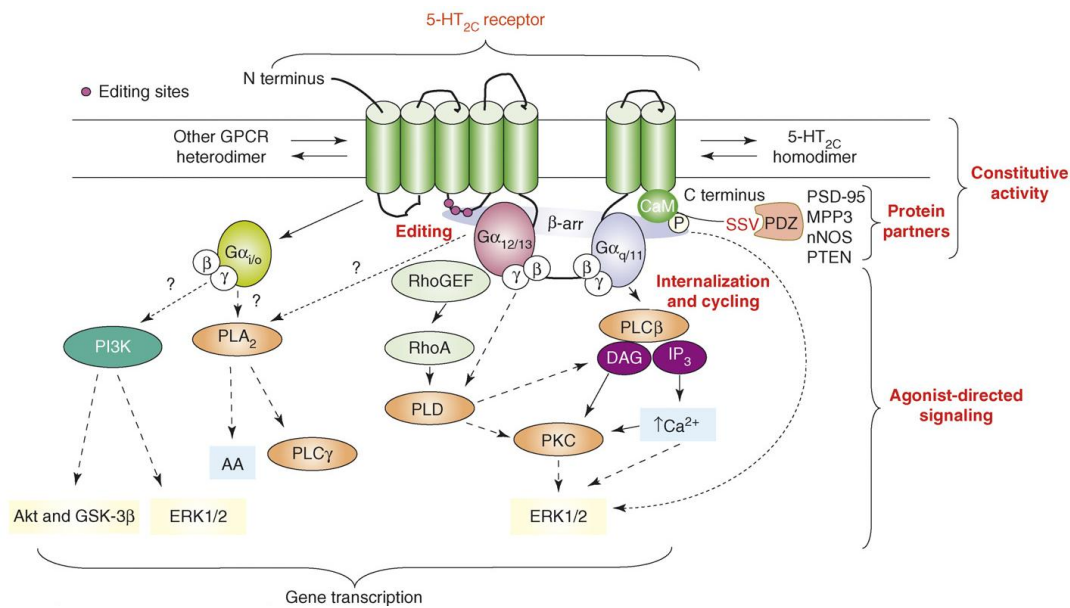


Abb. 19: Aufbau der 5-HT₂-Rezeptoren und weitere Signaltransduktion am Beispiel des 5-HT_{2C}-Rezeptors⁷⁵

Jeder Rezeptor-Subtyp hat ein charakteristisches Liganden-Bindungsprofil und eine charakteristische Auswirkung auf die weitere Signaltransduktion. So wirken 5-HT₁-Rezeptoren stimulierend und 5-HT₄-Rezeptoren hemmend auf die Adenylatcyclase, während Rezeptoren der 5-HT₂-Familie die vermehrte Freisetzung der Second Messenger Inositoltrisphosphat (IP₃) und Diacylglycerol (DAG) stimulieren. Infolgedessen kommt es zu einer Aktivierung der Phospholipase C und zu einer vermehrten Freisetzung von Ca²⁺-Ionen aus intrazellulären Speichern, was zu einer gesteigerten Erregbarkeit der Zelle führt⁷².

Die 5-HT₂-Rezeptorfamilie besteht aus drei verschiedenen Rezeptor-Subtypen 5-HT_{2A}, 5-HT_{2B} und 5-HT_{2C}, die sich im Ligandenbindungsprofil stark unterscheiden, aber alle eine geringe Affinität zu Serotonin im mikromolekularen Bereich haben. Die Affinitäten einiger Antagonisten zu den 3 5-HT₂-Rezeptoren sind Tabelle 7 zu entnehmen⁷⁴.

Tabelle 7: Affinitäten verschiedener 5-HT₂-Liganden an den Rezeptor-Subtypen

Ligand	pK _i (5-HT _{2A})	pK _i (5-HT _{2B})	pK _i (5-HT _{2C})
Spiperon	8,8	5,5	5,9
Ketanserin	8,9	5,4	7,0
MDL 100907	9,4	n.d.	6,9
Ritanserin	8,8	8,3	8,9
α-Methyl-5-HT	6,1	8,4	7,3
DOI	7,3	7,4	7,8
SB 242084	6,8	7,0	9,0
SB 206553	5,8	8,9	7,9

5-HT_{2A}-Rezeptoren sind ein besonders interessantes Target für biologische Fragestellungen. Sie sind morphologisch sehr gut untersucht und ihre Verteilung in den einzelnen Hirnregionen ist bekannt. So findet man die höchste Dichte dieses Rezeptortyps im Neocortex, mittlere Dichte in Putamen und Nucleus accumbens und die geringste Dichte in Thalamus,

Hippocampus und Cerebellum⁷⁶. Sie sind in eine Vielzahl physiologischer Prozesse wie zum Beispiel Gedächtnisbildung, Regulierung des Schlafzyklus, Appetit und Alterung involviert. Andererseits spielen sie auch bei zahlreichen neurologischen und psychischen Erkrankungen wie Alzheimer, Schizophrenie, Depressionen und Persönlichkeitsstörungen eine wichtige Rolle^{73,77}. Außerdem sind sie Angriffsorte zahlreicher halluzinogener Drogen wie LSD und einiger atypischer Antidepressiva, deren Wirkungsmechanismus weitgehend ungeklärt ist⁷⁴. Zuverlässige, reproduzierbare *in vivo*-Untersuchungen des Rezeptorstatus mit Hilfe selektiver, hochaffiner Liganden sind daher ein wichtiges Ziel aktueller Forschung, sowohl für die Diagnose als für das bessere Verständnis dieses Rezeptors.

1.5.2.2 Visualisierung der 5-HT_{2A}-Rezeptoren mittels PET

Für den 5-HT_{2A}-Rezeptor existieren momentan zwei etablierte, selektive Liganden für die PET, [¹¹C]MDL 100907 und [¹⁸F]Altanserin, sowie [³H]MDL 100907 für Autoradiographien. Ältere Liganden wie [³H]Ketanserin oder [³H]Mesulergin wurden schon Mitte der 1990er Jahre für ungeeignet erachtet, da sie über keine ausreichende Selektivität gegenüber 5-HT_{2C}- oder auch Dopamin D₂-Rezeptoren verfügen⁷². [¹¹C]MDL 100907 verfügt über hervorragende Eigenschaften wie eine subnanomolare Affinität ($K_i = 0,2 \text{ nmol/l}$) zum 5-HT_{2A}-Rezeptor, reversible Bindung mit einer maximalen Anreicherung im Hirn 15 Minuten nach Injektion und hohe Selektivität gegenüber anderen Rezeptor-Subtypen⁷⁸. Die Nachteile des [¹¹C]MDL 100907 sind seine langsamen Kinetiken, die kombiniert mit der kurzen Halbwertszeit des C-11 keine Messungen des Gleichgewichtszustandes zulassen. [¹⁸F]Altanserin ist ein hochaffiner ($K_i = 0,13 \text{ nmol/l}$) Ligand, der durch die Markierung mit Fluor-18 die Vorteile längerer Messzeiten nutzen kann. Allerdings hat [¹⁸F]Altanserin neben einer moderaten Affinität zu anderen 5-HT₂-Rezeptoren auch relativ hohe Affinitäten gegenüber D₂-Rezeptoren ($K_i = 62 \text{ nmol/l}$) und adrenergen α_1 -Rezeptoren ($K_i = 4,55 \text{ nmol/l}$), sodass diese bei PET-Studien zuvor geblockt werden müssen. Ein weiterer Nachteil ist der schnelle Metabolismus des

[¹⁸F]Altanserins, bei dem auch lipophile Metaboliten, die die Blut-Hirn-Schranke überqueren können, gebildet werden⁷⁹.

Eine Kombination der Eigenschaften von [¹¹C]MDL 100907 und [¹⁸F]Altanserin ist daher von besonderem Interesse. Eine Markierung mit [¹⁸F]F⁻ am MDL 100907 ist jedoch praktisch nicht durchführbar⁸⁰.

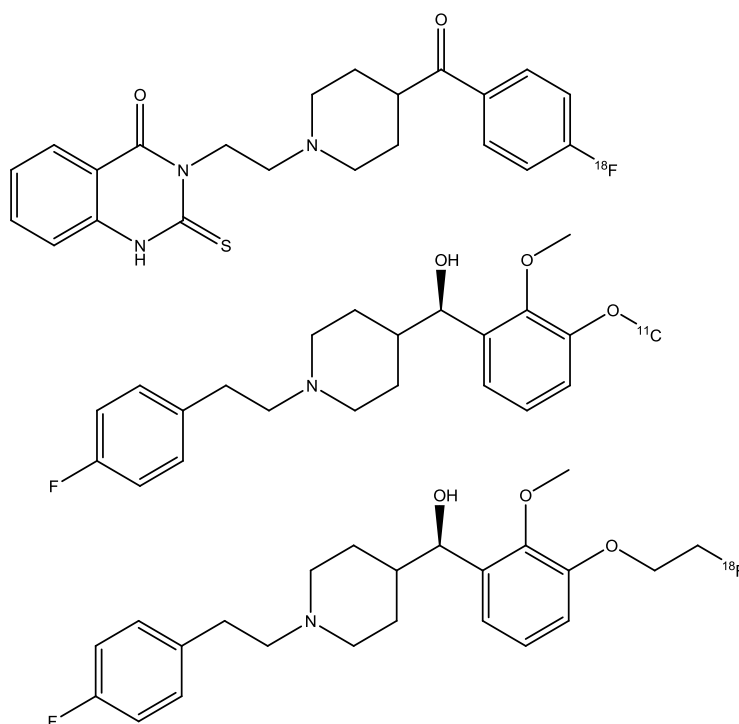


Abb. 20: Strukturen von [¹⁸F]Altanserin, [¹¹C]MDL 100907 und [¹⁸F]MH.MZ

Die Entwicklung eines anderen ¹⁸F-Analogons des MDL 100907, [¹⁸F]MH.MZ, konnte aber den erwünschten Fortschritt bringen. Es verfügt über hinreichend hohe Affinitäten ($K_i = 3 \pm 0,1$ nmol/l), hervorragende Selektivität, und schnelle Kinetiken mit maximaler Aufnahme ins Hirn fünf Minuten nach Injektion (siehe Abbildung 21). Zudem bildet es polare Metaboliten, die die Blut-Hirn-Schranke nicht überqueren können, und lässt sich mit hohen radiochemischen Ausbeuten und Reinheiten markieren^{81,82}.

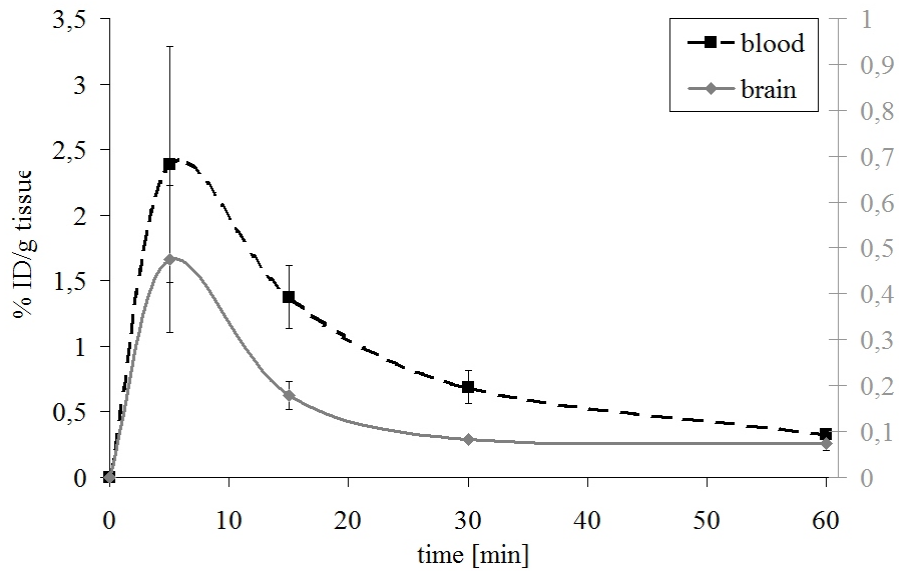


Abb. 21: *Ex vivo*-Biodistribution von $[^{18}\text{F}]\text{MH.MZ}^{82}$

In Abbildung 22 sind Autoradiographien an Rattenhirnschnitten von $[^{18}\text{F}]\text{Altanserin}$, $[^3\text{H}]\text{MDL 100907}$ und $[^{18}\text{F}]\text{MH.MZ}$ dargestellt. Daran lässt sich die gute Eignung des $[^{18}\text{F}]\text{MH.MZ}$ als hochaffiner, selektiver $5\text{-HT}_{2\text{A}}$ -Rezeptorligand eindeutig erkennen.

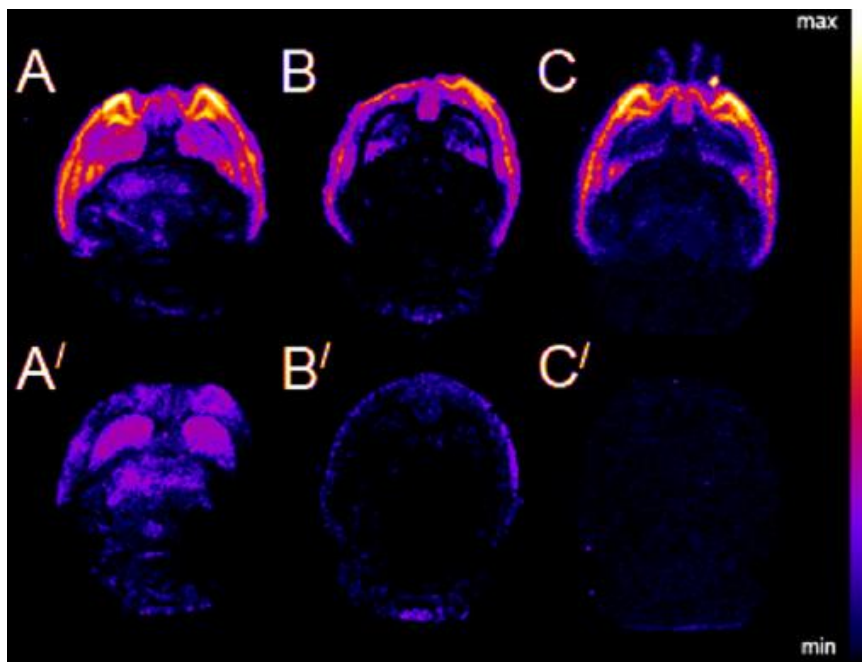


Abb. 22: Autoradiographien an $14\ \mu\text{m}$ Rattenhirnschnitten von $[^{18}\text{F}]\text{Altanserin}$ (A/A'), $[^3\text{H}]\text{MDL 100907}$ (B/B') und $[^{18}\text{F}]\text{MH.MZ}$ (C/C'), Abbildung von totaler (oben) und unspezifischer (unten) Bindung⁸¹

1.5.3 Das GABA-erge System

Die γ -Aminobuttersäure (GABA) ist der wichtigste inhibitorische Neurotransmitter im zentralen Nervensystem⁸³. GABA ist in 20-50% aller Synapsen im cerebralen Cortex vorhanden. Seine Wirkungen werden dabei von zwei verschiedenen Rezeptortypen vermittelt, den an Second Messenger gekoppelten GABA_B-Rezeptoren, die über GTP-bindende Proteine indirekt an Kalium- oder Calciumkanäle gebunden sind, und den GABA_A-Rezeptoren. Diese sind ligandengesteuerte Chloridionenkanäle, die im ZNS eine einzigartige Position innehaben. Sie sind der wichtigste Teil des inhibitorischen Neuroprocessings und an zahlreichen psychischen Erkrankungen beteiligt⁸⁴. Dazu gehören Angstzustände⁸⁵, Gemütsschwankungen⁸⁶, Schlaflosigkeit⁸⁷, Alkoholismus⁸⁸ und Epilepsie⁸⁹. Auch bei dem Krankheitsbild der Schizophrenie gibt es Hinweise auf eine Beteiligung der GABA_A-Rezeptoren⁹⁰.

1.5.3.1 Struktur und Pharmakologie der GABA_A-Rezeptoren

GABA_A-Rezeptoren gehören zu den ligandengesteuerten Ionenkanälen⁹¹. Diese verbinden die Ligandenbindungsstelle und die ionendurchlässige Pore in einem homo- oder heterooligomeren Komplex. Jede Untereinheit enthält eine lange extrazelluläre N-terminale Domäne, die die Ligandenbindungsstelle enthält, vier hydrophobe Transmembransegmente TM1 bis TM4 und einen kurzen, extrazellulären C-Terminus. In einigen Untereinheiten befindet sich zwischen TM3 und TM4 eine intrazelluläre Schleife, an der Phosphorylierung möglich ist⁸⁴.

GABA_A-Rezeptoren sind aus 5 Untereinheiten aufgebaut⁹², wobei insgesamt 17 verschiedene Untereinheiten nachgewiesen werden konnten⁹³. Anhand einer Homologie ihrer Aminosäuresequenzen von 30-40% wurden sie in α , β , γ , δ , ρ und ε -Untereinheiten eingeteilt. Bei höherer Homologie von 70-80% unterscheidet man nochmals in kleineren Gruppen. Insgesamt existieren bei Säugetieren also die Untereinheiten α 1-6, β 1-3, γ 1-3, δ , ε und ρ 1-3. Jede Untereinheit hat ein Molekulargewicht von 40-60 kDa, sodass für den pentameren Rezeptor eine Größe zwischen 240 bis 290 kDa resultiert. Obwohl alle Untereinheiten außer ε Homopentamere ausbilden können, ist

dies nur bei den ρ -Untereinheiten der Fall. Üblicherweise bestehen GABA_A-Rezeptoren aus drei verschiedenen Untereinheiten, wobei die Kombinationen aus 2 α -Untereinheiten, 2 β -Untereinheiten und einer γ -Untereinheit sowie 1 β -Untereinheit und 2 γ -Untereinheiten am häufigsten vorkommen^{84,94}.

Viele Medikamente entfalten ihre Wirkung hauptsächlich bzw. ausschließlich über GABA_A-Rezeptoren. Neben der γ -Aminobuttersäure sind das Benzodiazepine, Barbiturate und sedative Steroide, Anästhetika und Konvulantien⁹⁵. Sie können an sechs verschiedene Bindungsstellen binden, die allosterisch miteinander wechselwirken. Das pharmakologische Profil der GABA_A-Rezeptoren ist dabei durch ihre jeweilige Untereinheiten-Zusammensetzung bedingt. So zeigen GABA_A-Rezeptoren zum Beispiel nur dann eine Sensitivität gegenüber Benzodiazepinen, wenn eine γ -Untereinheit vorhanden ist⁸⁴. Der Aufbau von GABA_A-Rezeptoren und die verschiedenen Bindungsstellen sind in Abbildung 23 zu sehen.

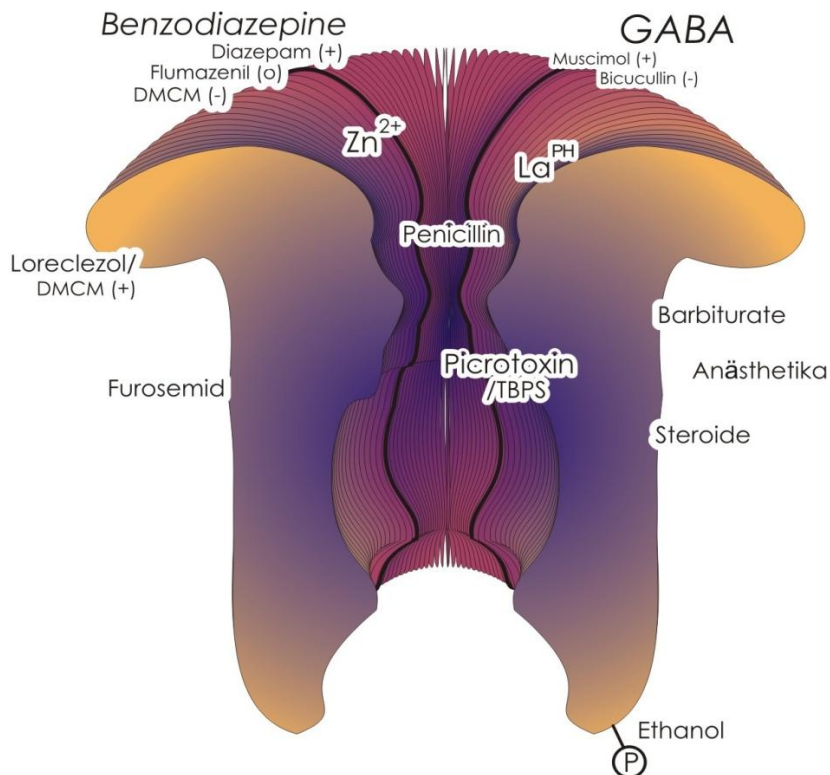


Abb. 23: Aufbau von GABA_A-Rezeptoren und Liganden-Bindungsstellen⁸⁴

Typische Liganden der GABA-Bindungsstelle sind neben GABA selbst die Agonisten Muscimol und Isoguvacin und der Inhibitor Bicucullin⁹⁶.

1.5.3.2 Benzodiazepine

Benzodiazepine sind für die Behandlung zahlreicher psychischer Erkrankungen von großer klinischer Bedeutung. Typische Agonisten wie Diazepam oder Flunitrazepam wirken angstlösend, anti-krampflösend und beruhigend. Die Bindung von GABA und Benzodiazepinen ist nicht kompetitiv, sondern erfolgt allosterisch an verschiedenen Bindungsstellen des Rezeptors. Eine alleinige Bindung von Benzodiazepinen in Abwesenheit von GABA hat keinen Einfluss auf die Chloridionenkanäle. Bei der gleichzeitigen Bindung von Benzodiazepinen und GABA kommt es jedoch zu einer Veränderung der Tertiärstruktur der Kanalpore, in deren Folge sich die Öffnungsfrequenz des Ionenkanals stark erhöht. Der intrazelluläre Anstieg der Cl⁻-Konzentration führt zu einer Hyperpolarisation der Zellmembran und damit zu einer Abnahme der Erregbarkeit^{84,96}.

Die Benzodiazepin-Bindungsstelle ist die wohl komplexeste aller Bindungsstellen der GABA_A-Rezeptoren. Neben den klassischen Agonisten, die die Wirkung der γ -Aminobuttersäure verstärken und die auch als positive Modulatoren bezeichnet werden, existieren noch zahlreiche weitere pharmakologische Profile für Liganden dieser Bindungsstellen⁸⁴. Negative Modulatoren, sogenannte inverse Agonisten, reduzieren die Wirkung der γ -Aminobuttersäure und wirken daher angststeigernd und krampflösend. Prototypen dieser Liganden sind Ro15-4513 und verschiedene β -Carboline⁹⁷. Antagonisten konkurrieren mit Agonisten und inversen Agonisten um die Bindungsstelle, haben aber selbst keine intrinsische modulatorische Wirkung auf den Rezeptor. Sie werden deshalb auch als Null-Modulatoren bezeichnet. Ein Beispiel hierfür ist das Flumazenil⁹⁸. Zusätzlich existieren auch partielle Agonisten und partielle inverse Agonisten, die ihre Wirkung nur an speziellen Rezeptor-Untereinheiten entwickeln. So wurde zum Beispiel Ro15-4513 zwar als inverser Agonist eingeordnet, wirkt aber an $\alpha 4$ - und $\alpha 6$ -Untereinheiten als positiver Modulator⁹⁹.

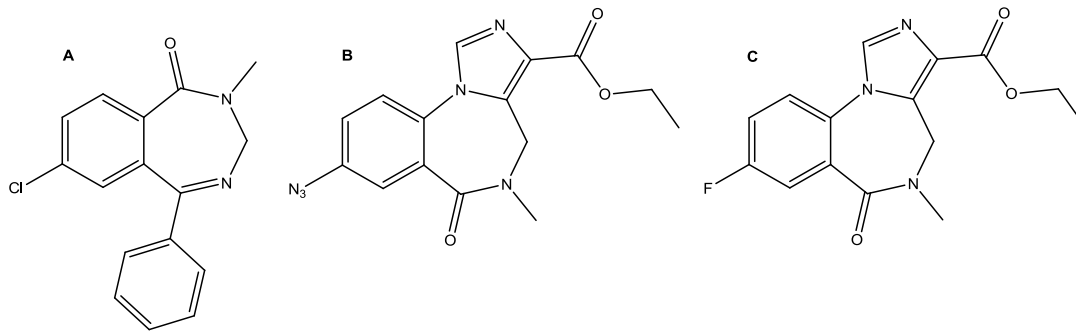


Abb. 24: Struktur des Agonisten Diazepam (A), des inversen Agonisten Ro15-4513 (B) und des Antagonisten Flumazenil (C)

Die Wirkung von Benzodiazepinen auf GABA_A -Rezeptoren ist immer bidirektional. Zum einen erhöht die Bindung von Benzodiazepinen die Affinität zu γ -Aminobuttersäure, gleichzeitig steigert die Bindung von GABA auch die Affinität des Rezeptors zu Agonisten und senkt die Affinität für inverse Agonisten. Dieses Phänomen wird auch als GABA-Shift bezeichnet. Die Bindung von Antagonisten wird nicht beeinflusst¹⁰⁰.

Studien haben ergeben, dass innerhalb eines GABA_A -Rezeptors mehrere Benzodiazepin-Bindungsstellen vorhanden sein müssen, die man in Bindungsstellen mit hoher und mit niedriger Affinität unterteilen kann. Nur GABA_A -Rezeptoren der Struktur $\alpha_i\beta_j\gamma_k$ zeigen eine Sensitivität gegenüber Benzodiazepinen. Besonders hohe Affinitäten sind für $\alpha 1$ und $\gamma 2$ beschrieben. Bei $\alpha 2$, $\alpha 3$, $\gamma 1$ oder $\gamma 3$ sinkt die Affinität drastisch⁸⁴.

1.5.3.3 Flumazenil

Die Bestimmung der Rezeptorverfügbarkeit der GABA_A -Rezeptoren *in vivo* mittels bildgebender Verfahren wie PET oder SPECT hat seit der Entdeckung einer reduzierten Rezeptordichte in bestimmten Hirnregionen bei Epileptikern an Bedeutung gewonnen. So erhofft man sich durch den Einsatz radiomarkierter Benzodiazepine neue Erkenntnisse über die Rolle der GABA-Rezeptoren bei Epilepsie und die Wirkung neuer Medikamente. 1984 wurde erstmals [¹¹C]Flumazenil vorgestellt, dass alle Anforderungen an einen guten PET-Liganden erfüllt¹⁰¹: Es hat eine hohe Affinität ($K_i = 0,5 \pm 0,2 \text{ nmol/l}$) zur Benzodiazepinbindungsstelle, kann aufgrund seiner hohen Lipophilie die Blut-Hirn-Schranke penetrieren, zeigt reversible Kinetiken und ein hohes Maß an spezifischer Bindung und wird im Hirn nicht

metabolisiert. Gleichzeitig wird es in der Leber sehr rasch abgebaut und seine Metaboliten sind zu polar, um die Blut-Hirn-Schranke zu überqueren¹⁰². Der Ligand etablierte sich aufgrund seiner hervorragenden pharmakologischen Eigenschaften sehr schnell und wird auch heute noch für die PET genutzt.

Die relativ kurze Halbwertszeit von Kohlenstoff-11 von 20 Minuten limitiert den Nutzen des [¹¹C]Flumazenils jedoch auf PET-Zentren mit eigenem Zyklotron. Daher wurde nach Möglichkeiten gesucht, geeignete ¹⁸F-fluorierte Flumazenil-Derivate darzustellen und sich die längere Halbwertszeit des Fluor-18 von 110 Minuten zunutze zu machen, ohne Einbußen bei Affinität und Selektivität des Flumazenils zu erzielen. Eine Markierung an der 2'-Position des Flumazenils wurde dabei anfangs nicht angestrebt, da man eine Markierung am aromatischen System mit guten radiochemischen Ausbeuten und hoher spezifischer Aktivität nicht für realisierbar hielt. Erst 2004 gelang eine Markierung mit [¹⁸F]F⁻ durch Isotopenaustausch und 2005 wurde die Markierung von Nitromazenil mit [¹⁸F]F⁻ veröffentlicht^{103,104}. Autoradiographien und PET-Studien in Affen zeigen sehr gute pharmakologische Eigenschaften des 2'-[¹⁸F]Flumazenils¹⁰⁴. Ausbeuten und spezifische Aktivität sind bei dieser Durchführung jedoch gering.

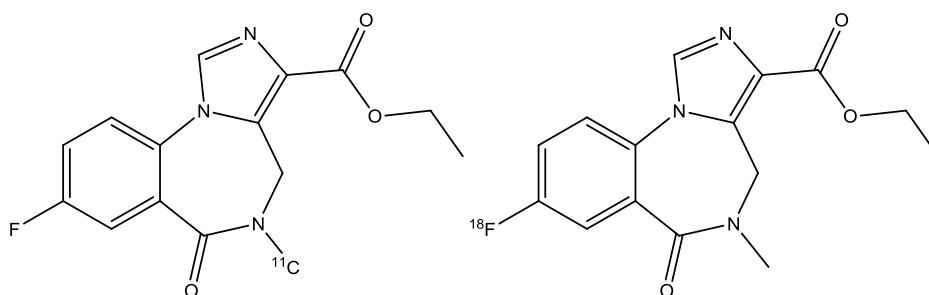


Abb. 25: Strukturen von [¹¹C]Flumazenil und [¹⁸F]Flumazenil

Vorher konzentrierte man sich auf Fluoralkylierungen von Flumazenil. Dies ist an zwei verschiedenen Positionen möglich, wobei sich die Einführung einer Fluorethylgruppe an der Esterfunktion zum 2-[¹⁸F]Fluorethylflumazenil aufgrund seines schnellen Metabolismus als ungeeignet erwies.

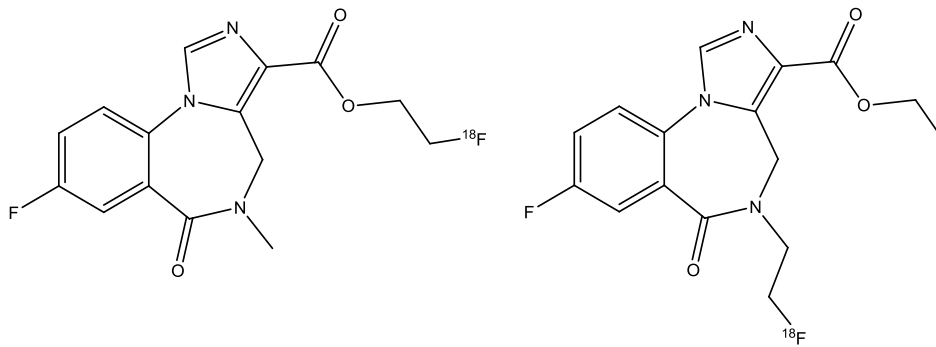


Abb. 26: Strukturen von 2-[¹⁸F]Fluorethylflumazenil und 5-(2'-[¹⁸F]Fluorethyl)flumazenil ([¹⁸F]FEF)

Die zweite Möglichkeit besteht in der Einführung einer Fluorethylgruppe am Stickstoff analog zur Markierung mit [¹¹C]Methyliodid zum 5-(2'-[¹⁸F]Fluorethyl)flumazenil ([¹⁸F]FEF). [¹⁸F]FEF lässt sich mit hohen radiochemischen Reinheiten und spezifischen Aktivitäten größer als 3,7 GBq/μmol markieren¹⁰⁵. Obwohl FEF *in vitro* eine sehr hohe Affinität ($K_i = 5,2 \pm 1,5$ nmol/l) zur Benzodiazepinbindungsstelle hat, liegt seine Affinität deutlich niedriger als die von Flumazenil ($K_i = 0,5 \pm 0,2$ nmol/l)¹⁰⁶.

Bei Humanversuchen mit 100-280 MBq [¹⁸F]FEF konnte die für Flumazenil bekannte Verteilung in einzelnen Hirnregionen mit der stärksten Anreicherung im occipitalen Cortex und der geringsten Anreicherung im Thalamus bestätigt werden. Der Pons diente dabei als rezeptorfrem Referenzregion. Im Cerebellum konnte eine gegenüber [¹¹C]Flumazenil verstärkte Anreicherung beobachtet werden, was mit der höheren Affinität von FEF zu α6-Untereinheiten zu erklären ist.

[¹⁸F]FEF verfügt über sehr schnelle on-off-Kinetiken. Die maximale Akkumulierung der Radioaktivität wurde nach 4 ± 2 Minuten beobachtet, nach 10 Minuten bzw. 30 Minuten konnten nur noch 50% bzw. 20% der maximalen Aktivität gemessen werden.

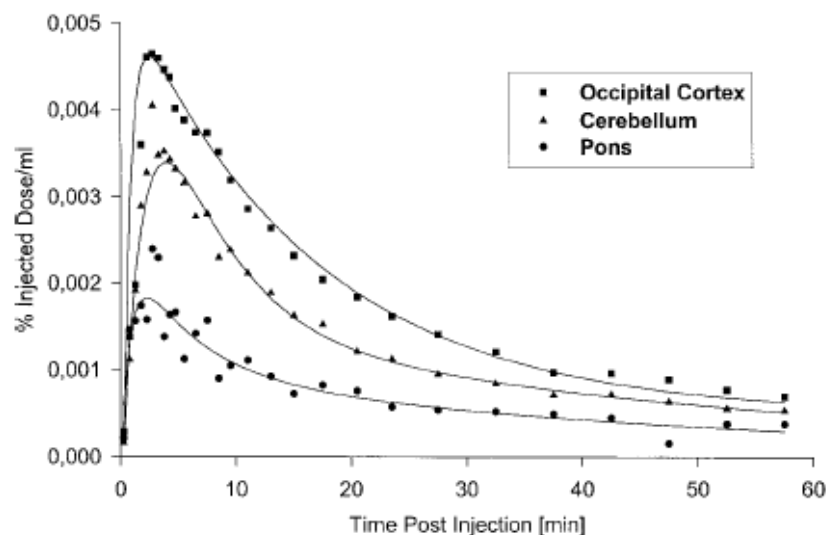


Abb. 27: Zeit-Aktivitäts-Kurven für N - $[^{18}\text{F}]$ Fluorethylflumazenil in verschiedenen Hirnregionen¹⁰⁶

Metabolismusstudien mit Blutplasmaproben zeigten außerdem den schnellen Metabolismus des $[^{18}\text{F}]$ FEF. Nach fünf Minuten machten die polaren Metaboliten bereits 50-60% der Gesamtaktivität aus, nach 20 Minuten waren es bereits 80-90%.

Im direkten Vergleich zeigt $[^{11}\text{C}]$ Flumazenil deutliche Vorteile wie höhere Affinität, langsameren Metabolismus und langsamere Kinetiken gegenüber N - $[^{18}\text{F}]$ Fluorethylflumazenil, wie aus Abbildung 28 ersichtlich ist.

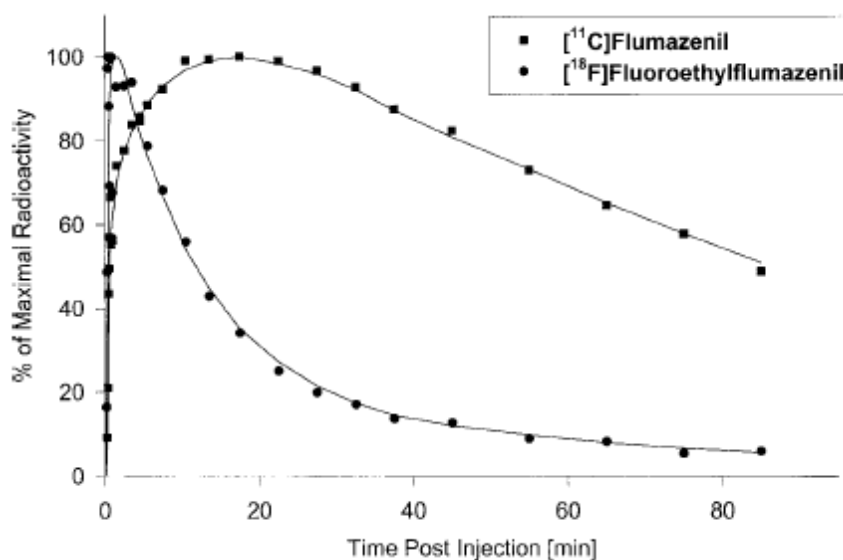


Abb. 28: Zeit-Aktivitäts-Kurven für $[^{11}\text{C}]$ Flumazenil und $[^{18}\text{F}]$ Fluorethylflumazenil im gleichen Patienten¹⁰⁶

Trotzdem legen diese Ergebnisse einen Einsatz von 5-(2'-[¹⁸F]Fluor-ethyl)flumazenil als Tracer für die quantitative Bestimmung der GABA_A-Rezeptor-Verfügbarkeit nahe, da die längere Halbwertszeit des Fluor-18 und die effektivere Radiosynthese mit besseren Ausbeuten und höheren spezifischen Aktivitäten einen großen Vorteil gegenüber [¹¹C]Flumazenil und [¹⁸F]Flumazenil darstellen¹⁰⁶.

2 Problemstellung

Die Bedeutung von *in vivo*-Diagnoseverfahren in der medizinischen Bildgebung nimmt wegen der gestiegenen Ansprüche der modernen Medizin immer mehr zu. Die Positronen-Emissions-Tomographie ist dabei von besonderem Interesse. Sie ermöglicht neben der Diagnose bei zahlreichen Erkrankungen auch die Prognose, die Therapiekontrolle oder die Früherkennung. Besonders auf dem Gebiet der Hirnforschung eröffnet die PET die Möglichkeit, durch Radioliganden mit hoher Affinität und Selektivität zum besseren Verständnis zahlreicher psychischer und neurodegenerativer Erkrankungen beizutragen.

Das Isotop der Wahl ist dabei in vielen Fällen immer noch Kohlenstoff-11, da es sich durch die Verwendung von [^{11}C]Methyljodid leicht einführen lässt und dadurch die Darstellung von Isotopentracern gelingt. Aufgrund seiner geringen Halbwertszeit von 20,3 Minuten ist es jedoch insbesondere für Messungen mit längerer biologischer Halbwertszeit sowie Messungen von Gleichgewichtszuständen oder Diffusionsprozessen ungeeignet. Das Isotop Fluor-18 weist sehr gute Eigenschaften als PET-Nuklid auf, da es zum einen eine längere Halbwertszeit von 109 Minuten hat, und zum anderen seine maximale β^+ -Energie bei 636 keV liegt. Ein Ersatz des Kohlenstoff-11 durch Fluor-18 wirkt sich positiv auf die Messdauer und die Auflösung der PET-Untersuchung sowie auf die Strahlenbelastung des Patienten aus.

Der einfachste Weg, Fluor-18 in ein Biomolekül einzuführen, ist in vielen Fällen die ^{18}F -Fluorethylierung mit [^{18}F]Fluorethyltosylat, insbesondere bei ZNS-Liganden. Da die ^{18}F -Fluorethylgruppe größer ist als die ^{11}C -Methylgruppe und die chemischen und biologischen Eigenschaften des Moleküls verändert, kann dies zu einer Verschlechterung von Affinität und Selektivität des Radiotracers führen. Da die ^{18}F -Fluormethylgruppe sich hinsichtlich ihrer Größe nur unwesentlich von der ^{11}C -Methylgruppe unterscheidet, ist ihr Einsatz für die Markierung von ZNS-Tracern von großem Interesse. Allerdings zeichnet sich die ^{18}F -Fluormethylgruppe *in vivo* nur durch geringe metabolische Stabilität aus. Die Zersetzung der Radioliganden kann aber

durch Substitution des Wasserstoffs in der ^{18}F -Fluormethylgruppe durch Deuterium deutlich vermindert werden.

Ziel dieser Arbeit ist es, die ^{18}F -Fluormethylierung hinsichtlich ihres Nutzens für die Markierung verschiedener ^{18}F -fluorierter Neuroliganden zu untersuchen und ihre bisher wenig untersuchte Eignung für die Synthese hochaffiner, selektiver und stabiler ZNS-Liganden mit der ^{18}F -Fluorethylierung zu vergleichen. Dies sollte explizit an Liganden untersucht werden, bei denen die ^{18}F -Fluorethylierung zu einer Verschlechterung der physiologischen Eigenschaften gegenüber dem ^{11}C -methylierten Analogon führte. Dadurch sollte geklärt werden, ob die ^{18}F -Fluormethylierung in diesem Fall zu besseren physiologischen Eigenschaften als die ^{18}F -Fluorethylierung führt.

Daher sollte zuerst ein geeignetes Synthons für die ^{18}F -Fluormethylierung hergestellt und seine Synthese optimiert werden. Dafür wurde [^{18}F]Fluormethyltosylat als prosthetische Gruppe ausgewählt. Neben der Synthese des Markierungsvorläufers Bis(tosyloxy)methan und der inaktiven Referenzverbindung sollte vor allem die Radiosynthese hinsichtlich der Reaktionsparameter

- Lösungsmittel,
- Basen-Phasentransferkatalysator-System,
- Reaktionsdauer und
- Reproduzierbarkeit

optimiert werden. Anschließend sollte eine geeignete HPLC-Methode zur Abtrennung des Synthons entwickelt werden. Anhand der optimierten Bedingungen sollte für weitere Anwendungen das [^{18}F]Fluor-[*dideutero*]methyltosylat synthetisiert werden, da nur bei den dideutერიerten Radioliganden die erforderliche *in vivo*-Stabilität zu erwarten ist.

