

# **Synthese und Evaluierung von <sup>68</sup>Ga-Schiff'schen Basen zur Diagnostik der koronaren Herzerkrankung**

**Dissertation**

Zur Erlangung des Grades  
„Doktor der Naturwissenschaften“  
im Promotionsfach Chemie

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

Melanie Zimny  
geb. in Lahnstein

Mainz im April 2013



„Es wird die Zeit kommen, da du glaubst, alles sei geschafft. Das ist der Anfang.“ – Louis L' Amour

Für meine Familie und Freunde. Vielen Dank.

## Zusammenfassung

Die häufigsten Todesfälle weltweit sind auf Herzerkrankungen zurückzuführen. Bei der koronaren Herzkrankheit (KHK) sammeln sich über Jahre arteriosklerotische Ablagerungen in den Herzkranzgefäßen an und führen so zu einer verminderten Durchblutung und Versorgung des Herzmuskelgewebes mit Sauerstoff und Nährstoffen. Zur nuklearmedizinischen Bildgebung finden am häufigsten das SPECT-Nuklid  $^{201}\text{Tl}$  sowie die beiden  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Radiopharmaka Sestamibi und Tetrofosmin Anwendung. Die PET-Technik ist der SPECT-Technik in Bezug auf absolute Quantifizierung sowie Auflösung überlegen. Ziel der vorliegenden Arbeit war es, ein mögliches PET-Radiopharmakon zur Diagnostik der KHK zu entwickeln. Um eine dem  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Nuklid vergleichbare Verfügbarkeit im klinischen Alltag zu erreichen, sollte als Basis des neuen Radiopharmakons das mittels Radionuklid-Generator verfügbare  $^{68}\text{Ga}$  dienen.

Schiff'sche Basen-Verbindungen zeigten nach Komplexierung mit  $^{67/68}\text{Ga}$  eine deutliche Aufnahme in die Herzmuskelzellen. Auf dieser Grundlage wurden verschiedene Schiff'sche Basen-Strukturen synthetisiert. Diese unterscheiden sich einerseits durch das Substitutionsmuster der verwendeten Aldehyde und andererseits durch das verwendete Rückgrat. Alle synthetisierten Chelatoren wurden erfolgreich mit  $^{68}\text{Ga}$  radioaktiv markiert und konnten anschließend aufgereinigt werden. Die Evaluierung dieser Substanzen *in vitro* zeigte, dass sie in unterschiedlichen Medien stabil ist. Die Lipophilie der  $^{68}\text{Ga}$ -Verbindungen ( $\log D$ ) lag zwischen  $0,87 \pm 0,24$  und  $2,72 \pm 0,14$ . Die Ladung der Verbindungen wurde mittels Papierelektrophorese bei  $\text{pH} = 7$  als kationisch bestimmt. Zusätzlich fanden *in vitro*-Untersuchungen zur Bestimmung der Aufnahme der Komplexe in HL-1 Herzzellen statt. Um den Einfluss des Zellmembranpotentials bzw. des Mitochondrienmembranpotentials zu untersuchen, wurde ein Teil der Zellen dafür mit Valinomycin (Ionophor, zerstört das Potential) behandelt. Mittels *ex vivo*-Biodistributionen wurde die Organverteilung von zwei Schiff'schen Basen ( $^{68}\text{Ga}$ -BADED-2 und  $^{68}\text{Ga}$ -BAPDMEN-2) mit dem routinemäßig in der Klinik eingesetzten Derivat  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Sestamibi sowie dem  $^{18}\text{F}$ -Flurpiridaz in Ratten verglichen. Alle Verbindungen zeigten dabei eine deutliche Herzaufnahme von mehr als 2 % der injizierten Dosis pro Gramm Gewebe. Durch *in vivo*-PET-Aufnahmen wurden die Zeit-Aktivitätskurven der  $^{68}\text{Ga}$ -Verbindungen sowie zum Vergleich des  $^{18}\text{F}$ -Flurpiridaz bestimmt. Die Aufnahmen lagen im Bereich von  $0,63 \pm 0,15$  für  $^{68}\text{Ga}$ -BAPEN-3 bis  $2,72 \pm 0,86$  für  $^{68}\text{Ga}$ -BADED-8.

In dem zweiten Teil der Arbeit wurden die Vorteile des hochaffinen Herztracers Flurpiridaz mit dem lipophilen, positiv-geladenen Ga-Schiff'sche Base-Chelator kombiniert. Hierzu wurde zunächst das Insektizid Flurpiridaz synthetisiert und mit dem BAPEN-Rückgrat gekoppelt. Die entstandene Verbindung wurde erstmals mit  $^{68}\text{Ga}$  radioaktiv markiert und muss in weiterführenden Arbeiten evaluiert werden.

## Summary

Heart diseases are the main cause of death worldwide. CAD (coronary artery disease) is characterized by accumulation of arteriosclerotic plaques in the coronary arteries which cause a reduced supply of nutrition and oxygen to the myocardial cells. The SPECT-nuclide  $^{201}\text{Tl}$  as well as  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -sestamibi and  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -tetrofosmin are routinely used for perfusion measurements of the heart. PET technique is superior to SPECT in terms of absolute quantification and resolution. Goal of this work was it to develop a PET-radiopharmaceutical for diagnoses of CAD. To achieve comparable availability to the SPECT-radionuclide-generator gained  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -, the new radiopharmaceutical should be based on the PET-radionuclide-generator-gained  $^{68}\text{Ga}$ .