Die ^{18}F -Fluormethylierung sollte anschließend an Natriumphenolat als Modellverbindung für die Substitution am Sauerstoff getestet und optimiert werden. Auch hier sollte die Radiosynthese hinsichtlich Lösungsmittel, Basenzusatz, Temperatur und Reaktionsdauer optimiert werden.

Anschließend sollten die gewonnenen Erkenntnisse auf die Markierung von Neuroliganden, die bereits ^{11}C -methyliert und ^{18}F -fluorethyliert wurden, übertragen werden, um den Einfluss der ^{18}F -Fluormethylierung auf die physiologischen Eigenschaften der ZNS-Liganden zu untersuchen.

Es wurden drei verschiedene Zielverbindungen ausgesucht, die mit dem ^{18}F -Fluor- $[di\text{-deutero}]$ methyltosylat markiert werden und hinsichtlich ihrer Stabilität *ex vivo* und *in vivo* untersucht werden sollten. Ausgesucht wurden das auf dem selektiven MAO_A-Liganden Harmin beruhende ^{18}F -Fluor- $[d_2]$ methylharmol, das auf dem hochaffinen 5-HT_{2A}-Liganden MDL 100907 beruhende ^{18}F -Fluor- $[d_2]$ methyl-MH.MZ und das auf dem GABA_A-Liganden Flumazenil beruhende N- ^{18}F -Fluor- $[d_2]$ methylflumazenil. Die Strukturen dieser Verbindungen sind in Abbildung 29 dargestellt.

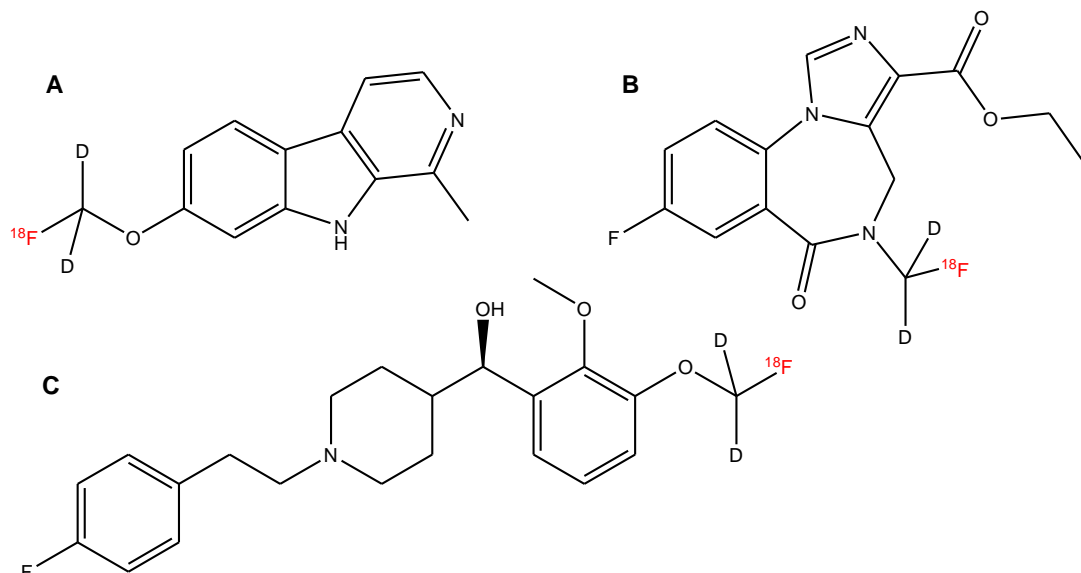


Abb. 29: Zielstrukturen ^{18}F -Fluor- $[di\text{-deutero}]$ methylharmol (A), N- ^{18}F -Fluor- $[di\text{-deutero}]$ methylflumazenil (B) und ^{18}F -Fluor- $[di\text{-deutero}]$ methyl-MH.MZ (C)

Für alle Zielverbindungen sollten die inaktiven Referenzverbindungen und für das d_2 - ^{18}F FM-MH.MZ auch der Markierungsvorläufer synthetisiert werden.

Die Radiosynthese der Zielverbindungen sollte optimiert und eine HPLC-Methode zur Abtrennung von Edukten und Nebenprodukten entwickelt werden. Die Stabilität der Verbindungen sollte zuerst durch Serumstudien in fetalem Kälberserum bestimmt werden.

Anschließend sollten die drei Verbindungen *in vivo* evaluiert werden. Dabei sollten μ PET-Experimente besonders den direkten Vergleich mit den ^{18}F -fluorethylierten Analoga ermöglichen. Dadurch sollte untersucht werden, ob die ^{18}F -Fluormethylierung eine geeignete Strategie für die Synthese von ZNS-Liganden sein kann, die die hohe Affinität der ^{11}C -markierten Verbindungen mit den Vorteilen des Nuklids Fluor-18 vereinen.

3 Ergebnisse und Diskussion

3.1 Synthese der Markierungsvorläufer und der inaktiven Referenzverbindungen

3.1.1 Synthese des Bis(tosyloxy)methans, des Bis(tosyloxy)-[di-deutero]methans und des Fluormethyltosylats

Für die Darstellung der Synthons Bis(tosyloxy)methan und Bis(tosyloxy)-[di-deutero]methan wurde von kommerziell erhältlichem Diiodmethan bzw. Diiod-[di-deutero]methan ausgegangen, bei dem die Tosylgruppen durch Umsetzung mit zwei Äquivalenten Silbertosylat eingeführt wurden¹⁰⁷. Als Lösungsmittel wurde Acetonitril verwendet, da das Silbertosylat darin sehr gut löslich ist. Dadurch konnte die Reaktion unter relativ milden Reaktionsbedingungen mit guten Ausbeuten durchgeführt werden. Triebkraft der Reaktion ist die Bildung von Silberiodid, das in Acetonitril unlöslich ist und als gelber Feststoff ausfällt.

Für die Darstellung des Bis(tosyloxy)methans (**2a**) wurde das Silberiodid durch Filtration entfernt, das Filtrat im Vakuum eingedunstet und das Rohprodukt durch anschließende Chromatographie an Kieselgel aufgereinigt. So konnten 69% des reinen Produktes erhalten werden.

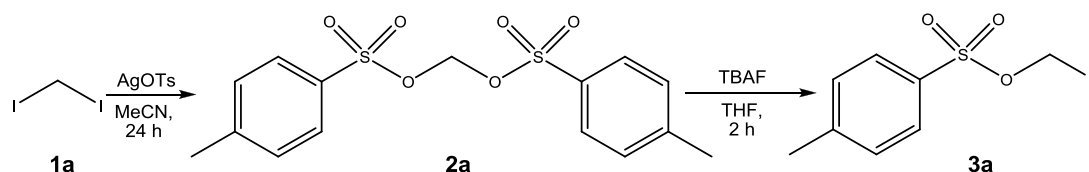


Abb. 30: Synthese des Bis(tosyloxy)methans und des Fluormethyltosylats

Bei der Aufarbeitung des Bis(tosyloxy)-[di-deutero]methans (**2b**) wurde auf Säulenchromatographie verzichtet. Eventuelle Reste des Diiod-[di-deutero]methans konnten im Hochvakuum entfernt werden. Löslichkeitsuntersuchungen mit Bis(tosyloxy)methan und Silbertosylat hatten ergeben, dass sich Bis(tosyloxy)methan gut in warmem Chloroform löst, während Silbertosylat darin unlöslich ist. Um einen eventuellen Isotopenaustausch auszuschließen, wurde die Aufreinigung des Bis(tosyloxy)-[di-deutero]methans in warmem Deutero-Chloroform durchgeführt. Die

Halbwertszeit für den Isotopenaustausch von Wasserstoff und Deuterium in organischen Lösungsmitteln liegt zwar bei einigen Stunden, kann jedoch durch Temperatur- und pH-Einflüsse beeinflusst werden¹⁰⁸. Nach der Filtration und dem Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum konnte das Produkt mit einer Ausbeute von 76% erhalten werden. Ein Isotopenaustausch des Deuteriums gegen Wasserstoff fand nicht statt. Die Analyse der Produktreinheit durch Massenspektrometrie ließ eine hohe chemische Reinheit und eine vollständige Isotopenreinheit erkennen.

Die bessere Ausbeute der Bis(tosyloxy)-[*di-deutero*]methan-Synthese kann zwei Ursachen haben. Zum einen konnte ein Teil des Bis(tosyloxy)methans nicht wieder vom Silicagel eluiert werden. Ursache dafür könnte die schlechte Löslichkeit des Produkts in weniger polaren organischen Lösungsmitteln sein. Zum anderen sind die höheren Ausbeuten auch auf die erhöhte Stabilität des Diiod-[*di-deutero*]methans zurückzuführen.

Das Fluormethyltosylat (**3a**) wurde ausgehend von (**2a**) durch Umsetzung mit Tetrabutylammoniumfluorid (TBAF) in trockenem Acetonitril in zweistündiger Reaktionszeit erhalten. Das Reaktionsschema beider Schritte ausgehend vom Diiodmethan ist in Abbildung 30 zu sehen. Nach dem Entfernen des Lösungsmittels konnten das gewünschte Produkt und ein Nebenprodukt durch Chromatographie an Kieselgel abgetrennt werden. Das Nebenprodukt konnte durch ¹H-NMR als Tosylfluorid identifiziert werden. In trockenen dipolaren, aprotischen Lösungsmitteln ist das Fluorid-Anion, wie es bei der Verwendung von TBAF vorliegt, so reaktiv, dass es an Tosylaten sowohl am Kohlenstoff als auch am Schwefel nukleophil angreifen kann.

Da Tosylfluorid auch bei der Synthese mit [¹⁸F]F⁻ gebildet wird, wurde es ebenso wie das Fluormethyltosylat und das Bis(tosyloxy)methan per analytischer HPLC untersucht und seine Retentionszeiten bestimmt.

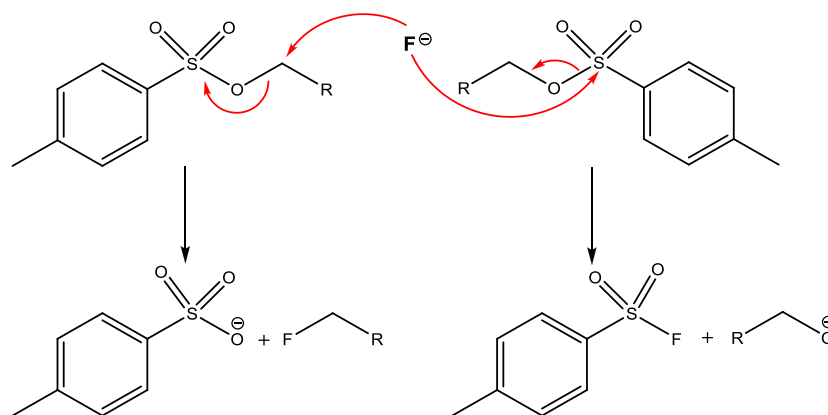


Abb. 31: Bildung des Fluormethyltosylats und des Nebenprodukts Tosylfluorid

3.1.2 Synthese des Tetrabutylammoniumbicarbonats

Tetrabutylammoniumbicarbonat (TBABC) ist eine milde Base, die den Einsatz von Kryptanden während der ^{18}F -Fluorierung mit $[\text{}^{18}\text{F}]\text{F}^-$ überflüssig macht, da sie auch gleichzeitig als Phasentransferkatalysator dient.

TBABC wurde ausgehend von Tetrabutylammoniumhydroxid und CO_2 hergestellt. Dazu wurde über 24 Stunden bei Raumtemperatur CO_2 in eine 40%ige methanolische Lösung des Tetrabutylammoniumhydroxids eingeleitet.

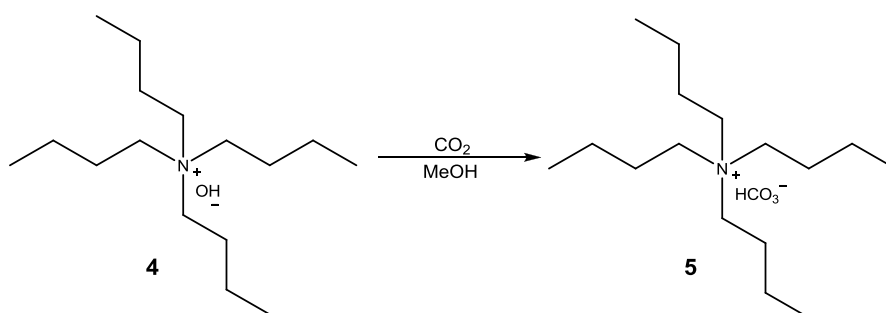


Abb. 32: Synthese des Tetrabutylammoniumhydrogencarbonats

Das Lösungsmittel wurde anschließend im Vakuum entfernt. Da das TBABC sehr hygroskopisch ist, musste es über mehrere Tage im Hochvakuum getrocknet werden. Es wurde in quantitativer Ausbeute und mit sehr hoher chemischer Reinheit erhalten.

3.1.3 Synthese des 3-((1-(4-Fluorphenethyl)piperidin-4-yl)(hydroxymethyl)-2-methoxyphenols

Das 3-((1-(4-Fluorphenethyl)piperidin-4-yl)(hydroxymethyl)-2-methoxyphenol wurde wie von Ullrich et al.¹⁰⁹ beschrieben dargestellt. Das komplette Syntheschema des Markierungsvorläufers ist Abbildung 33 zu entnehmen.

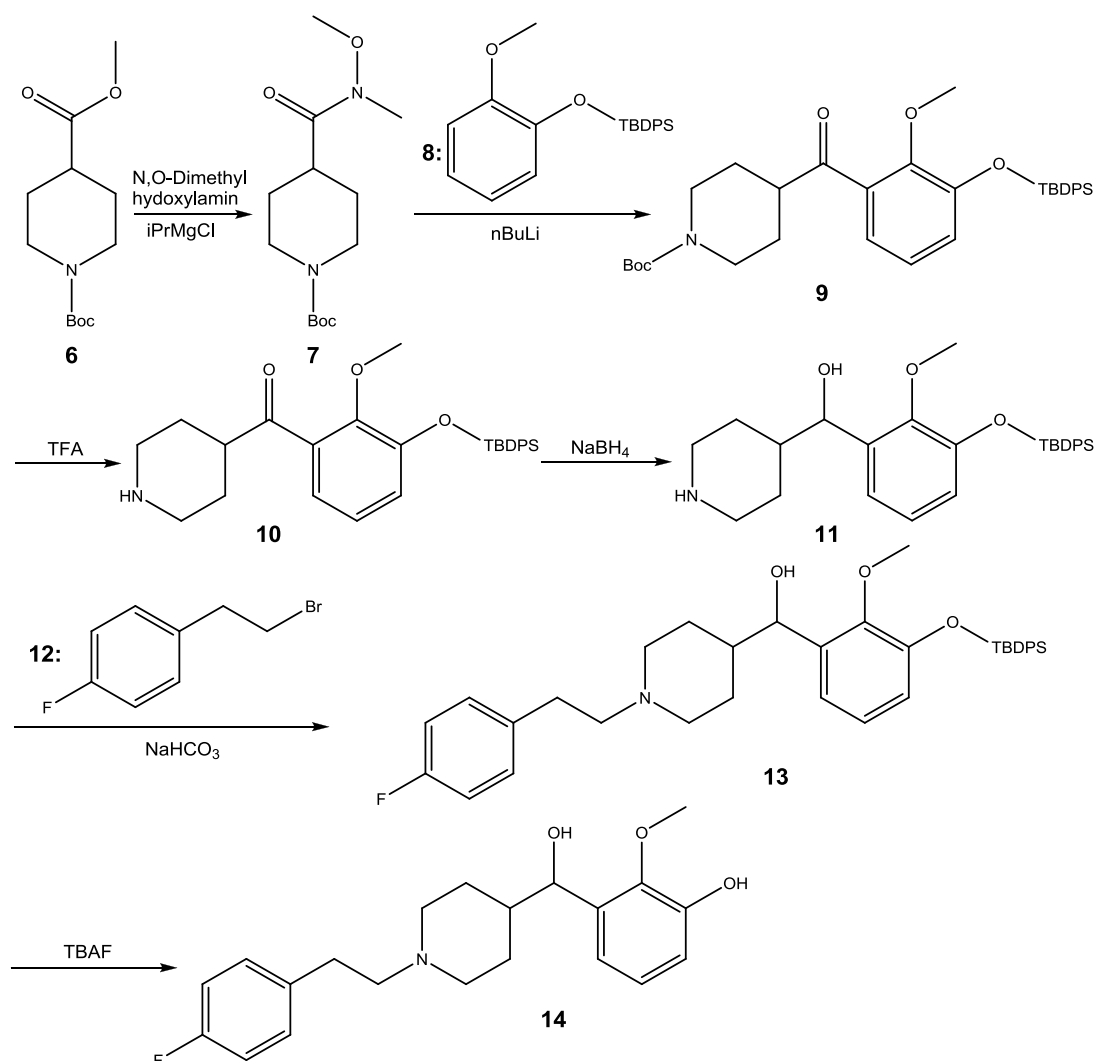


Abb. 33: Synthese des 3-((1-(4-Fluorphenethyl)piperidin-4-yl)(hydroxymethyl)-2-methoxyphenols nach Ullrich et al.¹⁰⁹

Das ausgehend vom Boc-geschützten Isonipecotat (**6**) durch Umsetzung mit *N,O*-Dimethylhydroxylammoniumhydrochlorid erhaltene Weinrebamid (**7**) wurde mit TBDPS-geschütztem Guajacol (**8**) gekoppelt. Dafür wurde das TBDPS-geschützte Guajacol (**8**) zuerst in ortho-Position mit *n*-Butyllithium lithiiert und anschließend bei -50 °C mit dem *N-tert*-Butoxycarbonyl-*N*-methyl-methoxyisonipecotamid (**7**) zum Kopplungsprodukt (**9**) umgesetzt.

Die Boc-Schutzgruppe am Stickstoff wurde mit Trifluoressigsäure (TFA) abgespalten. Nach der vollständigen Entfernung der TFA und Extraktion des Produktes mit Ammoniak und Chloroform wurde die Ketogruppe mit Natriumborhydrid zum sekundären Alkohol reduziert. Auf eine anschließende Trennung der zwei Enantiomere (**11**) durch fraktionierte Kristallisation wurde verzichtet und das Racemat für die weitere Synthese verwendet. Alle Produkte außer (**9**), bei dem eine Reinigung durch Säulenchromatographie notwendig war, konnten durch Extraktion in hoher chemischer Reinheit erhalten werden.

Daraufhin wurde das TBDPS-geschützte 2-Methoxyphenyl-piperidin-4-yl-methanol (**11**) mit 4-Fluorphenylethylbromid (**12**) zum TBDPS-geschützten 3-((1-(4-Fluorphenethyl)piperidin-4-yl)(hydroxy)methyl)-2-methoxyphenol (**13**) umgesetzt. Die TBDPS-Schutzgruppe wurde durch Erhitzen mit Tetrabutylammoniumfluorid in THF abgespalten und der Markierungsvorläufer 3-((1-(4-Fluorphenethyl)piperidin-4-yl)(hydroxy)methyl)-2-methoxyphenol (**14**) nach anschließender Säulenchromatographie mit mehr als 95% chemischer Reinheit erhalten.

Die Gesamtausbeute über die fünf Reaktionsschritte ab der Kopplung lag bei 7%. Die geringe Gesamtausbeute ist auf die geringen Ausbeuten der Kopplungsreaktionen zur Darstellung der Produkte (**9**) und (**13**) zurückzuführen. An diesen Stellen der Synthese kann es zur Bildung von Nebenprodukten kommen. Bei Verbindung (**9**) kann es bei der Darstellung des reaktiven Zwischenprodukts auch zu para-Lithierung kommen und bei Verbindung (**13**) kann sich aufgrund einer Eliminierung das Styren bilden. Trotzdem wurden insgesamt zufrieden stellende Ausbeuten erhalten.

3.1.4 Synthese der inaktiven Referenzverbindungen

Die Synthese der inaktiven Referenzverbindungen aller in dieser Arbeit eingesetzten ZNS-Liganden war für die eindeutige Identifikation der ^{18}F -fluorierten Produkte unerlässlich. Zu diesem Zweck wurde eine Fluormethylierung der drei Markierungsvorläufer 3-((1-(4-Fluorphenethyl)piperidin-4-yl)(hydroxy)methyl)-2-methoxyphenol (**14**), Harmol (**15**) und

N-Desmethylflumazenil (**18**) durchgeführt und die gebildeten Produkte direkt per HPLC aufgereinigt, um eine hohe chemische Reinheit der kalten Referenzverbindungen zu garantieren.

Die Einführung der Fluormethylgruppe lässt sich prinzipiell auf zwei verschiedene Arten erreichen:

- Direkte Umsetzung des deprotonierten Markierungsvorläufers mit einem Synthon wie Fluormethyltosylat oder Bromfluormethan analog zur radioaktiven Synthese
- Umsetzung des deprotonierten Markierungsvorläufers mit Bis(tosyloxy)methan oder Diiodmethan und anschließende Fluorierung mit reaktiven Fluorierungsreagenzien wie Tetrabutylammoniumfluorid (TBAF).

Die Verwendung von Fluormethyltosylat würde eine gute Vergleichsmöglichkeit mit der Einführung des [¹⁸F]Fluormethyltosylats gewährleisten. Da die Synthese des Fluormethyltosylats ausgehend vom Bis(tosyloxy)methan jedoch nur sehr geringe Ausbeuten liefert, stand es für die Synthesen nicht in ausreichender Menge zur Verfügung. Außerdem ist es bei Lagerbedingungen unter Schutzgasatmosphäre bei -18 °C nicht stabil. Eine HPLC-Analyse zeigte deutliche Zersetzung innerhalb weniger Tage.

Bei der Verwendung von Diiodmethan oder Bis(tosyloxy)methan kam es aufgrund der hohen Reaktivität auch zur Bildung von Nebenprodukten, die jedoch nicht isoliert werden konnten. Desweiteren führt die anschließende Fluorierung mit TBAF nur zu geringen Ausbeuten.

3.1.4.1 *Synthese des O-Fluormethylharmols*

Zuerst wurde eine Umsetzung des Harmols mit Fluormethyltosylat (**3a**) untersucht, die jedoch nicht erfolgreich war. Auch eine Umsetzung mit Bis(tosyloxy)methan (**2a**) mit anschließender Fluorierung durch Tetrabutylammoniumfluorid führte nicht zur Bildung des gewünschten Produkts. Die Umsetzung mit Diiodmethan (**1**) und nachfolgende Fluorierung mit TBAF war ebenfalls erfolglos.

Die Referenzverbindung wurde schließlich durch Fluormethylierung des Markierungsvorläufers Harmol mit Bromfluormethan hergestellt.

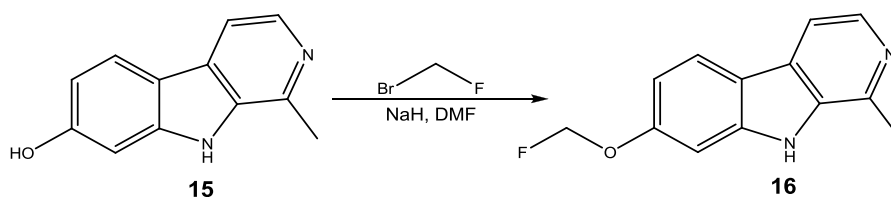


Abb. 34: Synthese des O-Fluormethylharmols

Da es sich bei Bromfluormethan um eine gasförmige Verbindung handelt und diese schwieriger gewogen werden können als flüssige oder feste Verbindungen, wurden zuerst Versuche mit einer zweimolaren Lösung des Bromfluormethans in DMF durchgeführt. Die Deprotonierung des Harmols erfolgte dabei mit konzentrierter Natronlauge. Das Wasser wurde im Hochvakuum entfernt und das gebildete Salz in DMF suspendiert. Die Zugabe des gelösten Bromfluormethans unter Argonatmosphäre bei Raumtemperatur führte jedoch nicht zur Bildung des gewünschten Produkts. Auch bei der Verwendung von Natriumhydrid als Base gelang die Synthese des Fluormethylharmols nicht, was man auf die Zersetzung der Bromfluormethan-Lösung zurückführen kann. Die Zersetzungsprodukte konnten jedoch nicht analysiert werden.

Die Darstellung des Fluormethylharmols gelang schließlich durch die Verwendung von gasförmigem Bromfluormethan. Dafür wurde dieses bei $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ in trockenes DMF einkondensiert. In einem zweiten Reaktionsgefäß wurde Harmol (**15**) in trockenem DMF mit 95%igem Natriumhydrid 20 Minuten bei Raumtemperatur deprotoniert und anschließend unter Schutzgasatmosphäre in das Reaktionsgefäß mit dem kondensierten Bromfluormethan überführt. Das Reaktionsgemisch wurde erst bei $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ gerührt und anschließend auf Raumtemperatur erwärmt, um eine vollständige Reaktion zu gewährleisten. Diese Syntheseroute lieferte das Produkt ohne die Bildung von Nebenprodukten, jedoch nur mit geringen Ausbeuten von 5%.

3.1.4.2 Synthese des (1-(4-Fluorphenethyl)piperidin-4-yl)(3-(fluormethoxy)-2-methoxyphenyl)methanols (Fluormethyl-MH.MZ)

Anhand der bei der Synthese des Fluormethylharmols erzielten Ergebnisse wurde die Synthese vereinfacht. Dafür wurde der Markierungsvorläufer (**14**)

mit Natriumhydrid in trockenem DMF bei Raumtemperatur deprotoniert, die Reaktionslösung anschließend auf $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ gekühlt und das Bromfluormethan direkt einkondensiert. Anschließend wurde wieder auf Raumtemperatur erwärmt, um die Reaktion zu vervollständigen.

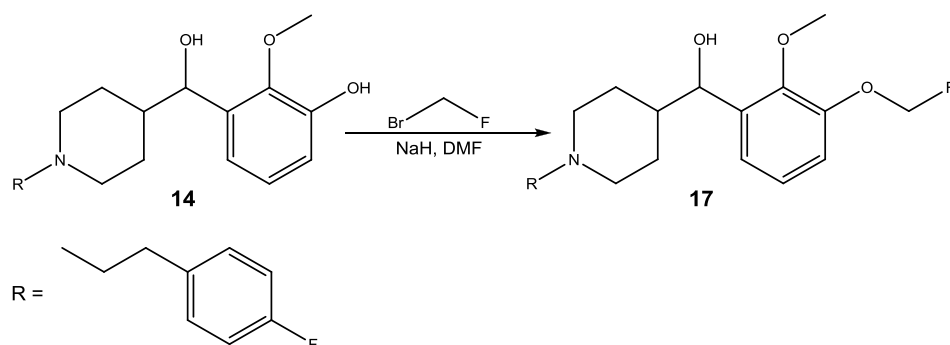


Abb. 35: Synthese des Fluormethyl-MH.MZ

Auch hier entstand das Produkt ohne Bildung von Nebenprodukten, jedoch nur in geringen Ausbeuten von 2%.

3.1.4.3 Synthese des *N*-Fluormethylflumazenils

Die Synthese des *N*-Fluormethylflumazenils wurde analog zur Synthese des Fluormethyl-MH.MZ durchgeführt.

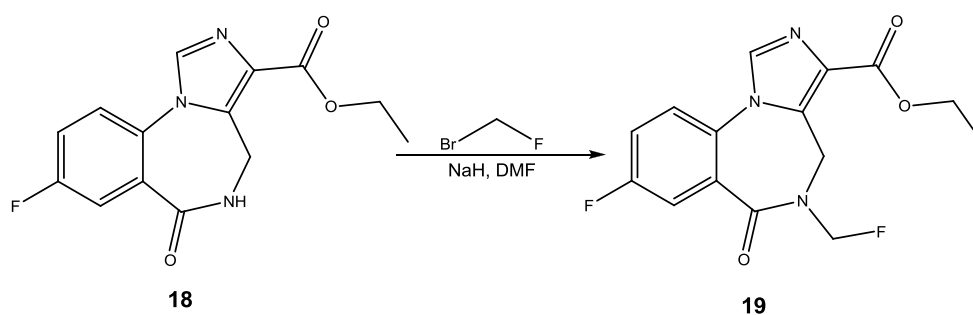


Abb. 36: Synthese des Fluormethylflumazenils

Das Produkt konnte mit guten Ausbeuten von 69% synthetisiert werden. Allerdings zeigte sich eine Instabilität des *N*-Fluormethylflumazenils gegenüber wässrigen Lösungsmitteln unabhängig vom pH-Wert, sodass eine Abtrennung per semipräparativer HPLC zur teilweisen Zersetzung des Produkts führte. Daraufhin wurde das Produkt in einer zweiten Synthese durch Chromatographie an Kieselgel unter Verwendung eines Chloroform-Methanol-Gemisches aufgereinigt.

3.2 Synthese von [^{18}F]Fluormethyltosylat und [^{18}F]Fluor- $[\text{d}_2]$ methyltosylat

3.2.1 Synthese des [^{18}F]Fluormethyltosylats

3.2.1.1 Trocknen der wässrigen [^{18}F]F-Lösung

Nukleophile ^{18}F -Fluorierungen müssen aufgrund von Neben- und Maskierungsreaktionen unter wasserfreien Bedingungen durchgeführt werden. Das Fluorid, welches aufgrund des Produktionsprozesses am Zyklotron als wässrige Lösung erhalten wird, muss daher vor Beginn der eigentlichen Reaktion getrocknet werden, um ausreichend reaktiv zu sein. Üblicherweise wird es daher zu Beginn auf einer vorher konditionierten QMA-Kartusche fixiert, um das [^{18}O]H₂O abzutrennen, und anschließend mit Kryptofix[®] 2.2.2 und Kaliumcarbonat in Acetonitril von der Kartusche eluiert. Um eine Varianz der verwendeten Basen zu ermöglichen, wurde darauf jedoch verzichtet und das [^{18}F]F⁻ unter Zusatz der jeweiligen Kombination aus Phasentransferkatalysator und Base in Acetonitril direkt azeotrop getrocknet. Dies erfolgte durch Erhitzen der Reaktionslösung auf 85 °C in Verbindung mit gleichzeitigem Anlegen eines schwachen Helium-Stromes (300 ml/min) und Vakuums (350-400 mbar). Dieser Vorgang wurde dreimal wiederholt. Nach Abdampfen des Lösungsmittels wurde für weitere 2 bis 3 Minuten Vakuum von 40-50 mbar angelegt, um eine vollständige Trocknung zu garantieren. Das getrocknete [^{18}F]F⁻ wurde anschließend direkt weiterverwendet.

3.2.1.2 Synthese des [^{18}F]Fluormethyltosylats im Heizblock

In der Literatur wurde von Neal et al. die Synthese von [^{18}F]Fluormethyltosylat mit einer radiochemischen Ausbeute von 83% bei Verwendung von Kryptofix[®] 2.2.2/K₂CO₃ im Verhältnis 5/1 in 100 μl Acetonitril bei 110 °C unter Zusatz von 5 μl Wasser beschrieben⁴³. Das Verhältnis des gewünschten Produkts [^{18}F]Fluormethyltosylat ([^{18}F]FMT) zum unerwünschten Nebenprodukt [^{18}F]Tosylfluorid ([^{18}F]TF) lag bei dieser Syntheseroute bei 70/30. Allgemein waren die Ausbeuten beim Einsatz relativ großer Mengen (10 mg) des Markierungsvorläufers Bis(tosyloxy)methan (**2a**) am besten⁴³. Deshalb wurden zuerst

Markierungsreaktionen unter ähnlichen Bedingungen getestet, um die bereits veröffentlichten Ergebnisse zu reproduzieren.

Bei ersten Markierungen wurden 10 mg des Bis(tosyloxy)methans, 15 mg Kryptofix[®]2.2.2 und 15 µl einer einmolaren K₂CO₃-Lösung in 800 µl trockenem Acetonitril bei 85 °C ohne Zusatz von Wasser eingesetzt. Die Analyse der Reaktion per Radio-DC zeigte eine maximale radiochemische Ausbeute von 12% über zehn Minuten für das [¹⁸F]FMT. Gleichzeitig bildeten sich jedoch fast 70% des [¹⁸F]TF. Bei 100 °C in DMF unter Zusatz von 10 µl Wasser konnte die Bildung des [¹⁸F]FT zwar unter 10% gesenkt werden, die ohnehin schon geringe Markierungsausbeute an [¹⁸F]FMT sank jedoch unter 5%. Der Zusatz von Wasser soll hierbei die Reaktivität des [¹⁸F]F⁻ genau so weit senken, dass ein nukleophiler Angriff am Schwefel der Tosylgruppe nicht mehr möglich ist, ein Angriff am Kohlenstoff jedoch nach wie vor stattfinden kann. Damit sollte die Bildung des [¹⁸F]TF zurückgedrängt werden, ohne die radiochemische Ausbeute des [¹⁸F]FMT zu verringern. Folglich gelang die Reproduktion der von Neal et al. veröffentlichten Daten nicht.

Da es in einer Publikation beschrieben wurde, dass das Bis(tosyloxy)methan instabil gegenüber Kryptofix[®]2.2.2 ist⁴⁷, wurden daraufhin Basen getestet, bei denen die Verwendung eines Kryptanden nicht notwendig ist. Tetraalkylammonium-Salze eignen sich dafür besonders gut. Sie vereinen die Base und den Phasentransferkatalysator bereits in einem Molekül. Je nach Wahl des Gegenions (z.B. Carbonat, Bicarbonat oder Hydroxid) zum Tetraalkylammonium-Kation kann die Basenstärke direkt kontrolliert werden.

Markierungen mit Tetrabutylammoniumhydroxid (TBA) führten jedoch nicht zur Bildung des [¹⁸F]Fluormethyltosylats. Mit Tetrabutylammoniumbicarbonat (TBABC), einer sehr milden Base, konnten die Ausbeuten bei 85°C in Acetonitril auf mehr als 20% gesteigert werden. In DMF bei 100 °C unter Zusatz von Wasser sank die Ausbeute des [¹⁸F]FMT jedoch wieder. Allerdings zeigte sich bereits ohne den Zusatz von Wasser bei der Verwendung von TBABC ein besseres Verhältnis der Produkte [¹⁸F]FMT und [¹⁸F]TF als für das System Kryptofix[®]2.2.2/K₂CO₃.

Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sind in den Abbildungen 37 und 38 zusammengefasst.

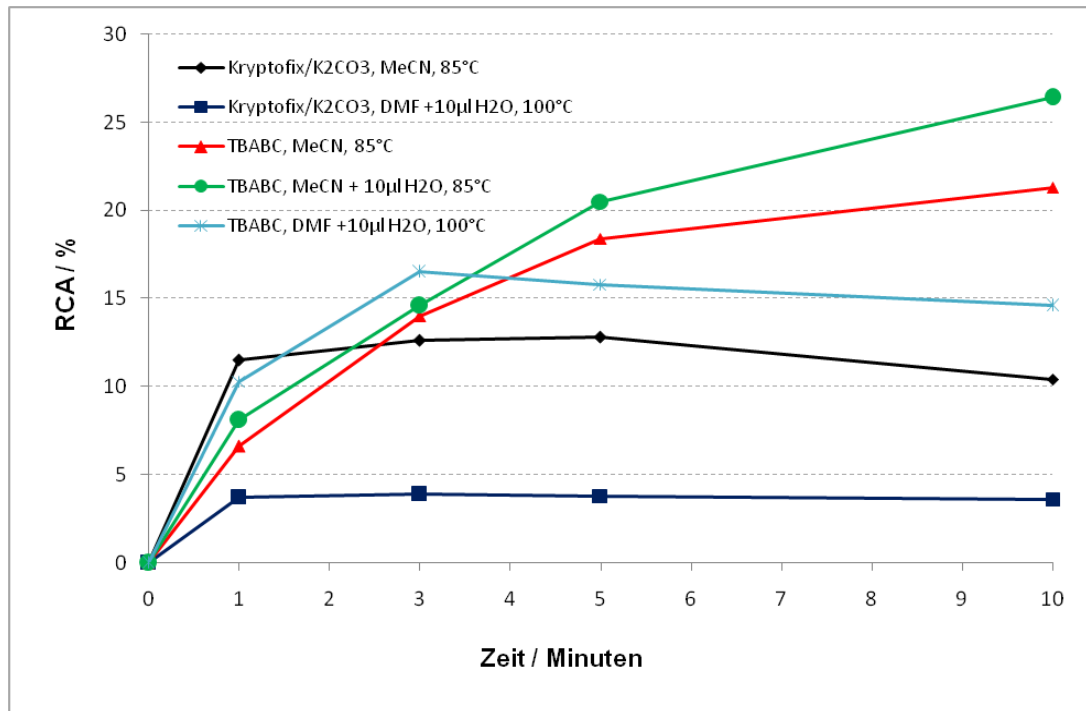


Abb. 37: Bildung von [¹⁸F]Fluormethyltosylat in 800 µl Lösungsmittel, 40 µmol Kryptofix[®]2.2.2/15 µmol K₂CO₃ bzw. 49 µmol TBABC, 28 µmol Bis(tosyloxy)methan

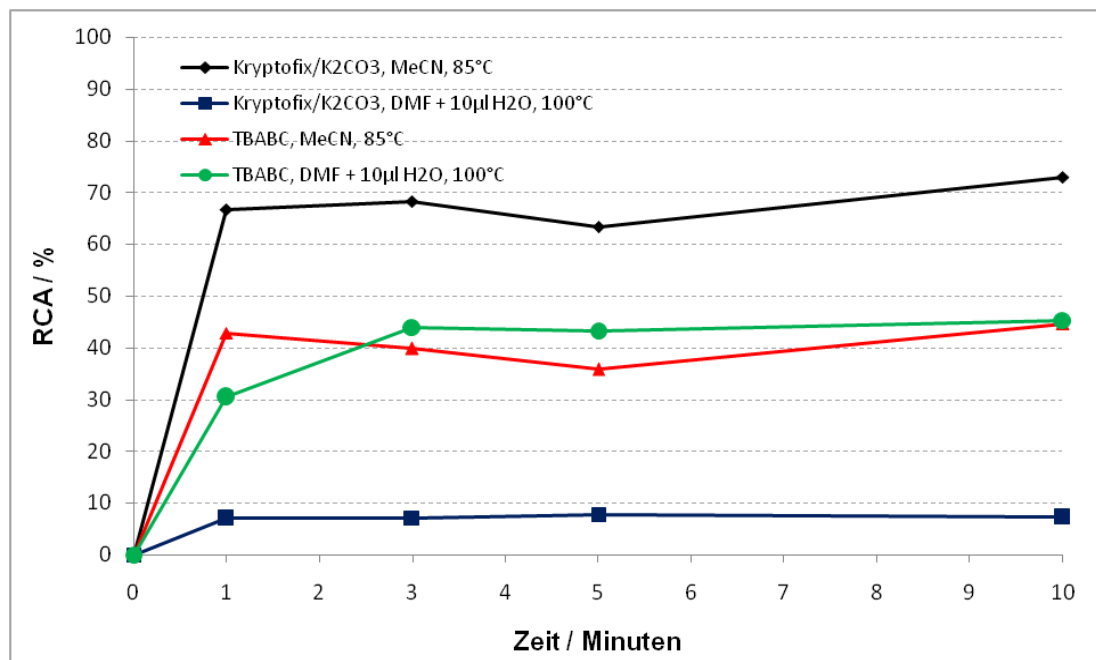


Abb. 38: Bildung von [¹⁸F]Tosylfluorid in 800 µl Lösungsmittel, 40 µmol Kryptofix[®]2.2.2/15 µmol K₂CO₃ bzw. 49 µmol TBABC, 28 µmol Bis(tosyloxy)methan

Die Ergebnisse zeigen, dass DMF ein weniger geeignetes Lösungsmittel für die Markierung des Bis(tosyloxy)methans ist und die Erhöhung der Temperatur auf über 100 °C für die ^{18}F -Fluorierung nicht notwendig war. Folglich wurden alle weiteren Markierungen mit $[\text{}^{18}\text{F}]\text{F}^-$ in Acetonitril durchgeführt.

Um den Zusammenhang der radiochemischen Ausbeute bei der ^{18}F -Fluorierung des Vorläufers (**2a**) mit der Basenkonzentration zu untersuchen, wurden drei verschiedene TBABC-Einwaagen unter identischen Reaktionsbedingungen getestet. Dafür wurden 15 mg, 20 mg und 25 mg TBABC in 800 μl Acetonitril mit 10 mg des Vorläufers und 10 μl Wasser bei 85 °C untersucht. Da TBABC stark hygroskopisch ist, muss es gegebenenfalls vor der Verwendung im Vakuum getrocknet werden, um exakte Einwaagen zu garantieren.