After complexation with  $^{67/68}\text{Ga}$ , Schiff bases demonstrated a noticeably uptake in cardiac myocytes. Based on this several Schiff base amines – differing in used aldehydes and backbones – were synthesized. All synthesized chelators were successfully labeled with  $^{68}\text{Ga}$  and purified via SPE (solid-phase-extraction). Evaluation of the  $^{68}\text{Ga}$ -compounds *in vitro* demonstrated that the majority is stable in different media. Lipophilicity was determined between  $0.87\pm 0.24$  und  $2.72\pm 0.14$ .  $^{68}\text{Ga}$ -complexes revealed a positive charge with paper electrophoreses at pH= 7. Uptake of  $^{68}\text{Ga}$ -Schiff bases in HL-1 cells was investigated in *in vitro*-measurements. To determine the influence of the cell membrane potential part of the cells were treated with valinomycin (ionophor which destroys cell potential).

*Ex vivo*-biodistributionen was performed with compounds  $^{68}\text{Ga}$ -BADED-2 and  $^{68}\text{Ga}$ -BAPDMEN-2 and compared to  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -sestamibi as well as with  $^{18}\text{F}$ -flurpiridaz in rats. All compounds were found to have an uptake into the cardiac myocytes of more than 2% injected dose/ gram tissue.

*In vivo*-PET-studies of all compounds demonstrated high uptake ( $0.63\pm 0,15$  for  $^{68}\text{Ga}$ -BAPEN-3 and  $2.72\pm 0.86$  for  $^{68}\text{Ga}$ -BADED-8) and retention for >60 min.

In the second part of this thesis the advantages of the insecticide flurpiridaz was combined with the lipophilic, mono-cationic Ga-Schiff base chelator. Therefore flurpiridaz was synthesized following literature-instructions and then attached to the Schiff base-backbone BAPEN. The synthesized compound was labeled with  $^{68}\text{Ga}$  and has to be evaluated in subsequent works.

# Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Einleitung</b> .....	<b>8</b>
1.1	Positronen Emissions Tomographie (PET) .....	8
1.1.1	Funktionelle und molekulare Bildgebung .....	8
1.1.2	Nuklide in der PET .....	10
1.1.3	Radionuklid-Generatorsysteme .....	11
1.1.4	Chelatorchemie des Galliums .....	14
1.2	Das Herz und die koronare Herzkrankheit (KHK) .....	16
1.2.1	Anatomie des Herzens .....	16
1.2.2	Epidemiologie der koronaren Herzkrankheit .....	17
1.3	Bildgebende Verfahren in der Kardiologie .....	20
1.3.1	Perfusionstracer .....	21
1.3.2	Funktionelle Tracer/ metabolisches Imaging .....	27
<b>2</b>	<b>Problemstellung</b> .....	<b>33</b>
<b>3</b>	<b>Ergebnisse und Diskussion</b> .....	<b>36</b>
3.1	Synthesen der Schiff'schen Basen .....	36
3.1.1	Synthese der Rückgrate .....	36
3.1.2	Synthese der Schiff'schen Basen .....	38
3.1.3	Synthese der Flurpiridaz-Schiff'schen Base .....	40
3.1.4	Darstellung der inaktiven Verbindungen <sup>67</sup> Ga-BADED-2 und <sup>67</sup> Ga-BADED-3 .....	43
3.2	Radiomarkierungen .....	44
3.2.1	Radiomarkierung der Schiff'schen Basen mit <sup>68</sup> Ga .....	44
3.2.2	Radiomarkierung der Flurpiridaz-Schiff'schen Base mit <sup>68</sup> Ga .....	46
3.2.3	Radiomarkierung des Flurpiridaz mit <sup>18</sup> F .....	47
3.2.4	Radiomarkierung des Sestamibi mit <sup>99m</sup> Tc .....	48
3.3	<i>In vitro</i> -Evaluierung der <sup>68</sup> Ga-Schiff'schen Basen .....	49
3.3.1	Bestimmung der Lipophilien (log D-Wert) .....	49
3.3.2	Bestimmung der <i>in vitro</i> -Stabilitäten .....	51
3.3.3	Bestimmung der Ladung der <sup>68</sup> Ga-Schiff'sche Base Verbindungen .....	53
3.3.4	<i>In vitro</i> -Zellversuche .....	55
3.3.5	<i>In vivo</i> -PET-Daten .....	59
3.3.6	Ex vivo-Biodistributionen .....	65
<b>4</b>	<b>Experimenteller Teil</b> .....	<b>72</b>
4.1	Allgemeines und Messgeräte .....	72
4.1.1	Chromatographische Methoden .....	72
4.1.2	Messgeräte .....	73
4.2	Synthesvorschriften .....	74
4.2.1	Synthese der Schiff'schen Basen .....	74
4.2.1.1	Synthese der Rückgrate .....	74

4.2.1.2	Synthese der Schiff'schen Basen .....	76
4.2.2	Darstellung von inaktiven Komplexen .....	84
4.2.3	Radioaktive Markierungen .....	85
4.3	<i>In vitro</i> -Evaluierung der <sup>68</sup> Ga-Schiff'schen Basen- Komplexe .....	87
4.3.1	Bestimmung der Lipophilie (log D) .....	87
4.3.2	Bestimmung der <i>in vitro</i> -Stabilitäten .....	89
4.3.3	Bestimmung der Ladung mittels Papierelektrophorese .....	89
4.3.4	Bestimmung der Aufnahme in die Herzzellen mittels <i>in vitro</i> - Zellversuchen .....	90
4.4	<i>In vivo</i> - und <i>ex vivo</i> -Tierversuche .....	91
4.4.1	μPET und Bildbearbeitung .....	91
4.4.2	<i>Ex vivo</i> -Biodistributionen .....	91
4.5	Synthese der Flurpiridaz-Schiff'schen Base .....	93
4.6	Synthese des <sup>18</sup> F-Flurpiridaz .....	98
<b>5</b>	<b>Zusammenfassung und Ausblick .....</b>	<b>99</b>
<b>6</b>	<b>Anhang .....</b>	<b>102</b>
6.1	Literaturverzeichnis .....	102
6.2	Abkürzungsverzeichnis .....	109
6.3	Bilderverzeichnis .....	111
6.4	Tabellenverzeichnis .....	114
6.5	Ergebnisse der <i>in vitro</i> -Stabilitäten .....	115
6.6	Benennung der Schiff'schen Basen .....	118
<b>7</b>	<b>Lebenslauf .....</b>	<b>119</b>

# 1 Einleitung

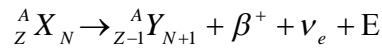
## 1.1 Positronen Emissions Tomographie (PET)

### 1.1.1 Funktionelle und molekulare Bildgebung

Diagnostik sowie Therapiemonitoring von Patienten unterliegen einer fortwährenden Verbesserung. Individualisiertes Patientenmanagement wird (auch auf Grund von Kostenersparnis) immer drängender. Die klassischen bildgebenden Diagnoseverfahren wie Röntgen, Angiographie, Computertomographie (CT) und Magnetresonanztomographie (MRT) liefern allerdings nur morphologische Informationen. Dagegen sind bildgebende Verfahren der Nuklearmedizin wie die Positronen Emissions Tomographie (PET) sowie die Single Photon Emission Computed Tomographie (SPECT) in der Lage, physiologische und pathologische Vorgänge nicht-invasiv *in vivo* abzubilden. Sie nutzen dabei Radionuklid-basierte Biomoleküle oder biogene Verbindungen, welche selektiv an ihrem Zielort (Target), beispielsweise ein Rezeptor oder Zellkompartiment, binden. Das Verfahren beruht auf dem von George de Hevesy postulierten Tracerprinzip (Nobelpreis für Chemie, 1943) und zeichnet sich vor allem dadurch aus, dass die für eine solche Untersuchung benötigten geringen Stoffmengen im picomolaren bis nanomolaren Bereich keinerlei Einfluss auf den Stoffwechsel ausüben. Darüber hinaus ermöglicht es die molekulare Bildgebung mittels PET, auch die Quantität sowie die zeitliche Dynamik individueller Stoffwechselprozesse, wie z.B. Perfusionsrate, Rezeptorverfügbarkeit oder auch Energiestoffwechsel, zu bestimmen. Des Weiteren ermöglichen diese Techniken die Validierung neuer molekularer Therapien, das individuelle Therapiemonitoring und patientenindividuelle Dosisoptimierung sowie in der Forschung die Aufklärung molekularer Pathophysiologien und die Validierung neuer Arzneimittel [1].

PET und SPECT unterscheiden sich in den verwendeten Radionukliden und Detektorsystemen. Die PET-Diagnostik beruht darauf, dass sich protonenreiche Kerne durch Umwandlung eines Protons in ein Neutron stabilisieren. Dabei emittiert dieser Kern ein Positron ( $\beta^+$ ) und auf Grund des Spinerhalts, ein Elektron-Neutrino ( $\nu_e$ ). Dies wird mit der folgenden Gleichung verdeutlicht:





Formel 1: Gleichung des  $\beta^+$ -Zerfalls. X: Symbol des chemischen Elementes des Ausgangsnuklids, Y: Symbol des Zerfallsprodukts,  $\beta^+$ : Positron,  $\nu_e$ : Elektron-Neutrino, A: Massenzahl, Z: Ordnungszahl, N: Neutronenzahl E: Zerfallsenergie

Die für jedes Nuklid charakteristische Energie verteilt sich auf das Elektron-Neutrino ( $\nu_e$ ) und das Positron ( $\beta^+$ ). Durch Wechselwirkung mit der umgebenen Materie verliert das Positron an kinetischer Energie, bis es schließlich mit einem Elektron aus der Umgebung direkt annihiliert bzw. intermediär ein kurzlebiges Positronium bildet, das sofort weiter annihiliert. Diese Annihilation erfolgt zu zwei in  $180^\circ$  Winkel ausgesandten  $\gamma$ -Quanten von je 511 keV. Diese  $\gamma$ -Quanten werden durch ringförmig angeordnete Detektoren in Koinzidenz gemessen. Häufig in der PET eingesetzte Detektormaterialien bestehen aus Bismuth-Germaniumoxid (BGO), Thallium-dotiertes Natriumiodid, Cerium-dotiertes Lutetium-Oxyorthosilikat oder Gadolinium-Orthosilikat [2–4].