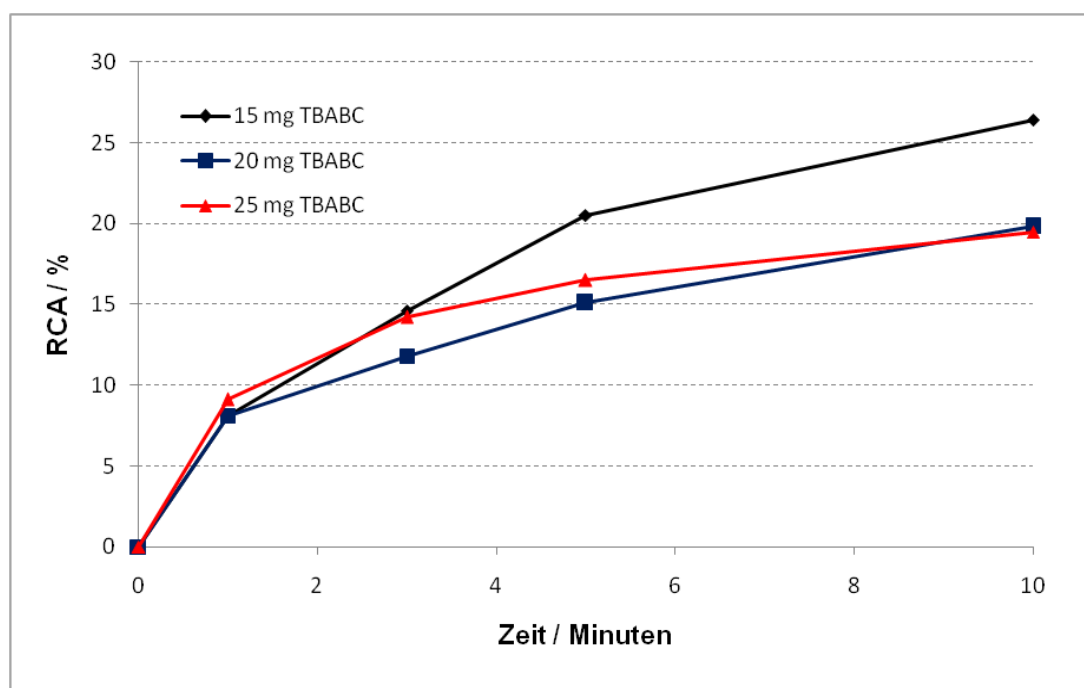


Abb. 39: Abhängigkeit der Markierungsausbeute von $[\text{}^{18}\text{F}]\text{FMT}$ von der TBABC-Konzentration. 800 μl Acetonitril, 10 μl H_2O , 28 μmol Bis(tosyloxy)methan, 85 °C

Die radiochemischen Ausbeuten liegen in allen getesteten Systemen nach 10 Minuten im Bereich von 20-27%. Dabei zeigt sich die Tendenz, dass die radiochemischen Ausbeuten des $[\text{}^{18}\text{F}]\text{FMT}$ bei Erhöhung der

Basenkonzentration sinken, während die Bildung des Nebenprodukts [^{18}F]TF zunimmt. Die höchsten Ausbeuten wurden bei 15 mg TBABC erzielt.

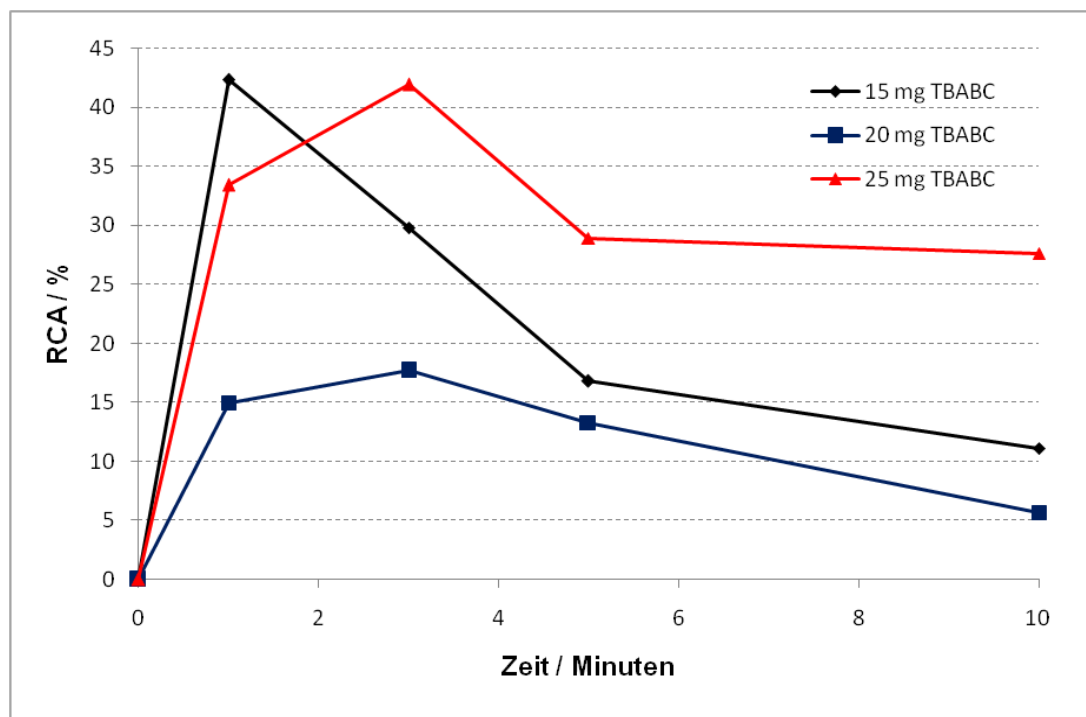


Abb. 40: Bildung von [^{18}F]TF in Abhängigkeit von der TBABC-Konzentration. 800 μl Acetonitril, 10 μl H_2O , 28 μmol Bis(tosyloxy)methan, 85 $^\circ\text{C}$

Insgesamt wurden immer noch sehr geringe Ausbeuten für das [^{18}F]FMT erzielt, die einen Einsatz als Konkurrenz zur [^{18}F]Fluorethylierung nicht rechtfertigen. Der Zusatz von Wasser zur Reaktionslösung veränderte zwar das Verhältnis von Produkt zu Nebenprodukt positiv und führte zu einer geringfügigen Steigerung der radiochemischen Ausbeute, diese blieb aber deutlich hinter den von Neal et al. veröffentlichten Daten⁴³ zurück.

Da Synthesen in tertiären Alkoholen bekannt sind und in einigen Anwendungen sehr vielversprechende Ergebnisse erzielt wurden²⁶, wurde ein *tert*-Butanol-Zusatz anstelle von Wasser verwendet, um die Bildung des Nebenprodukts [^{18}F]Tosylfluorid zu minimieren. Von Synthesen in reinem *tert*-Butanol wurde aufgrund der zu erwartenden hohen Reaktionsdauer abgesehen. Stattdessen wurden verschiedene Zusammensetzungen von Acetonitril und *tert*-Butanol als Reaktionsmedium getestet. So zeigte sich, dass bei einem geringen Anteil *tert*-Butanol von 20% für [^{18}F]FMT

radiochemische Ausbeuten bis zu 40% erzielt werden können, die Bildung des Nebenprodukts [^{18}F]TF jedoch kaum zurückgedrängt wird.

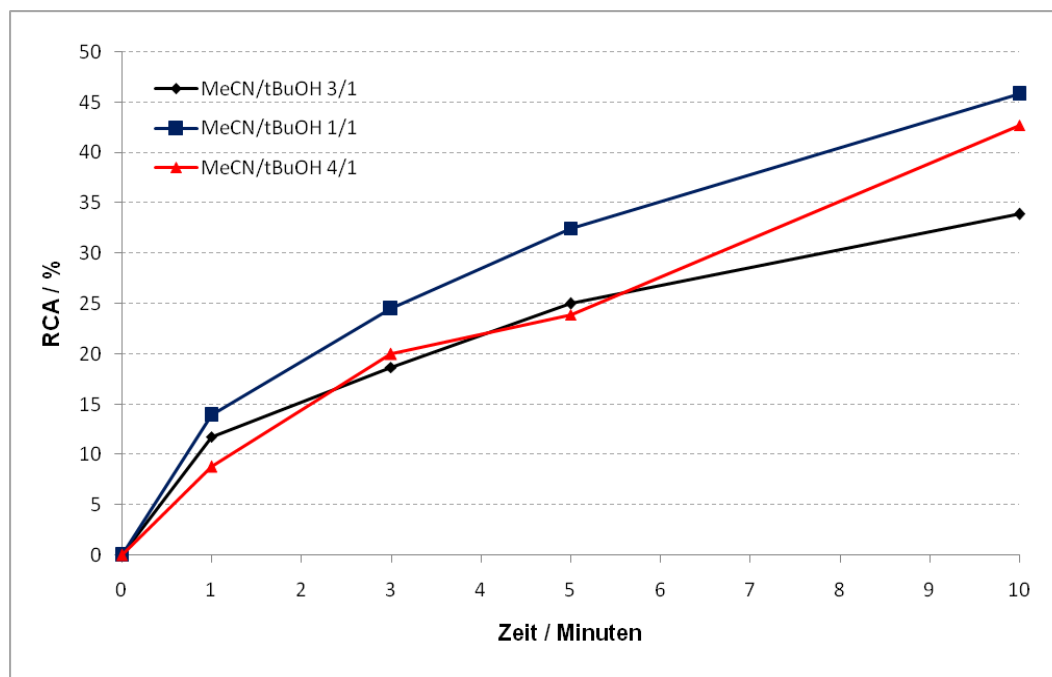


Abb. 41: Abhängigkeit der Markierungsausbeute von [^{18}F]FMT von der Zusammensetzung des Reaktionsmediums. 800 μl Lösungsmittelgemisch, 49 μmol TBABC, 28 μmol Bis(tosyloxy)methan, 85 $^{\circ}\text{C}$

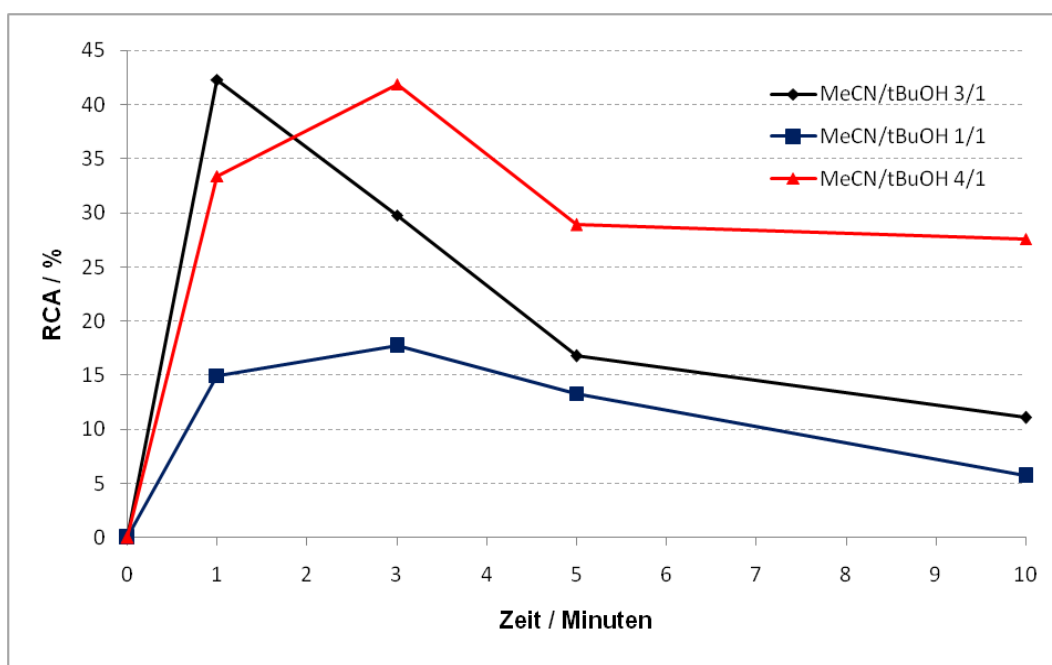


Abb. 42: Bildung von [^{18}F]TF in Abhängigkeit vom Reaktionsmedium. 800 μl Lösungsmittelgemisch, 49 μmol TBABC, 28 μmol Bis(tosyloxy)methan, 85 $^{\circ}\text{C}$

Bei 25% und 50% *tert*-Butanol konnten nach 10 Minuten radiochemische Ausbeuten zwischen 34 und 45% beobachtet werden. Die Bildung des [¹⁸F]TF konnte in beiden Systemen auf weniger als 20% reduziert werden.

Zwar waren die oben dargestellten Ergebnisse bei Acetonitril/*tert*-Butanol 1/1 besser, für Acetonitril/*tert*-Butanol 3/1 konnten die radiochemischen Ausbeuten des [¹⁸F]FMT jedoch auch bei unterschiedlich hohen Startaktivitäten am besten reproduziert und noch erhöht werden.

Die optimierten Reaktionsbedingungen für die Synthese des [¹⁸F]Fluormethyltosylats durch thermische Reaktion im Heizblock sind noch einmal in Tabelle 8 zusammengefasst.

Tabelle 8: Reaktionsparameter für die Synthese des [¹⁸F]FMT

Einwaage des Markierungsvorläufers (2a)	10 mg
Einwaage der Base TBABC	15 mg
Volumen insgesamt	800 µl
Anteil Acetonitril	75%
Anteil <i>tert</i> -Butanol	25%
Reaktionstemperatur	85°C
Reaktionsdauer	10 Minuten

3.2.1.3 Mikrowellengestützte Synthese des [¹⁸F]Fluormethyltosylats

Da es sich bei [¹⁸F]Fluormethyltosylat um ein Markierungssynthon für die anschließende Markierung von ZNS-Liganden handeln soll, waren die auf diesem Weg erzielten Ausbeuten noch nicht zufrieden stellend. Aus diesem Grund wurde versucht, die radiochemische Ausbeute durch eine mikrowellengestützte Synthese zu erhöhen.

Dafür wurde das $[^{18}\text{F}]\text{F}^-$ nach dem Trocknungsschritt, der bei $85\text{ }^\circ\text{C}$ im Heizblock durchgeführt wurde, in einem Acetonitril/*tert*-Butanol-Gemisch aufgenommen und in ein Mikrowellen-Reactival mit dem gelösten Markierungsvorläufer (**2a**) überführt.

Die ersten Markierungen in der Labormikrowelle wurden bei 100 Watt durchgeführt. Die Labormikrowelle kann in zwei verschiedenen Modi betrieben werden. Einerseits kann nur mit der vorgegebenen Leistung bestrahlt werden, bis die Reaktionstemperatur erreicht ist, die für die weitere Reaktionszeit gehalten wird. Dabei wird keine Kühlung eingesetzt. Andererseits kann während der gesamten Reaktionsdauer mit der gewünschten Leistung bestrahlt und die Reaktionstemperatur durch Druckluftkühlung konstant gehalten werden. Beide Programme wurden für die Synthese des $[^{18}\text{F}]\text{FMT}$ bei ansonsten identischen Bedingungen getestet. Da während der Reaktion keine Proben entnommen werden konnten, wurden vier identische Proben unterschiedlich lang in der Mikrowelle bestrahlt und die radiochemische Ausbeute durch Radio-DC bestimmt und gegen die Bestrahlungszeit aufgetragen. Der Fehler der einzelnen Messwerte ist bei dieser Art der Durchführung besonders groß, da nicht eine Probe über einen bestimmten Zeitraum betrachtet werden kann, sondern vier unterschiedliche Proben zu einer Messreihe gehören.

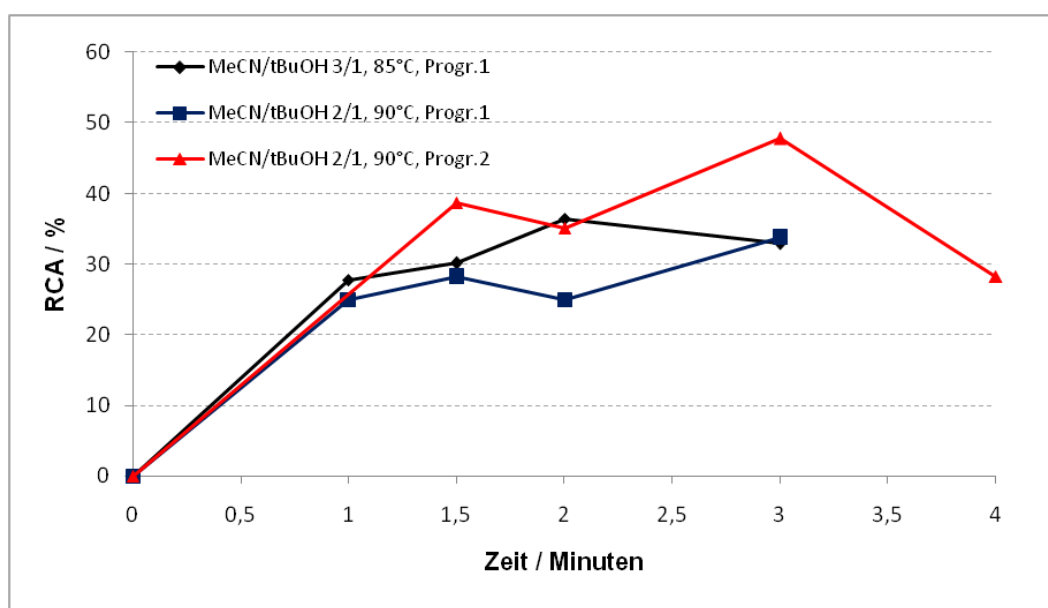


Abb. 43: Radiosynthese von $[^{18}\text{F}]\text{FMT}$ in einer Labormikrowelle bei 100W. 800 μl Lösungsmittelgemisch, 49 μmol TBABC, 28 μmol Bis(tosyloxy)methan

Da sich der Einfluss des Lösungsmittels bei mikrowellengestützten Reaktionen von Reaktionen im Heizbad unterscheiden kann, wurde hierbei Reaktionen in Acetonitril/*tert*-Butanol 3/1 und 2/1 untersucht. Es zeigte sich jedoch, dass die unterschiedliche Lösungsmittelzusammensetzung keinen wesentlichen Einfluss auf die radiochemische Ausbeute bei der Mikrowellenreaktion hat. In beiden untersuchten Systemen lag die Ausbeute zwischen 25 und 45%. Insgesamt konnten so also keine höheren Ausbeuten als bei der Heizblock-Methode erzielt werden. Eine weitere Untersuchung im MaxPower-Modus (Programm 2) zeigte jedoch, dass höhere Ausbeuten erzielt werden können, wenn während der gesamten Reaktionszeit mit der vollen Leistung bestrahlt wird. Allerdings ist auch zu erkennen, dass eine Erhöhung der radiochemischen Ausbeute nicht durch Verlängerung der Reaktionszeit zu erreichen ist, da dann bereits Zersetzung des Produkts eintritt.

Auch hierbei wurde wieder die Bildung des Nebenproduktes [^{18}F]Tosylfluorid betrachtet.

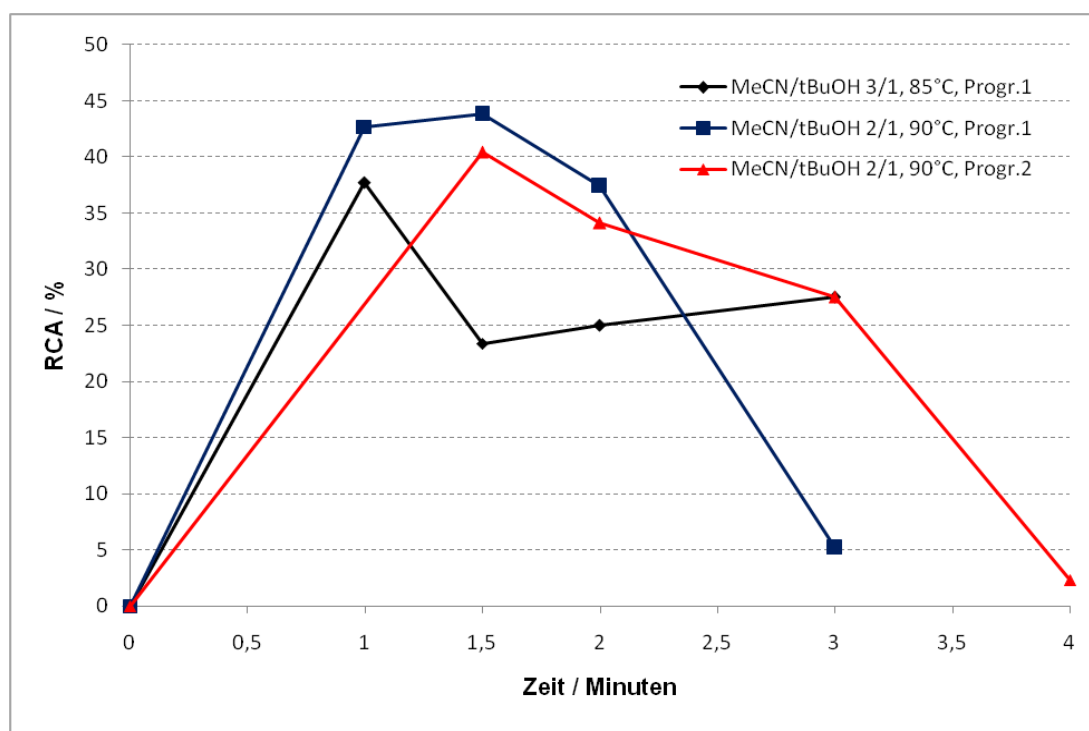


Abb. 44: Bildung von [^{18}F]TF in der Labormikrowelle bei 100 W. 800 μl Lösungsmittelgemisch, 49 μmol TBABC, 28 μmol Bis(tosyloxy)methan

Dabei fiel auf, dass bei der Durchführung in der Mikrowelle mehr Nebenprodukt entsteht als bei der konventionellen Synthese im Heizblock. Allerdings zersetzt sich das $[^{18}\text{F}]\text{TF}$ bei längeren Reaktionszeiten. Ein eindeutiger Zusammenhang zwischen Ausbeuteerhöhung und MaxPower-Modus ist für das $[^{18}\text{F}]\text{TF}$ im Gegensatz zum $[^{18}\text{F}]\text{FMT}$ nicht zu erkennen.

Nachdem sich gezeigt hatte, dass im MaxPower-Modus die höchsten Reaktionsausbeuten bei einer Reaktionsdauer von 3 Minuten erzielt werden konnten, sollte der Einfluss des Energieeintrags während der Mikrowellenreaktion bei ansonsten identischen Bedingungen untersucht werden. Dafür wurden 15 mg TBABC, 10 mg (**2a**), 800 μl Acetonitril/*tert*-Butanol 3/1 und drei Minuten Reaktionszeit gewählt. Die Temperatur sollte dabei 95 °C nicht überschreiten. Die Ergebnisse des Versuchs sind Tabelle 9 zu entnehmen.

Tabelle 9: Radiochemische Ausbeuten der ^{18}F -Fluorierung in einer Labor-mikrowelle im MaxPower-Modus. 800 μl Acetonitril/*tert*-Butanol, 49 μmol TBABC, 28 μmol Bis(tosyloxy)methan

Leistung / Watt	RCA ($[^{18}\text{F}]\text{FMT}$) / %	RCA ($[^{18}\text{F}]\text{TF}$) / %
100	22	51
150	32	47
200	42	15

Dabei wurde klar, dass die radiochemische Ausbeute des $[^{18}\text{F}]\text{FMT}$ durch Erhöhung der Leistung gesteigert werden kann, während die Bildung des $[^{18}\text{F}]\text{TF}$ dadurch zurückgedrängt wird. Während bei 100 W das $[^{18}\text{F}]\text{FMT}/[^{18}\text{F}]\text{TF}$ -Verhältnis noch bei 0,4 lag, konnte es bei 200 W auf 2,8 erhöht werden.

Mit der Mikrowellensynthese konnten innerhalb von drei Minuten gute radiochemische Ausbeuten erzielt werden, die jedoch nicht über denen einer konventionellen Synthese im Heizblock mit zehn Minuten Reaktionszeit

lagen. Die Zeitersparnis gegenüber der konventionellen Synthese fiel ebenfalls geringer aus, als die Daten vermuten lassen, da zur Reaktionszeit noch eine Minute Vorheizzeit sowie vier bis fünf Minuten Abkühlzeit gezählt werden müssen. Hinzu kam der Verlust von Aktivität durch Überführen des $[^{18}\text{F}]\text{F}^-$ in ein Mikrowellenvial, der bei konventioneller Synthese nicht auftrat, da die Reaktion in denselben Reaktivial wie der Trocknungsschritt durchgeführt wurde.

Daher wurde auf weitere Optimierung der Reaktionsparameter in der Mikrowelle verzichtet und die Reaktion für alle weiteren Synthesen unter den bereits in Tabelle 8 erwähnten Bedingungen im Heizblock durchgeführt.

3.2.1.4 *Abtrennung und Qualitätskontrolle*

Für die Abtrennung des $[^{18}\text{F}]\text{Fluormethyltosylats}$ wurde dieses zunächst unter den in Tabelle 8 genannten Bedingungen mit Startaktivitäten von 100-500 MBq synthetisiert. Die Differenz der Retentionszeiten zwischen $[^{18}\text{F}]\text{FMT}$ und $[^{18}\text{F}]\text{TF}$ lag bei den gewählten HPLC-Bedingungen bei 5,5 Minuten, sodass eine saubere Abtrennung des $[^{18}\text{F}]\text{FMT}$ gewährleistet war. Nach allen durchgeführten Reaktionsschritten wurde die Aktivität im Curiemeter gemessen, um eine Aktivitätsbilanz aufstellen zu können. Ein Beispiel einer solchen Aktivitätsbilanz ist Tabelle 12 in Kapitel 6.1 zu entnehmen.

Die durchschnittliche radiochemische Ausbeute für die ^{18}F -Fluorierung von Bis(tosyloxy)methan nach der Abtrennung lag bei $39 \pm 8\%$ ($n=13$). Die Synthese dauerte durchschnittlich 48 Minuten zzgl. des Trocknungsschrittes vor Synthesebeginn.

3.2.2 **Synthese des $[^{18}\text{F}]\text{Fluor}-[d_2]\text{methyltosylats}$**

Die Verwendung von ^{18}F -fluor- $[di\text{-deutero}]$ methyl-Verbindungen anstelle einfacher ^{18}F -Fluormethylverbindungen für die Markierung von ZNS-Liganden ist in der Literatur beschrieben¹¹⁰. Durch die höhere Stabilität der C-D-Bindung gegenüber der C-H-Bindung soll eine *in vivo*-Defluorierung verhindert werden, die ein limitierender Faktor für die Verwendung der ^{18}F -Fluormethylierung ist. Zu diesem Zweck sollten alle bisher erzielten Ergebnisse auf die Synthese des $[^{18}\text{F}]\text{Fluor}-[di\text{-deutero}]$ methyltosylats

übertragen werden, da nach bisherigen Erkenntnissen eine Markierung von Neuroliganden mit [^{18}F]FMT für die Anwendung *in vivo* wenig sinnvoll ist.

Da der Austausch von Wasserstoff gegen Deuterium in organischen Molekülen deren Reaktivität durchaus verändern kann, wurden Kinetiken mit 10 mg Bis(tosyloxy)-[*di-deutero*]methan (**2b**), 15 mg TBABC und 800 μl Aceto-nitril/*tert*-Butanol bei 85 °C aufgenommen. Dafür wurden Aliquots nach 1, 3, 5, 10, 15 und 20 Minuten aus der Reaktionslösung entnommen und per Radio-DC ausgewertet. Die Ergebnisse wurden mit denen des [^{18}F]FMT verglichen und sind in Abbildung 45 dargestellt.

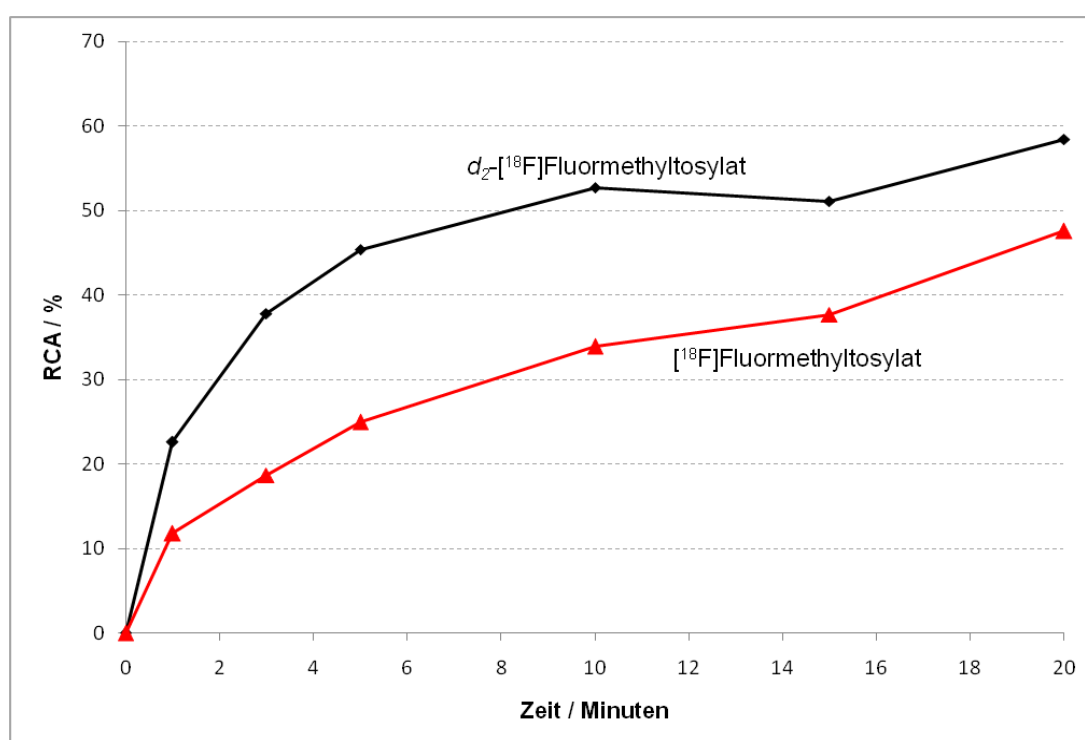


Abb. 45: Vergleich der radiochemischen Ausbeuten von [^{18}F]FMT und d_2 -[^{18}F]FMT bei 85 °C

Die radiochemische Ausbeute des d_2 -[^{18}F]FMT lag dabei zu allen untersuchten Zeitpunkten über der des [^{18}F]FMT. Offensichtlich bewirkt der Wasserstoff-Deuterium-Austausch im Markierungsvorläufer eine Erhöhung der Produktstabilität.

Für die Abtrennung wurde das d_2 -[^{18}F]FMT analog zu [^{18}F]FMT synthetisiert und über semipräparative HPLC-System abgetrennt. Für alle durchgeführten Reaktionsschritte wurde eine Aktivitätsbilanz erstellt, die in Tabelle 13 in Kapitel 6.1 zu sehen ist.

Die durchschnittliche radiochemische Ausbeute für die ^{18}F -Fluorierung von Bis(tosyloxy)-[*di-deutero*]methan nach der Abtrennung lag bei $46 \pm 6\%$ ($n=10$) bei einer mittleren Synthesezeit von 48 Minuten.

Wurde über einen längeren Zeitraum Bis(tosyloxy)-[*di-deutero*]methan (**2b**) aus der gleichen Charge verwendet, die schon einige Monate zuvor synthetisiert wurde, sanken die Ausbeuten auf 30-35%, was somit noch unter der des Bis(tosyloxy)methans (**2a**) lag. Die Qualitätskontrolle von drei Monate altem Bis(tosyloxy)-[*di-deutero*]methan per HPLC zeigte deutliche Zersetzung des Markierungsvorläufers. Durch Portionieren des Bis(tosyloxy)-[*di-deutero*]methans in 10 mg-Einheiten direkt nach der Synthese und Lagerung bei $-18\text{ }^\circ\text{C}$ konnte die Zersetzung nicht reduziert werden. Bei Bis(tosyloxy)methan (**2a**) konnte keine Zersetzung innerhalb desselben Zeitraums festgestellt werden. Daher musste der Markierungsvorläufer (**2b**) regelmäßig neu hergestellt werden, um eine Verringerung der ^{18}F -Fluorierungsausbeuten zu verhindern.

3.2.2.1 Stabilitäten

Nach der Optimierung der d_2 -[^{18}F]FMT-Synthese und –abtrennung sollten ^{18}F -Fluormethylierungen an ZNS-Liganden und Modellverbindungen durchgeführt werden. Erste Versuche zeigten jedoch nur geringe Umsetzung des d_2 -[^{18}F]FMT zu den gewünschten Produkten, während die Analyse der Reaktionen auf die Entstehung von [^{18}F]F $^-$ durch Defluorierung hinwies. Dies wurde als Hinweis darauf bewertet, dass d_2 -[^{18}F]FMT selbst bei milden Reaktionsbedingungen instabil ist. Zur Überprüfung wurde deshalb die Zersetzung des d_2 -[^{18}F]FMT bei Raumtemperatur unter verschiedenen Bedingungen über 1 Stunde beobachtet. Dafür wurden nach 15, 30, 45 und 60 Minuten Aliquots entnommen und per Radio-DC und analytischer HPLC analysiert. Das d_2 -[^{18}F]FMT ist in reinem DMSO, DMSO mit einem Zusatz von 20% 0,05 molarem Ammoniumformiat-Puffer und DMSO mit 15 μmol K_2CO_3 über den untersuchten Zeitraum zu 95% stabil. Bei Zusatz von 15 μmol NaOH ist jedoch deutliche Zersetzung des d_2 -[^{18}F]FMT zu beobachten. Die Zersetzungsprodukte konnten nicht eindeutig identifiziert werden. Möglich wäre sowohl die Bildung von [^{18}F]F $^-$ als auch von [^{18}F]Fluormethanol.

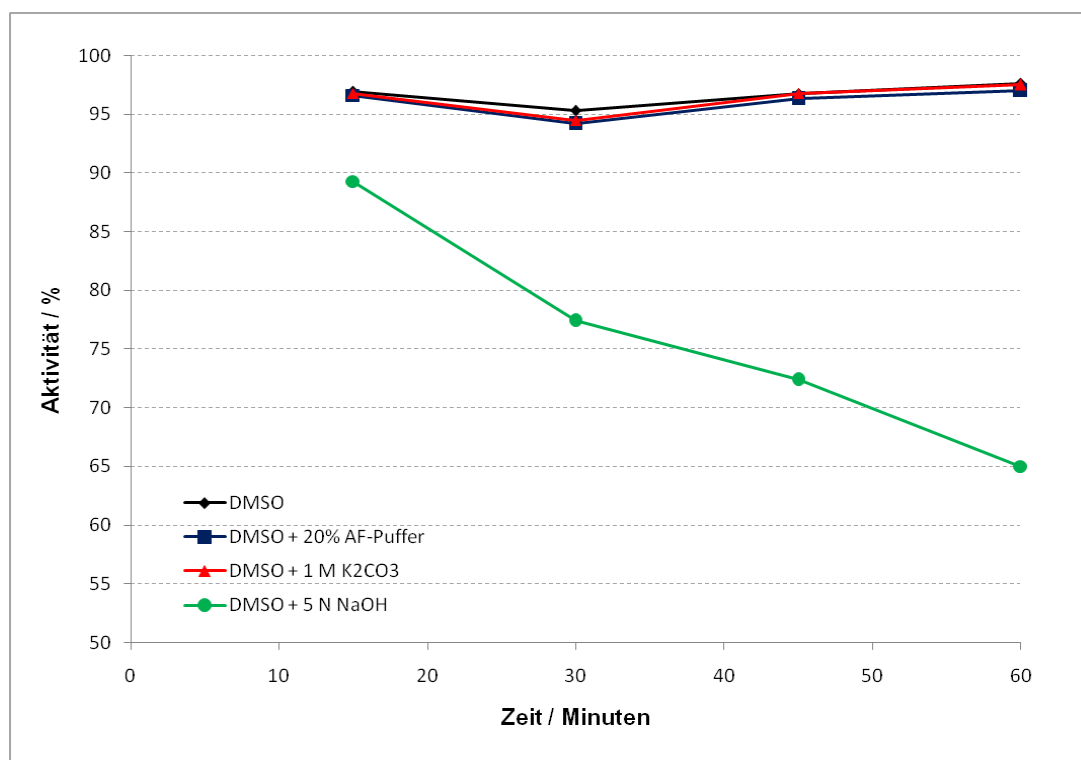


Abb. 46: Stabilität des d_2 - $[^{18}\text{F}]\text{FMT}$ bei Raumtemperatur. 1 ml Lösungsmittel, 15 μmol Base, 5-15 MBq d_2 - $[^{18}\text{F}]\text{FMT}$

3.3 ^{18}F -Fluormethylierung von Natriumphenolat mit $[^{18}\text{F}]\text{Fluor}-[d_2]\text{methyltosylat}$ als Modellverbindung

Für die ^{18}F -Fluorethylierung werden für phenolische Hydroxylgruppen bei Verwendung von 0,95 Äquivalenten fünfmoлярer Natronlauge in dipolaren aprotischen Lösungsmitteln wie DMF oder DMSO gute bis sehr gute Ausbeuten erzielt³¹. Im Rahmen dieser Arbeit sollte daher als erstes untersucht werden, ob sich diese Ergebnisse auf die ^{18}F -Fluormethylierung übertragen lassen. Daher wurden die Reaktionsbedingungen bezüglich Lösungsmittel, Reaktionsdauer, Reaktionstemperatur und Basenzusatz an Modellverbindungen und ZNS-Liganden untersucht und optimiert.

Die einfachste mögliche Modellverbindung für die ^{18}F -Fluormethylierung ist Natriumphenolat. Es kann ausgehend von Phenol einfach mit Natronlauge oder Natriumhydrid hergestellt werden und kann nach Trocknung im Vakuum direkt eingesetzt werden. Für die Reaktion mit $[^{18}\text{F}]\text{Fluormethyltosylat}$ ist der Einsatz einer Base überflüssig. Anhand dieser Verbindung wurden die optimalen Reaktionstemperaturen und Lösungsmittel für die ^{18}F -Fluor-

methylierung bestimmt und unerwünschte Nebenreaktionen wie die Defluorierung untersucht.

Für erste Versuche wurden 3 mg Natriumphenolat in 800 µl DMF verwendet und die ^{18}F -Fluormethylierung bei 110 °C und 120 °C untersucht. Die Ausbeuten waren dabei sehr gering, was auf die geringe Löslichkeit des Natriumphenolats in DMF zurückzuführen ist. Für weitere Kinetiken wurde daher DMSO verwendet, wodurch die Ausbeuten erheblich erhöht werden konnten. Die Optimierung hinsichtlich der Reaktionstemperatur erfolgte bei 100, 110, 120 und 130 °C im Heizblock.

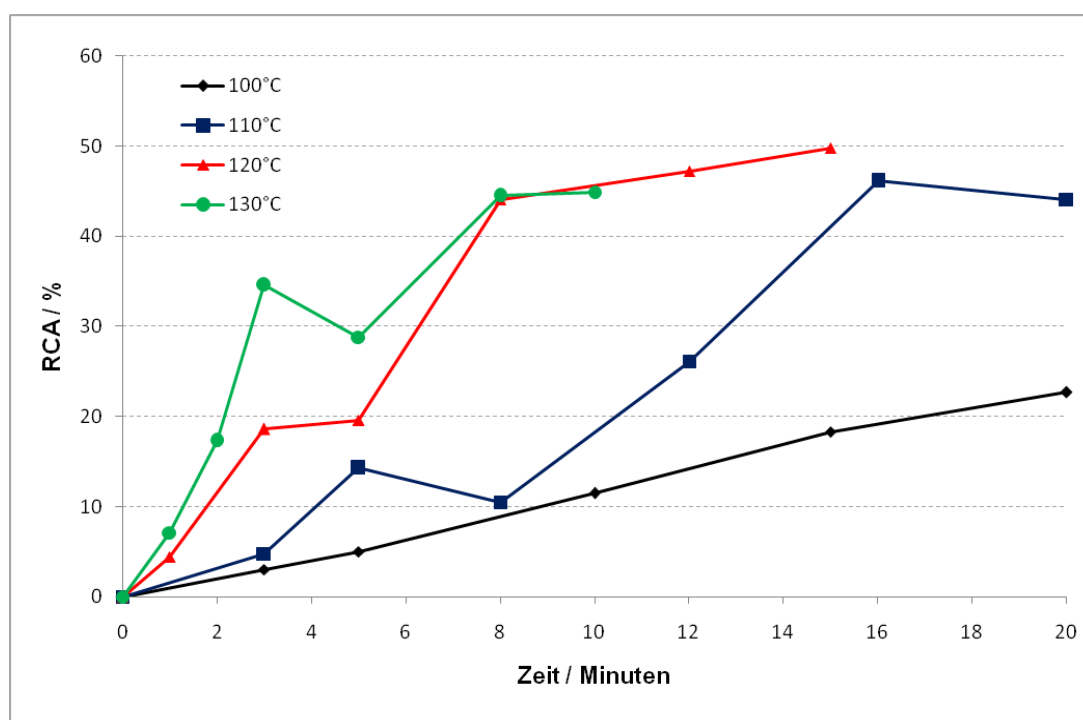


Abb. 47: Bildung von O- ^{18}F Fluormethylphenol in 800 µl DMSO. 26 µmol Natriumphenolat

Anhand der Abbildung 47 ist zu erkennen, dass bei niedrigeren Temperaturen generell nur eine geringe Umsetzung stattfand. Die besten radiochemischen Ausbeuten von maximal 50% konnten bei 120 °C und 130 °C erreicht werden. Anhand der Kinetiken kann geschlussfolgert werden, dass sich die Reaktion nach 15 Minuten in der Sättigung befindet und eine Erhöhung der Reaktionszeit keine Erhöhung der Ausbeute mehr zur Folge hätte. Zudem war während den Reaktionen trotz der vergleichsweise milden Reaktionsbedingungen eine deutliche Zersetzung des d_2 - ^{18}F FMT zu

beobachten. In Abbildung 48 ist die Zersetzung in Abhängigkeit von der Reaktionstemperatur dargestellt.