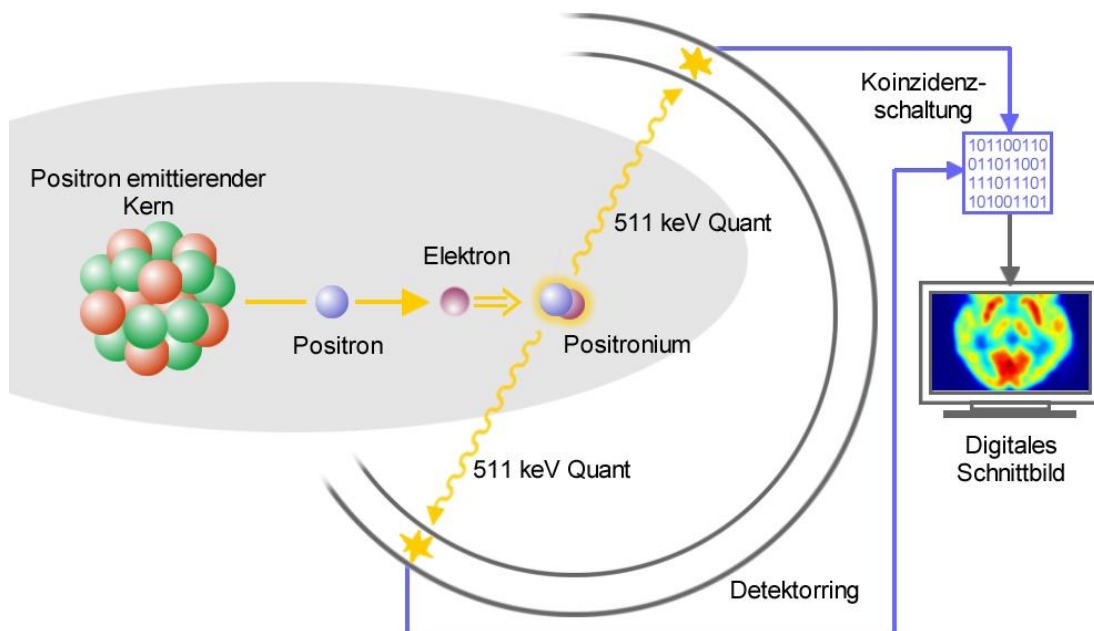


Abbildung 1: Detektion der PET-Nuklide [4]

Die PET bietet gegenüber dem SPECT-Verfahren den Vorteil einer höheren räumlichen und zeitlichen Auflösung (in humanen Scannern 4-5 mm gegenüber 8 mm) und ist sensitiver. Eine PET-Untersuchung ermöglicht neben der Bestimmung der qualitativen Radioaktivitätsverteilung auch eine absolute Quantifizierung [5]. Durch neuartige Hybridsysteme ist eine Korrelation der physiologischen Vorgänge mit der Anatomie möglich. So stehen PET/CT und PET/MRT-Systeme zur Verfügung, die eine routinemäßige Anwendung mit hoher Sensitivität garantieren [6].

### 1.1.2 Nuklide in der PET

Für den Einsatz eines Nuklids sind mehrere Faktoren wichtig: zum einen begrenzt die bereits im vorherigen Abschnitt erwähnte Positronenenergie die theoretisch mögliche Bildauflösung. Wichtiger als die Positronenenergie sind jedoch für die Anwendung die Faktoren Halbwertszeit und Verfügbarkeit der Nuklide.

Die Halbwertszeit eines Nuklids muss lange genug sein, um das Nuklid in die gewünschte chemische Form überführen zu können und das synthetisierte Radiopharmakon aufzureinigen zu können. Für die Anwendung im Patienten müssen bei der Halbwertszeit zusätzlich zwei entgegenlaufende Aspekte berücksichtigt werden. So muss die Halbwertszeit lang genug sein, um den gewollten physiologischen Prozess (beispielsweise  $^{18}\text{F}$ -FDG für den Glukosestoffwechsel) abzubilden, sollte aber möglichst kurz sein, um die Strahlenbelastung für den Patienten so gering wie möglich zu halten. Nuklide mit sehr kurzer Halbwertszeit wie  $^{15}\text{O}$  eignen sich daher nur zu Perfusionsuntersuchungen ( $^{15}\text{O}$ -H<sub>2</sub>O zur Perfusion und  $^{15}\text{O}$ -O<sub>2</sub> für Darstellung der Sauerstoffversorgung).