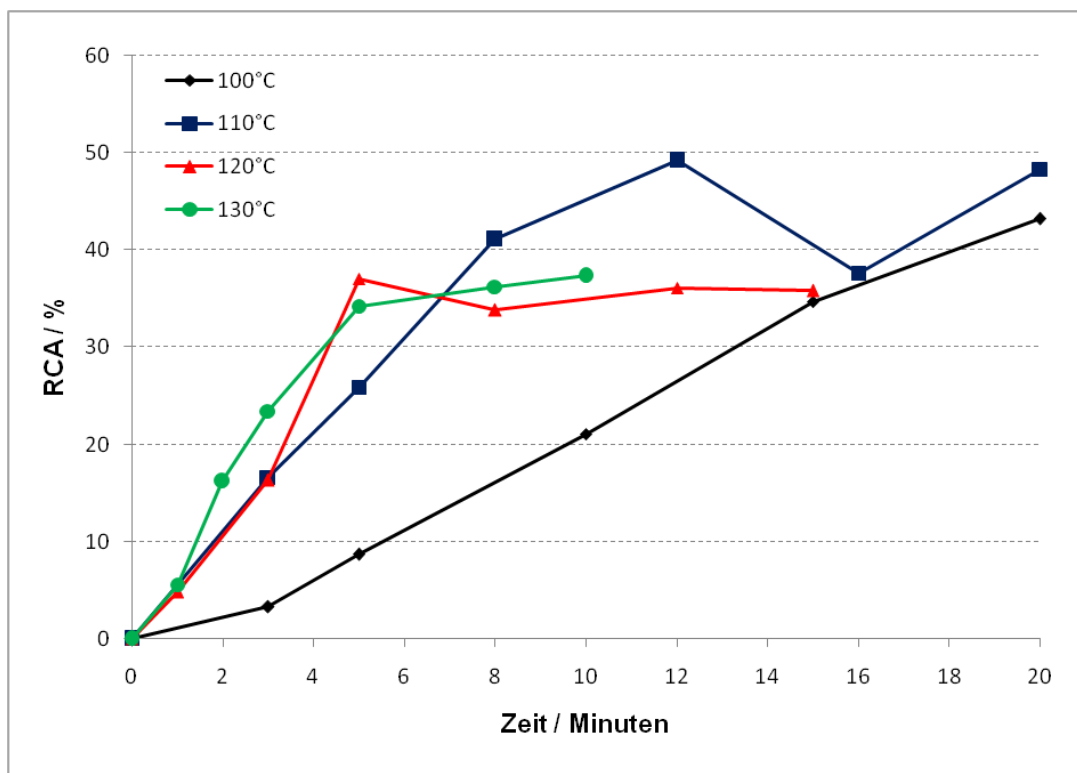


Abb. 48: Zersetzung bei der Reaktion von d_2 - $[^{18}\text{F}]\text{FMT}$ mit Natriumphenolat in 800 μl DMSO. 26 μmol Natriumphenolat

Es zeigte sich verstärkte Zersetzung bei längeren Reaktionszeiten. Die Ursache dafür ist wahrscheinlich die geringe Stabilität des d_2 - $[^{18}\text{F}]\text{FMT}$. Die Basizität des Phenolats reicht offenbar bereits aus, um bei den gewählten Reaktionsbedingungen zu einer deutlich messbaren Zersetzung des Synthons zu führen. Bei einer Kontrollreaktion mit $[^{18}\text{F}]\text{Fluorethyltosylat}$ (nicht abgebildet) unter denselben Reaktionsbedingungen war eine derartige Zersetzung nicht zu beobachten.

Anhand dieser Ergebnisse zeigt sich bereits, dass bei der ^{18}F -Fluormethylierung nicht so hohe Ausbeuten erzielt werden können wie bei der ^{18}F -Fluorethylierung, da das Synthon instabil gegenüber Basen und hohen Temperaturen ist, aber gleichzeitig längere Reaktionszeiten benötigt.

3.4 Synthese ^{18}F -fluormethylierter ZNS-Liganden

3.4.1 [^{18}F]Fluor- $[d_2]$ methylharmol (d_2 - ^{18}F FMH)

Bereits erfolgte Versuche zur ^{18}F -Fluorethylierung von Harmol zeigten die besten radiochemischen Ausbeuten bei 140 °C in DMSO unter Verwendung von 0,95 Äquivalenten Natriumhydroxid als fünfmolare wässrige Lösung⁷¹. Diese Reaktionsbedingungen ließen sich jedoch nicht auf die ^{18}F -Fluormethylierung übertragen. Die Ergebnisse der ^{18}F -Fluormethylierung von Natriumphenolat zeigten, dass sich d_2 - ^{18}F FMT bei 130 °C stark zersetzt.

Für eine Untersuchung der optimalen Reaktionsbedingungen der ^{18}F -Fluormethylierung des Harmols wurden Kinetiken bei vier verschiedenen Temperaturen aufgenommen. Der Markierungsvorläufer Harmol wurde mit 0,95 Äquivalenten 5 M NaOH versetzt, da diese Menge notwendig ist, um an der Hydroxylgruppe nahezu vollständig zu deprotonieren. Reaktionen mit einem Natriumhydroxid-Überschuss wurden nicht durchgeführt, da dieser zur Deprotonierung am Stickstoff und somit zur Bildung des N-alkylierten Nebenprodukts führen kann. Anschließend wurde das Gemisch in trockenem DMSO fünf Minuten auf die jeweilige Reaktionstemperatur erwärmt, bevor 20-30 MBq d_2 - ^{18}F FMT in DMSO zugesetzt wurden. Die Ergebnisse sind in Abbildung 49 dargestellt.

Da das [^{18}F]Fluor- $[d_2]$ methyltosylat sehr reaktiv ist, wurde bei den Kinetiken auch die Zersetzung während der Synthese untersucht. Die Ergebnisse sind in Abbildung 50 dargestellt.

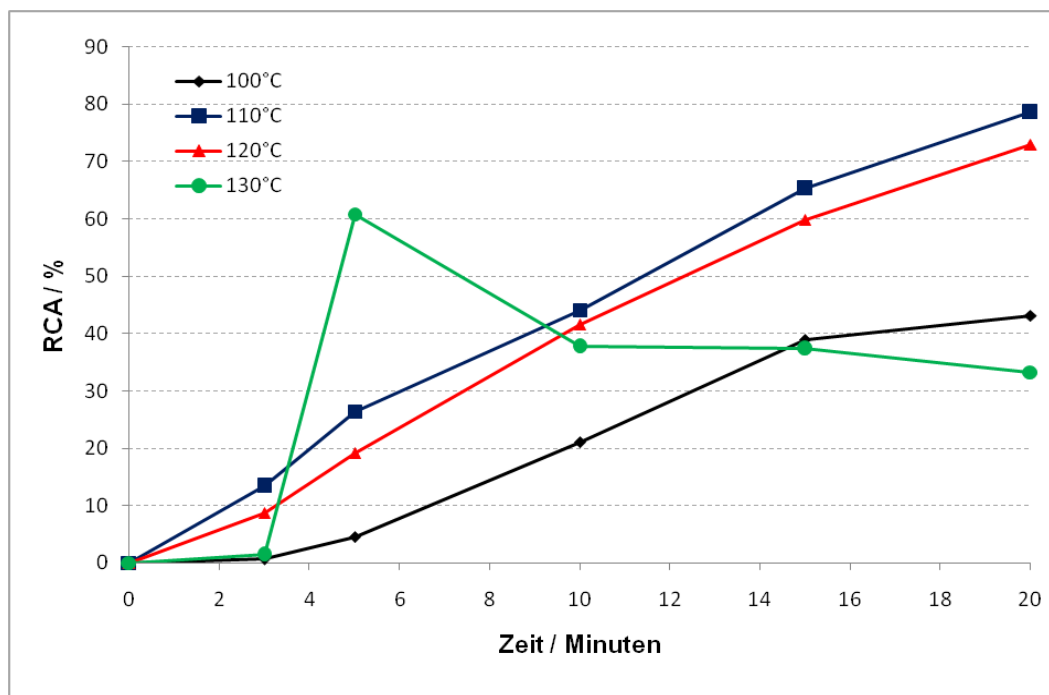


Abb. 49: Bildung von $[^{18}\text{F}]$ Fluormethylharmol bei verschiedenen Temperaturen. 1 ml DMSO, 15 μmol Harmol, 12 μmol 5 N NaOH, 20-30 MBq d_2 - $[^{18}\text{F}]$ FMT

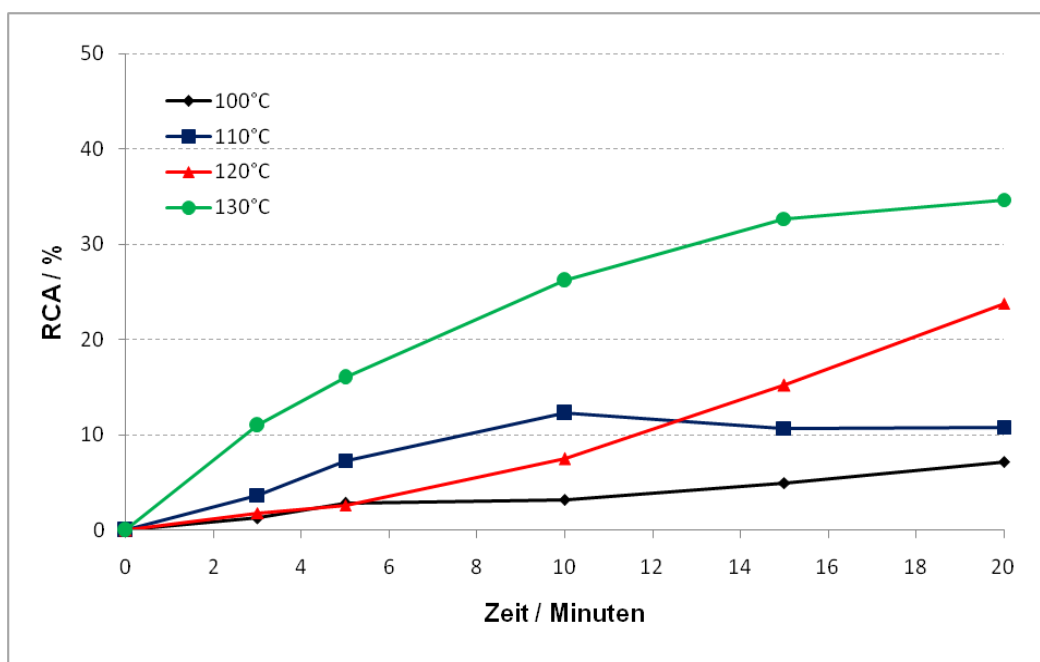


Abb. 50: Zersetzung bei der Reaktion von d_2 - $[^{18}\text{F}]$ FMT mit Harmol. 1 ml DMSO, 15 μmol Harmol, 12 μmol 5 N NaOH, 20-30 MBq d_2 - $[^{18}\text{F}]$ FMT

Anhand dieser Ergebnisse ergaben sich die optimierten Versuchsbedingungen für die Synthese von $[^{18}\text{F}]$ Fluor- $[d_2]$ methylharmols. Um eine starke Zersetzung zu vermeiden und dabei trotzdem ausreichend hohe

Ausbeuten zu erzielen, wurden darauf folgende Synthesen bei 120 °C durchgeführt. Für weitere Versuche wurden 15 µmol Harmol mit 0,95 Äquivalenten 5 M NaOH in trockenem DMSO deprotoniert und fünf Minuten auf 120 °C erwärmt, bevor 100-700 MBq d_2 - ^{18}F FMT zugegeben wurden. Nach 20 Minuten bei 120 °C wurde die Reaktion abgebrochen. Um eine gute Abtrennung des ^{18}F Fluormethylharmols von Nebenprodukten und nicht umgesetztem ^{18}F Fluormethyltosylat zu gewährleisten, wurde die Reaktionslösung nach dem Abkühlen mit 0,05 molarem Ammoniumformiat-Puffer verdünnt, bevor die Lösung in ein semipräparatives HPLC-System injiziert wurde. Der Gradient und die Retentionszeiten aller Produkte und Edukte sind in Kapitel 4.4.1 genauer beschrieben. Die d_2 - ^{18}F FMH-Fraktion konnte bei 18,3 Minuten gesammelt werden.

Das HPLC-Eluat wurde mit einem vierfachen Überschuss Wasser verdünnt, um die Elutionskraft des HPLC-Lösungsmittelgemisches zu verringern und das Produkt auf einer StrataX-Kartusche zu fixieren. Die Kartusche wurde anschließend gewaschen, um Pufferrückstände zu entfernen. Nach dem Trocknen der Kartusche im Luftstrom konnte das Produkt mit Ethanol eluiert werden. 20 µl dieser Lösung wurden zur Qualitätskontrolle in ein analytisches HPLC-System injiziert und die radiochemische Reinheit durch Integration der Peakflächen zu 95% bestimmt. Nach dem Entfernen des Ethanols wurde das Produkt mit isotonischer Kochsalzlösung in eine injektionsfertige Lösung überführt. Eine Aktivitätsbilanz aller Syntheseschritte ist in Tabelle 14 in Kapitel 6.1 zu sehen.

Bei der Verwendung niedriger Aktivitätsmengen von 70-80 MBq für den ^{18}F -Fluormethylierungsschritt konnten ähnlich hohe radiochemische Ausbeuten erzielt wie aufgrund der Kinetiken zu erwarten waren, erzielt werden. Die Ausbeute für die ^{18}F -Fluormethylierung lag dann bei 50-60%, die durchschnittliche Synthesedauer bei 110-130 Minuten (n=4). Wurden höhere Startaktivitäten als 1GBq für die ^{18}F -Fluormethylierung eingesetzt, z.B. für µPET-Studien, sank die radiochemische Ausbeute drastisch auf weniger als 5%. Eine Erklärung dafür konnte bislang nicht gefunden werden.

Um sicherzustellen, dass ^{18}F Fluor- $[d_2]$ methylharmol *in vivo* intakt ins Hirn aufgenommen werden kann und nicht bereits im Blutplasma metabolisiert

wird, wurden Serumstabilitätsstudien mit fetalem Kälberserum unter physiologischen Bedingungen durchgeführt. Isotonische Kochsalzlösung und Ethanol dienten als Kontrollen bei der Versuchsdurchführung. Die Studien konnten eine Stabilität >95% über einen Zeitraum von drei Stunden zeigen. Die Kontrollen zeigten eine vergleichbare Stabilität. Die Bestimmungen wurden dabei immer doppelt durchgeführt. Die Ergebnisse der Studie sind in Abbildung 51 dargestellt, dabei wurden die Mittelwerte der Messungen aufgetragen.

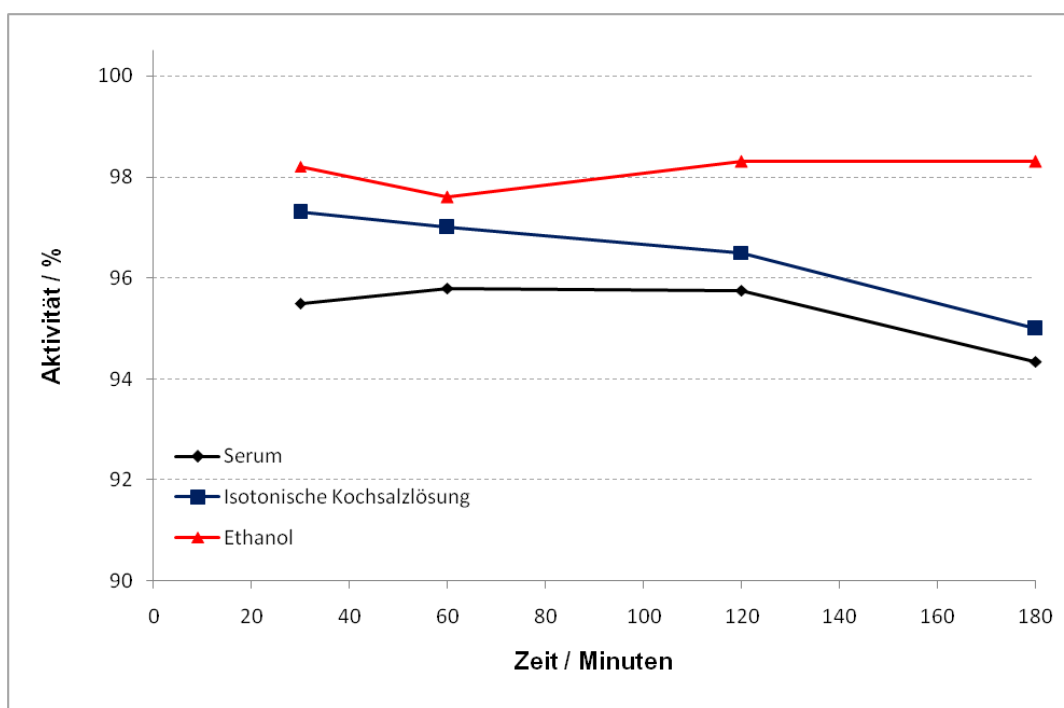


Abb. 51: Serumstabilität des [^{18}F]Fluor- $[d_2]$ methylharmols. 400 μl Medium, 10-25 MBq d_2 - $[^{18}\text{F}]$ FMH in 150 μl isotonischer NaCl, 37 $^\circ\text{C}$, 400 min^{-1}

3.4.2 [^{18}F]Fluor- $[d_2]$ methyl-MH.MZ (d_2 - $[^{18}\text{F}]$ FM-MH.MZ)

Da die Synthese des enantiomerenreinen (*R*)-3-((1-(4-Fluorphenethyl)piperidin-4-yl)(hydroxy)methyl)-2-methoxyphenol sehr aufwendig ist, wurde diese Verbindung nur für die Versuche zur Serumstabilität und die μPET -Studien verwendet. Für die Aufnahme der Kinetiken wurde das Racemat (\pm)-3-((1-(4-Fluorphenethyl)piperidin-4-yl)(hydroxy)methyl)-2-methoxyphenol (**14**), das selbst synthetisiert wurde, als Markierungsvorläufer eingesetzt, da hier kein Unterschied zum reinen *R*-Enantiomer zu erwarten war.

Für die ^{18}F -Fluorethylierung wurde die Verwendung von äquimolaren Mengen Markierungsvorläufer (**14**) und NaOH als fünfmolare wässrige Lösung in DMF bei 100 °C und 20 Minuten Reaktionszeit als optimierte Reaktionsbedingungen beschrieben⁸¹. Die bisher erzielten Ergebnisse für [^{18}F]Fluor- $[d_2]$ methylphenol und [^{18}F]Fluor- $[d_2]$ methylharmol zeigten jedoch, dass diese Bedingungen nicht direkt übertragen werden können, da in DMF bei 100 °C nur mit geringen Ausbeuten zu rechnen ist. Daher wurde die Temperaturabhängigkeit der radiochemischen Ausbeute bei vier verschiedenen Temperaturen untersucht. Als Lösungsmittel wurde DMSO verwendet. 3 mg (8 μmol) des Vorläufers (**14**) wurden für fünf Minuten bei der jeweiligen Reaktionstemperatur mit 0,95 Äquivalenten 5 M NaOH deprotoniert und anschließend wurden 20-30 MBq d_2 - ^{18}F FMT zugegeben. Die Ergebnisse sind in Abbildung 52 dargestellt.

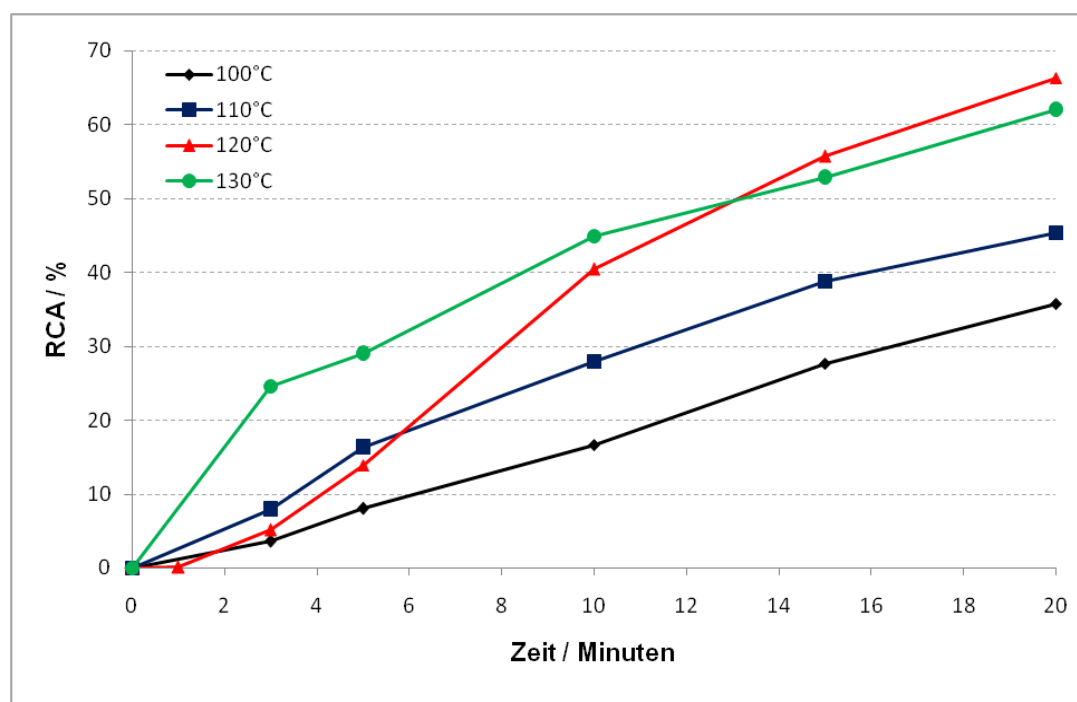


Abb. 52: Synthese des d_2 - ^{18}F FM-MH.MZ durch ^{18}F -Fluormethylierung. 1 ml DMSO, 8 μmol Vorläufer (**14**), 7,6 μmol 5 N NaOH, 20-30 MBq d_2 - ^{18}F FMT

Die besten radiochemischen Ausbeuten von 60% zeigten sich für 120 °C und 130 °C nach 20 Minuten Reaktionszeit. Bei Betrachtung der Zersetzung (siehe Abbildung 53) zeigte sich, dass bei 130 °C nach 20 Minuten mehr als doppelt so hohe Zersetzung auftrat als bei 120 °C.

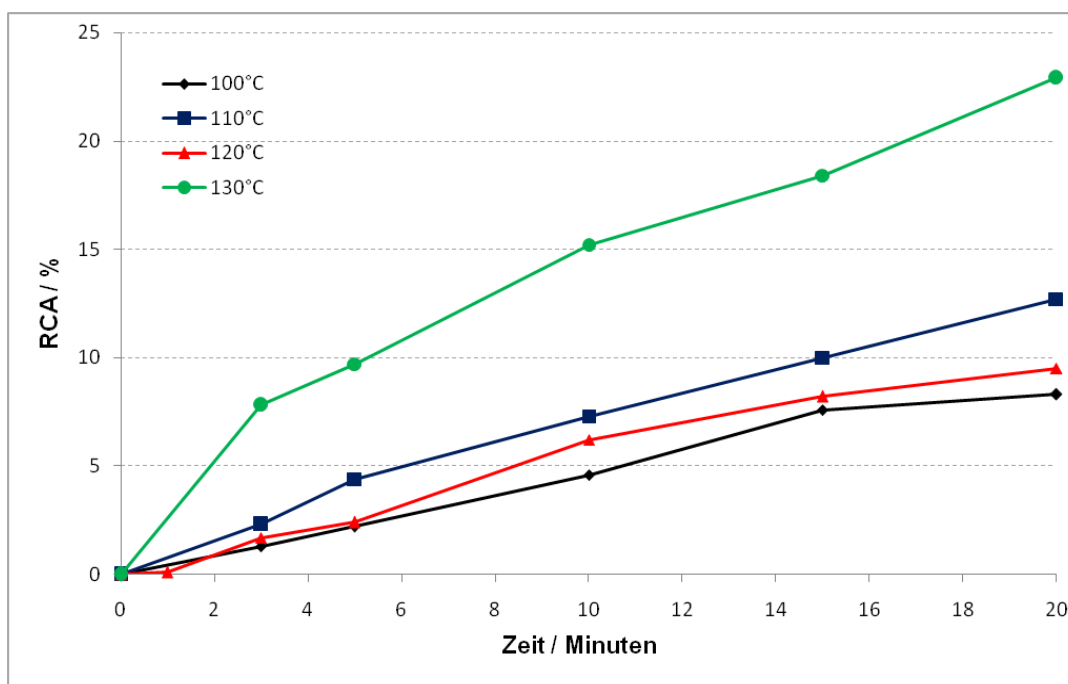


Abb. 53: Zersetzung bei der Synthese von d_2 - $[^{18}\text{F}]\text{FM-MH.MZ}$. 1 ml DMSO, 8 μmol Vorläufer (**14**), 7,6 μmol 5 N NaOH, 20-30 MBq d_2 - $[^{18}\text{F}]\text{FMT}$

Die optimierten Reaktionsbedingungen für die Synthese des d_2 - $[^{18}\text{F}]\text{FM-MH.MZ}$ sind also 120 °C, 20 Minuten Reaktionsdauer, 8 μmol des Markierungsvorläufers (**14**) und 0,95 Äquivalente NaOH in 1 ml DMSO.

Für die Abtrennung wurde das d_2 - $[^{18}\text{F}]\text{FM-MH.MZ}$ zuerst unter den optimierten Reaktionsbedingungen synthetisiert und anschließend über ein isokratisches HPLC-System von $[^{18}\text{F}]\text{F}^-$ und nicht umgesetztem $[^{18}\text{F}]\text{Fluor-}[d_2]\text{methyltosylat}$ getrennt. Die Retentionszeiten aller Produkte und Edukte sind in Kapitel 4.4.2 genauer beschrieben. Die d_2 - $[^{18}\text{F}]\text{FM-MH.MZ}$ -Fraktion konnte bei 21,0 Minuten gesammelt werden. Nach der Fixierung des HPLC-Eluats auf einer StrataX-Kartusche und anschließender Elution konnte das d_2 - $[^{18}\text{F}]\text{FM-MH.MZ}$ in Ethanol erhalten werden. Nach dem Entfernen des Ethanols wurde das Produkt mit isotonomischer Kochsalzlösung in eine injektionsfertige Lösung überführt.

Die Ausbeute der ^{18}F -Fluormethylierung lag bei 20-32%. Die Gesamtausbeute lag bei 8-11% über einen Zeitraum von 120 bis 150 Minuten ($n=3$). Folglich wurden deutlich niedrigere radiochemische Ausbeuten für die ^{18}F -Fluormethylierung erzielt, als die Kinetiken in den Abbildungen 52 und 53 vermuten lassen. Zum Teil ist die niedrigere

Ausbeute auf den Verlust von Produkt an Gefäßwänden und auf Kartuschen zurückzuführen. Eine Ursache kann allerdings auch die Zersetzung des Radiotracers während der semipräparativen HPLC sein.

Eine Aktivitätsbilanz aller Syntheseschritte ist in Tabelle 15 in Kapitel 6.1 zu sehen.

Plasmastabilitätsstudien mit d_2 - $[^{18}\text{F}]\text{FM-MH.MZ}$ in fetalem Kälberserum sowie isotonischer Kochsalzlösung und Ethanol als Kontrollen wurden durchgeführt. Außerdem wurde der Zusatz von Ascorbinsäure zum Serum untersucht. Ascorbinsäure dient als Radikalfänger und kann unter Umständen die Stabilität eines Radiopharmakons erhöhen. In der Stabilitätsstudie konnte jedoch kein Unterschied zwischen Ascorbinsäurezusatz und Ascorbinsäure-freiem Serum festgestellt werden. Die Ergebnisse sind in Abbildung 54 zu sehen.

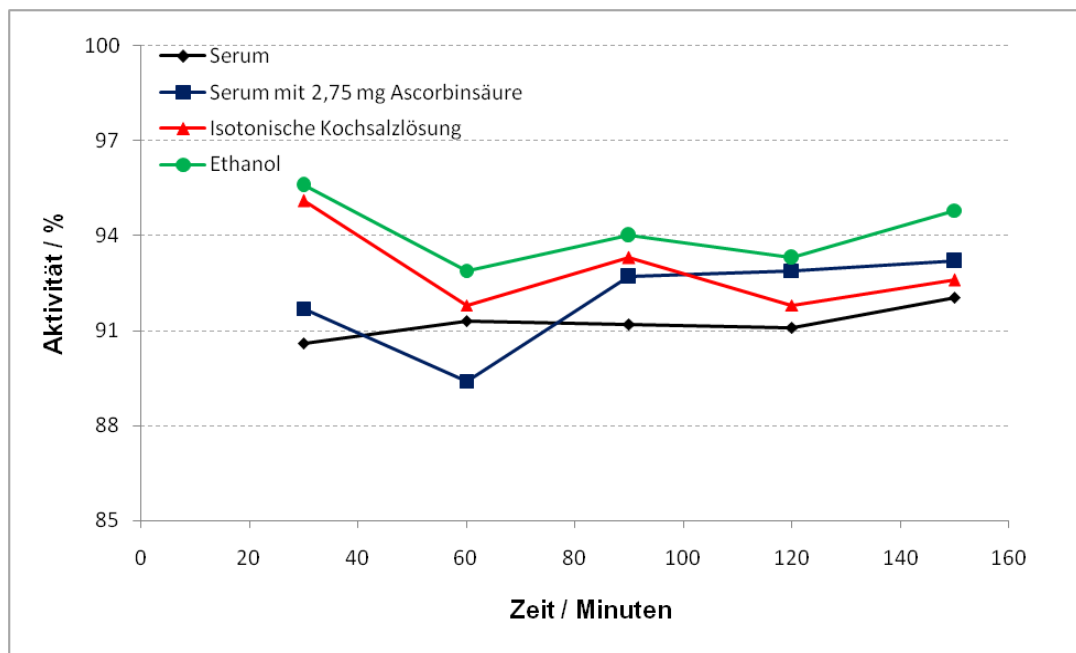


Abb. 54: Ergebnisse des Serumstabilitätstests für d_2 - $[^{18}\text{F}]\text{FM-MH.MZ}$. 400 μl Medium, 10-25 MBq d_2 - $[^{18}\text{F}]\text{FM-MH.MZ}$ in 150 μl isotonischer NaCl, 37 $^\circ\text{C}$, 400 min^{-1}

Alle Bestimmungen wurden doppelt durchgeführt und ergaben eine Stabilität von 90% über einen Zeitraum von 2,5 Stunden.

3.4.3 [¹⁸F]Fluor-[d₂]methylflumazenil (d₂-[¹⁸F]FMF)

Die für die Synthese der Modellverbindung sowie für d₂-[¹⁸F]FMH und d₂-[¹⁸F]FM-MH.MZ optimierten Reaktionsparameter ließen sich nicht auf die Synthese des N-[¹⁸F]Fluor-[d₂]methylflumazenils übertragen. Die Reaktion von [¹⁸F]Fluor-[d₂]methyltosylat mit 2 mg N-Desmethylflumazenil und 0,95 Äquivalenten fünfmolarer Natronlauge in 1 ml trockenem DMSO bei 110 °C oder 120 °C führte nicht zur Bildung von d₂-[¹⁸F]FMF. Da es sich bei N-Desmethylflumazenil um ein Amid handelt, war die Basizität des Natriumhydroxid nicht ausreichend, um am Stickstoff zu deprotonieren.

Zunächst wurde eine Synthese mit Kryptofix[®]2.2.2 und K₂CO₃ in DMSO durchgeführt, um zu überprüfen, ob sich mit milderer Basen überhaupt [¹⁸F]FMF herstellen lässt. Das System Kryptofix[®]2.2.2/K₂CO₃ wurde gewählt, da [¹⁸F]FMT unter diesen Bedingungen stabil ist (siehe Abbildung 46), und nicht von vollständiger Zersetzung des Synthons vor der ¹⁸F-Fluormethylierung ausgegangen werden musste. Die Reaktion wurde bei 90 °C und 100 °C über einen Zeitraum von 20 Minuten untersucht. Gleichzeitig wurde auch hier wieder die Zersetzung während der Reaktion betrachtet. Die Ergebnisse sind in den Abbildungen 55 und 56 zu sehen.

Mit der Verwendung von 0,5 mg K₂CO₃ und 1,3 mg Kryptofix[®]2.2.2 konnte bei 90 °C d₂-[¹⁸F]FMF mit radiochemischen Ausbeuten von 15% synthetisiert werden. Eine Erhöhung der Ausbeute ließ sich jedoch weder durch Erhöhen noch durch Erniedrigen der Temperatur (nicht abgebildet) erreichen. Durch Erhöhen der Temperatur auf 100 °C sank die radiochemische Ausbeute auf unter 10%, weil verstärkte Zersetzung auftrat.

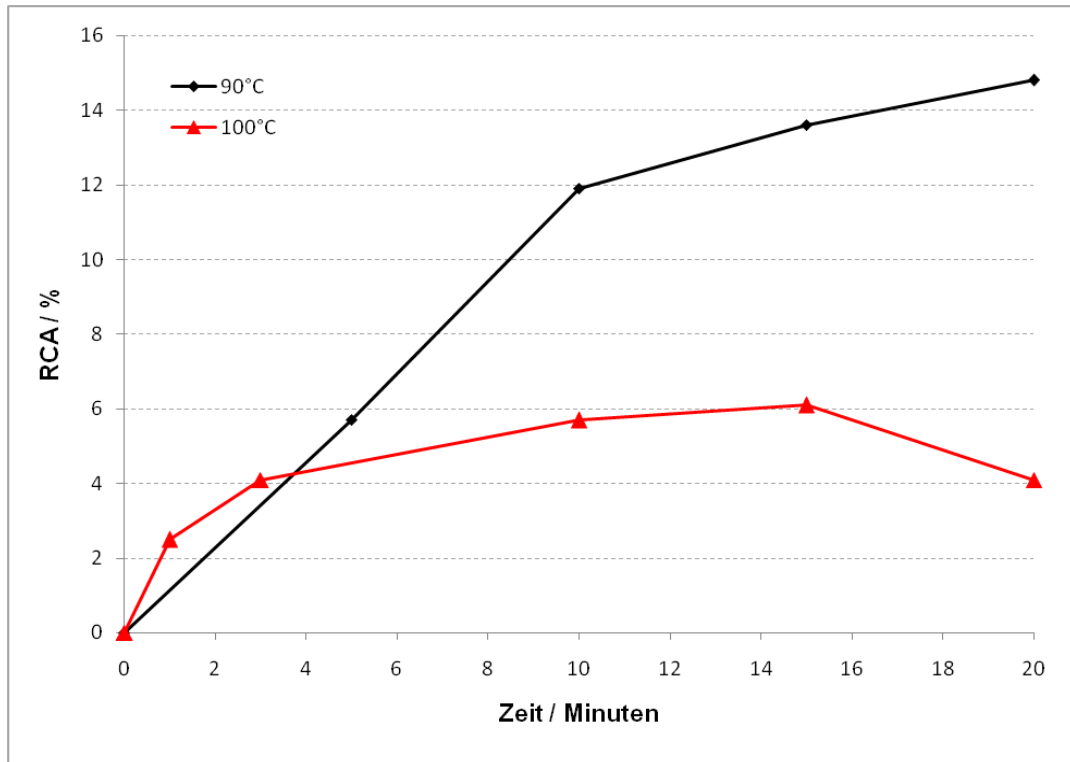


Abb. 55: Bildung von d_2 - $[^{18}\text{F}]$ FMF unter Verwendung von 3,5 μmol Kryptofix[®]2.2.2, 3,6 μmol K_2CO_3 , 800 μl DMSO, 7 μmol Desmethylflumazenil, 20-30 MBq d_2 - $[^{18}\text{F}]$ FMT.

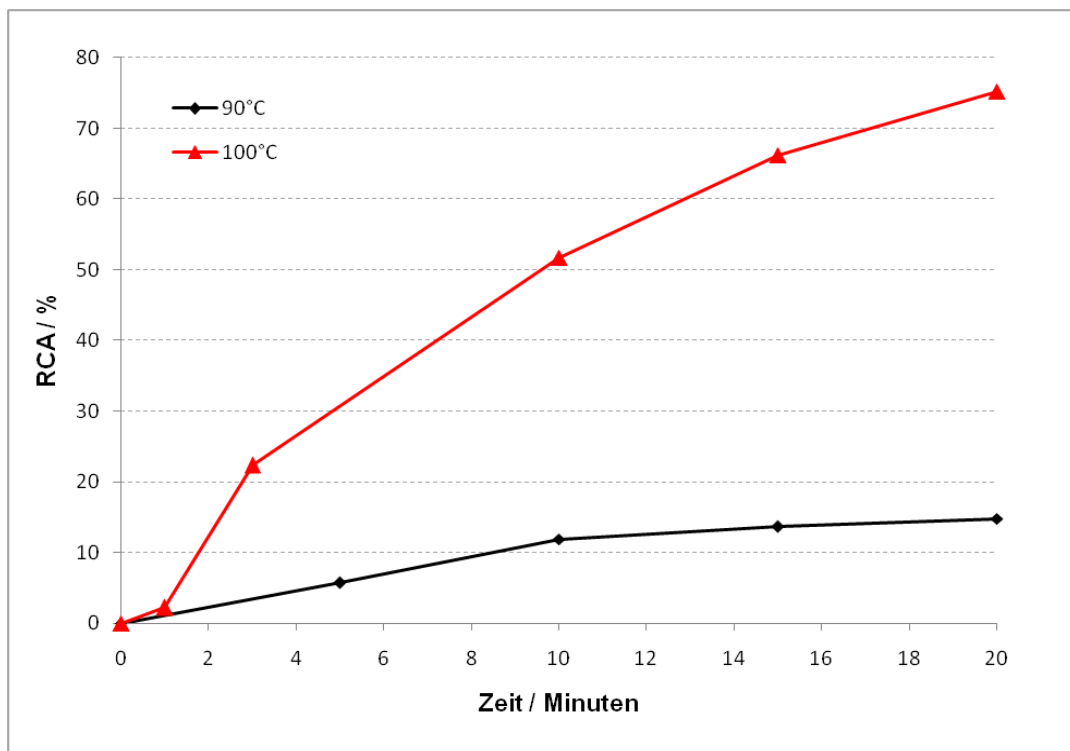


Abb. 56: Zersetzung bei der Markierung von Desmethylflumazenil unter Verwendung von 3,5 μmol Kryptofix[®]2.2.2, 3,6 μmol K_2CO_3 , 800 μl DMSO, 7 μmol Desmethylflumazenil, 20-30 MBq d_2 - $[^{18}\text{F}]$ FMT.

Daraufhin wurde auf die Vorschrift zur ^{18}F -Fluorethylierung¹⁰⁶, bei der Natriumhydrid zur Deprotonierung des Markierungsvorläufers verwendet wurde, zurückgegriffen. Bei NaH handelt es sich um eine starke Base, mit der die Deprotonierung von Amiden gelingt. Dafür wurden $7\ \mu\text{mol}$ *N*-Desmethylflumazenil mit $6,7\ \mu\text{mol}$ NaH bei Raumtemperatur in DMSO deprotoniert, die Lösung erwärmt und anschließend $20\text{-}30\ \text{MBq}$ d_2 - ^{18}F FMT in DMSO zugegeben. Die radiochemischen Ausbeuten bei $80\ ^\circ\text{C}$, $90\ ^\circ\text{C}$ und $100\ ^\circ\text{C}$ wurden bestimmt und gegen die Zeit aufgetragen (siehe Abbildung 57). Dabei konnte keine höhere Ausbeute als 22% erzielt werden. Generell konnten bei niedrigeren Temperaturen höhere Ausbeuten erhalten werden, während eine Erhöhung der Reaktionstemperatur zu schnellerer Zersetzung des Produkts führte. In diesem Fall zersetzte sich bei den Reaktionsbedingungen nicht nur das Synthon, sondern auch das gewünschte Produkt d_2 - ^{18}F FMF bei höheren Reaktionszeiten. Die Bildung des $^{18}\text{F}^-$ ist in Abbildung 58 gegen die Zeit aufgetragen.