Tabelle 1: Häufige Nuklide in der PET und ihre Nuklideigenschaften [7],[8]

Radionuklid	$T_{1/2}$	$E_{\beta^+, \text{max}}$	max. Reichweite (in H <sub>2</sub> O)
$^{82}\text{Rb}$	1,3 min	3,148 MeV	15,61 mm
$^{15}\text{O}$	2,0 min	1,738 MeV	8,22 mm
$^{13}\text{N}$	10,0 min	1,197 MeV	5,35 mm
$^{11}\text{C}$	20,4 min	0,959 MeV	4,98 mm
$^{68}\text{Ga}$	67,7 min	1,898 MeV	9,08 mm
$^{18}\text{F}$	109,8 min	0,633 MeV	2,39 mm

Die meisten PET-Nuklide werden am Zyklotron hergestellt. In einem solchen Teilchenbeschleuniger, welcher 1929 erstmals von Ernest Lawrence beschrieben wurde, werden geladene Teilchen wie Protonen oder Deuteronen in einem starken Magnetfeld beschleunigt und auf ein Target fokussiert. Dort lösen sie die gewünschte Kernreaktion aus. Die Halbwertszeit

dieser Nuklide (z.B.  $^{11}\text{C}$ ,  $^{13}\text{N}$ ,  $^{15}\text{O}$ ) ist meist gering (vgl. Tabelle 1), weshalb ein solches Zyklotron in unmittelbarer Nähe zum Patienten vorhanden sein muss (in House-Produktion). Ausnahmen bilden einerseits  $^{18}\text{F}$  und sogenannte generatorproduzierte Radionuklide. Mit seiner Halbwertszeit von 109,7 min bietet das per Zyklotron hergestellte  $^{18}\text{F}$  die Möglichkeit eines Transportes über kürzere Distanzen. Dieses Satellitensystem ermöglicht Krankenhäusern und Forschungszentrum die Verwendung von  $^{18}\text{F}$  ohne eigenes Zyklotron. Eine Übersicht über die Herstellung gängiger PET Nuklide zeigt Tabelle 2.

Tabelle 2: Produktion der häufigsten PET-Nuklide [9]

Radionuklid	Produktion	Energiebereich [MeV]	Kernreaktion	Target-Füllung
$^{11}\text{C}$	Zyklotron	13 → 3	$^{14}\text{N}(p,\alpha)^{11}\text{C}$	$^{14}\text{N}_2(\text{O}_2)$
$^{13}\text{N}$	Zyklotron	16 → 7	$^{16}\text{O}(p,\alpha)^{13}\text{N}$	$\text{H}^{16}\text{O}$
$^{15}\text{O}$	Zyklotron	8 → 0	$^{14}\text{N}(d,n)^{15}\text{O}$	$^{14}\text{N}_2(\text{O}_2)$
$^{18}\text{F}$	Zyklotron	16 → 3	$^{18}\text{O}(p,n)^{18}\text{F}$	$\text{H}^{18}\text{O}$
$^{18}\text{F}$	Zyklotron	14 → 0	$^{20}\text{Ne}(d,\alpha)^{18}\text{F}$	$\text{Ne}(\text{F}_2)$
$^{68}\text{Ga}$	Generator	---	$^{68}\text{Ge} / ^{68}\text{Ga}$	----
$^{82}\text{Rb}$	Generator	---	$^{82}\text{Sr} / ^{82}\text{Rb}$	---

### 1.1.3 Radionuklid-Generatorsysteme

Radionuklid-Generatorsysteme ermöglichen die Radiopharmaka-Synthese und klinische Anwendung mit einem PET-Nuklid unabhängig von einem kostenintensiven Zyklotron. Möglich ist der Einsatz eines Radionuklid-Generatorsystems bei einigen seltenen Nuklidkonstellationen, bei denen das Mutternuklid eine längere Halbwertszeit besitzt als das Tochternuklid. Dadurch kann das zuvor hergestellte Mutternuklid das Tochternuklid generieren, welches dann in hoher Nuklidreinheit abgetrennt werden kann. Meist kann das Tochternuklid sogar trägerfrei (no carrier added, n.c.a.) gewonnen werden, was insbesondere für die Erfüllung des zuvor erwähnten Tracerkonzept von de Hevesy von Bedeutung ist. Eine Übersicht über bekannte Radionuklid-Generatorsysteme gibt Tabelle 3. Das bekannteste Generatorsystem ist das 1957 entwickelte

$^{99}\text{Mo}/^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Generatorsystem, welches routinemäßigen Einsatz in der Nuklearmedizin gefunden hat. Dafür gibt es einige Gründe:

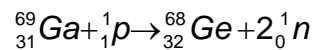
- $^{99\text{m}}\text{Tc}$  besitzt hervorragende Nuklideigenschaften wie eine Halbwertszeit von 6 Stunden. Diese Zeitspanne ermöglicht die Radiosynthese von unterschiedlichen  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Radiopharmaka.
- Es wurden bereits eine Reihe von  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Radiopharmaka entwickelt, welche per „Kit“-Anwendung verfügbar sind. Dies ermöglicht ein sehr einfaches, routinemäßiges Handling.
- $^{99\text{m}}\text{Tc}$  wandelt sich zu 90 % durch Emission einer monochromatischen Gammastrahlung von 140 keV in  $^{99}\text{Tc}$  um. Diese Energie eignet sich optimal zur Detektion mittels der in der SPECT eingesetzten Thallium dotierten NaI-Detektoren. Nur 10 % der Umwandlungen  $^{99\text{m}}\text{Tc} \rightarrow ^{99}\text{Tc}$  finden mittels Internal Conversion (IC) statt.
- $^{99}\text{Mo}/^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Generatoren sind mittlerweile GMP-qualifiziert zu erwerben. Die Halbwertszeit des  $^{99}\text{Mo}$ -Mutternuklids von 66 h ermöglicht zudem eine Anwendung des Generators über etwa eine Woche [10].

Tabelle 3: Übersicht über ausgewählte Radionuklid-Generatorsysteme und ihre Eigenschaften [11]

Radionuklid-Generatorsystem	Mutternuklid $T_{1/2}$	Tochternuklid $T_{1/2}$	$\beta^+$ <sub>branch</sub> [%]	$E_{\beta^+}$ [MeV]	Anwendung
$^{44}\text{Ti}/^{44}\text{Sc}$	47,3 a	3,93 h	94,0	0,597	Markierung
$^{52}\text{Fe}/^{52\text{m}}\text{Mn}$	8,28 h	21,1 min	97,0	1,13	Perfusion
$^{62}\text{Zn}/^{62}\text{Cu}$	9,26 h	9,74 min	97,0	1,28	Markierung Perfusion
$^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$	271 d	68 min	89,0	0,74	Markierung Perfusion
$^{72}\text{Se}/^{72}\text{As}$	8,4 d	1,1 d	88,0	1,02	Markierung
$^{82}\text{Sr}/^{82}\text{Rb}$	25,6 d	1,27 min	95,0	1,41	Perfusion
$^{110}\text{Sn}/^{110\text{m}}\text{In}$	4,11 h	85 min	62,0	0,62	Markierung
$^{118}\text{Te}/^{118}\text{Sb}$	6,0 d	3,6 min	74,0	0,882	Perfusion
$^{122}\text{Xe}/^{122}\text{I}$	20,1 h	3,62 min	77,0	1,09	(Markierung)

Ein anderes Radionuklid-Generatorsystem ist  $^{82}\text{Sr}/^{82}\text{Rb}$ . Durch die Halbwertszeit des Mutternuklids ist ein solcher Generator etwa 4-5 Wochen verwendbar. Die geringe Halbwertszeit des Tochternuklids erlaubt keine aufwändige Synthese, weshalb das  $^{82}\text{Rb}$  als Rubidiumchlorid mittels „Pushbutton“-Infusionen verabreicht wird in der nuklearmedizinischen Diagnostik als Blutflustracer dient [12–14].

Ein weiteres Generatorsystem ist das  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ -Generatorsystem, welches seit über 50 Jahren bekannt ist und zunehmend Anwendung in der nuklearmedizinischen Diagnostik findet [15].  $^{68}\text{Ge}$  zerfällt innerhalb von 67,71 Minuten über einen  $\beta^+$ -Zerfall (89 %) mit einer maximalen  $\beta^+$ -Energie von 1,9 MeV. Hergestellt wird der Radionuklid-Generator durch Beschuss von Galliumoxid oder -Nickel-Legierungen mit 20 MeV Protonen.



*Formel 2: (p,2n)-Reaktion zur Darstellung des Mutternuklids  $^{69}\text{Ge}$*

Durch die lange Halbwertszeit des  $^{69}\text{Ge}$  (270,8 d) beträgt die Ausbeute dieser Reaktion trotz hohem Wirkungsquerschnitts lediglich  $0,74 \text{ MBq } \mu\text{A}^{-1}\text{h}^{-1}$ . Andere Herstellungsmethoden, wie protoneninduzierte Spallationsreaktionen an Rb, Br, As oder Beschuss von natürlichem Zink mit Heliumatomen liefern noch geringere Ausbeuten [11], [16]. Von Vorteil bei dieser langen Halbwertszeit ist dagegen, dass der Generator über lange Zeiträume (ungefähr ein Jahr) verwendet werden kann. Der  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ -Generator bildet ein säkulares Gleichgewicht. Das  $^{68}\text{Ge}$  wandelt sich durch EC in  $^{68}\text{Ga}$  um, welches anschließend per  $\beta^+$ -Zerfall in das stabile  $^{68}\text{Zn}$  umgewandelt wird.



*Formel 3: Zerfallskette des  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ -Generatorsystems*

Das aufgereinigte  $^{68}\text{Ge}$  wird auf ein inertes Trägermaterial aufgebracht. Kommerziell vertrieben werden vor allem Generatoren mit  $\text{TiO}_2$ - oder  $\text{SnO}_2$ -Träger. Diese Generatoren werden mit 5-10 ml einer niedermolaren HCl-Lösung (0,1 M bzw. 1 M) eluiert. Daraus ergeben sich für die Radiopharmakaproduktion folgende Probleme [16]:

- Das Auswaschen von Titan(IV) von der Trägersäule.
- Der Durchbruch von  $^{68}\text{Ge}$ (IV).
- Verunreinigungen der Markierungslösung mit Eisen(III) aus der HCl-Lösung.

- Bei längerer Nichtbenutzung des Generators werden große Mengen an nichtradioaktivem Zink produziert.
- Großes Markierungsvolumina und sehr saures Generatoreluat.