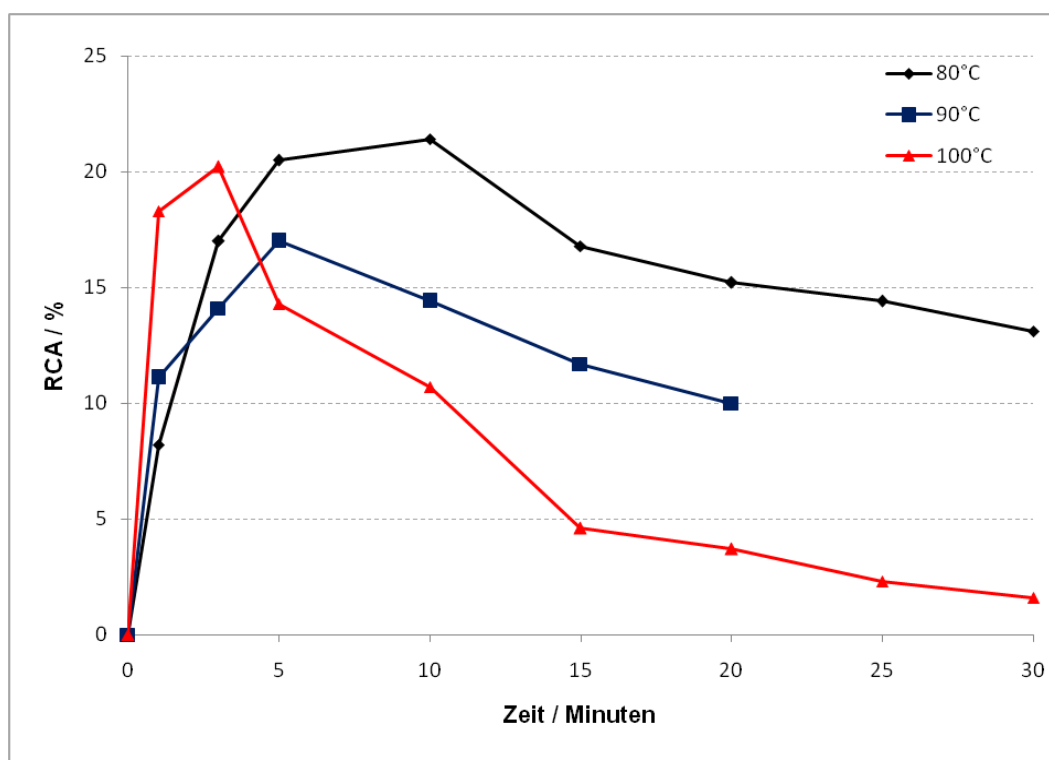


Abb. 57: Bildung von d_2 - ^{18}F FMF unter Verwendung von $6,7\ \mu\text{mol}$ NaH, $1\ \text{ml}$ DMSO, $7\ \mu\text{mol}$ Desmethylflumazenil, $20\text{-}30\ \text{MBq}$ d_2 - ^{18}F FMT.

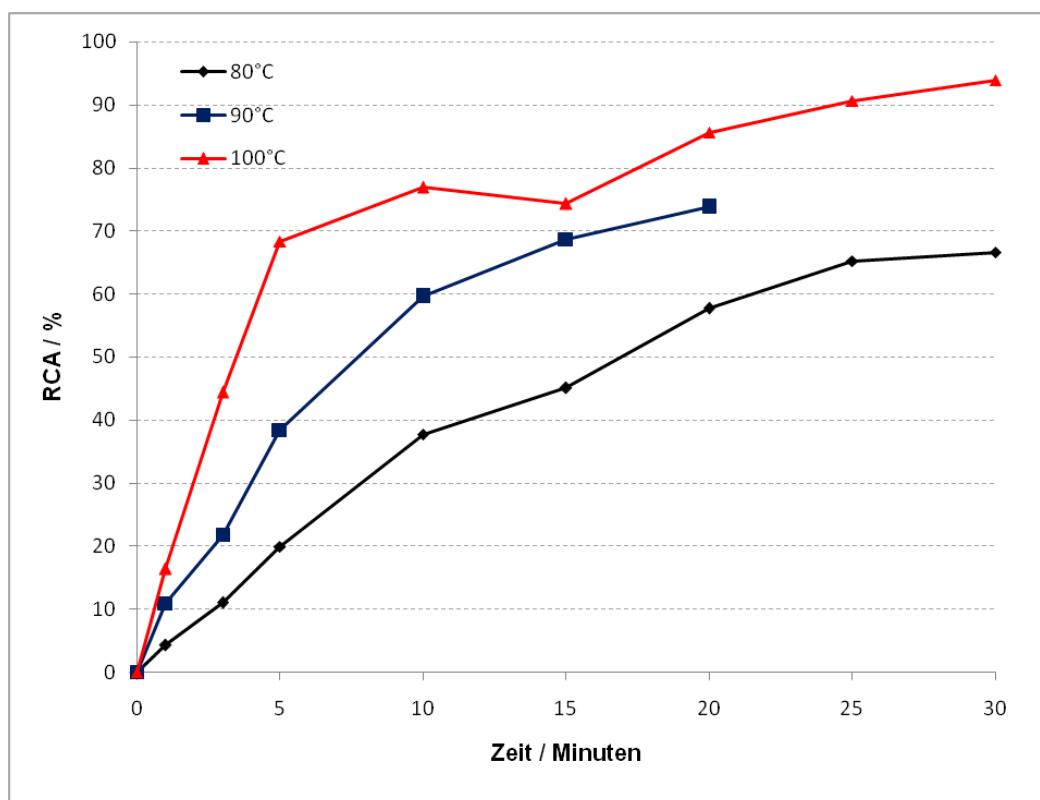


Abb. 58: Zersetzung bei der Synthese von d_2 - $[^{18}\text{F}]\text{FMF}$ mit $6,7 \mu\text{mol NaH}$, 1 ml DMSO , $7 \mu\text{mol Desmethylflumazenil}$, $20\text{-}30 \text{ MBq } d_2$ - $[^{18}\text{F}]\text{FMT}$.

Die starke Zersetzung während der ^{18}F -Fluormethylierung deutet darauf hin, dass nicht unter wasserfreien Bedingungen gearbeitet wurde. Die Ursache dafür ist die Fixierung und anschließende Elution des d_2 - $[^{18}\text{F}]\text{FMT}$ auf StrataX-Kartuschen. Diese können aufgrund ihres Materials trotz Anlegen eines Luftstroms nur schlecht getrocknet werden, sodass beim Elutionsschritt Wasser mit in die Reaktionslösung geschleppt wurde. Dadurch wird das zuvor deprotonierte Amid wieder protoniert und die Ausbeuten sinken drastisch. Außerdem kann es in der Reaktionslösung zur Esterverseifung kommen. Durch die Benutzung von EN-Kartuschen der Firma Merck konnte das Problem gelöst werden. Diese Kartuschen sind stabil gegenüber höheren Temperaturen und können daher bei $80 \text{ }^\circ\text{C}$ im Heliumstrom mit einer Heißluftpistole getrocknet werden. Nach dem Abkühlen konnte das Produkt d_2 - $[^{18}\text{F}]\text{FMT}$ mit $2\text{-}3 \text{ ml}$ trockenem Diethylether eluiert werden. Das Lösungsmittel wurde bei Raumtemperatur im Vakuum entfernt und das Synthon in $700 \mu\text{l}$ trockenem DMSO aufgenommen. Mit dieser Lösung konnten Markierungen bei $80 \text{ }^\circ\text{C}$ und $90 \text{ }^\circ\text{C}$ durchgeführt

werden. In Abbildung 59 werden die Synthesen von d_2 - $[^{18}\text{F}]\text{FMF}$ unter Verwendung von trockenem EN-Kartuschen-Eluat und nicht trockenem d_2 - $[^{18}\text{F}]\text{FMT}$ (StrataX-Eluat) miteinander verglichen.

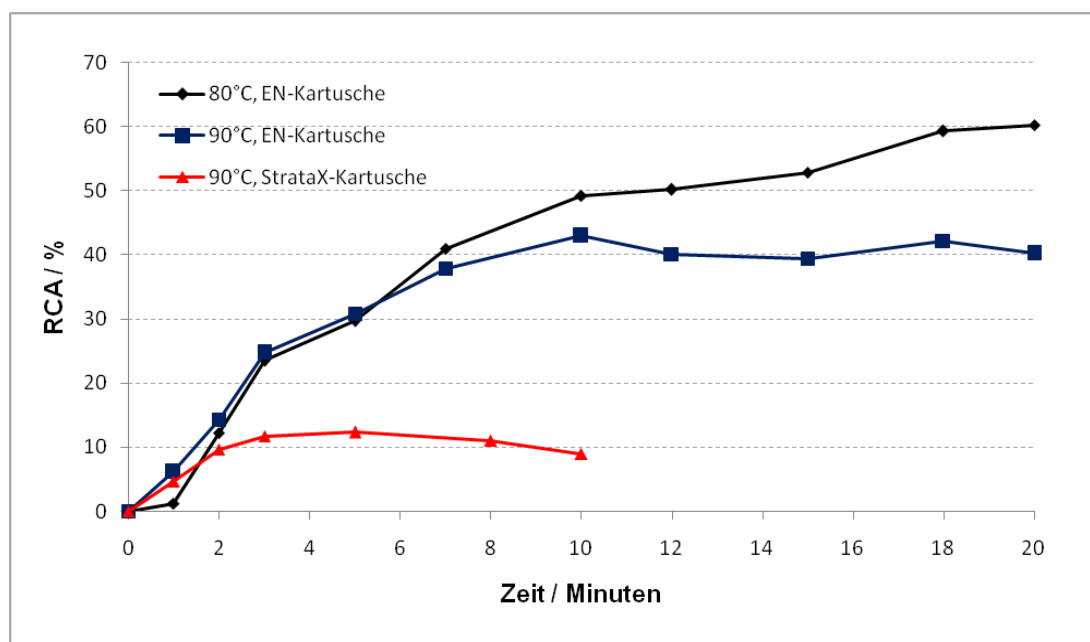


Abb. 59: Vergleich der radiochemischen Ausbeuten der d_2 - $[^{18}\text{F}]\text{FMF}$ -Bildung unter Verwendung verschiedener Kartuschen während der d_2 - $[^{18}\text{F}]\text{FMT}$ -Synthese. 1 ml DMSO, 7 μmol Desmethylflumazenil, 6,7 μmol NaH, 200-300 MBq d_2 - $[^{18}\text{F}]\text{FMT}$.

Dadurch konnten bei 80 °C über 60% d_2 - $[^{18}\text{F}]\text{FMF}$ nach 20 Minuten erzeugt werden.

Für die Abtrennung wurde das d_2 - $[^{18}\text{F}]\text{FMF}$ unter den optimierten Reaktionsbedingungen synthetisiert und isokratisch über semipräparative HPLC aufgereinigt. Die Retentionszeiten aller Produkte und Edukte sind in Kapitel 4.4.2 genauer beschrieben. Die Produktfraktion wurde bei 6,3 Minuten gesammelt und das Produkt nach der Verdünnung und auf einer StrataX-Kartusche fixiert. Nach anschließender Elution konnte das d_2 - $[^{18}\text{F}]\text{FMF}$ in Ethanol erhalten werden. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum unter Anlegen eines Heliumstromes entfernt. Das d_2 - $[^{18}\text{F}]\text{FMF}$ wurde nicht direkt in isotonischer Kochsalzlösung aufgenommen, sondern erst unmittelbar vor der Anwendung für Serumstabilitätsstudien oder μPET -Versuche in eine injektionsfertige Lösung überführt.

Tabelle 16 in Kapitel 6.1 gibt eine Aktivitätsbilanz der Synthese von [^{18}F]Fluormethylflumazenil wieder.

Die Ausbeute für die ^{18}F -Fluormethylierung lag bei 27%, die Gesamtausbeute betrug 7,8% über einen Zeitraum von 126 Minuten. Damit war auch hier die Ausbeute nach der Abtrennung deutlich niedriger als die Kinetiken vermuten lassen. Dies kann auf Spuren von Wasser im Lösungsmittel zurückzuführen sein, die die Produktbildung zurückdrängen.

Versuche zur Serumstabilität zeigten bereits bei dem ersten Messwert nach 30 Minuten fast vollständige Zersetzung des [^{18}F]Fluor- $[d_2]$ methylflumazenils.

3.5 μPET -Experimente

3.5.1 [^{18}F]Fluor- $[d_2]$ methylharmol (d_2 - ^{18}F FMH)

Für die Durchführung der *in vivo*-Experimente wurden zwei männliche, 345-365 g schwere Sprague Dawley-Ratten mit Isofluran narkotisiert und ihnen 8-9 MBq des Radiopharmakons in 400 μl isotonischer Kochsalzlösung intravenös über die Schwanzvene injiziert. Im Anschluss an den dynamischen Scan wurde ein Ganzkörperscan durchgeführt. Um den direkten Vergleich mit [^{18}F]Fluorethylharmol zu ermöglichen, wurden unveröffentlichte Daten von H. Schieferstein verwendet.

Die starke Anreicherung des [^{18}F]Fluor- $[d_2]$ methylharmols im Gehirn ist visuell gut zu erkennen. Dabei sind im μPET keine unterschiedlich hohen Aufnahmen in verschiedenen Hirnregionen feststellbar. Dies zeigt noch einmal die in der Literatur beschriebene gleichmäßige Verteilung der MAO_A im Rattenhirn⁴⁹. In der Maximum Intensity Projection (MIP) ist auch die Anreicherung des Radiopharmakons in den Hader'schen Drüsen, den Speicheldrüsen und dem Bulbus Olfactorius deutlich zu sehen.

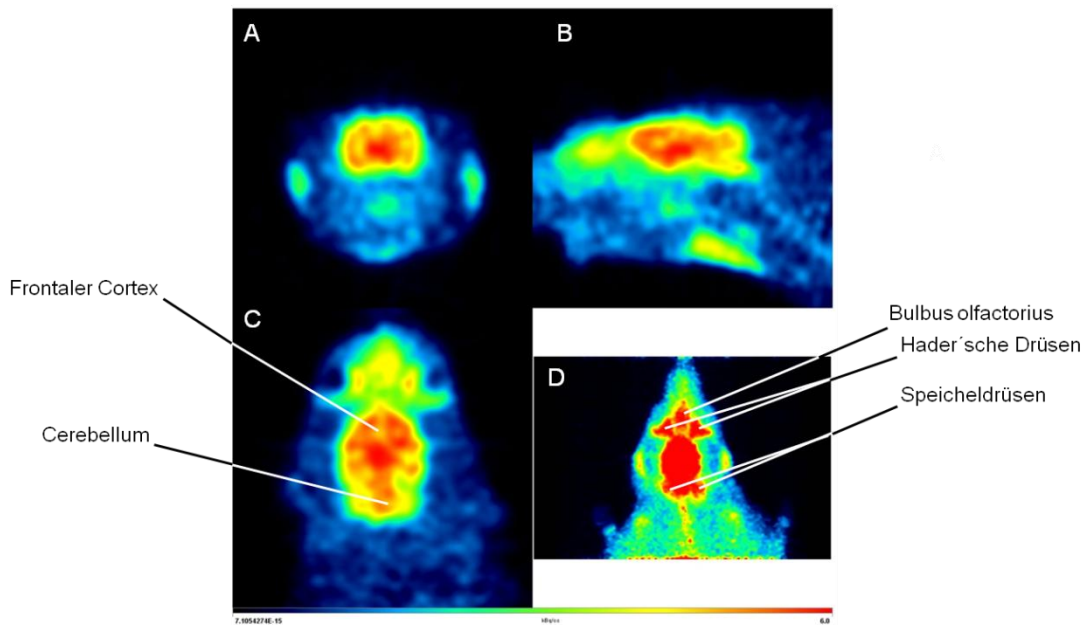


Abb. 60: d_2 - $[^{18}\text{F}]$ FMH, Mittelwert zwischen 0 und 10 Minuten, SUV 0-6. (A) Coronar, (B) Sagital, (C) Transversal, (D) Maximum Intensity Projection.

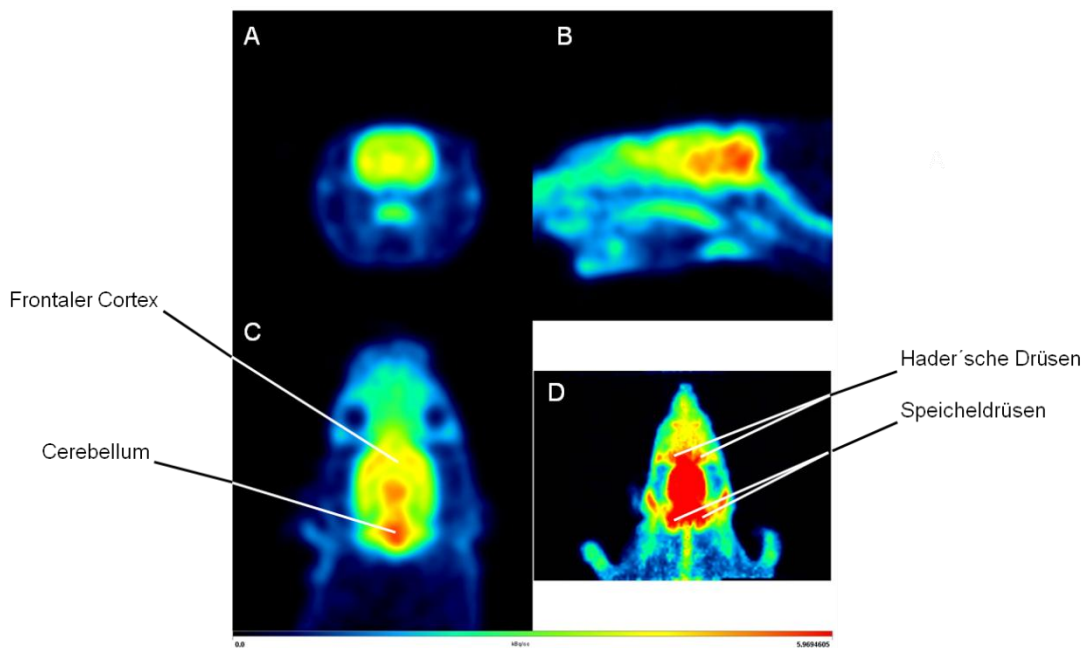


Abb. 61: $[^{18}\text{F}]$ FEH, Mittelwert zwischen 0 und 10 Minuten, SUV 0-6. (A) Coronar, (B) Sagital, (C) Transversal, (D) Maximum Intensity Projection.

Der direkte Vergleich mit $[^{18}\text{F}]$ Fluorethylharmol zeigt 1,5fach höhere Anreicherung des $[^{18}\text{F}]$ Fluor- $[d_2]$ methylharmols innerhalb der ersten 90 Sekunden nach der Injektion. 5 Minuten nach der Injektion lag das Verhältnis noch bei 1,2, da zum einen die Kinetik des $[^{18}\text{F}]$ FEH etwas langsamer ist, zum anderen wird das d_2 - $[^{18}\text{F}]$ FMH sehr schnell wieder aus

dem Gehirn ausgewaschen, während $[^{18}\text{F}]\text{FEH}$ nach fünf Minuten ein Plateau erreicht, das über die restliche Messzeit konstant bleibt.

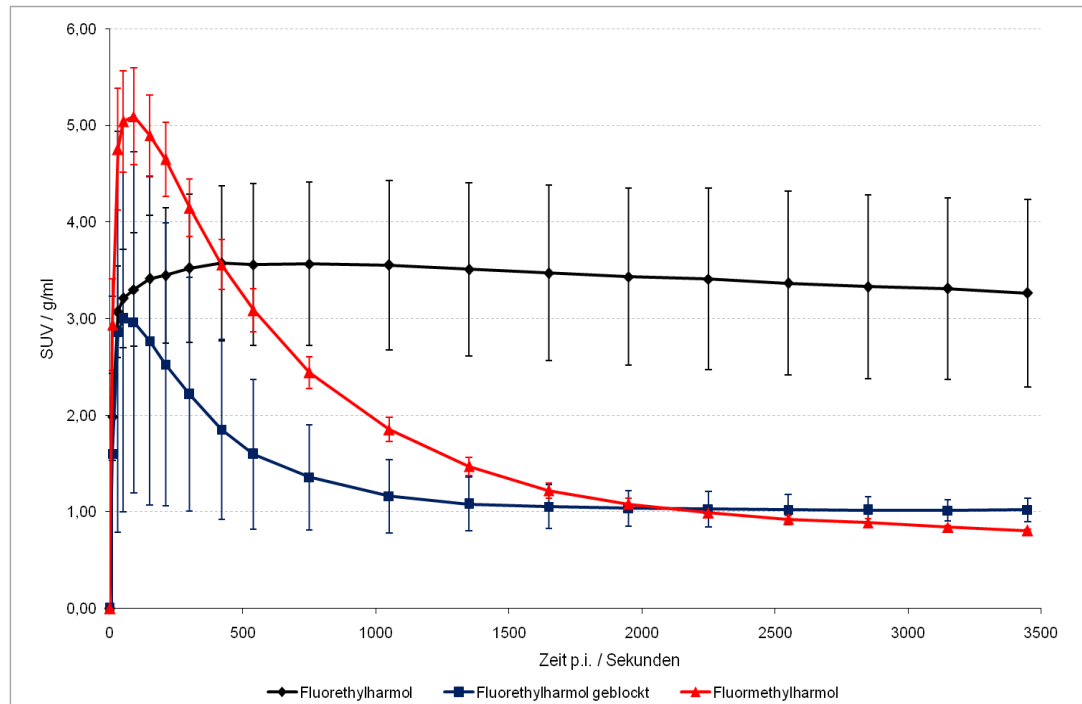


Abb. 62: Zeit-Aktivitäts-Kurven für $[^{18}\text{F}]\text{Fluor-}[d_2]\text{methylharmol}$ und $[^{18}\text{F}]\text{Fluorethylharmol}$

$[^{18}\text{F}]\text{Fluorethylharmol}$ zeigt aufgrund seiner relativ hohen Lipophilie auch unspezifische Bindung. Daher wurden von H. Schieferstein auch Blocking-Studien mit Chlorgyline durchgeführt. Die Ergebnisse beider Versuche sind in Abbildung 62 zu sehen. Die spezifische Bindung kann dann einfach durch Subtraktion der unspezifischen Bindung (blaue Kurve) von der totalen Bindung (schwarze Kurve) ermittelt werden. Dadurch ergibt sich ein guter Uptake des $[^{18}\text{F}]\text{FEH}$, bei dem ein Gleichgewichtszustand schon nach 10 Minuten erreicht wird.

Blocking-Studien mit Chlorgyline zur Bestimmung der spezifischen Bindung konnten aufgrund der geringen radiochemischen Ausbeute des $[^{18}\text{F}]\text{FMH}$ nicht mehr durchgeführt werden. Dadurch lässt sich noch keine Aussage über das Verhältnis von spezifischer zu unspezifischer Bindung treffen. Aber die erhaltenen Ergebnisse deuten bereits an, dass ein Gleichgewichtszustand bei $d_2\text{-}[^{18}\text{F}]\text{FMH}$ nicht erreicht wird.

Im Ganzkörperscan ist eine Stunde nach der Injektion eine deutliche Anreicherung des [^{18}F]Fluormethylharmols in Leber, Herz und Gastrointestinaltrakt zu erkennen. Diese Organe sind besonders reich an MAO_A⁴⁹.

3.5.2 [^{18}F]Fluor-[d_2]methyl-MH.MZ (d_2 -[^{18}F]FM-MH.MZ)

Für die Durchführung der *in vivo*-Experimente wurden zwei männliche, 365-400 g schwere Sprague Dawley-Ratten mit Isofluran narkotisiert und ihnen 18-23 MBq des Radiopharmakons in 600 μl isotonischer Kochsalzlösung intravenös über die Schwanzvene injiziert. Im Anschluss an den dynamischen Scan wurde ein Ganzkörperscan durchgeführt.

Abbildung 63 zeigt die Aufnahme des [^{18}F]Fluor-[d_2]methyl-MH.MZ in coronaren, sagitalen und transversalen Schnitten sowie die Maximum Intensity Projection (MIP) als Mittelwert der letzten 30 Minuten der Messzeit. Die höchste spezifische Aufnahme des d_2 -[^{18}F]FM-MH.MZ wurde im frontalen Cortex beobachtet. Im Cerebellum konnte während der letzten 30 Minuten hingegen fast kein d_2 -[^{18}F]FM-MH.MZ nachgewiesen werden. Hohe unspezifische Aufnahme wurde in den Hader'schen Drüsen und den Speicheldrüsen gemessen.

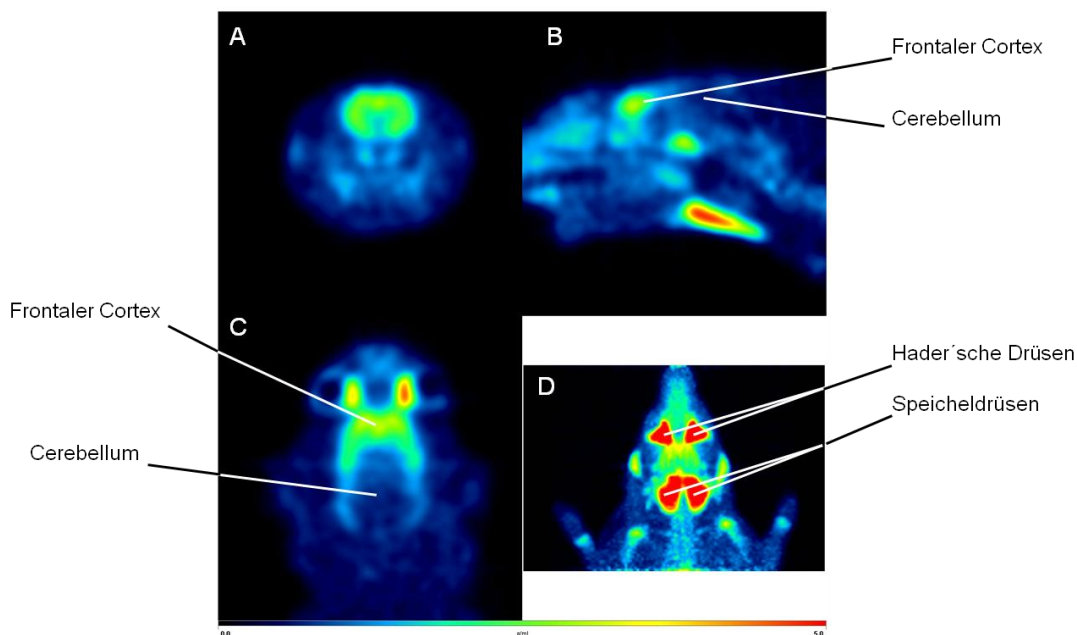


Abb. 63: d_2 -[^{18}F]FM-MH.MZ, Mittelwert zwischen 30 und 60 Minuten, SUV 0-5. (A) Coronal, (B) Sagital, (C) Transversal, (D) Maximum Intensity Projection.

Die Zeit-Aktivitäts-Kurven in Abbildung 64 zeigen die Standard Uptake Values (SUV) für ^{18}F Fluor- $[d_2]$ methyl-MH.MZ im frontalem Cortex und im Cerebellum während der 60-minütigen Messzeit. d_2 - ^{18}F FM-MH.MZ zeigt eine hohe Anreicherung im frontalen Cortex innerhalb der ersten fünf Minuten. Danach wird ein Gleichgewichtszustand über einen Zeitraum von etwa acht Minuten erreicht, bevor das d_2 - ^{18}F FM-MH.MZ langsam ausgewaschen wird. Nach einer Stunde sind noch 64% des maximalen SUV vorhanden. Obwohl es auch im Cerebellum, der Region mit der geringsten 5-HT_{2A}-Rezeptordichte im Hirn, die daher auch als Referenzregion bei der Auswertung verwendet wird, anfangs gut aufgenommen wird, wird es dort bereits nach weniger als 500 Sekunden wieder ausgewaschen. Nach 40 Minuten ist fast keine Aktivität des Tracers mehr im Cerebellum zu messen.

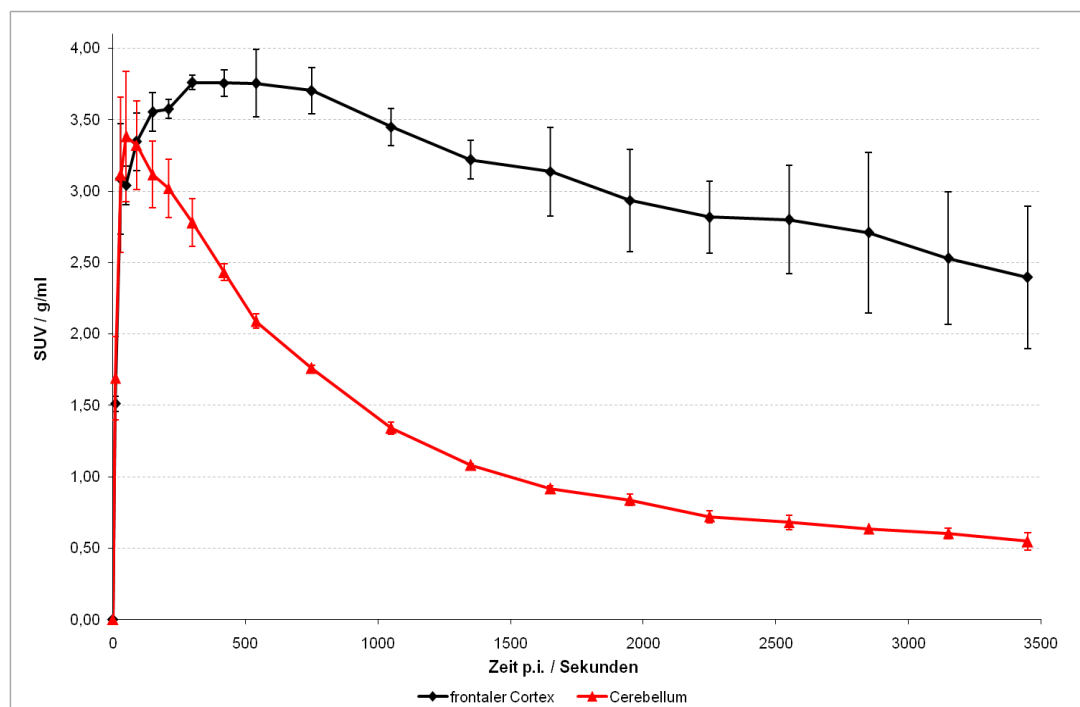


Abb. 64: Zeit-Aktivitäts-Kurven für d_2 - ^{18}F FM-MH.MZ in frontalem Cortex und Cerebellum

Die Ergebnisse stehen in Einklang mit den von M. Herth et al. publizierten Daten für das ^{18}F MH.MZ, das ebenfalls eine hohe Aufnahme in den frontalen Cortex innerhalb der ersten fünf Minuten sowie hohe Aufnahme und schnelles Auswaschen des Tracers innerhalb weniger Minuten im Cerebellum aufweist⁸².

Nach 500 Sekunden ist der Hirn-Uptake des [^{18}F]Fluormethyl-MH.MZ fast dreimal höher als der des [^{18}F]MH.MZ, eine Stunde nach der Injektion ist er noch doppelt so hoch. Das Verhältnis von frontalem Cortex zu Cerebellum eine Stunde nach Injektion des [^{18}F]FM-MH.MZ liegt trotz des Auswaschens des Tracers bei 4,4, was deutlich besser als das für [^{18}F]MH.MZ veröffentlichte Verhältnis von 2,7 ist⁸². [^{18}F]Fluormethyl-MH.MZ zeigt also sehr gute Eigenschaften für die *in vivo*-Bildgebung von 5-HT_{2A}-Rezeptoren.

3.5.3 [^{18}F]Fluor-[*d*₂]methylflumazenil (*d*₂-[^{18}F]FMF)

Für die μPET -Experimente wurden zwei männliche, 350-425 g schwere Sprague Dawley-Ratten mit Isofluran narkotisiert. Anschließend wurden ihnen 20-25 MBq des Radiopharmakons in 600 μl isotonischer Kochsalzlösung intravenös über die Schwanzvene injiziert. Im Anschluss an den 60-minütigen dynamischen Scan wurde ein Ganzkörper-Scan durchgeführt.

Da die ersten Stabilitätsstudien eine geringe Stabilität des Radiotracers zeigten, wurde das *d*₂-[^{18}F]FMF erst direkt vor der Applikation in isotonischer Kochsalzlösung aufgenommen und direkt injiziert. Bei der Auswertung wurde besonderes Interesse auf die ersten fünf Minuten nach der Injektion gelegt. Dies lag einerseits an der Instabilität des Tracers in Lösung und andererseits waren von [^{18}F]Fluorethylflumazenil bereits die sehr schnellen Aufnahmekinetiken und das schnelle Auswaschen des Tracers aus dem Gehirn bekannt¹⁰⁶.

Wie in Abbildung 65 gut zu erkennen ist, kam es nicht zu einer Anreicherung des Tracers im Hirn.

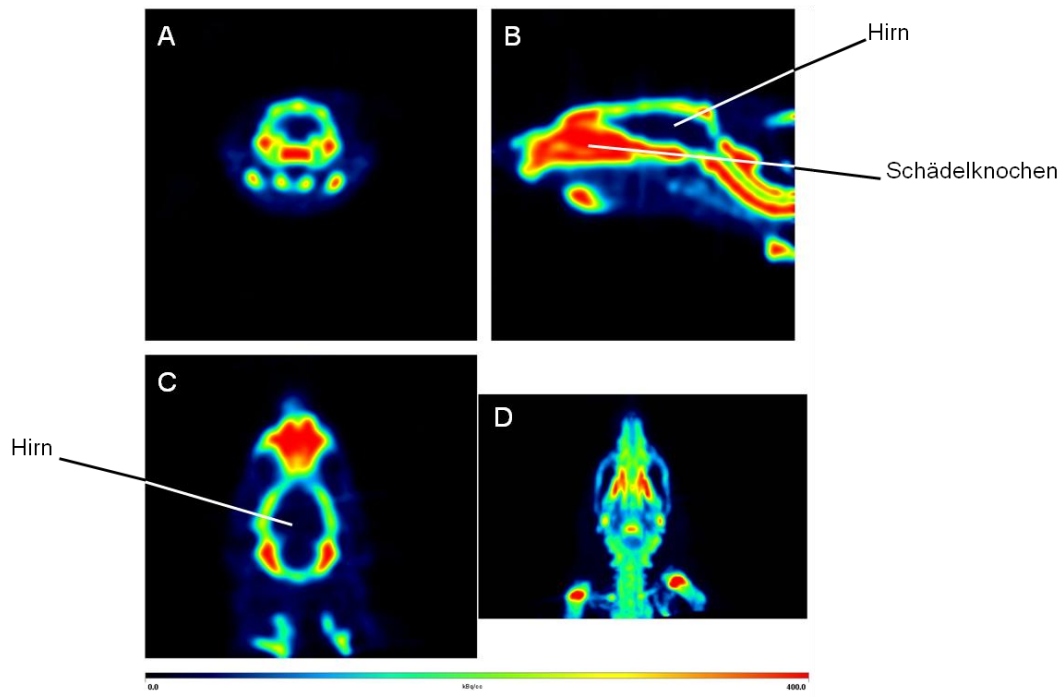


Abb. 65: d_2 - $[^{18}\text{F}]$ FMF, Mittelwert zwischen 0 und 60 Minuten. (A) Coronar, (B) Sagital, (C) Transversal, (D) Maximum Intensity Projection.

In der Maximum Intensity Projection ist die Defluorierung besonders gut zu erkennen, da durch das $[^{18}\text{F}]$ F $^-$ das Skelett und besonders die Gelenke deutlich abgebildet wurden.

Für die Defluorierung des $[^{18}\text{F}]$ Fluormethylflumazenils *in vivo* konnten zwei mögliche Ursachen identifiziert werden:

- Es erfolgt eine Metabilisierung *in vivo*, zum Beispiel enzymatisch
- Die Zersetzung des Tracers erfolgt bereits vor der Applikation in Lösung aufgrund der Instabilität der Verbindung.

Um die Ursache zu überprüfen, wurden Serumstabilitätsstudien durchgeführt, bei denen die Zeitintervalle für die Aliquotentnahme sehr kurz gewählt wurden. Aus diesem Grund konnte die Auswertung nur per Radio-DC erfolgen.

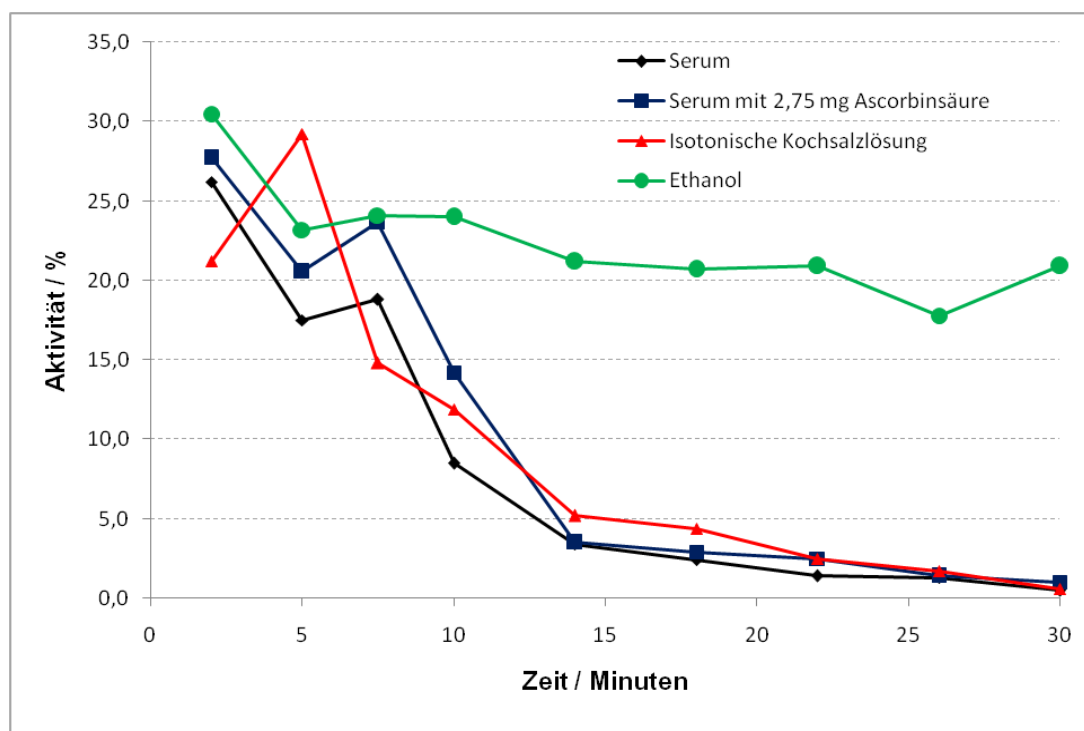


Abb. 66: Ergebnisse des Serumstabilitätstests mit $[^{18}\text{F}]\text{Fluor}-[d_2]\text{methylflumazenil}$. 400 μl Medium, 10-25 MBq d_2 - $[^{18}\text{F}]\text{FMF}$ in 150 μl isotonischer NaCl, 37 $^{\circ}\text{C}$, 400 min^{-1}

Bereits zwei Minuten nach Zugabe des d_2 - $[^{18}\text{F}]\text{FMF}$ konnte starke Zersetzung beobachtet werden, weniger als 30% des Tracers waren noch intakt.

Wie der Vergleich mit isotonischer Kochsalzlösung zeigt, ist die Defluorierung unabhängig von enzymatischer Zersetzung. Außerdem ist sie auch unabhängig vom pH-Wert, der bei dem verwendeten Kälberserum bei 7,2 lag. Auch in ethanolischer Lösung defluoriert die Verbindung, allerdings mit geringerer Geschwindigkeit, wie in Abbildung 66 zu erkennen ist. In Ethanol liegen nach 30 Minuten noch etwa 20% des $[^{18}\text{F}]\text{Fluor}-[d_2]\text{methylflumazenils}$ unzersetzt vor.

Diese Experimente beweisen die schnelle Zersetzung des Radiopharmakons in Lösung. Die Defluorierung ist also nicht auf enzymatische Prozesse *in vivo* zurückzuführen, sondern liegt an der Instabilität des Radiotracers.

3.6 Diskussion

3.6.1 Synthese des [^{18}F]Fluormethyltosylats und des [^{18}F]Fluor- $[d_2]$ methyltosylats

Die in dieser Arbeit untersuchten Synthons für die ^{18}F -Fluormethylierung, [^{18}F]Fluormethyltosylat und [^{18}F]Fluor- $[di-deutero]$ methyltosylat, können innerhalb von 45-50 Minuten ausgehend von Bis(tosyloxy)methan bzw. Bis(tosyloxy)- $[di-deutero]$ methan mit radiochemischen Ausbeuten zwischen 35 und 50% synthetisiert werden. Die Markierungsvorläufer müssen ausgehend von Diiodmethan bzw. Diiod- $[di-deutero]$ methan mit Silbertosylat regelmäßig selbst synthetisiert werden, da die Verbindungen sich über einen Zeitraum von mehreren Monaten bei Lagerbedingungen zersetzen. Das verwendete Basen-Phasentransferkatalysator-System, Tetrabutylammoniumbicarbonat, kann ausgehend von Tetrabutylammoniumhydroxid mit quantitativen Ausbeuten selbst hergestellt werden.

Die Bedingungen der Radiosynthese des [^{18}F]FMT bzw. d_2 - ^{18}F]FMT unterscheiden sich wesentlich von denen des [^{18}F]Fluorethyltosylats. Diese Unterschiede betreffen

- die eingesetzte Stoffmenge des Markierungsvorläufers,
- das Lösungsmittel,
- und das verwendete Basen/Phasentransferkatalysator-System

Lediglich die Temperatur und die Reaktionsdauer sind bei den Synthons gleich.

Für die ^{18}F -Fluormethylierung wird mehr als die doppelte Stoffmenge der Markierungsvorläufer Bis(tosyloxy)methan bzw. Bis(tosyloxy)- $[di-deutero]$ methan benötigt, um gute Ausbeuten zu erzielen, als bei der ^{18}F -Fluor-ethylierung. Neal et al. führen dies auf die geringere Löslichkeit des Vorläufers in Acetonitril zurück. Bei der Verwendung von 800 μl Lösungsmittel spielt dieser Effekt jedoch nur eine untergeordnete Rolle⁴³.

Bei der Verwendung von reinem Acetonitril als Lösungsmittel entsteht überwiegend das unerwünschte Nebenprodukt [^{18}F]Tosylfluorid. Diese Nebenreaktion wird bei der Synthese des [^{18}F]FETos nicht beobachtet.