Neben den seit Jahren verbesserten Generatorsystemen fordert die European Pharmacopoeia daher die Aufreinigung des  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ -Generator-Eluats. Weit verbreitet ist hierbei die Aufreinigung mit einem Kationenaustauscherharz. Auf diesem wird die  $^{68}\text{Ga}$ -Aktivität fixiert und nach einem Waschschrift ohne Verluste in einer wässrigen oder organischen Lösung aufgereinigt gewonnen [16–18]. Diese einfachen Schritte zur Produktion des Generatoreluats  $^{68}\text{Ga}$  sind wenigen Minuten abgeschlossen und lassen sich auch per Modul ausführen. Dies macht eine „Kit“-Radiopharmakon-Synthese analog zu den  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Radiopharmakon-„Kits“ denkbar.

### 1.1.4 Chelatorchemie des Galliums

Die Elektronenkonfiguration  $[\text{Ar}]3\text{d}^{10}4\text{s}^24\text{p}^1$  sowie der amphotere Charakter des Galliums sind dafür verantwortlich, dass sich bei pH-Werten zwischen 3-7 unlösliches  $\text{Ga}(\text{OH})_3$  bildet, sowie bei weiterer Erhöhung des pHs ( $>7$ ) das unlösliche Gallat ( $\text{Ga}(\text{OH})_4^-$ ). Um Hydrolyse und Gallatbildung zu vermeiden, werden bei der Markierung oftmals stabilisierende Liganden wie Citrat oder Acetat eingesetzt.

Im Gegensatz zu  $^{18}\text{F}$ ,  $^{11}\text{C}$ ,  $^{13}\text{N}$  und  $^{15}\text{O}$  existieren beim Gallium nur wenige stabile kovalente Verbindungen. Aufgrund seiner hohen Ladungsdichte bei kleinem Ionenradius (0,62 Å) gehört das Gallium zu den harten Lewis-Säuren und bildet stabile Komplexe mit harten Lewis-Basen wie Stickstoff und Sauerstoff aus. Allerdings sind auch Bindungen mit schwefelhaltigen Gruppen stabil. Dabei bevorzugt Gallium eine 6-fache Koordination in einem leicht verzerrten Oktaeder. Für radiopharmazeutische Anwendungen ist es wichtig, dass die gebildeten Komplexe thermodynamisch stabil und kinetisch inert sind. *In vivo* konkurriert beispielsweise das Glykoprotein Transferrin mit seinen zwei Eisen-Bindungsstellen um die Bindung mit Gallium und es kann so zu einem ungewollten Liganden Austausch kommen [19]. Grundsätzlich wird zwischen azyklischen und zyklischen Chelatoren unterschieden. Häufigste Anwendung finden die in Abbildung 2 gezeigten Makrozyklen DOTA (1) (12-gliedriger Ring basierend auf Cyclen (1,4,7,10-Tetraazacyclododecane)) und NOTA (2) (9-gliedriger basierend auf TACN (1,4,7-Triazacyclononane)).

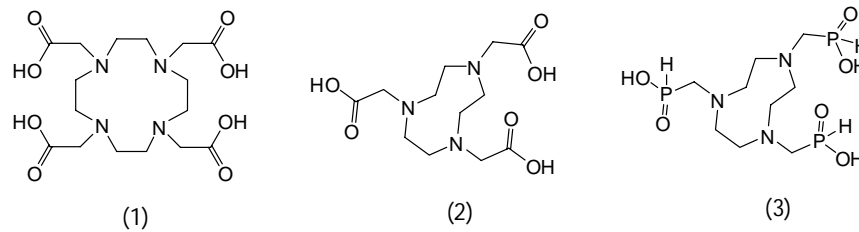


Abbildung 2: Strukturformeln von DOTA (1), NOTA (2) und TRAP (3)

Neuere makromolekulare Chelatoren für Gallium wie TRAP (3) oder NOPO zeichnen sich durch ihre Selektivität für Gallium gegenüber anderen Metallen wie beispielsweise Eisen aus, wodurch eine effektivere Markierung unter mildereren Bedingungen ermöglicht wird [20], [21].

Durch Anbindung eines Biomoleküls an einen Chelator erreicht man, dass dieser zwei Funktionen ausübt: die Komplexbildung mit dem Radiometall sowie die Verknüpfung mit einem Targeting Molekül. Um einen solchen bifunktionellen Chelator (Abbildung 3) herzustellen verfügt der Chelator meist über eine funktionelle Gruppe wie aromatische Isothiocyanide, Carbonsäuren oder Bromide, die in der Lage sind mit nukleophilen Gruppen zu reagieren. Targeting Molekül und Chelator werden meistens mittels eines Linkers verknüpft, welcher einen räumlichen Abstand schafft.