Durch den Zusatz geringer Mengen Wasser oder der Verwendung eines Lösungsmittelgemisches aus 75% Acetonitril und 25% *tert*-Butanol kann die Bildung des [¹⁸F]TF weitgehend zurückgedrängt werden und die Abtrennung per semipräparativer HPLC ermöglicht eine vollständige Abtrennung des Nebenprodukts, so dass dieser in weiteren Versuchen nicht stört.

Die Verwendung des Systems Kryptofix[®]2.2.2/K₂CO₃ führt, anders als bei Neal et al. beschrieben⁴³, nur zu geringen radiochemischen Ausbeuten. Vielmehr scheint der Markierungsvorläufer Bis(tosyloxy)methan instabil gegenüber dem Kryptanden zu sein⁴⁷. Durch die Verwendung von Tetrabutylammoniumbicarbonat, das einerseits eine milde Base ist, andererseits auch die Eigenschaften eines Phasentransferkatalysators hat, konnten die radiochemischen Ausbeuten deutlich erhöht werden. Für die ¹⁸F-Fluorethylierung ist die Verwendung von TBABC nicht notwendig, da der Markierungsvorläufer gegenüber Kryptofix[®]2.2.2/K₂CO₃ stabil ist.

So können maximale radiochemische Ausbeuten von 35-45% für das [¹⁸F]FMT und 40-50% für das d₂-[¹⁸F]FMT nach etwa 48 Minuten Syntheszeit zzgl. des Trocknungsschrittes der wässrigen [¹⁸F]F⁻-Lösung erzielt werden. Die Ursache für die höheren Ausbeuten des d₂-[¹⁸F]FMT ist wahrscheinlich die Stabilisierung des Synthons durch die Kohlenstoff-Deuterium-Bindung.

Im Vergleich dazu liefert die automatisierte Radiosynthese des [¹⁸F]Fluorethyltosylats auf einem Synthesemodul reproduzierbare radiochemische Ausbeuten zwischen 60 und 80% innerhalb von 40 Minuten Synthesedauer. Für einen Vergleich sind wichtige Reaktionsparameter für die Synthese von [¹⁸F]FETos, [¹⁸F]FMT und d₂-[¹⁸F]FMT in Tabelle 10 noch einmal zusammengefasst.

Tabelle 10: Vergleich der prosthetischen Gruppen [^{18}F]FETos, [^{18}F]FMT und d_2 -[^{18}F]FMT für die Fluoralkylierung. Daten für [^{18}F]FETos nach Bauman et al.^{31,32}

Synthon	[^{18}F]FET	[^{18}F]FMT	d_2 -[^{18}F]FMT
Markierungsvorläufer	Bis(tosyloxy)ethan	Bis(tosyloxy)methan	Dideutero-Bis(tosyloxy)methan
Stoffmenge MV / μmol	11	28	28
Phasentransferkatalysator/Base	Kryptofix [®] 2.2.2/ K_2CO_3	TBABC	TBABC
Lösungsmittel	Acetonitril	Acetonitril/tert-Butanol 3/1	Acetonitril/tert-Butanol 3/1
Synthesedauer / Minuten	± 40	± 48 zzgl. Trocknung	± 48 zzgl. Trocknung
radiochemische Ausbeute / %	60-80	39 ± 8	46 ± 6

Durch eine Automatisierung der d_2 -[^{18}F]FMT-Synthese auf dem bereits vorhandenen Synthesemodul könnte sich die Synthesedauer auf 40 Minuten inklusive des Trocknungsschrittes verkürzen lassen. Eine Erhöhung der radiochemischen Ausbeute ist dadurch jedoch nicht zu erwarten.

Die Synthesen der ^{18}F -Fluormethylierungssynthons erfordern einen höheren synthetischen Aufwand als die Synthese des [^{18}F]Fluorethyltosylats. Das Bis(tosyloxy)ethan für die Synthese des [^{18}F]FETos sowie Kryptofix[®]2.2.2 und K_2CO_3 sind im Chemikalienhandel erhältlich, während die Markierungsvorläufer und das TBABC für die [^{18}F]FMT- bzw. d_2 -[^{18}F]FMT-Synthese selbst hergestellt werden müssen.

3.6.2 ^{18}F -Fluormethylierungen mit d_2 -[^{18}F]FMT

Bereits bei der ^{18}F -Fluormethylierung der Modellverbindung Natriumphenolat zeigen sich die Unterschiede zwischen Synthons [^{18}F]FETos und d_2 -[^{18}F]FMT deutlich hinsichtlich der Reaktionsdurchführung und der erzielten radiochemischen Ausbeuten. Die Unterschiede betreffen

- die Reaktionsdauer
- und die Temperatur.

Außerdem ist DMF kein geeignetes Lösungsmittel für die ^{18}F -Fluormethylierung. Für die Synthese von [^{18}F]Fluor- d_2 methylharmol, [^{18}F]Fluor- d_2 methyl-MH.MZ und [^{18}F]Fluor- d_2 methylflumazenil ließen sich die Bedingungen der Reaktion mit [^{18}F]FETos nicht einfach übertragen. Stattdessen mussten die Reaktionsbedingungen der ^{18}F -Fluormethylierung für alle drei Zielstrukturen optimiert werden.

Während die ^{18}F -Fluorethylierung der Markierungsvorläufer Harmol (**15**) und (*R*)-3-((1-(4-Fluorphenethyl)piperidin-4-yl)(hydroxy)methyl)-2-methoxyphenol (**14**) bereits nach 5 bis 10 Minuten sehr gute Ausbeuten liefern^{71,81}, werden bei der ^{18}F -Fluormethylierung erst nach 20 Minuten zufriedenstellende Ausbeuten erreicht. Bei der Reaktionstemperatur sollen 120 °C nicht überschritten werden, bei niedrigeren Temperaturen werden jedoch ebenfalls nur geringe radiochemische Ausbeuten erhalten.

Insgesamt werden die radiochemischen Ausbeuten der ^{18}F -Fluorethylierung nicht erreicht. Stattdessen kann während der Reaktion Zersetzung beobachtet werden, die wahrscheinlich auf das d_2 -[^{18}F]FMT zurückzuführen ist. Bereits bei Raumtemperatur zersetzt sich d_2 -[^{18}F]FMT unter der Einwirkung von fünfmolaren Natronlauge. Um die Zersetzung des Synthons zu fördern, reicht die Basizität der deprotonierten Zielstrukturen, bei denen es sich in dieser Arbeit entweder um Phenolate oder um Amide handelte, in Kombination mit relativ hohen Reaktionstemperaturen offenbar bereits aus.

Im Vergleich mit [^{18}F]FETos zeichnet sich d_2 -[^{18}F]FMT durch eine wesentlich geringere Stabilität unter den Reaktionsbedingungen der ^{18}F -Fluoralkylierung aus. Dadurch werden trotz der zu erwartenden höheren Reaktivität des Synthons gegenüber [^{18}F]FETos geringere radiochemische Ausbeuten bei der ^{18}F -Fluormethylierung erzielt. Bei der ^{18}F -Fluorethylierung mit [^{18}F]FETos können radiochemische Ausbeuten über 80% an Aminen und über 90% an Phenolaten und Alkoholaten erzielt werden³¹. Die maximalen radiochemischen Ausbeuten für die ^{18}F -Fluormethylierung am Sauerstoff wie bei [^{18}F]Fluor- d_2 methylharmol und [^{18}F]Fluor- d_2 methyl-MH.MZ liegen

zwischen 60 und 70% bei den Kinetiken. Wenn von höheren Startaktivitäten ausgegangen wird und das Produkt durch semipräparative HPLC abgetrennt wird, werden deutlich geringere radiochemische Ausbeuten zwischen 20 und 50% erzielt.

Bei der ^{18}F -Fluormethylierung am *N*-Desmethylflumazenil, einem Amid, können durchschnittliche radiochemische Ausbeuten von 25 bis 30% nach der Aufreinigung über HPLC und Kartuschen erhalten werden. Für diese Reaktion sind vollständig wasserfreie Reaktionsbedingungen sehr wichtig, was aufgrund der vorherigen HPLC-Abtrennung des d_2 - ^{18}F]FMT nicht vollständig gewährleistet werden kann. Die radiochemischen Ausbeuten sind dadurch weniger gut zu reproduzieren.

Bei allen untersuchten Liganden zeigte sich, dass nach der Abtrennung des Produkts von Edukten und Neben- und Zersetzungsprodukten per HPLC keine so hohen Ausbeuten erzielt werden konnten, wie die Kinetiken zur Reaktionsoptimierung vermuten ließen. Aufgrund der zahlreichen zusätzlichen Arbeitsschritte kann man dies zum Teil auf den Verlust von Produkt an Gefäßwänden, auf Kartuschen und auf den Säulen für die HPLC-Abtrennung zurückführen. Eine weitere Ursache kann die Zersetzung des Radiotracers während der semipräparativen HPLC sein.

3.6.3 Stabilität der ^{18}F -fluormethylierten Liganden

Da die geringe metabolische Stabilität der ^{18}F -Fluormethylgruppe bekannt ist und für die Defluorierung *in vivo* bereits ein Mechanismus, der in Abbildung 10 in Kapitel 1.4 dargestellt ist, vorgeschlagen ist, ist es von großem Interesse, den Einfluss der Deuterierung auf die Stabilität der drei Radioliganden [^{18}F]Fluor- $[\text{d}_2]$ methylharmol, [^{18}F]Fluor- $[\text{d}_2]$ methyl-MH.MZ und [^{18}F]Fluor- $[\text{d}_2]$ methylflumazenil *in vivo* und *in vitro* zu untersuchen. *In vitro* wurden dafür Studien bei physiologischen Bedingungen in fetalem Kälberserum durchgeführt.

Der Ansatz, eine erhöhte Stabilität der Radioliganden durch die Substitution des Wasserstoffs in der ^{18}F -Fluormethylgruppe gegen Deuterium zu erreichen, war bei den am Sauerstoff ^{18}F -fluormethylierten ZNS-Liganden

[¹⁸F]Fluor-[d₂]methylharmol und [¹⁸F]Fluor-[d₂]methyl-MH.MZ erfolgreich. Sie zeichnen sich bei den Plasmastudien durch eine hohe Stabilität aus. Nach 2,5 Stunden liegen immer noch über 90% des Radiotracers intakt vor. Da Erfahrungen mit Pro-Drugs zeigen, dass sich der Metabolismus im Gehirn sich von dem im Blut unterscheiden kann und einige Stoffwechselprozesse im Hirn langsamer stattfinden, sind die Stabilitäten des d₂-[¹⁸F]FMH und des d₂-[¹⁸F]FM-MH.MZ besonders vielversprechend für eine Einsatz der Radiotracer *in vivo*.

Da am Sauerstoff ¹⁸F-fluormethylierte Verbindungen eine hohe Serumstabilität aufweisen, sind für ¹⁸F-Fluormethylierungen am Schwefel ebenfalls hohe *in vivo*-Stabilitäten zu erwarten. Da Schwefel eine geringere Elektronegativität als Sauerstoff hat, sollten diese Verbindungen gegenüber der ¹⁸F-Fluor-methylierung am Sauerstoff sogar stabilisiert sein.

Das am Stickstoff ¹⁸F-fluormethylierte d₂-[¹⁸F]FMF ist in Serum überhaupt nicht stabil und bereits nach weniger als 15 Minuten fast vollständig zersetzt. Die Kontrollen mit isotonischer Kochsalzlösung und Ethanol zeigen, dass es sich dabei nicht um enzymatische Metabolisierung im Serum handelt, sondern dass [¹⁸F]Fluor-[d₂]methylflumazenil allgemein in protischen Lösungsmitteln nicht stabil ist. Offenbar ist die ¹⁸F-Fluormethylgruppe trotz Deuterierung bei der Kopplung an ein Amid besonders destabilisiert. Es sind allerdings neben der Defluorierung auch andere Möglichkeiten der Zersetzung vorstellbar. So kann unter leicht basischen Bedingungen auch der Ethylester an der Seitenkette gespalten werden und zu einem polaren Zersetzungsprodukt führen. Welche Zersetzungsprodukte des d₂-[¹⁸F]FMF entstehen, konnte bei diesem Versuch nicht identifiziert werden.

3.6.4 **μPET-Experimente**

Die Ergebnisse der *in vivo*-Studien zeigen sehr schnelle Kinetiken und sehr hohe Anreicherung von [¹⁸F]Fluor-[d₂]methylharmol und [¹⁸F]Fluor-[d₂]methyl-MH.MZ im Hirn. Verglichen mit ihren ¹⁸F-fluorethylierten Analoga zeigen beide Tracer

- eine schnellere Aufnahme ins Hirn,
- eine höhere Anreicherung des Tracers im Hirn innerhalb der ersten 5 Minuten und
- ein schnelleres Auswaschen des Liganden aus dem Gehirn.

Der Vergleich der *in vivo*-Ergebnisse von [^{18}F]Fluor- $[d_2]$ methylharmol und [^{18}F]Fluor- $[d_2]$ methyl-MH.MZ mit denen ihrer ^{11}C -markierten Analoga zeigt eine größere Ähnlichkeit der physiologischen Eigenschaften als zwischen [^{18}F]Fluorethylharmol⁷⁰ und [^{11}C]Harmin⁶⁹ bzw. [^{18}F]MH.MZ⁸² und [^{11}C]MDL 100907¹¹¹.

Um genauere Aussagen über die Bedeutung dieser ^{18}F -fluormethylierten ZNS-Liganden treffen zu können, ist es allerdings wichtig, die Affinität der inaktiven Referenzverbindungen zum Rezeptor bzw. die Michalis-Menten-Konstante für das Enzymsubstrat [^{18}F]Fluor- $[d_2]$ methylharmol zu kennen. Nur so ist ein vollständiger Vergleich zwischen den ^{11}C -methylierten, ^{18}F -fluorethylierten und ^{18}F -fluor- $[d_2]$ methylierten Derivaten des Harmins und des MDL 100907 möglich.

Für die Darstellung des *N*-substituierten Radioliganden [^{18}F]Fluor- $[d_2]$ methylflumazenil ist die ^{18}F -Fluormethylierung keine geeignete Strategie. Der Tracer zeigt keine Aufnahme ins Hirn, sondern zersetzt sich vollständig durch Defluorierung. Bei dem μPET -Experiment konnte die Defluorierung anders als bei der Serumstabilität nachgewiesen werden, da das Skelett deutlich abgebildet wurde. Da von [^{18}F]Fluorethylflumazenil die schnelle Aufnahme und das schnelle Auswaschen des Tracers aus dem Gehirn bekannt ist, wäre auch für das [^{18}F]Fluor- $[d_2]$ methylflumazenil eine schnelle Aufnahme ins Hirn zu erwarten gewesen. Die geringe Stabilität macht [^{18}F]Fluor- $[d_2]$ methylflumazenil jedoch für weitere Untersuchungen uninteressant.

4 Methoden

4.1 Verwendete Geräte und Chemikalien

4.1.1 Verwendete Chemikalien

Alle verwendeten Chemikalien wurden von den Firmen ABCR, ABX, Acros Organics, Alfa Aesar, Fisher Scientific, Merck, Sigma Aldrich und VWR bezogen und ohne weitere Aufreinigung eingesetzt. Alle trockenen Lösungsmittel wurden in Septenflaschen von Sigma Aldrich bezogen und über Molsieb gelagert. Alle anderen Lösungsmittel wurden von Fisher Scientific bezogen. Für NMR-Spektroskopie wurden deuterierte Lösungsmittel der Firmen Deutero und Sigma Aldrich verwendet.

Zur Dünnschichtchromatographie wurden DC-Platten der Firma Merck (DC-Folien 20x20 cm, Kieselgel 60 F254) und die jeweils angegebenen Laufmittelgemische (v/v) verwendet. Die Detektion der Substanzen erfolgte mit UV-Licht der Wellenlänge $\lambda = 254$ nm. Säulenchromatographische Trennverfahren wurden mit Silicagel (Kieselgel 60, 0,04-0,06 mm Korngröße) von Fisher Scientific und Sigma Aldrich durchgeführt.

Zur Festphasenextraktion wurde StrataX-Kartuschen (200 mg) der Firma Phenomenex und LiChrolut EN-Kartuschen (200 mg) der Firma Merck verwendet.

4.1.2 Verwendete Geräte

Mikrowellengestützte Synthesen wurden an einer Discover single-mode Labormikrowelle der Firma CEM durchgeführt. Die Temperaturregulierung erfolgte über einen Infrarotsensor, die Druckregulierung über eine Piezo-Druckzelle.

Für die HPLC-Abtrennungen wurden zwei verschiedene HPLC-Systeme verwendet.

- HPLC-System der Firma Dionex, HPLC-Pumpe P680, Hochdruckinjektionsventil S 9010, UV-Detektor UVD 170U, Aktivitätsdetektor Raytest GabiStar 11/02

- HPLC-System der Firma Sykam, HPLC-Pumpe S 1100, Hochdruckinjektionsventil S 9010, UV-Detektor K-2501 (Knauer), Aktivitätsdetektor Berthold Flowstar LB 513

Für die Abtrennungen kamen LiChrolut C18-Säulen (Merck), Synergi maxRP C12-Säulen (Phenomenex) und μ Bondapak C18-Säulen (Waters) zum Einsatz.

Für die Auswertung der Riodünnschichtchromatogramme wurde ein Instant Imager der Firma Canberra Packard verwendet. Aktivitätsmengen wurden in einem Isomed 2000-Aktivimeter (MED) gemessen.

Die ^1H -NMR-Spektren (300 MHz) wurden an einem AC-300-Spektroskop der Firma Bruker im Institut für organische Chemie der JGU gemessen. Zur Auswertung der Signalverschiebung wurde Tetramethylsilan als Referenz verwendet.

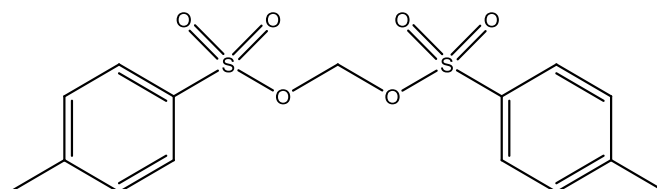
FD-Massenspektren wurden an einem MAT 95-Spektrometer (Finnigan) und ESI-Massenspektren an einem ThermoQuest Navigator Instrument (Thermo Electron) im Institut für organische Chemie gemessen.

Für die PET-Aufnahmen wurde ein μ PET-Scanner (Focus 120) der Firma Siemens verwendet.

4.2 Synthese der Markierungsvorläufer und inaktiven Referenzverbindungen

4.2.1 Synthese des Bis(tosyloxy)methans und des Bis(tosyloxy)-[di-deutero]methans

4.2.1.1 Bis(tosyloxy)methan (**2a**)

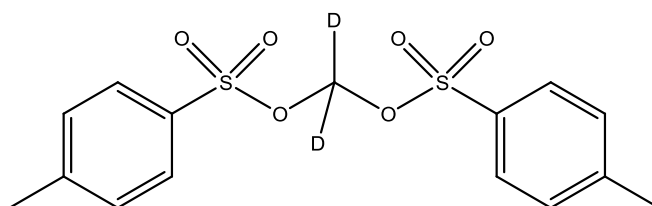


Eine Lösung aus 6,67 g (24 mmol) Silbertosylat und 3,0 g (11 mmol) Diiodmethan in 30 ml trockenem Acetonitril wurde für 24 Stunden unter Rückfluss erhitzt. Nach dem Abkühlen wurde der gelbe Feststoff abfiltriert

und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Säulenchromatographie (EA/nHex 1/1) lieferte 2,715 g (7,62 mmol, 69% der Theorie) des Produkts als weißen Feststoff.

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3), δ (ppm) = 7,595 (d, 4H); 7,400 (d, 4H); 5,923 (s, 2H); 2,414 (s, 6H)

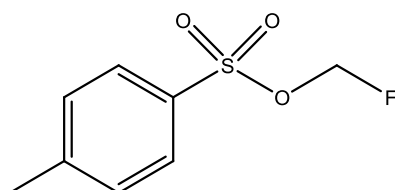
4.2.1.2 *Bis(tosyloxy)-[di-deutero]methan (2b)*



Eine Lösung aus 11,28 g (40,43 mmol) Silbertosylat und 5,0 g (18,53 mmol) Diiod-[*di-deutero*]methan in 60 ml trockenem Acetonitril wurde für 24 Stunden unter Rückfluss erhitzt. Nach dem Abkühlen wurde der gelbe Feststoff abfiltriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde in 25 ml CDCl_3 aufgenommen, erwärmt und warm abfiltriert. Das Filtrat wurde im Vakuum eingeeengt. Nach anschließender Trocknung im Hochvakuum erhielt man 5,0 g (14 mmol, 76% der Theorie) des gewünschten Produkts in hoher Reinheit.

MS (FD) m/z (% rel. Int.): 358,2 (100 $[\text{M}]^+$), 359,2 (24 $[\text{M}+1]^+$), 360,2 (10 $[\text{M}+2]^+$)

4.2.2 **Synthese des Fluormethyltosylats (3a)**

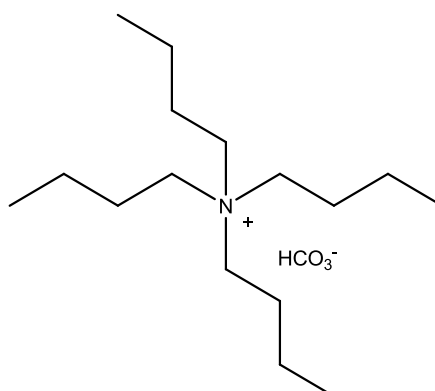


Zu einer Lösung aus 1,01 g (2,82 mmol) Bis(tosyloxy)methan in 20 ml trockenem Acetonitril wurden 2,86 ml (2,86 mmol) TBAF-Lösung (1,0 M in THF) getropft und die Reaktionslösung wurde 2 Stunden unter Rückfluss erhitzt. Anschließend wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt, der

Rückstand mit Ethylacetat aufgenommen und mit Wasser gewaschen. Die organische Phase wurde mit Na_2SO_4 getrocknet und das Lösungsmittel abermals im Vakuum entfernt. Säulenchromatographie (EA/nHex 2/5) lieferte 83 mg (0,41 mmol, 7% der Theorie) des reinen Produkts.

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3), δ (ppm) = 7,839 (d, 2H); 7,496 (d, 2H); 5,947 (s, 1H); 5,777 (s, 1H); 2,418 (s, 3H)

4.2.3 Synthese des Tetrabutylammoniumhydrogencarbonats (5)

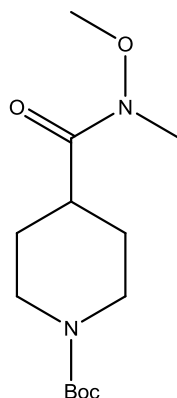


In eine Lösung aus 7,725 g (29,8 mmol) Tetra-n-butylammoniumhydroxid in 20 ml Methanol wurde über 24 Stunden CO_2 eingeleitet. Anschließend wurde das Lösungsmittel entfernt und der resultierende weiße Feststoff über 48 Stunden im Vakuum getrocknet, um das Produkt in quantitativer Ausbeute zu erhalten.

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO-d_6), δ (ppm) = 3,11 (t, 8H), 1,57 (m, 8H), 1,27 (m, 12H), 0,86 (t, 8H)

4.2.4 Synthese des 3-((1-(4-Fluorphenethyl)piperidin-4-yl)(hydroxy)methyl)-2-methoxyphenols

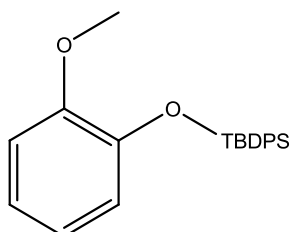
4.2.4.1 *N*-tert-Butoxycarbonyl-*N*-methyl-methoxyisonipecotamid (**7**)



10,22 g (42 mmol) *N*-tert-Butoxycarbonyl-ethylisonipecotat und 4,1 g (42 mmol) *N*,*O*-Dimethylhydroxylammoniumchlorid wurden unter Argon in 150 ml trockenem THF gelöst und auf -20 °C gekühlt. Anschließend wurden 42 ml Isopropylmagnesiumchlorid (2 M in THF) zugetropft und eine Stunde bei -5 °C gerührt. Dann wurde mit gesättigter NH₄Cl-Lösung gequenchet und mit Ethylacetat extrahiert. Die organischen Phasen wurden mit gesättigter NaCl-Lösung gewaschen, mit Na₂SO₄ getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt, um 7,4 g (27 mmol, 64% der Theorie) eines hellgelben Öls zu erhalten.

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃), δ (ppm) = 4,117 (bs, 2H), 3,676 (s, 3H), 3,151 (s, 3H), 2,754 (m, 3H), 1,639 (m, 4H), 1,422 (s, 9H)

4.2.4.2 *tert*-Butyldiphenylsilylguajacol (**8**)

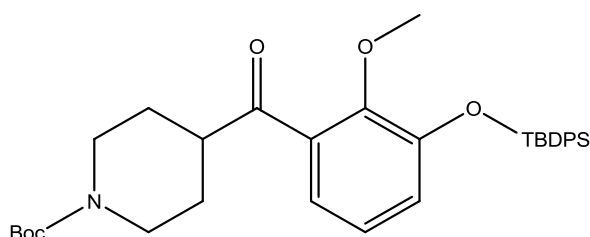


22,40 g TBPSCl (81,5 mmol) wurden bei 0 °C zu einer Lösung von 10,08 g 2-Methoxyphenol (80,6 mmol) und 10,97 g Imidazol (161,2 mmol) in 80 ml trockenem THF getropft. Die Lösung wurde 40 Minuten gerührt, danach auf

40 °C erwärmt und für weitere 20 Minuten gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde mit gesättigter NaCl-Lösung gequenchet und mit CH₂Cl₂ extrahiert. Die organische Phase wurde mit Na₂SO₄ getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt, um 21,74 g (60,0 mmol, 74% der Theorie) eines farblosen Öls zu erhalten.

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃), δ (ppm) = 7,693 (dt, 4H), 7,407-7,278 (m, 6H), 6,837-6,588 (m, 4H), 3,540 (s, 3H), 1,091 (s, 9H)

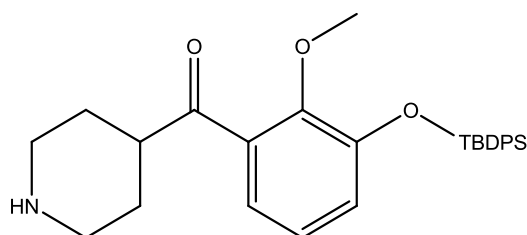
4.2.4.3 *tert*-Butyl-4-(3-(*tert*butyldiphenylsilyloxy)-2-methoxybenzoyl)piperidin-1-carboxylat (**9**)



7,64 ml *n*-Butyllithium (2,5 M in Hexan, 19,1 mmol) wurden unter Argonatmosphäre bei -50 °C zu einer Lösung aus 5,319 g (14,7 mmol) TBDPS-guajacol in 25 ml trockenem THF zugetropft. Die Reaktionslösung wurde bei Raumtemperatur 4 h gerührt und dann erneut auf -50 °C gekühlt. Anschließend wurden 3,68 g (13,5 mmol) *N*-*tert*-Butoxycarbonyl-*N*-methylmethoxyisonipecotamid in 25 ml THF zugetropft und für weitere 12 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionslösung wurde mit gesättigter NH₄Cl-Lösung gequenchet, mit Et₂O extrahiert, die organische Phase mit NaCl-Lösung gewaschen und mit Na₂SO₄ getrocknet. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Säulenchromatographie (EA/*n*Hex 1/4) lieferte 1,911 g des reinen Produkts (3,3 mmol; 24% der Theorie) als farbloses Öl.

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃), δ (ppm) = 7,703 (dt, 4H), 7,453-7,316 (m, 6H), 6,829 (dd, 1H), 6,656 (t, 1H), 6,619 (dd, 1H), 4,057 (d, 2H); 3,885 (d, 3H), 3,175 (t, 1H), 2,819 (d, 2H), 1,776 (dd, 2H), 1,555 (m, 2H), 1,442 (s, 9H), 1,113 (s, 9H)

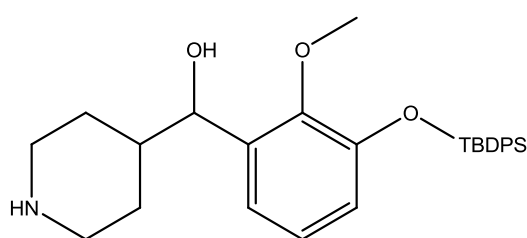
4.2.4.4 (3-(*tert*-Butyldiphenylsilyloxy)-2-methoxyphenyl)(piperidin-4-yl)methanon (**10**)



1,911 g (3,3 mmol) *tert*-Butyl-4-(3-(*tert*butyldiphenylsilyloxy)-2-methoxybenzoyl)piperidin-1-carboxylat wurden unter Kühlung in 15 ml TFA gelöst und für 4 h bei Raumtemperatur gerührt. Mit Na₂CO₃ wurde pH 5 eingestellt und die Reaktionslösung anschließend mit Et₂O extrahiert. Die organische Phase wurde mit Wasser gewaschen, mit Na₂SO₄ getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Es wurden 1,013 g (2,1 mmol; 64% der Theorie) eines viskosen Öls erhalten.

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃), δ (ppm) = 7,698 (dt, 4H), 7,456-7,287 (m, 6H), 6,835 (d, 1H), 6,680 (t, 1H), 6,615 (dd, 1H), 4,076 (d, 2H), 3,909 (d, 3H), 3,461(q, 1H), 2,822 (d, 2H), 1,785 (d, 1H), 1,115 (s, 9H)

4.2.4.5 (3-(*tert*-Butyldiphenylsilyloxy)-2-methoxyphenyl)(piperidin-4-yl)methanol (**11**)

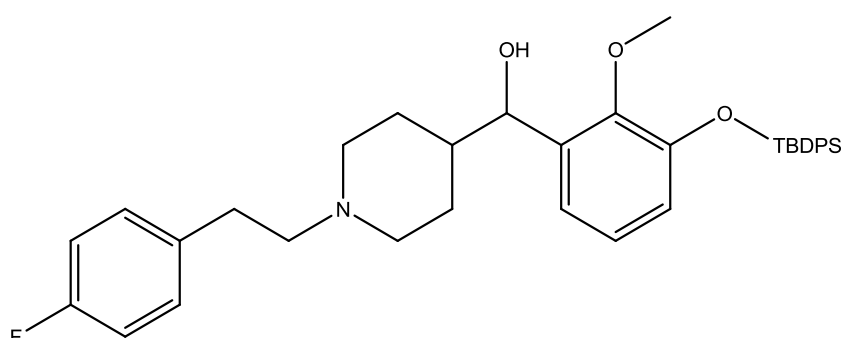


1,013 g (2,1 mmol) (3-(*tert*-Butyldiphenylsilyloxy)-2-methoxyphenyl)(piperidin-4-yl)methanon wurden in 35 ml trockenem Methanol gelöst. Bei Raumtemperatur wurden unter Argonatmosphäre 159 mg (4,2 mmol) NaBH₄ stufenweise zugegeben und anschließend 20 h gerührt. Die Reaktionslösung wurde eingeeengt, mit gesättigter Na₂CO₃-Lösung auf pH 9-10 eingestellt und mit CHCl₃ extrahiert. Anschließend wurde mit NaCl-Lösung gewaschen, mit

Na₂SO₄ getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt, um 938 mg (1,96 mmol; 93% der Theorie) des Produktes als weiße Kristalle zu erhalten.

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃), δ (ppm) = 7,706 (tt, 4H), 7,453-7,284 (m, 6H), 6,764 (dd, 1H), 6,618 (t, 1H), 6,420 (dd, 1H), 4,592 (d, 1H), 3,964 (s, 3H), 3,521 (dd, 2H), 2,686-2,497 (m, 2H), 2,060 (d, 1H), 1,750 (d, 1H), 1,464-1,313 (m, 2H), 1,101 (s, 9H)

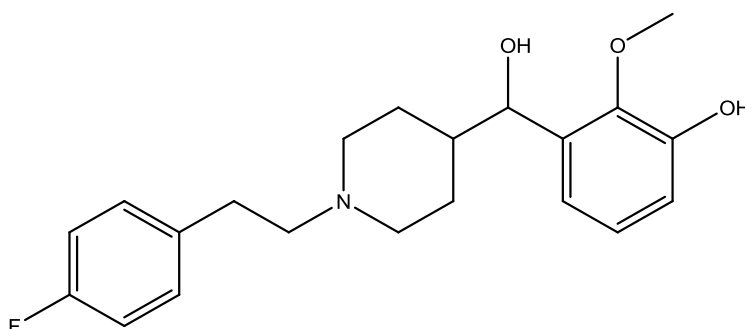
4.2.4.6 (1-(4-Fluorphenethyl)piperidin-4-yl)(3-(tertbutyldiphenylsilyloxy)-2-methoxyphenyl)methanol (**13**)



Zu einer Lösung von 771 mg (1,613 mmol) (3-(*tert*-Butyldiphenylsilyloxy)-2-methoxy-phenyl)(piperidin-4-yl)methanol und 326 mg (1,613 mmol) p-Fluorphenylethylbromid in 20 ml trockenem DMF wurden 162 mg (1,929 mmol) NaHCO₃ gegeben. Das Reaktionsgemisch wurde 90 Minuten bei 85 °C gerührt und anschließend auf Raumtemperatur abgekühlt. Danach wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt, der Rückstand mit NH₄OH aufgenommen und mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit NaCl-Lösung gewaschen und mit Na₂SO₄ getrocknet. Anschließend wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Säulenchromatographie (CH₂Cl₂/MeOH 5/1) lieferte 431 mg (0,90 mmol, 56% der Theorie) des reinen Produkts.

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃), δ (ppm) = 7,705 (td, 4H), 7,451-7,294 (m, 6H), 7,131 (t, 2H), 6,940 (t, 2H), 6,769 (dd, 1H), 6,613 (t, 1H), 6,405 (dd, 1H), 4,606 (d, 1H), 3,965 (s, 3H), 3,102 (d, 1H), 2,965 (d, 1H), 2,865-2,744 (m, 2H), 1,998 (s, 4H), 1,099 (s, 9H)

4.2.4.7 3-((1-(4-Fluorphenethyl)piperidin-4-yl)(hydroxymethyl)-2-methoxyphenol (14)



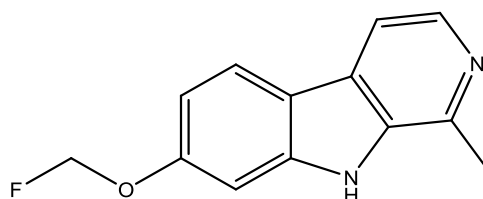
405 mg (0,85 mmol) (1-(4-Fluorphenethyl)piperidin-4-yl)(3-(*tert*butyldiphenylsilyloxy)-2-methoxyphenyl)methanol wurden in 20 ml trockenem DMF gelöst, mit 2,125 ml (2,125 mmol) TBAF (1 M in THF) versetzt und 30 Minuten bei 70 °C gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt, das Produkt in NH₄OH aufgenommen und mit CHCl₃ extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit Na₂SO₄ getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Säulenchromatographie (CH₂Cl₂/MeOH 5/1) lieferte 270 mg (0,75 mmol, 88% der Theorie) des reinen Produkts.

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-d₆), δ (ppm) = 7,178-7,099 (m, 4H), 6,942 (dd, 1H), 6,886 (t, 1H), 6,760 (dd, 1H), 4,592 (d, 1H), 3,836 (s, 3H), 3,372-3,292 (t, 2H), 3,179-3,062 (m, 3H), 2,971-2,700 (m, 4H), 2,008 (d, 4H)

4.2.5 Fluormethylierungen mit Bromfluormethan

4.2.5.1 Allgemeine Synthesevorschrift zur Fluormethylierung mit Bromfluormethan

1 Äquivalent des Markierungsvorläufers wurde unter Argonatmosphäre in trockenem DMF gelöst und mit 0,95 Äquivalenten NaH stufenweise deprotoniert. Anschließend wurde 10 Minuten bei Raumtemperatur gerührt, das Reaktionsgemisch auf -20 °C gekühlt und das gasförmige Bromfluormethan direkt in das Reaktionsgemisch eingeleitet. Nach 30 Minuten wurde das Reaktionsgemisch auf Raumtemperatur erwärmt und für weitere 3 h gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und das Rohprodukt über HPLC aufgereinigt.

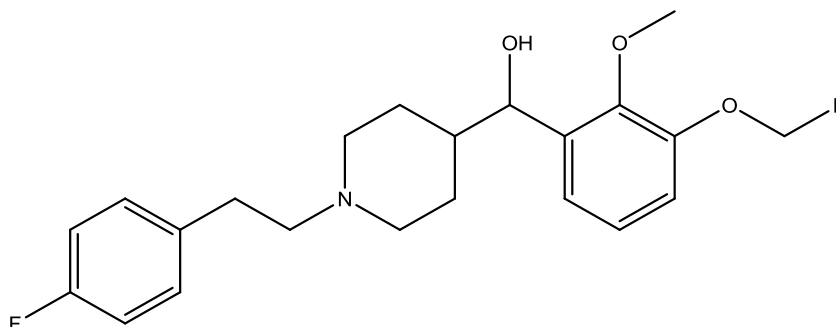
4.2.5.2 *O*-Fluormethylharmol (FMH, **16**)

Ansatz: 100 mg (0,504 mmol) Harmol, 12,1 mg (0,504 mmol) NaH, 15 ml DMF

HPLC-Aufreinigung (Synergi C12 Max-RP, 4 μ m, 250x10 mm, MeCN/0,05M Ammoniumformiat, Gradient 30/70 bis 70/30) lieferte 6 mg (26,1 μ mol, 5% der Theorie) als reines Produkt.

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3), δ (ppm) = 11,593 (s, 1H), 8,174 (dd, 2H), 7,875 (d, 1H), 7,229 (d, 1H), 6,994 (dd, 1H), 6,056 (s, 1H), 5,871 (s, 1H), 2,729 (s, 3H)

MS (FD) m/z (% rel. Int.): 230,49 (100 $[\text{M}]^+$), 231,44 (35 $[\text{M}+1]^+$)

4.2.5.3 *(1-(4-Fluorphenethyl)piperidin-4-yl)(3-(fluormethoxy)-2-methoxyphenyl) methanol* (FM-MH.MZ, **17**)

Ansatz: 270 mg (0,75 mmol) 3-((1-(4-Fluorphenethyl)piperidin-4-yl)(hydroxy)methyl)-2-methoxyphenol, 16 mg (0,69 mmol) NaH, 15 ml DMF

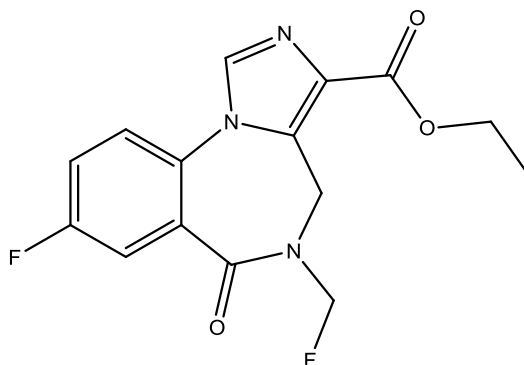
HPLC-Aufreinigung (μ Bondapak C18, 10 μ m, 300x7,8 mm, MeCN/0,25 M Ammoniumacetat mit 5 ml Essigsäure 25/75) lieferte 5 mg (15,3 μ mol, 2% der Theorie) als reines Produkt.

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3), δ (ppm) = 7,170-7,088 (m, 3H), 7,068 (t, 2H), 6,941 (t, 2H), 5,815 (q, 1H), 5,634 (q, 1H), 4,660 (d, 1H), 3,874 (s, 3H), 3,318

(d, 1H), 3,210 (d, 1H), 2,909-2,806 (m, 2H), 2,806-2,700 (m, 2H), 2,282-2,120 (m, 3H), 2,020 (s, 4H)

MS (ESI) m/z (% rel. Int.): 391,89 (2 [M]⁺), 392,23 (100 [M+1]⁺), 393,23 (19 [M+2]⁺), 394,23 (3 [M+3]⁺)

4.2.5.4 *N*-Fluormethylflumazenil (FMF, **19**)



Ansatz: 24,8 mg (85,8 μ mol) *N*-Desmethylflumazenil, 2 mg (83,3 μ mol) NaH, 5 ml DMF

HPLC-Aufreinigung (LiChrosphere 100 RP18, 5 μ m, 250x10 mm, MeCN/0,05 M Na₂HPO₄ pH 7 40/60) lieferte 19 mg (59,2 μ mol, 69% der Theorie) als reines Produkt.

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃), δ (ppm) = 7,843 (t, 1H), 7,838-7,800 (m, 1H), 7,448 (q, 1H), 7,394-7,298 (m, 1H), 5,433 (d, 1H), 5,085 (d, 1H), 3,285 (t, 2H), 4,471-4,299 (m, 2H), 1,404 (s, 3H)

MS (FD) m/z (% rel. Int.): 321,29 (34 [M]⁺), 312,44 (53 [M-MeF+Na]⁺), 289,37 (100 [M-MeF]⁺)

4.3 Synthese von [¹⁸F]Fluormethyltosylat und [¹⁸F]Fluor-[d₂]methyltosylat

4.3.1 Konventionelle Synthese im Reactival

[¹⁸F]F⁻ wurde in einem Reactival mit einer Lösung aus 15 mg TBABC in 800 μ l trockenem Acetonitril versetzt und azeotrop getrocknet. Der Vorgang

wurde dreimal wiederholt. Anschließend wurden 10 mg des Bis(tosyloxy)methans bzw. Bis(tosyloxy)-[*di-deutero*]methans in 600 µl Acetonitril und 200 µl *tert*-Butanol zugegeben und die Reaktionslösung zehn Minuten bei 85 °C gerührt. Nach dem Quenchen mit 1 ml eines Acetonitril/Wasser-Gemisches (1/1) wurde das Produkt über ein semipräparatives HPLC-System mit Acetonitril/Wasser 1/1 (4 ml/min) abgetrennt. Als stationäre Phase wurde eine LiChrosphere 100 RP18, 5 µm, 250x10 mm verwendet. Das isolierte Produkt wurde mit der 4fachen Menge Wasser verdünnt und auf einer StrataX-Kartusche (200 mg) fixiert. Nach dem Trocknen wurde diese mit 700 µl DMSO eluiert und das erhaltene d_2 - $[^{18}\text{F}]\text{FMT}$ direkt weiterverwendet.

Für die Synthese des $[^{18}\text{F}]\text{FMF}$ wurde das verdünnte HPLC-Eluat auf einer LiChrolut EN-Kartusche (200 mg) fixiert, die Kartusche zehn Minuten im Heliumstrom getrocknet und mit 2,5 ml Diethylether eluiert. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und das d_2 - $[^{18}\text{F}]\text{FMT}$ für die weitere Synthese in 700 µl DMSO aufgenommen.

Verbindung	$[^{18}\text{F}]\text{F}^-$	$[^{18}\text{F}]\text{FMT}$	$[^{18}\text{F}]\text{TF}$
Retentionszeit / min	2,3	10,8	16,5

4.3.2 Mikrowellengestützte Synthese

$[^{18}\text{F}]\text{F}^-$ wurde in einem Reactivial mit einer Lösung aus 15 mg TBABC in 800 µl trockenem Acetonitril versetzt und azeotrop getrocknet. Der Vorgang wurde dreimal wiederholt. Anschließend wurde das trockene $[^{18}\text{F}]\text{F}^-$ mit 600 µl Acetonitril und 200 µl *tert*-Butanol in einen Mikrowellenreaktor mit 10 mg Bis(tosyloxy)methan überführt. Die Reaktion wurde bei 85 °C, 100 W, 1 Minute Ramp Time und 3 Minuten Reaktionszeit durchgeführt. Nach dem Abkühlen wurde mit 1 ml Acetonitril/Wasser 1/1 gequencht und nach oben genannter Vorschrift weiter verfahren.

4.4 Synthese von [¹⁸F]Fluormethylharmol, [¹⁸F]Fluormethyl-MH.MZ und [¹⁸F]Fluormethylflumazenil

4.4.1 Synthese des [¹⁸F]Fluormethylharmols

3 mg Harmol wurden mit 5,6 µl 5 M NaOH in 300 µl DMSO 3 Minuten bei 120 °C unter Rühren deprotoniert. Dann wurde das zuvor hergestellte *d*₂-¹⁸F]FMT in 700 µl DMSO zugegeben und die Reaktionslösung 20 Minuten bei 120 °C gerührt. Nach dem Abkühlen wurde mit 1 ml 0,05 M Ammoniumformiat-Puffer gequench und das Produkt über HPLC mit einem Elutionsgradienten (0-7 min MeCN/0,05 M Ammoniumformiat 30/70, 7-15 min MeCN/0,05 M Ammoniumformiat 40/60, 15-22 min MeCN/0,05 M Ammoniumformiat 50/50, 22-28 min MeCN/0,05 M Ammoniumformiat 70/30, 28-32 min MeCN/0,05 M Ammoniumformiat 30/70; Flussrate 3,6 ml/min) aufgereinigt. Als stationäre Phase wurde eine Synergi C12 Max-RP, 4 µm, 250x10 mm verwendet. Das isolierte Produkt wurde mit der 4fachen Menge Wasser verdünnt, auf einer StrataX-Kartusche (200 mg) fixiert, im Luftstrom getrocknet und anschließend mit 2 ml Ethanol eluiert. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und das Produkt mit 400 µl isotonomischer Kochsalzlösung aufgenommen.

Verbindung	[¹⁸ F]F ⁻	Precursor	[¹⁸ F]FMH	[¹⁸ F]FMT
Retentionszeit / min	2,5	5,0	18,3	22,0

4.4.2 Synthese des [¹⁸F]Fluormethyl-MH.MZ

3 mg (*R*)-3-((1-(4-Fluorphenethyl)piperidin-4-yl)(hydroxy) methyl)-2-methoxyphenol wurden mit 1,65 µl 5 M NaOH in 300 µl DMSO 3 Minuten bei 120 °C unter Rühren deprotoniert. Dann wurde das zuvor hergestellte *d*₂-¹⁸F]FMT in 700 µl DMSO zugegeben und die Reaktionslösung 20 Minuten bei 120 °C gerührt. Nach dem Abkühlen wurde mit 1 ml MeCN/0,25 M Ammoniumacetat-Puffer 25/75 gequench und das Produkt isokratisch über HPLC (MeCN/0,25 M Ammoniumacetat 25/75; Flussrate 8 ml/min) aufgereinigt. Als stationäre Phase wurde eine µBondapak C18, 10 µm, 300x7,8 mm verwendet. Das isolierte Produkt wurde mit der 4fachen Menge

Wasser verdünnt, auf einer StrataX-Kartusche (200 mg) fixiert, im Luftstrom getrocknet und anschließend mit 2 ml Ethanol eluiert. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und das Produkt mit 400 µl isotonischer Kochsalzlösung aufgenommen.

Verbindung	[¹⁸ F]F ⁻	Precursor	[¹⁸ F]FM-MH.MZ	[¹⁸ F]FMT
Retentionszeit / min	1,8	7,5	21,0	24,0

4.4.3 Synthese des [¹⁸F]Fluormethylflumazenils

2 mg *N*-Desmethylflumazenil wurden mit 165 µg NaH in 300 µl DMSO 3 Minuten bei Raumtemperatur unter Rühren deprotoniert. Dann wurde das zuvor hergestellte *d*₂-[¹⁸F]FMT in 700 µl DMSO zugegeben und die Reaktionslösung 20 Minuten bei 80 °C gerührt. Nach dem Abkühlen wurde mit 1 ml MeCN/0,05 M Dinatriumhydrogenphosphat-Puffer pH 6 40/60 gequenchet und das Produkt isokratisch über HPLC (MeCN/0,05 M Na₂HPO₄ pH 7 40/60; Flussrate 5 ml/min) aufgereinigt. Als stationäre Phase wurde eine LiChrosphere 100 RP18, 5 µm, 250x10 mm verwendet. Das isolierte Produkt wurde mit der 4fachen Menge Wasser verdünnt, auf einer StrataX-Kartusche (200 mg) fixiert, im Luftstrom getrocknet und anschließend mit 2 ml Ethanol eluiert. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt.

Verbindung	[¹⁸ F]F ⁻	Precursor	[¹⁸ F]FMF	[¹⁸ F]FMT
Retentionszeit / min	1,8	3,2	6,3	18,0

4.5 Serumstabilitäten

400 µl Kälberserum wurden im Eppendorffvial mit jeweils 10-25 MBq in 150 µl isotonischer Kochsalzlösung und bei 37 °C bei einer Schüttelfrequenz von 400 min⁻¹ über einen Zeitraum von drei Stunden inkubiert. Des Weiteren wurden 400 µl Serum mit 2,75 mg Ascorbinsäure versetzt und ebenfalls mit dem Radiotracer in 150 µl isotonischer Kochsalzlösung inkubiert. Die Bestimmungen wurden doppelt durchgeführt. Als Kontrollen wurden 400 µl isotonische Kochsalzlösung mit 5-10 MBq des Radiotracers in 150 µl

isotonischer Kochsalzlösung inkubiert. Für weitere Kontrollen wurde die im leeren Kolben verbliebene Aktivität mit Ethanol aufgenommen, kurz mit Ultraschall behandelt und dann in ein Eppendorff-Vial überführt und ebenfalls bei 37 °C (400 min⁻¹) inkubiert.

Nach 30, 60, 90, 120 und 150 Minuten wurden 0,5 µl-Aliquots entnommen. Die Auswertung erfolgte mittels Radio-Dünnschichtchromatographie (CHCl₃/MeOH 8/1) und HPLC.

Für die Serumstabilitätsbestimmung des *d*₂-[¹⁸F]FMF wurden 0,5 µl Aliquots nach 2, 5, 7,5, 10, 14, 18, 22, 26 und 30 Minuten genommen und analysiert.

4.6 Kleintier-PET

Es wurden acht Wochen alte, 345-425 g schwere, männliche Sprague-Dawley Ratten von Charles Rivers Laboratories, Deutschland, für die *in vivo*-Studien verwendet. Die Tiere wurden mit Isofluran narkotisiert. Die Applikation des Radiotracers erfolgte intravenös über die Schwanzvene. Dabei wurden 8-25 MBq in 400-600 µl isotonischer Kochsalzlösung verabreicht und es wurde mit 200 µl heparinierter Kochsalzlösung nachgespült. Es wurden dynamische Scans über einen Zeitraum von 60 Minuten und anschließend Ganzkörperscans von 15 Minuten durchgeführt.

Da es sich um gesunde Tiere handelte, konnten sie für Versuche mit allen drei Radiotracern verwendet werden.

Die Auswertung erfolgte mit der PMOD Software, die Regions of Interest (ROI) wurden dabei per Hand festgelegt. Die Ergebnisse wurden wie folgt definiert:

$$SUV = \frac{\text{Aktivität in ROI} \left[\frac{Bq}{ml} \right] * \text{Körpergewicht} [g]}{\text{Injizierte Dosis} [Bq]}$$

SUV: Standardized Uptake Value

5 Zusammenfassung und Ausblick

5.1 Zusammenfassung

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden drei verschiedene ^{18}F -fluormethylierte ZNS-Liganden hergestellt und die ^{18}F -Fluormethylierung hinsichtlich ihres Nutzens für die Positronen-Emissions-Tomographie mit der ^{18}F -Fluorethylierung verglichen.

Zunächst wurden $[^{18}\text{F}]$ Fluormethyltosylat und $[^{18}\text{F}]$ Fluor- $[di-deutero]$ methyltosylat als ^{18}F -markierte Synthons für die Einführung einer ^{18}F -Fluormethylgruppe hergestellt und ihre Synthesen optimiert. Dafür wurden zuerst die Markierungsvorläufer Bis(tosyloxy)methan bzw. Bis(tosyloxy)- $[di-deutero]$ methan für die nukleophile ^{18}F -Fluorierung ausgehend von Diiodmethan bzw. Diiod- $[di-deutero]$ methan durch Umsetzung mit Silbertosylat synthetisiert. Für die Darstellung der inaktiven Referenzverbindung Fluormethyltosylat wurde Bis(tosyloxy)methan anschließend mit TBAF umgesetzt. Anschließend wurde die Radiosynthese des $[^{18}\text{F}]$ Fluormethyltosylats ausgehend vom Bis(tosyloxy)methan optimiert. Dabei wurden die Einflüsse des Lösungsmittels, der Art der zugesetzten Base und des Phasentransferkatalysators sowie der Basenkonzentration auf die radiochemische Ausbeuten des $[^{18}\text{F}]$ Fluormethyltosylats und des unerwünschten Nebenprodukts $[^{18}\text{F}]$ Tosylfluorid untersucht. In klassischen polaren, aprotischen Lösungsmitteln kam es zur verstärkten Bildung des Nebenprodukts. Die Bildung des $[^{18}\text{F}]$ Tosylfluorids konnte erst durch die Zugabe geringer Mengen Wasser zur Reaktionslösung zurückgedrängt werden. Infolge der negativen Auswirkung des Wassers auf die Reaktivität des ^{18}F -Fluorids sanken allerdings auch die radiochemischen Ausbeuten des $[^{18}\text{F}]$ Fluormethyltosylats. Daher wurde auf ein Gemisch aus Acetonitril, einem polar aprotischen Lösungsmittel, und *tert-Butanol*, einem unpolar protischen Lösungsmittel, zurückgegriffen. Dadurch gelang es, die Bildung des $[^{18}\text{F}]$ Tosylfluorids weitgehend zurückzudrängen und radiochemische Ausbeuten von durchschnittlich 38% zu erhalten. Durch die Verwendung einer Labormikrowelle konnten keine verbesserten Ausbeuten erzielt

werden. Nach der Optimierung der Reaktionsparameter wurde eine HPLC-Methode zur Abtrennung des Produkts von Edukten und Nebenprodukten entwickelt.

Nach der erfolgreichen Synthese und Abtrennung des [^{18}F]Fluor-methyltosylats wurden die gewonnenen Erkenntnisse auf die Synthese des dideutერიerten Synthons [^{18}F]Fluor- $[d_2]$ methyltosylat übertragen, da von diesem *in vivo* eine höhere Stabilität zu erwarten war. Im direkten Vergleich zeigte sich, dass bei der Synthese des dideutერიerten Synthons höhere radiochemische Ausbeuten von durchschnittlich 46% erzielt werden konnten.

Anschließend wurden die Reaktionsbedingungen der ^{18}F -Fluormethylierung hinsichtlich Reaktionsdauer, Temperatur, Basenkonzentration und Lösungsmittel optimiert. Dafür wurde zuerst die Reaktion des [^{18}F]Fluor- $[d_2]$ methyltosylats mit der Modellverbindung Natriumphenolat betrachtet, um möglichst allgemeingültige Aussagen treffen zu können. Dabei zeigte sich eine Instabilität des [^{18}F]Fluor- $[d_2]$ methyltosylats gegenüber Basenzusatz und hohen Reaktionstemperaturen. Insgesamt fielen die radiochemischen Ausbeuten mit 20-60% deutlich niedriger aus als bei der Verwendung von [^{18}F]Fluorethyltosylat unter vergleichbaren Bedingungen, bei denen 80-95% erzielt werden können.

Das [^{18}F]Fluor- $[di-deutero]$ methyltosylat wurde in drei verschiedene Liganden des zentralen Nervensystems eingeführt. Dafür wurden Derivate des Harmins, des MDL 100907 und des Flumazenils ausgewählt, da von allen drei Strukturen bereits ^{11}C -methylierte und ^{18}F -fluorethylierte Derivate existierten und daher optimale Vergleichsmöglichkeiten für die ^{18}F -Fluormethylierung geboten waren. Außerdem ergab sich dadurch die Möglichkeit, drei verschiedene biologische Targets zu betrachten. Die Strukturen der drei Radiotracer, die in Kapitel 2 bereits gezeigt wurden, sind in Abbildung 67 noch einmal dargestellt:

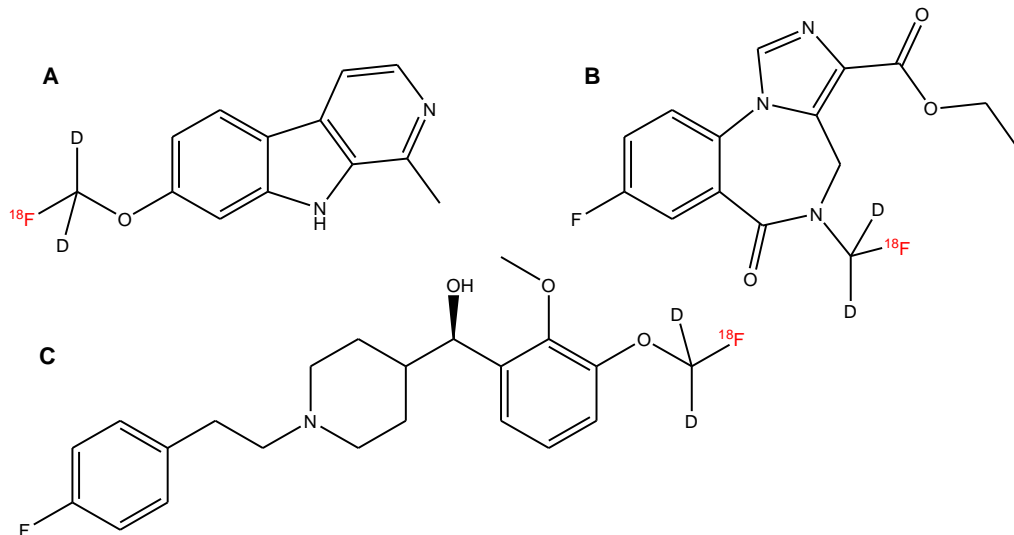


Abb. 67: Zielstrukturen [^{18}F]Fluor-[*di-deutero*]methylharmol (A), [^{18}F]Fluor-[*di-deutero*]methylflumazenil (B) und [^{18}F]Fluor-[*di-deutero*]methyl-MH.MZ (C)

Bei dem MAO_A-Liganden [^{18}F]Fluor-[*d*₂]methylharmol und dem 5-HT_{2A}-Liganden [^{18}F]Fluor-[*d*₂]methyl-MH.MZ wurde die ^{18}F -Fluormethylierung an einer phenolischen OH-Funktion durchgeführt, bei dem GABA_A-Liganden [^{18}F]Fluor-[*d*₂]methylflumazenil erfolgte die Substitution an einem Stickstoff. Als Beispiel für die O-Substitution ist in Abbildung 68 die zweistufige Radiosynthese des [^{18}F]Fluor-[*d*₂]methylharmols dargestellt. Hierbei gelang die Deprotonierung der Markierungsvorläufer mit fünfmolaren Natronlauge. Aufgrund der Instabilität des [^{18}F]Fluor-[*d*₂]methyltosylats gegenüber Basen wurden geringere radiochemische Ausbeuten erzielt als bei der ^{18}F -Fluorethylierung derselben Liganden. Trotzdem konnten zufrieden stellende Ausbeuten zwischen 50 und 60% erzielt werden.

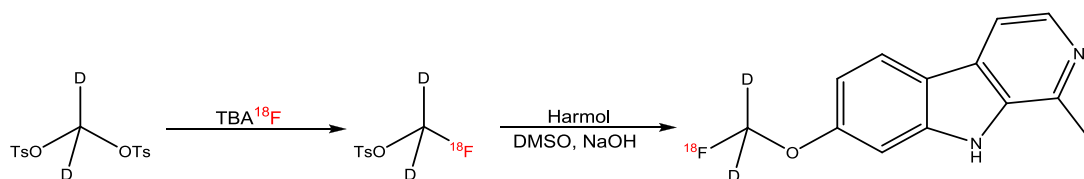


Abb. 68: Zweistufige Radiosynthese des [^{18}F]Fluor-[*di-deutero*]methylharmols

Sowohl *d*₂-[^{18}F]FMH als auch *d*₂-[^{18}F]FM-MH.MZ waren in fetalem Kälberserum bei physiologischen Bedingungen über den untersuchten Zeitraum zu mehr als 90% stabil.

Die Radiosynthese des [^{18}F]Fluor- $[d_2]$ methylflumazenil ausgehend vom Bis(tosyloxy)- $[di\text{-deutero}]$ methan ist in Abbildung 69 dargestellt. Bei 80 °C in wasserfreiem DMSO und bei Deprotonierung durch Natriumhydrid konnten radiochemische Ausbeuten zwischen 25 und 30% erzielt werden.

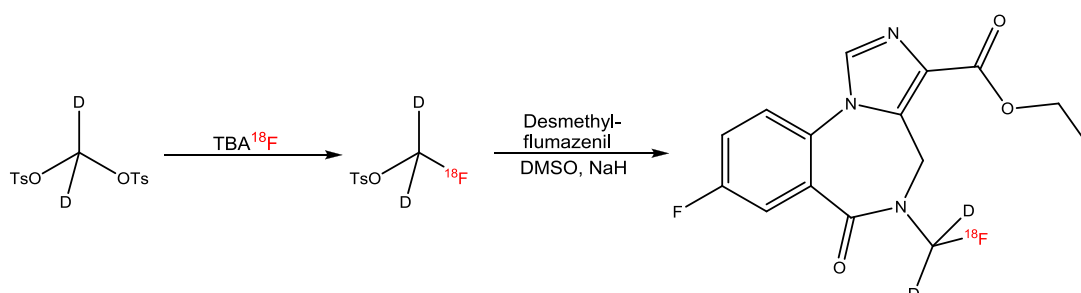


Abb. 69: Zweistufige Radiosynthese des N- $[^{18}\text{F}]$ Fluor- $[di\text{-deutero}]$ methylflumazenils

Die optimierten Reaktionsparameter für die ^{18}F -Fluormethylierung der drei untersuchten ZNS-Tracer sind in Tabelle 11 noch einmal zusammengefasst.

Tabelle 11: Optimierte Reaktionsparameter für die ^{18}F -Fluormethylierung von drei ZNS-Liganden

Reaktionsparameter	d_2 - $[^{18}\text{F}]$ FMH	d_2 - $[^{18}\text{F}]$ FM-MHMZ	d_2 - $[^{18}\text{F}]$ FMF
Lösungsmittel	DMSO	DMSO	DMSO
Gesamtvolumen / ml	1	1	1
Markierungsvorläufer	Harmol	(<i>R</i>)-(14)	<i>N</i> -Desmethylflumazenil
Base	5 M NaOH	5 M NaOH	NaH
Stoffmenge MV / μmol	15	8	7
Stoffmenge Base / μmol	12	7,6	6,7
Temperatur / °C	120	120	80
Reaktionszeit / min	20	20	20
radiochemische Gesamtausbeute / %	4 bis 20	8 bis 20	7 bis 10

Es wurden mit allen drei ZNS-Liganden μ PET-Studien mit männlichen Sprague Dawley-Ratten durchgeführt. Dafür wurden dynamische Scans und anschließend Ganzkörperscans durchgeführt.

Das [^{18}F]Fluor- $[d_2]$ methylharmol zeigte eine schnelle und hohe Anreicherung im Hirn innerhalb der ersten fünf Minuten, die sogar 1,5fach höher war als die der Vergleichssubstanz [^{18}F]Fluorethylharmol. Danach wurde das d_2 - $[^{18}\text{F}]$ FMH jedoch sehr schnell aus dem Hirn ausgewaschen, während [^{18}F]FEH ein Plateau erreichte, das über die gesamte Messdauer konstant blieb. Nach einer Stunde waren nur noch 15% der maximalen Aktivität im Hirn nachweisbar. Ein anschließender Ganzkörperscan zeigte eine selektive Anreicherung des [^{18}F]Fluor- $[d_2]$ methylharmols in den MAO_A-reichen Organen Herz, Leber und Verdauungstrakt.

Für [^{18}F]Fluor- $[d_2]$ methyl-MH.MZ wurde *in vivo* eine hohe spezifische Anreicherung des Radiotracers im frontalen Cortex innerhalb der ersten fünf Minuten beobachtet. Dabei sind sowohl die Anreicherung als auch das frontaler Cortex/Cerebellum-Verhältnis des d_2 - $[^{18}\text{F}]$ FM-MH.MZ besser als bei der Vergleichssubstanz [^{18}F]MH.MZ. Innerhalb der Messdauer kam es zu einer Auswaschung des Radioliganden aus dem Gehirn, die jedoch sehr langsam ist. Nach einer Stunde sind immer noch 64% der maximalen Aktivität im frontalen Cortex nachweisbar. Der Ligand ermöglicht also auch Experimente mit längeren Messzeiten. Die Zeit-Aktivitäts-Kurven beider Liganden für die Aufnahme in den frontalen Cortex und die Referenzregion Cerebellum sind in Abbildung 70 noch einmal gegenüber gestellt. Dabei wird die deutlich höhere Hirnaufnahme des d_2 - $[^{18}\text{F}]$ FM-MH.MZ deutlich.

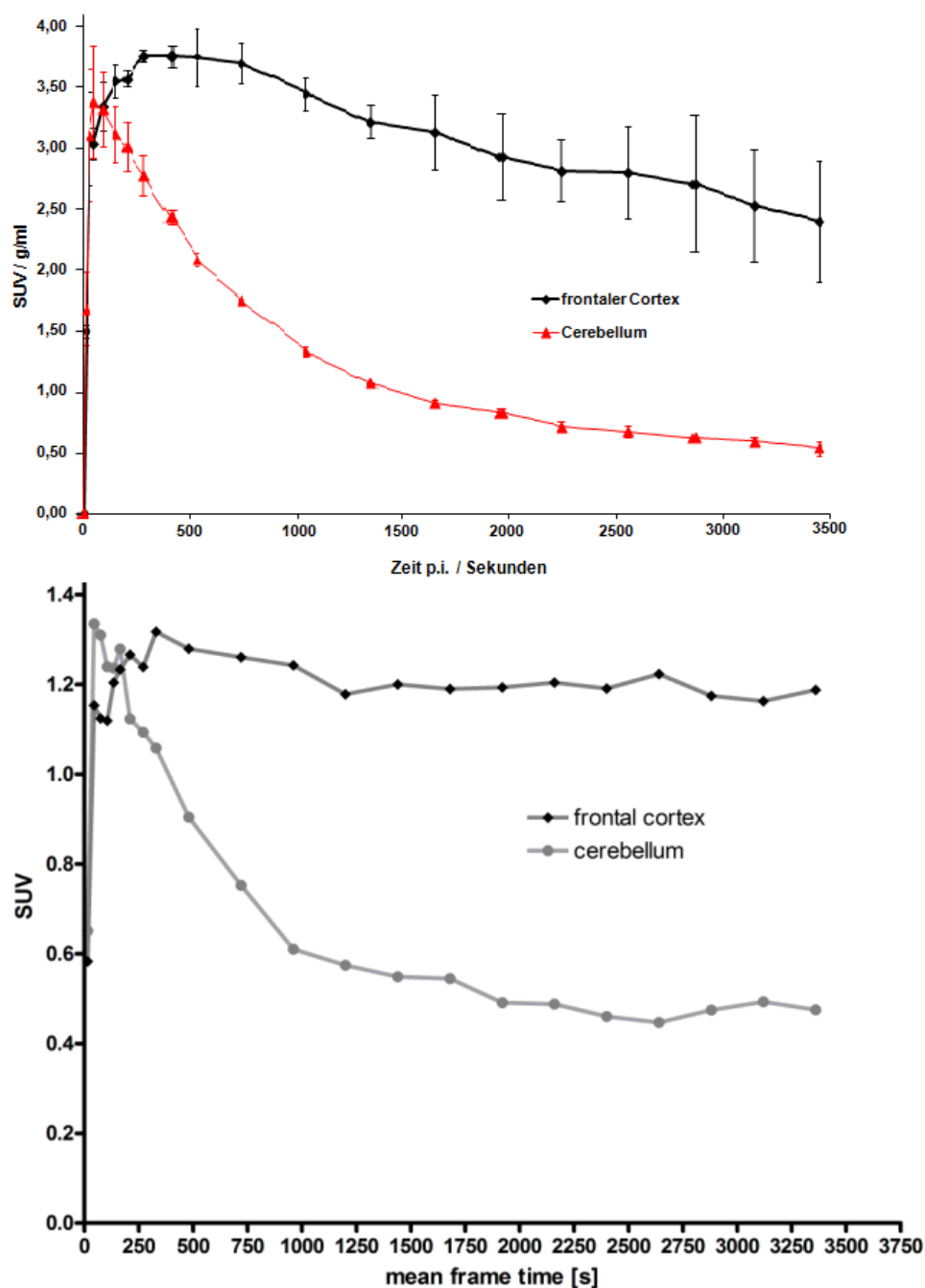


Abb. 70: Zeit-Aktivitäts-Kurven für [¹⁸F]Fluor-[d₂]methyl-MH.MZ (oben) und [¹⁸F]MH.MZ⁸² (unten) in frontalem Cortex und Cerebellum

Für das [¹⁸F]Fluor-[d₂]methylflumazenil konnte keine Aufnahme ins Hirn festgestellt werden. Vielmehr kam es *in vivo* zur vollständigen Zersetzung des Radioliganden durch Defluorierung, was anhand des deutlich abgebildeten Skeletts gut zu erkennen war. Anschließende Stabilitätsstudien in Kälberserum und isotonischer Kochsalzlösung bei 37 °C zeigten, dass

sich das d_2 - ^{18}F]FMF bereits innerhalb zwei Minuten fast vollständig zersetzt hatte. *N*-fluoralkylierte Verbindungen zeigen allgemein eine geringere metabolische Stabilität als *O*- oder *S*-fluoralkylierte Verbindungen. Bei der ^{18}F -Fluormethylierung am Stickstoff eines Zielmoleküls ist mit besonders schneller Zersetzung des Radiotracers zu rechnen. Daher war für die *N*-Substitution die Untersuchung einer Substitution des Wasserstoffs in der Fluormethylgruppe durch Deuterium von besonderem Interesse. Doch die Ergebnisse der *in vivo*- und *in vitro*-Studien des [^{18}F]Fluor- $[d_2]$ methylflumazenils zeigen, dass auch die Dideuterierung nicht zu einer erhöhten Stabilität führt.

Bei der ^{18}F -Fluormethylierung mit [^{18}F]Fluor- $[di\text{-deutero}]$ methyltosylat handelt es sich um eine vielversprechende Synthesestrategie für die Darstellung metabolisch stabiler, hochaffiner *O*-substituierter ZNS-Liganden. Die Ergebnisse der *in vivo*-Studien zeigten sehr schnelle Kinetiken und sehr hohe Anreicherung der Tracer im Hirn. Für die Darstellung *N*-substituierter Radioliganden ist die ^{18}F -Fluormethylierung keine geeignete Strategie, da diese Verbindungen nicht über eine ausreichende Stabilität verfügen.

5.2 Ausblick

Da es sich bei [^{18}F]Fluor- $[d_2]$ methyltosylat um ein sehr nützliches Synthon für die Darstellung hochaffiner ZNS-Liganden handelt, wäre eine Automatisierung des Herstellungsprozesses durch ein Synthesemodul ein wichtiger Schritt, um die Reproduzierbarkeit der Synthese zu gewährleisten. Dies könnte auf dem bereits vorhandenen [^{18}F]Fluorethyltosylat-Modul erfolgen.

Für das [^{18}F]Fluor- $[d_2]$ methylharmol sollten noch Blocking-Studien mit Chlorgyline *in vivo* durchgeführt werden, um die spezifische Bindung zu bestimmen. Erst dann können endgültige Aussagen getroffen werden und der Ligand mit dem [^{18}F]Fluorethylharmol verglichen werden. Außerdem wäre die Bestimmung der Michaelis-Menten-Konstante für [^{18}F]Fluor--

[d_2]methylharmol wichtig, um die Substratspezifität der MAO_A für diese Verbindung mit [^{18}F]Fluorethylharmol und [^{11}C]Harmin vergleichen zu können.

Für das d_2 -[^{18}F]FM-MH.MZ wären weitere Untersuchungen sinnvoll, da es sich um einen vielversprechenden Liganden des 5-HT_{2A}-Rezeptors handelt. Dabei könnten neben der Bestimmung der Bindungsaffinität auch *ex vivo* Biodistributionen und Autoradiographien an Rattenhirnschnitten durchgeführt werden, um die Ergebnisse zu vervollständigen.

Sowohl für das [^{18}F]Fluor-[d_2]methylharmol als auch für das d_2 -[^{18}F]FM-MH.MZ wären Metabolitenbestimmungen im Plasma wünschenswert.

Zuletzt wäre ein Vergleich des d_2 -[^{18}F]FM-MH.MZ mit dem nicht-deuterierten [^{18}F]FM-MH.MZ *in vivo* von Interesse, um zu untersuchen, ob sich die Deuterierung der ^{18}F -Fluormethylgruppe auf die Affinität und die Aufnahmekinetiken des Neuroliganden auswirkt.

6 Anhang

6.1 Aktivitätsbilanzen

Tabelle 12: Aktivitätsbilanz der Abtrennung von [^{18}F]FMT

Reaktionsschritt	Zeit / min	Aktivität / MBq	RCA _{korrr.} / %
Start der Markierung	0	450,00	100
Ende der Markierung	12	402,30	96
Rückstand im Reactivial	16	46,07	11
HPLC-Fraktion [^{18}F]FMT	29	141,90	38
HPLC-Fraktion [^{18}F]TF	35	89	25
[^{18}F]FMT auf StrataX	43	121,30	35
[^{18}F]FMT eluiert	48	119,10	35
Restaktivität auf Kartusche	47	1,61	0,5

Tabelle 13: Aktivitätsbilanz der Abtrennung von d_2 -[^{18}F]FMT

Reaktionsschritt	Zeit / min	Aktivität / MBq	RCA _{korrr.} / %
Start der Markierung	0	2100,00	100
Ende der Markierung	12	2061,00	100
Rückstand im Reactivial	14	129,10	7
HPLC-Fraktion d_2 - [^{18}F]FMT	30	1010,00	58

Reaktionsschritt	Zeit / min	Aktivität / MBq	RCA _{korrr.} / %
HPLC-Fraktion [¹⁸ F]TF	37	120,4	7
d ₂ -[¹⁸ F]FMT auf StrataX	41	860,80	53
d ₂ -[¹⁸ F]FMT eluiert	47	860,60	53
Restaktivität auf Kartusche	46	16,75	1

Tabelle 14: Beispiel einer Aktivitätsbilanz der Synthese von [¹⁸F]Fluor-[d₂]methylharmol

Reaktionsschritt	Zeit / min	Aktivität / MBq	RCA _{korrr.} / %
Start der Markierung	0	3108,00	100
Ende der Markierung	12	2904,00	100
HPLC-Fraktion [¹⁸ F]FMT	28	1212,00	47
[¹⁸ F]FMT auf StrataX-Kartusche	58	812,70	38
[¹⁸ F]FMT eluiert	62	715,70	34
Start der ¹⁸ F-Fluor-methylierung	63	687,40	100
Ende der ¹⁸ F-Fluor-methylierung	85	567,00	95
HPLC-Fraktion [¹⁸ F]FMH	109	36,01	7
[¹⁸ F]FMH auf StrataX-Kartusche	113	21,67	4
[¹⁸ F]FMH eluiert	115	19,51	4

Reaktionsschritt	Zeit / min	Aktivität / MBq	RCA _{korrr.} / %
Restaktivität auf Kartusche	115	2,22	0
[¹⁸ F]FMH nach Trocknung	129	17,63	4

Tabelle 15: Beispiel einer Aktivitätsbilanz der Synthese von [¹⁸F]Fluor-[d₂]methyl-MH.MZ

Reaktionsschritt	Zeit / min	Aktivität / MBq	RCA _{korrr.} / %
Start der Markierung	0	3418,00	100
Ende der Markierung	12	3165,00	99
HPLC-Fraktion [¹⁸ F]FMT	29	1543,00	54
[¹⁸ F]FMT auf StrataX-Kartusche	50	1124,00	45
[¹⁸ F]FMT eluiert	57	1024,00	43
Start der ¹⁸ F-Fluormethylierung	64	951,31	100
Ende der ¹⁸ F-Fluormethylierung	94	743,70	94
HPLC-Fraktion [¹⁸ F]FM-MHMZ	118	158,20	23
[¹⁸ F]FM-MHMZ auf StrataX-Kartusche	127	139,10	22
[¹⁸ F]FM-MHMZ eluiert	132	126,90	20
Restaktivität auf Kartusche	131	13,37	2
[¹⁸ F]FM-MHMZ nach Trocknung	149	112,40	20

Tabelle 16: Beispiel einer Aktivitätsbilanz der Synthese von d_2 - ^{18}F FMF

Reaktionsschritt	Zeit / min	Aktivität / MBq	RCA _{kor.} / %
Start der Markierung	0	3389,00	100
Ende der Markierung	11	3145,00	99
HPLC-Fraktion [^{18}F]FMT	27	1149,00	40
[^{18}F]FMT auf EN- Kartusche	33	993,20	36
[^{18}F]FMT eluiert	41	921,60	35
[^{18}F]FMT nach Trocknung	57	750,30	32
Start der ^{18}F -Fluor- methylierung	58	679,80	100
Ende der ^{18}F -Fluor- methylierung	79	588,10	98
HPLC-Fraktion [^{18}F]FMF	90	187,70	34
[^{18}F]FMF auf StrataX- Kartusche	106	144,50	29
[^{18}F]FMF eluiert	109	132,60	27
Restaktivität auf Kartusche	109	14,00	3
[^{18}F]FMF nach Trocknung	126	119,50	27

6.2 Verwendete Abkürzungen

5-HT	5-Hydroxytryptamin	EA	Ethylacetat
Abb	Abbildung	Et ₂ O	Diethylether
Boc	<i>tert</i> Butyloxy-carbonyl	FBM	Fluorbrommethan
Bq	Bequerel	FDG	Fluordesoxy-D-Glucose
c.a.	carrier added	FETos	Fluorethyltosylat
c.f.	carrier free	FIM	Fluoriodmethan
CDCl ₃	Deuteriochloro-form	FLT	3'-Deoxy-3'-fluor-thymidin
CH ₂ Cl ₂	Dichlormethan	FMF	Fluormethyl-flumazenil
CHCl ₃	Chloroform	FMH	Fluormethylharmol
CO ₂	Kohlenstoffdioxid	FM-MHMZ	Fluormethyl-MHMZ
CT	Computer-Tomographie	FMT	Fluormethyltosylat
d	Dublett	GABA	γ-Aminobutter-säure
D	Deuterium	GTP	Guanidintri-phosphat
DC	Dünnschicht-Chromatographie	h	Stunde
dd	Dublett vom Dublett	HF	Fluorwasserstoff
DF	Deuteriofluor-wasserstoff	HPLC	High Performance Liquid Chromatography
DMF	N,N-Dimethyl-formamid	K ₂ CO ₃	Kaliumcarbonat
DMSO	Dimethylsulfoxid	kDa	Kilodalton
dt	Dublett vom Triplett	keV	Kiloelektronenvolt

K_i	Gleichgewichts-Inhibitionskonstante	nBuLi	n-Butyllithium
korr.	korrigiert	NH ₄ Cl	Ammoniumchlorid
LSD	Lysergsäure-diethylamid	NH ₄ OH	Ammoniak
m	Multipllett	nHex	n-Hexan
M	Molar	NMR	Nuclear magnetic resonance
MAO	Monoaminoxidase	p.i.	post injection
Me	Methyl	PEG	Polyethylenglycol
MeCN	Acetonitril	PET	Positronen-Emissions-Tomographie
MeOH	Methanol	q	Quartett
MHz	Megahertz	RCA	radiochemische Ausbeute
min	Minute	s	Singulett
MRT	Magnet-Resonanz-Tomographie	S _N	nukleophile Substitution
MS	Massenspektrometrie	SPECT	Single Photon Emission Computed Tomography
MV	Markierungsvorläufer	SUV	Standardized Uptake Value
n.c.a.	no carrier added	t	Triplett
Na ₂ CO ₃	Natriumcarbonat	TBA	Tetra-n-butylammoniumhydroxid
Na ₂ HPO ₄	Dinatriumhydrogenphosphat	TBABC	Tetra-n-butylammonium-
Na ₂ SO ₄	Natriumsulfat	TBAF	Tetra-n-butylammoniumfluorid
NaBH ₄	Natriumborhydrid	TBDPS	<i>tert</i> Butyl-diphenylsilyl
NaCl	Kochsalz	TBDPSCI	<i>tert</i> Butyl-diphenylsilylchlorid
NaH	Natriumhydrid	<i>t</i> BuOH	<i>tert</i> Butanol
NaHCO ₃	Natriumhydrogencarbonat	tert.	tertiär
NaOH	Natriumhydroxid	TF	Tosylfluorid

TFA	Trifluoressigsäure	v/v	Volumenanteil
THF	Tetrahydrofuran	W	Watt
Tosyl	p-Toluensulfonyl	ZNS	zentrales Nervensystem
Triflat	Trifluormethansulfonat	δ	chemische Verschiebung
UV	Ultraviolett		

6.3 Abbildungsverzeichnis

Abbildung	Titel	Seite
1	Prinzip des β^+ -Zerfalls und der Koinzidenzmessung	12
2	Messprinzip der Positronen-Emissions-Tomographie	13
3	Struktur von 2- ^{18}F Fluor-2-deoxy-D-glucose	16
4	Aufbau eines Wasser-Target-Systems zur Produktion von $^{18}\text{F}^-_{\text{aq}}$ durch $^{16}\text{O}(^3\text{He},p)^{18}\text{F}$ -Kernreaktion	20
5	Synthese des 6- ^{18}F Fluordopa durch elektrophile $^{18}\text{F}^-$ Fluorierung	21
6	Umsetzung des Pd(IV) Komplex 1 mit $^{18}\text{F}^-$ zum elektrophilen ^{18}F -Fluorierungsreagenz $^{18}\text{F}2$ und anschließende Umsetzung zu ^{18}F -fluorierten Aromaten	22
7	Synthese von 2- ^{18}F FDG	24
8	Synthese von ^{18}F Fluorethyltyrosin durch ^{18}F -Fluorethylierung	26
9	^{18}F -Fluorierung mittels „Click“-Reaktion	27
10	In vivo-Metabolismus der ^{18}F -Fluormethylgruppe	27
11	Strukturen der peripheren Benzodiazepinrezeptor-Liganden ^{11}C DAA 1106, ^{18}F FMDAA 1106 und ^{18}F FEDAA 1106	29
12	Dreistufige Radiosynthese des ^{18}F Fluormethyl-L-tyrosins ausgehend von Dibrommethan	31
13	Dopaminsynthese und Metabolismus über MAO _A und MAO _B	35
14	Erhöhung der kardiovaskulären Aktivität des Sympathikus durch MAO-Inhibitoren („Cheese-Reaction“)	36
15	Struktur des ^{11}C Harmins	39
16	Zeit-Aktivitäts-Kurven für ^{11}C Harmin	40
17	Strukturen von ^{18}F Fluorethylharmol & ^{18}F Fluor-PEG3-Harmol	41
18	Autoradiographien von ^{18}F Fluorethylharmol und ^{18}F Fluor-PEG3-Harmol	41
19	Aufbau der 5-HT ₂ -Rezeptoren und weitere Signaltransduktion am Beispiel des 5-HT _{2C} -Rezeptors	42

20	Strukturen von [¹⁸ F]Altanserin, [¹¹ C]MDL 100907 & [¹⁸ F]MH.MZ	45
21	Ex vivo-Biodistribution von [¹⁸ F]MH.MZ	46
22	Autoradiographien an 14 µm Rattenhirnschnitten von [¹⁸ F]Altanserin, [³ H]MDL 100907 und [¹⁸ F]MH.MZ	46
23	Aufbau von GABA _A -Rezeptoren und Liganden-Bindungsstellen	48
24	Struktur des Agonisten Diazepam, des inversen Agonisten Ro15-4513 und des Antagonisten Flumazenil	50
25	Strukturen von [¹¹ C]Flumazenil und [¹⁸ F]Flumazenil	51
26	Strukturen von 2-[¹⁸ F]Fluorethylflumazenil und 5-(2'-[¹⁸ F]Fluorethyl)flumazenil	52
27	Zeit-Aktivitäts-Kurven für N-[¹⁸ F]Fluorethylflumazenil in verschiedenen Hirnregionen	53
28	Zeit-Aktivitäts-Kurven für [¹¹ C]Flumazenil und [¹⁸ F]Fluorethyl-flumazenil im gleichen Patienten	53
29	Zielstrukturen [¹⁸ F]Fluor-[<i>di-deutero</i>]methylharmol, [¹⁸ F]Fluor-[<i>di-deutero</i>]methylflumazenil und [¹⁸ F]Fluor-[<i>di-deutero</i>]methyl-MH.MZ	57
30	Synthese des Bis(tosyloxy)methans und des Fluormethyltosylats	59
31	Bildung des Fluormethyltosylats und des Nebenprodukts Tosylfluorid	61
32	Synthese des Tetrabutylammoniumhydrogencarbonats	61
33	Synthese des 3-((1-(4-Fluorphenethyl)piperidin-4-yl)(hydroxy)methyl)-2-methoxyphenols nach Ullrich et al.	62
34	Synthese des O-Fluormethylharmols	65
35	Synthese des Fluormethyl-MH.MZ	66
36	Synthese des Fluormethylflumazenils	66
37	Bildung von [¹⁸ F]Fluormethyltosylat	69
38	Bildung von [¹⁸ F]Tosylfluorid	69
39	Abhängigkeit der Markierungsausbeute von [¹⁸ F]FMT von der TBABC-Konzentration	70
40	Bildung von [¹⁸ F]TF in Abhängigkeit der TBABC-Konz	71
41	Abhängigkeit der Markierungsausbeute von [¹⁸ F]FMT von der Zusammensetzung des Reaktionsmediums	72
42	Bildung von [¹⁸ F]TF in Abhängigkeit vom Reaktionsmedium	72
43	Radiosynthese von [¹⁸ F]FMT in einer Labormikrowelle	74
44	Bildung von [¹⁸ F]TF in der Labormikrowelle	75
45	Vergleich der radiochemischen Ausbeuten von [¹⁸ F]FMT und <i>d</i> ₂ -[¹⁸ F]FMT bei 85 °C	78
46	Stabilität des <i>d</i> ₂ -[¹⁸ F]FMT bei Raumtemperatur	80
47	Bildung von O-[¹⁸ F]Fluormethylphenol in 800 µl DMSO	81
48	Zersetzung bei der Reaktion von <i>d</i> ₂ -[¹⁸ F]FMT mit Natriumphenolat in 800 µl DMSO	82

49	Bildung von [¹⁸ F]Fluormethylharmol bei verschiedenen Temperaturen	84
50	Zersetzung bei der Reaktion von d ₂ -[¹⁸ F]FMT mit Harmol	84
51	Serumstabilität des [¹⁸ F]Fluor-[d ₂]methylharmols	86
52	Synthese des d ₂ -[¹⁸ F]FM-MH.MZ durch ¹⁸ F-Fluormethylierung	87
53	Zersetzung bei der Synthese von d ₂ -[¹⁸ F]FM-MH.MZ	88
54	Ergebnisse des Serumstabilitätstests für d ₂ -[¹⁸ F]FM-MH.MZ	89
55	Bildung von d ₂ -[¹⁸ F]FMF	91
56	Zersetzung bei der Markierung von Desmethylflumazenil	91
57	Bildung von d ₂ -[¹⁸ F]FMF unter Verwendung von NaH	92
58	Zersetzung bei der Synthese von d ₂ -[¹⁸ F]FMF mit NaH	93
59	Vergleich der radiochemischen Ausbeuten der d ₂ -[¹⁸ F]FMF-Bildung unter Verwendung verschiedener Kartuschen während der d ₂ -[¹⁸ F]FMT-Synthese	94
60	μPET d ₂ -[¹⁸ F]FMH	96
61	μPET [¹⁸ F]FEH	96
62	Zeit-Aktivitäts-Kurven für [¹⁸ F]Fluor-[d ₂]methylharmol und [¹⁸ F]Fluorethylharmol	97
63	μPET d ₂ -[¹⁸ F]FM-MH.MZ	98
64	Zeit-Aktivitäts-Kurven für d ₂ -[¹⁸ F]FM-MH.MZ in frontalem Cortex und Cerebellum	99
65	μPET d ₂ -[¹⁸ F]FMF	101
66	Ergebnisse des Serumstabilitätstests mit [¹⁸ F]Fluor-[d ₂]methylflumazenil	102
67	Zielstrukturen [¹⁸ F]Fluor-[di-deutero]methylharmol, [¹⁸ F]Fluor-[di-deutero]methylflumazenil und [¹⁸ F]Fluor-[di-deutero]methyl-MH.MZ	127
68	Zweistufige Radiosynthese des [¹⁸ F]Fluor-[d ₂]methylharmols	127
69	2-stufige Radiosynthese des N-[¹⁸ F]Fluor-[d ₂]methylflumazenils	128
70	Zeit-Aktivitäts-Kurven für [¹⁸ F]Fluor-[d ₂]methyl-MH.MZ und [¹⁸ F]MH.MZ	130

6.4 Tabellenverzeichnis

Tabelle	Titel	Seite
1	Wichtige PET-Tracer und ihre Anwendungen	10
2	Wichtige Positronenemitter in der PET	14
3	Kernreaktionen zur Produktion von Fluor-18 im Zyklotron	19

4	Abgangsgruppen für aliphatische nukleophile Fluorierungen	23
5	Übersicht über die ^{18}F -Fluormethylierungssynthons	30
6	Substratspezifität der MAO im cerebralen Cortex	34
7	Affinitäten verschiedener 5-HT ₂ -Liganden an den Rezeptor-Subtypen	43
8	Reaktionsparameter für die Synthese des [^{18}F]FMT	73
9	Radiochemische Ausbeuten der ^{18}F -Fluorierung in einer Labor-mikrowelle im MaxPower-Modus	76
10	Vergleich der prosthetischen Gruppen [^{18}F]FETos, [^{18}F]FMT und d_2 -[^{18}F]FMT für die Fluoralkylierung	105
11	Optimierte Reaktionsparameter für die ^{18}F -Fluormethylierung von drei ZNS-Liganden	128
12	Aktivitätsbilanz der Abtrennung von [^{18}F]FMT	133
13	Aktivitätsbilanz der Abtrennung von d_2 -[^{18}F]FMT	133
14	Beispiel einer Aktivitätsbilanz der Synthese von d_2 -[^{18}F]FMH	134
15	Beispiel einer Aktivitätsbilanz der Synthese von d_2 -[^{18}F]FM-MH.MZ	135
16	Beispiel einer Aktivitätsbilanz der Synthese von d_2 -[^{18}F]FMF	136

6.5 Literatur

- 1 M. Schwaiger. W. Weber, Functional imaging: from anatomy to molecular imaging, *Medicamundi*, 2002, **46**, 2–10.
- 2 M.E. Phelps, Positron emission tomography provides molecular imaging of biological processes, *PNAS*, 2000, **97**, 9226–9233.
- 3 G. de Hevesy, Some applications of isotopic indicators, Nobel Lecture, 1944.
- 4 F. Rösch. G. Gründer; M. Schreckenberger; G. Dannhardt, Diagnostik von ZNS-Erkrankungen mittels PET bzw. SPECT: Radiopharmazeutische Strategien und klinische Anwendungen, *Pharmazie in unserer Zeit*, 2005, **34**, 474–482.
- 5 K.H. Lieser, *Einführung in die Kernchemie*, VCH, Weinheim; New York;Basel; Cambridge, 1991.
- 6 H.J. Ache, Chemistry of the Positron and of Positronium, *Angew Chem Int Edit*, 1972, **33**, 179–199.

- 7 H. Herzog, F. Rösch, PET- und SPECT-Technik: Chemie und Physik der Bildgebung, *Pharmazie in unserer Zeit*, 2005, **34**, 468–473.
- 8 C.S. Levin, E.J. Hoffman, Calculation of positron range and its effect on the fundamental limit of positron emission tomography system spatial resolution, *Phys Med Biol*, 1999, **44**, 781–799.
- 9 C. Kroll, Synthese makrozyklischer Liganden für Gallium(III), Diplomarbeit, Johannes Gutenberg-Universität, 2007.
- 10 *Tables of Isotopes*, John Wiley, New York, 7th ed., 1978.
- 11 M. Pagani, S. Stone-Elander; S.A. Larsson, Alternative positron emission tomography with non-conventional positron emitters: effects of their physical properties on image quality and potential clinical applications, *Eur J Nucl Med*, 1997, **24**, 1301–1327.
- 12 B.M. Gallagher, A. Ansari, H. Atkins, V. Casella, D.R. Christman, J.S. Fowler, T. Ido, R.R. MacGregor, P. Som, C.N. Wan, A.P. Wolf, D.E. Kuhl, M. Reivich, Radiopharmaceuticals XXVII. ^{18}F -Labeled 2-Deoxy-2-Fluoro-D-Glucose as a Radiopharmaceutical for Measuring Regional Myocardial Glucose Metabolism *In Vivo*: Tissue Distribution and Imaging Studies in Animals, *J Nuc Med*, 1977, **18**, 990–996.
- 13 M. Reivich, D. Kuhl, A. Wolf; J. Greenberg; M. Phelps; T. Ido; V. Casella; J. Fowler; E. Hoffman; A. Alavi; P. Som; L. Sokoloff, The [^{18}F]Fluorodeoxyglucose Method for the Measurement of Local Cerebral Glucose Utilization in Man, *Circ Res*, 1979, **44**, 127–137.
- 14 M.J. Welch and C.S. Redvanly, *Handbook of radiopharmaceuticals. Radiochemistry and applications*, J. Wiley, New York, 2003.
- 15 G. Stöcklin, *Handbuch der medizinischen Radiologie. Emissions-Computertomographie mit kurzlebigen zyklotronproduzierten Radionukliden*, Springer Verlag, Berlin, 1989, 15/1B.
- 16 P.W. Miller, N.J. Long; R. Vilar; A.D. Gee, Synthesis of ^{11}C , ^{18}F , ^{15}O and ^{13}N Radiolabels for Positron Emission Tomography, *Angew. Chem. Int. Ed*, 2008, **47**, 8998–9033.

- 17 *Handbook of nuclear chemistry*, Springer Science+Business Media B.V, Dordrecht [u.a.], 2nd ed., 2011.
- 18 a) V. Casella, T. Ido; A.P. Wolf; J.S. Fowler; R.R. MacGregor; T.J. Ruth, Anhydrous F-18 Labeled Elemental Fluorine for Radiopharmaceutical Preparation, *J Nucl Med*, 1980, **21**, 750–757. b) A. Bishop, N. Satyamurthy, G. Bida, G. Hendry, M. Phelps, J.R. Barrio, Proton Irradiation of [^{18}O]O₂: Production of [^{18}F]F₂ and [^{18}F]F₂ + [^{18}F]OF₂, *Nuc Med Biol*, 1996, **23**, 189–199.
- 19 M. Namavari, Regioselective Radiofluorodestannylation with [^{18}F]F₂ and [^{18}F]CH₃COOF: A High Yield Synthesis of 6-[^{18}F]Fluoro-L-dopa, *Appl Radiat Isotop*, 1992, **43**, 989–996.
- 20 a) H.H. Coenen, S.M. Moerlein, Regiospecific aromatic fluorodemetalation of group IVb metalloarenes using elemental fluorine or acetyl hypofluorite, *Journal of Fluorine Chemistry*, 1987, **36**, 63–75. b) M. Namavari, N. Satyamurthy, M.E. Phelps, J.R. Barrio, Synthesis of 6-[^{18}F] and 4-[^{18}F]fluoro-L-m-tyrosines via Regioselective Radiofluorodestannylation, *Appl Radiat Isotop*, 1993, **44**, 527–536.
- 21 E. Lee, A.S. Kamlet, D.C. Powers, C.N. Neumann, G.B. Boursalian, T. Furuya, D.C. Choi, J.M. Hooker and T. Ritter, A Fluoride-Derived Electrophilic Late-Stage Fluorination Reagent for PET Imaging, *Science*, 2011, **334**, 639–642.
- 22 T. Batille and J. Jones, eds., *No-carrier-added ^{18}F -chemistry of radiopharmaceuticals. Synthesis and applications of isotopically labelled compounds*, Wiley VCH, Amsterdam, 1989
- 23 D.S. Noyce, J.A. Virgilio, The Synthesis and Solvolysis of 1-Phenylethyl Disubstituted Phosphinates, *J Org Chem*, 1972, **37**, 2643–2647.
- 24 K. Hamacher, H.H. Coenen; G. Stöcklin, Efficient Stereospecific Synthesis of No-Carrier-Added 2-[^{18}F]Fluoro-2-Deoxy-D-Glucose Using Aminopolyether Supported Nucleophilic Substitution, *J Nucl Med*, 1986, **27**, 235–238.

- 25 D. Block, H.H. Coenen; G. Stöcklin, The N.C.A. nucleophilic ^{18}F -fluorination of 1,N-disubstituted alkanes as fluoroalkylation agents, *J Label Compd Radiopharm*, 1986, **24**, 1030–1042.
- 26 D.W. Kim, D.-S. Ahn, Y.-H. Oh, S. Lee, H.S. Kil, S.J. Oh, S.J. Lee, J.S. Kim, J.S. Ryu, D.H. Moon, D.Y. Chi, A New Class of $\text{S}_{\text{N}}2$ Reactions Catalyzed by Protic Solvents: Facile Fluorination for Isotopic Labeling of diagnostic molecules, *J Am Chem Soc*, 2006, **128**, 16394–16397.
- 27 L. Martarello, C. Schaffrath, H. Deng, A.D. Gee, A. Lockhart, D. O'Hagan, The first enzymatic method for C- ^{18}F bond formation: the synthesis of 5- ^{18}F -fluoro-5-deoxyadenosine for imaging with PET, *J Label Compd Radiopharm*, 2003, **46**, 1181–1189.
- 28 a) M.S. Haka, M.R. Kilbourn, G.L. Watkins, S.A. Toorongian, Aryltrimethylammonium trifluoromethanesulfonates as Precursors to Aryl ^{18}F Fluorides, *J Label Compd Radiopharm*, 1989, **26**. b) *Organikum*, Wiley-VCH, Weinheim, 21st ed., 2001.
- 29 T.L. Ross, J. Ermert, C. Hocke, H.H. Coenen, Nucleophilic ^{18}F -Fluorination of Heteroaromatic Iodonium Salts with No-Carrier-Added ^{18}F Fluoride, *J. Am. Chem. Soc*, 2007, **129**, 8018–8025.
- 30 a) D. Block, H.H. Coenen, G. Stöcklin, N.C.A. ^{18}F -fluoroacylation via fluorocarboxylic acid esters, *J Label Compd Radiopharm*, 1988, **25**, 185–200. b) K. Bruus-Jensen, T. Poethko, M. Schottelius, A. Hauser, M. Schwaiger, H.-J. Wester, Chemoselective hydrazone formation between HYNIC-functionalized peptides and ^{18}F -fluorinated aldehydes, *Nuc Med Biol*, 2006, **33**, 173–183. c) Y.S. Choe, D.H. Song, K.-J. Lee, S.E. Kim, Y. Choi, K.H. Lee, B.-T. Kim, S.J. Oh, D.Y. Chi, ^{18}F fluoromethylbenzylsulfonate Ester: a Rapid and Efficient Synthetic Method for the N- ^{18}F fluoromethylbenzylation of Amides and Amines, *Appl Radiat Isotop*, 1998, **49**, 73–77.
- 31 A. Bauman, Vergleichende Untersuchungen zur ^{18}F -Fluorethylierung mit den sekundären Markierungsvorläufern 2- ^{18}F Fluorethyltosylat

- und 2-Brom-1-[¹⁸F]Fluorethan, Diplomarbeit, Johannes Gutenberg Universität, 2002.
- 32 A. Bauman, M. Piel; R. Schirmacher; F. Rösch, Efficient alkali iodide promoted ¹⁸F-fluoroethylations with 2-[¹⁸F]fluoroethyl tosylate and 1-bromo-2-[¹⁸F]fluoroethane, *Tetrahedron Letters*, 2003, **44**, 9165–9167.
- 33 a) R. Schirmacher, C. Wängler, E. Schirmacher, Recent Developments and Trends in ¹⁸F-Radiochemistry: Syntheses and Applications, *Mini-Reviews in Organic Chemistry*, 2007, **4**, 317–329.
b) H.H. Coenen, P.H. Elsinga, R Iwata, M.R. Kilbourn, M.R.A. Pillai, M.G.R. Rajan, H.N. Wagner, J.J. Zaknun, Fluorine-18 radiopharmaceuticals beyond [¹⁸F]FDG for use in oncology and neurosciences, *Nuc Med Biol*, 2010, **37**, 727–740.
- 34 M.-R. Zhang, J. Maeda, T. Ito, T. Okauchi, M. Ogawa, J. Noguchi, T. Suhara, C. Halldin and K. Suzuki, Synthesis and evaluation of N-(5-fluoro-2-phenoxyphenyl)-N-(2-[¹⁸F]fluoromethoxy-d₂-5-methoxybenzy) acetamide: a deuterium-substituted radioligand for peripheral benzodiazepine receptor, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 2005, **13**, 1811–1818.
- 35 a) Staley, J.K., C. van Dyck, P.-Z. Tan, M. Al Tikriti, Q. Ramsby, H. Klump, C. Ng, P. Garg, R. Soufer, R. Baldwin and R. Innis, Comparison of [¹⁸F]altanserin and [¹⁸F]deuteroaltanserin for PET imaging of serotonin_{2A} receptors in baboon brains: pharmacological studies, *Nuc Med Biol*, 2001, **28**, 271–279. b) J. Fowler, G.-J. Wang, J. Logan, S. Xie, N. Volkow, R. MacGregor, D.J. Schlyer, N. Pappas, D. Alexoff, C. Patlak and A. Wolf, Selective Reduction of Radiotracer Trapping by Deuterium Substitution: Comparison of Carbon-11-L-Deprenyl and Carbon-11-Deprenyl-D₂ for MAO B Mapping, *J Nucl Med*, 1995, **36**, 1255–1262.
- 36 T.R. DeGrado, S.W. Baldwin, S. Wang, M.D. Orr, R.P. Liao, H.S. Friedman, R. Reiman, D.T. Price, R.E. Coleman, Synthesis and

- Evaluation of ^{18}F -Labeled Choline Analogs as Oncologic PET Tracers, *J Nuc Med*, 2001, **42**, 1805–1814.
- 37 R. Iwata, C. Pascali, A. Bogni, S. Furumoto, K. Terasaki, K. Yanai, [^{18}F]Fluoromethyl triflate, a novel and reactive [^{18}F]fluoromethylating agent: preparation and application to the on-column preparation of [^{18}F]fluorocholine, *Applied Radiation and Isotopes*, 2002, **57**, 347–352.
- 38 M. Suzuki, K. Yamaguchi, G. Honda, R. Iwata, S. Furumoto, M.-G. Jeong, H. Fukuda, M. Itoh, An experimental study on O- [^{18}F]fluoromethyl-L-tyrosine for differentiation between tumor and inflammatory tissues, *Ann Nuc Med*, 2005, **19**, 589–595.
- 39 R. Iwata, S. Furumoto, C. Pascali, A. Bogni and K. Ishiwata, Radiosynthesis of O- [^{11}C]methyl-L-tyrosine and O- [^{18}F]Fluoromethyl-L-tyrosine as potential PET tracers for imaging amino acid transport, *J Label Compd Radiopharm*, 2003, **46**, 555–566.
- 40 M.R. Zhang, J. Maeda, K. Furutsuka, Y. Yoshida, M. Ogawa, T. Suhara, K. Suzuki, [^{18}F]FMDAA1106 and [^{18}F]FEDAA1106: Two Positron-Emitter Labeled Ligands for Peripheral Benzodiazepine Receptor(PBR), *Bioorg. Med. Chem. Letters*, 2003, **13**, 201–204.
- 41 J. Bergman, O. Eskola, P. Lehtikoinen, O. Solin, Automated synthesis and purification of [^{18}F]bromofluoromethane at high specific radioactivity, *Applied Radiation and Isotopes*, 2001, **54**, 927–933.
- 42 L. Zheng, M.S. Berridge, Synthesis of [^{18}F]fluoromethyl iodide, a synthetic precursor for fluoromethylation of radiopharmaceuticals, *Applied Radiation and Isotopes*, 2000, **52**, 55–61.
- 43 T.R. Neal, S. Apana and M.S. Berridge, Improved synthesis of [^{18}F]fluoromethyl tosylate, a convenient reagent for radio-fluoromethylations, *J Label Compd Radiopharm*, 2005, **48**, 557–568.

- 44 D. Block, H.H. Coenen, G. Stöcklin, The N.C.A. nucleophilic ^{18}F -fluorination of 1,N-disubstituted alkanes as fluoroalkylation agents, *J Label Compd Radiopharm*, 1987, **24**, 1029–1042.
- 45 L. Cai, S. Lu, V.W. Pike, Chemistry with [^{18}F]Fluoride Ion, *Eur. J. Org. Chem*, 2008, 2853–2873.
- 46 A.P. Kudchadker, S.A. Kudchadker; R.P. Shukla, P.R. Patnaik, Vapor Pressures and Boiling Points of Selected Halomethanes, *J. Phys. Chem. Ref. Data*, 1979, **8**, 499–517.
- 47 G. Smith, Y. Zhao, J. Leyton, B. Shan, Q.-D. Nguyen, M. Perumal, D. Turton, E. Årstad, S.K. Luthra and E.G. Robins, Radiosynthesis and pre-clinical evaluation of [^{18}F]fluoro-[1,2- $^2\text{H}_4$]choline, *Nuclear Medicine and Biology*, 2011, **38**, 39–51.
- 48 M.B.H. Youdim, J.P.M. Finberg and K.F. Tipton, *Catecholamines 2*, Trendelenburg, U.; Weiner, N. eds., Springer, Berlin, 1988.
- 49 M.B.H. Youdim, D. Edmonson, K.F. Tipton, The therapeutic potential of monoamine oxidase inhibitors, *Nat Rev Neurosci*, 2006, **7**, 295–309.
- 50 S.-Y. Son, J. Ma, Y. Kondou, E. Yoshimura, T. Tsukihara, Structure of human monoamine oxidase A at 2.2-Å resolution: The control of opening the entry for substrates/inhibitors, *PNAS*, 2008, **105**, 5739–5744.
- 51 I. Rebrin, R.M. Geha, K. Chen, J.C. Shih, Effects of carboxyl-terminal truncations on the activity and solubility of human monoamine oxidase B, *J Biol Chem*, 2001, **276**, 29499–29506.
- 52 A.-M. O'Carroll, C.J. Fowler, J.P. Phillips, I. Tobbia, K.F. Tipton, The deamination of dopamine by human brain monoamine oxidase. Specificity for the two enzyme forms in seven brain regions, *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol*, 1983, **322**, 198–202.
- 53 K.N. Westlund, R.M. Denney, L.M. Kochersperger; R.M. Rose, C.W. Abell, Distinct monoamine oxidase A and B populations in primate brain, *Science*, 1985, **230**, 181–183.

-
- 54 J.C. Shih, K. Chen, M.J. Ridd, Monoamine oxidase: from genes to behavior, *Annu Rev Neurosci*, 1999, **22**, 197–217.
- 55 M.G. Livingston, H.M. Livingston, Monoamine oxidase inhibitors. An update on drug interactions, *Drug Saf*, 1996, **14**, 219–227.
- 56 G. Cohen, Monoamine oxidase and oxidative stress at dopaminergic synapses, *J Neural Transm Suppl*, 1990, **32**, 229–238.
- 57 D. Vallone, R. Picetti, E. Borelli, Structure and function of dopamine receptors, *Neurosci Biobehav Rev*, 2000, **24**, 125.
- 58 M.B.H. Youdim, M. Weinstock, Therapeutic applications of selective and non-selective inhibitors of monomine oxidase A and B that do not cause significant tyramine potentiation, *Neurotoxicology*, 2004, **25**, 243–250.
- 59 a) A. Pletcher, The discovery of antidepressants: a winding path, *Experientia*, 1991, **47**, 4–8. b) M.C. Anderson, F. Hasan, J.M. McCrodden, K.F. Tipton, Monoamine oxidase inhibitors and the cheese effect, *Neurochem Res*, 1993, **18**, 1145–1149. c) M. Da Prada, From moclobemide to Ro 19-6327 and Ro 41-1049: the development of a new class of reversible, selective MAO-A and MAO-B inhibitors, *J Neural Transm Suppl*, 1988, **29**, 1–9.
- 60 P. Gareri, U. Falconi, P. Fazio, G. Sarro, Conventional and new antidepressant drugs in the elderly, *Progr Neurobiol*, 2000, **61**, 353–396.
- 61 S.E. Zisook, Clinical overview of monoamine oxidase inhibitors, *Psychosomatics*, 1985, **26**, 240–251.
- 62 a) J.S. Fowler, Brain monoamine oxidase A inhibition in cigarette smokers, *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996, **93**, 14065–1409. b) T. Herraiz, C. Chaparro, Human monoamine oxidase is inhibited by tobacco smoke: β -carboline alkaloids act as potent and reversible inhibitors, *Biochem Biophys Res Commun*, 2005, **326**, 378–386.
- 63 a) W. Birkmeyer, P. Riederer, L. Ambrosi, M.B.H. Youdim, Implications of combined treatment with “Madopar” and l-deprenyl in

- Parkinson's Disease. A long term study, *Lancet*, 1977, 309, 439–443.
- b) Parkinson Study Group, Impact of deprenyl and tocopherol treatment on Parkinson's Disease in DATATOP subjects not requiring levodopa, *Ann Neurol*, 1996, **39**, 29–36.
- 64 K. Magyar, B. Szende, (-)-Deprenyl, a selective MAO_B-Inhibitor, with apoptotic and anti-apoptotic properties, *Neurotoxicology*, 2004, **25**, 233–242.
- 65 J. Sivenius, Selegiline treatment facilitates recovery after stroke, *Neurorehabil Neural Repair*, 2001, **15**, 183–190.
- 66 M.Y. Zhu, V. Klimek, G.E. Dilley, J.W. Haycock, C. Stockmeier, J.C. Overholser, H.Y. Meltzer, G.A. Ordway, Elevated levels of tyrosine hydroxylase in the locus coeruleus in major depression, *Biol Psychiatry*, 1999, **46**, 1275–1286.
- 67 J.H. Meyer, N. Ginovart, A. Boovariwala, S. Sagrati, D. Hussey, A. Garcia, T. Young, N. Praschak-Rieder, A.A. Wilson, S Houle, Elevated Monoamine Oxidase A Levels in the Brain, *Arch Gen Psychiatry*, 2006, **63**, 1209–1216.
- 68 M. Bergström, G. Westerberg, T. Kihlberg, B. Långström, Synthesis of Some ¹¹C-Labelled MAO-A Inhibitors and Their In Vivo Uptake Kinetics in Rhesus Monkey Brain, *Nucl Med Biol*, 1997, **24**, 381–388.
- 69 N. Ginovart, J.H. Meyer, A. Boovariwala, D. Hussey, E.A. Rabiner, S. Houle, A.A. Wilson, Positron emission tomography quantification of [¹¹C]-harmine binding to monoamine oxidase-A in the human brain, *J Cereb Blood Flow Metab*, 2006, **26**, 330–344.
- 70 E. Blom, F. Karimi, O. Eriksson, H. Hall, B. Långström, Synthesis and in vitro evaluation of ¹⁸F-β-carboline alkaloids as PET ligands, *J Label Compd Radiopharm*, 2008, **51**, 277–282.
- 71 H. Schieferstein Synthese, Fluor-18 Markierung und Evaluierung von MAO-A Inhibitoren, Diplomarbeit, Johannes Gutenberg-Universität, 2009.

- 72 D. Julius, Molecular Biology of Serotonin Receptors, *Ann Rev Neurosci*, 1991, **14**, 335–360.
- 73 C.C. Meltzer, G. Smith, S.T. DeKosky, B.G. Pollock, C.A. Mathis, R.Y. Moore, D.J. Kupfer, C.F. Reynolds, Serotonin in Aging, Late-Life depression, and Alzheimer's Disease: The Emerging Role of Functional Imaging, *Neuropsychopharmacol*, 1998, **18**, 407–430.
- 74 N.M. Barnes, T. Sharp, A review of central 5-HT receptors and their function, *Neuropharmacol*, 1999, **38**, 1083–1152.
- 75 M.J. Millan, P. Marin, J. Bockaert, C. La Mannoury Cour, Signaling at G-protein-coupled serotonin receptors: recent advances and future research directions, *Trends Pharmacol Sci*, 2008, **29**, 454–464.
- 76 a) A. Pazos, R. Cortés, J.M. Palacios, Quantitative Autoradiographic Mapping of Serotonin Receptors in the Rat Brain, *Brain Res*, 1985, **346**, 231–249. b) A. Pazos, A. Probst, J.M. Palacios, Serotonin receptors in the human brain-IV. Autoradiographic mapping of serotonin-2 receptors, *Neurosci*, 1987, **21**, 123–139. c) H. Hall. L. Farde, C. Halldin, C. Lundkvist, G. Sedvall, Autoradiographic Localization of 5-HT_{2A} Receptors in the Human Brain Using [³H]M100907 and [¹¹C]M100907, *Synapse*, 2000, **38**, 421–431.
- 77 a) B. Vitiello, A. Martin, J. Hill, C. Mack, S. Molchan, R. Martinez, D.L. Murphy, T. Sunderland, Cognitive and Behavioral Effects of Cholinergic, Dopaminergic, and Serotonergic Blockade in Humans, *Neuropsychopharmacol*, 1997, **16**, 15–24. b) G.V. Williams, S.G. Rao, P.S. Goldman-Rakic, The Physiological role of 5-HT_{2A} Receptors in Working Memory, *J Neuroscience*, 2002, **22**, 2843–2854.
- 78 a) H. Ito, S. Nyberg, C. Halldin, C. Lundkvist, L. Farde, PET imaging of central 5-HT_{2A} receptors with carbon-11-MDL 100,907, *J Nucl Med*, 1998, **39**, 208–214. b) M.P. Johnson, B.W. Siegel, A.A. Carr, [³H]MDL 100,907: a novel selective 5-HT_{2A} receptor ligand, *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol*, 1996, **354**, 457–467.
- 79 a) G.S. Smith, J.C. Price, B.J. Lopresti, Y. Huang, N. Simpson, D. Holt, Test-retest variability of serotonin 5-HT_{2A} receptor binding

- measured with positron emission tomography and [^{18}F]altanserin in the human brain, *Synapse*, 1998, **30**, 380–392. b) P. Tan, R.M. Baldwin, T. Fu, D.S. Charney, R.B. Innis, Rapid synthesis of F-18 and H-3 dual labeled altanserin, a metabolically resistant PET ligand for 5-HT_{2A} receptor, *J Label Compd Radiopharm*, 1999, **42**, 421–431.
- 80 U. Mühlhausen, J. Ermert, M.M. Herth, H.H. Coenen, Synthesis, radiofluorination and first evaluation of (\pm)-[^{18}F]MDL 100907 as serotonin 5-HT_{2A} receptor antagonist for PET, *J Label Compd Radiopharm*, 2008, **52**, 6–12.
- 81 M.M. Herth, F. Debus, M. Piel, M. Palner, G.M. Knudsen, H. Lüddens, F. Rösch, Total synthesis and evaluation of [^{18}F]MHMZ, *Bioorg Med Chem Lett*, 2008, **18**, 1515–1519.
- 82 M.M. Herth, M. Piel, F. Debus, U. Schmitt, H. Lüddens, F. Rösch, Preliminary in vivo and ex vivo evaluation of the 5-HT_{2A} imaging probe [^{18}F]MH.MZ, *Nuc Med Biol*, 2009, **36**, 447–454.
- 83 L. Silvilotti, A. Nistri, GABA receptor mechanisms in the central nervous system, *Prog Neurobiol*, 1991, **36**, 35–92.
- 84 W. Hevers, H. Lüddens, The Diversity of GABA_A Receptors, *Mol Neurobiol*, 1998, **18**, 35–86.
- 85 A. Doble, I.L. Martin, Multiple benzodiazepine receptors: no reason for anxiety, *Trends Pharmacol Sci*, 1992, **13**, 76–81.
- 86 J.F. Rosenbaum, R.A. Pollock, M.W. Otto, M.H. Pollack, Integrated treatment of panic disorders, *Bull Menninger Clin*, 1995, **59**, A4-26.
- 87 R.J. Dockhorn, D.W. Dockhorn, Zolpidem in the treatment of short-term insomnia: a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial, *Clin Neuropharmacol*, 1996, **19**, 333–340.
- 88 E.R. Korpi, Role of GABA_A receptors in the actions of alcohol and alcoholism: recent advances, *Alcohol. Alcoholism*, 1994, **29**, 115–129.
- 89 M. Glass, M. Dragunow, Neurochemical and morphological changes associated with human epilepsy, *Brain Res Rev*, 1995, **21**, 29–41.

-
- 90 U.E. Lang, I. Puls, D.J. Müller, N. Strutz-Seebohm, J. Gallinat, Molecular Mechanisms of Schizophrenia, *Cell Physiol Biochem*, 2007, **20**, 687–702.
- 91 P.R. Schofield, M.G. Darlison, N. Fujita, D.R. Burt, F.A. Stephenson, Sequence and functional expression of the GABA_A receptor shows a ligand-gated receptor super-family, *Nature*, 1987, **328**, 221–227.
- 92 N. Nayeem, T.P. Green, I.L. Martin, E.A. Barnard, Quarternary structure of the native GABA_A receptor determined by electron microscopic image analysis, *J Neurochem*, 1994, **62**, 815–818.
- 93 P.H. Seeburg, W. Wisden, T.A. Verdoorn, D.B. Pritchett, P. Werner, The GABA_A receptor family-molecular and functional diversity, *Cold Spring Harbor Symp Quantit Biol*, 1990, **55**, 29–40.
- 94 P.A. Davies, M.C. Hanna, T.G. Hales, E.F. Kirkness, Insensitivity to anesthetic agents conferred by a class of GABA_A receptor subunit, *Nature*, 1997, **385**, 820–823.
- 95 W. Sieghart, Pharmacology of benzodiazepine receptors: an update, *J Psychiatry Neurosci*, 1994, **19**, 24–29.
- 96 W. Sieghart, Structure and pharmacology of γ -aminobutyric acid_A receptor subtypes, *Pharmacol Rev*, 1995, **47**, 181–234.
- 97 a) R.L. Macdonald, R.E. Twyman, T.R. Jastrow, T.P. Angelotti, Regulation of GABA_A receptor channels by anticonvulsant and convulsant drugs and by phosphorylation, *Epilepsy Res Suppl*, 1992, **9**, 265–277. b) C. Braestrup, R. Schmiechen, G. Neef, M. Nielsen, E.N. Petersen, Interaction of convulsive ligands with benzodiazepine receptors, *Science*, 1982, **216**, 1241–1243.
- 98 P. Polc, E.P. Bonetti, R. Schaffner, W. Haefely, A three-state model of the benzodiazepine receptor explains the interactions between the benzodiazepine antagonist Ro 15-1788, benzodiazepine tranquilizers, β -carbolines, and phenobarbitone, *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol*, 1982, **321**, 260–264.

- 99 F. Knoflach, D. Benke, Pharmacological modulation of the diazepam-insensitive recombinant γ -aminobutyric acid_A receptors $\alpha 4\beta 2\gamma 2$ and $\alpha 6\beta 2\gamma 2$, *Mol Pharmacol*, 1996, **50**, 1253–1261.
- 100 J.F. Tallman, J.W. Thomas, D.W. Gallager, GABAergic modulation of benzodiazepine binding site sensitivity, *Nature*, 1978, **288**, 609–610.
- 101 M. Maziere, P. Hantraye, C. Prenant, J. Sastre, D. Comar, Synthesis of Ethyl-8-Fluoro-5,6-dihydro-5-[¹¹C]methyl-6-oxo-4H-imidazol[1,5-a][1,4]benzodiazepine-3-carboxylate (Ro 15.1788-¹¹C): A Specific Radioligand for the In Vivo Study of Central Benzodiazepine Receptors by Positron Emission Tomography, *Int J Appl Radiat Isot*, 1984, **35**, 973–976.
- 102 a) N.A. Lassen, P.A. Bartenstein, A.A. Lammertsma, M.C. Preveit, D.R. Turton, S.K. Luthra, S. Osman, P.M. Bloomfield, T. Jones, P.N. Patsalos, M.T. O'Connell, J.S. Duncan, J.V. Andersen, Benzodiazepine Receptor Quantification In Vivo in Humans Using [¹¹C]Flumazenil and PET: Application of the Steady-State Principle, *J Cereb Blood Flow Metab*, 1995, **15**, 152–165. b) M. Diksic and R. Reba, eds., *Radiopharmaceuticals and Brain Pathology Studied with PET ad SPECT. In vivo studies of the central benzodiazepine receptors in the human brain with positron emission tomography*, CRC Press, Boca Raton, Florida, 1991.
- 103 N.N. Ryzhikov, N.A. Gomzina, O.S. Fedorova, D.A. Vassiliev, A.P. Kostikov, R.N. Krasikova, Preparation of [¹⁸F]Flumazenil, a Potential Radioligand for PET Imaging of Central Benzodiazepine Receptors, by Isotope Exchange, *Radiochemistry*, 2004, **46**, 290–294.
- 104 N.N. Ryzhikov, N. Seneca, R.N. Krasikova, N.A. Gomzina, E., Shchukin, O.S. Fedorova, D.A. Vassiliev, B. Gulyás, H. Hall, I. Savic, C. Halldin, Preparation of highly specific radioactivity [¹⁸F]flumazenil and its evaluation in cynomolgus monkey by positron emission tomography, *Nuc Med Biol*, 2005, **32**, 109–116.
- 105 S.M. Moerlein, J.S. Perlmutter, D. Parkinson, Evaluation of N-omega [¹⁸F]fluoroethyl flumazenil for in vivo measurement of central

- benzodiazepine receptor binding with PET, *J Cereb Blood Flow Metab*, 1991, **11**, S613.
- 106 G. Gründer; T. Siessmeier, C. Lange-Asschenfeldt, I. Vernaleken, H.-G. Buchholz, P. Stoeter, A. Drzezga, H. Lüddens, F. Rösch, P. Bartenstein, [¹⁸F]Fluoroethylflumazenil: a novel tracer for PET imaging of human benzodiazepine receptors, *Eur J Nuc Med*, 2001, **28**, 1463–1470.
- 107 W.D. Emmons, A.F. Ferris, Metathetical Reactions of Silver Salts in Solution, *J. Am. Chem. Soc.*, 1953, **75**, 2257.
- 108 A.I. Schatenstein, *Isotopenaustausch und Substitution des Wasserstoffs in organischen Verbindungen*, Deutscher Verlag der Wissenschaften, Berlin, 1963.
- 109 T. Ullrich, K.C. Rice, A Practical Synthesis of the Serotonin 5-HT_{2A} Receptor Antagonist MDL 100907, its Enantiomer and their 3-Phenolic Derivatives as Precursors for [¹¹C]Labeled PET Ligands, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 2000, **8**, 2427–2432.
- 110 M.-R. Zhang, J. Maeda, M. Ogawa, J. Noguchi, T. Ito, Y. Yoshida, T. Okauchi, S. Obayashi, T. Suhara and K. Suzuki, Development of a New Radioligand, N-(5-Fluoro-2-phenoxyphenyl)-N-(2-[¹⁸F]fluoroethyl-5-methoxybenzyl)acetamide, for PET Imaging of Peripheral Benzodiazepine Receptor in Primate Brain, *J. Med. Chem*, 2004, **47**, 2228–2235.
- 111 H. Watabe, M.A. Channing, M.G. Der, H.R. Adams, E. Jagoda, P. Herscovitch, W.C. Eckelman, R.E. Carson, Kinetic Analysis of the 5-HT_{2A} Ligand [¹¹C]MDL 100,907, *J Cereb Blood Flow Metab*, 2000, **20**, 899–909.

„Keine Schuld ist dringender als die, Dank zu sagen“

Marcus Tullius Cicero (106-43 v.Chr.)

Hiermit möchte ich allen danken, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.