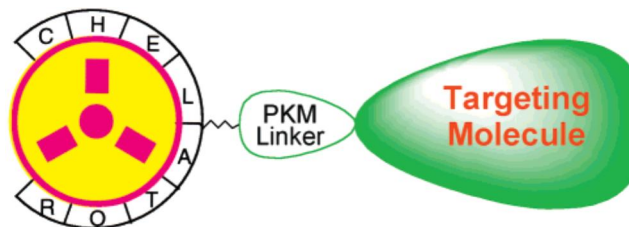


Abbildung 3: Aufbau eines bifunktionellen Chelators mit einem Targeting Molekül [22]

## 1.2 Das Herz und die koronare Herzkrankheit (KHK)

### 1.2.1 Anatomie des Herzens

Das Herz (lat. Cor, griech. Kardia, Abbildung 4) ist beim Menschen ein faustgroßes etwa 300-350 g schweres Hohlorgan, welches sich innerhalb des Herzbeutels (Perikard), angrenzend an die Lunge und verwachsen mit dem Zwerchfell, etwa zwischen dem zweiten und fünften Rippenbogen (*Mediastinum*) befindet. Die Aufgabe des Herzens ist es, durch regelmäßige Pumpvorgänge die Zirkulation des Blutes durch den Körper und die Lunge, und damit die Versorgung auch entfernt liegender Organe mit Nährstoffen und Sauerstoff, zu ermöglichen. Dabei verläuft der Blutfluss ventilgesteuert, d.h. ein Zurückfließen des Blutes ist nicht möglich. Das gesamte System aus Herz und Gefäßen wird als kardiovaskuläres System bezeichnet. Das Herz ist in 4 Herzhöhlen aufgeteilt: linker und rechter Vorhof sowie linke und rechte Kammer. Durch die oberen Hohlvenen (superior und inferior vena cavae) gelangt sauerstoffarmes Blut in den rechten Vorhof und wird anschließend über die Lungenarterie zur Lunge geleitet. In den Alveolen der Lungenbläschen findet dann der Austausch von CO<sub>2</sub> gegen Sauerstoff statt. Das mit Sauerstoff gesättigte Blut gelangt über die Lungenvene weiter in den linken Vorhof und durch die dortige Mitralklappe in die linke Kammer. Die linke Ventrikelpumpe pumpt das Blut in die Aorta, von wo es in den Körper verteilt wird. Die Pumpvorgänge werden in zwei Phasen aufgeteilt:

- die Diastole, in der eine Erweiterung/Ausdehnung des Herzens stattfindet und
- die Systole, in der sich das Herz zusammenzieht und in Folge dessen das Blut in die Aorta und der Lungenarterie gepumpt wird.

Die linke und rechte Koronararterie sind die ersten abzweigenden Gefäße der Aorta. Sie versorgen das Herz mit etwa 5% (200-300 ml/min) des Blutes. Unter Belastung vergrößert sich das Blutvolumen auf 1-1,5 l/min. Unter Ruhebedingungen nutzt das Herz in erster Linie Fettsäuren zur Energiegewinnung. Unter Belastung wird jedoch auch ein erheblicher Teil der Energie aus der Glykolyse gewonnen.



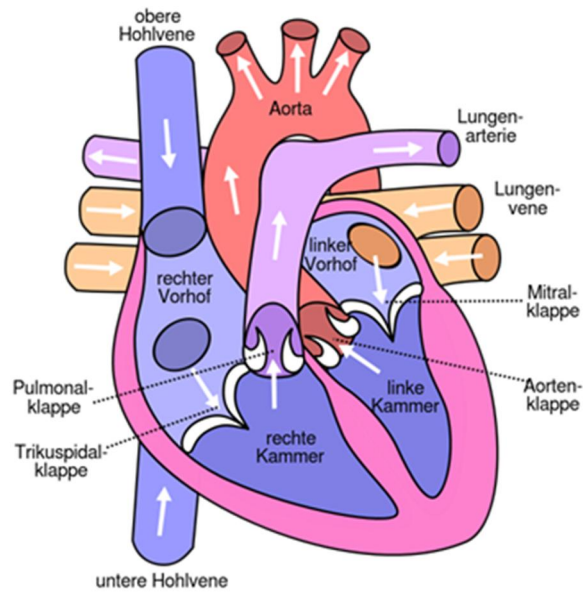


Abbildung 4: Anatomie des Herzens [23]

In Folge des hohen Energiebedarfs der Herzzellen bestehen sie zu etwa 36 Volumen% aus Mitochondrien [24]. Mitochondrien sind die „Energiekraftwerke“ der Zellen. Man findet sie in sehr hoher Zahl in sehr energiebedürftigen Zellen wie Muskelzellen, wie dem Herzen, aber auch in Nerven-, Sinnes- und Eizellen.

### 1.2.2 Epidemiologie der koronaren Herzkrankheit

Eine Überalterung der Gesellschaft sowie die Lebensgewohnheiten in den ersten und zweiten Weltländern führen dazu, dass zunehmend mehr Menschen an kardiovaskulären Erkrankungen leiden und sterben. Weltweit werden die meisten Todesfälle (12,8 %, 7,25 Mio. im Jahr 2005) auf kardiovaskuläre Erkrankungen zurückgeführt. Die chronisch-ischämische Herzkrankheit sowie der akute Myokardinfarkt führen die Todesursachenstatistik in Deutschland an [25], [26]. Zudem wird für das Jahr 2050 prognostiziert, dass der Anteil der über 50-jährigen den Anteil der unter 16-jährigen übersteigen wird (Abbildung 5).

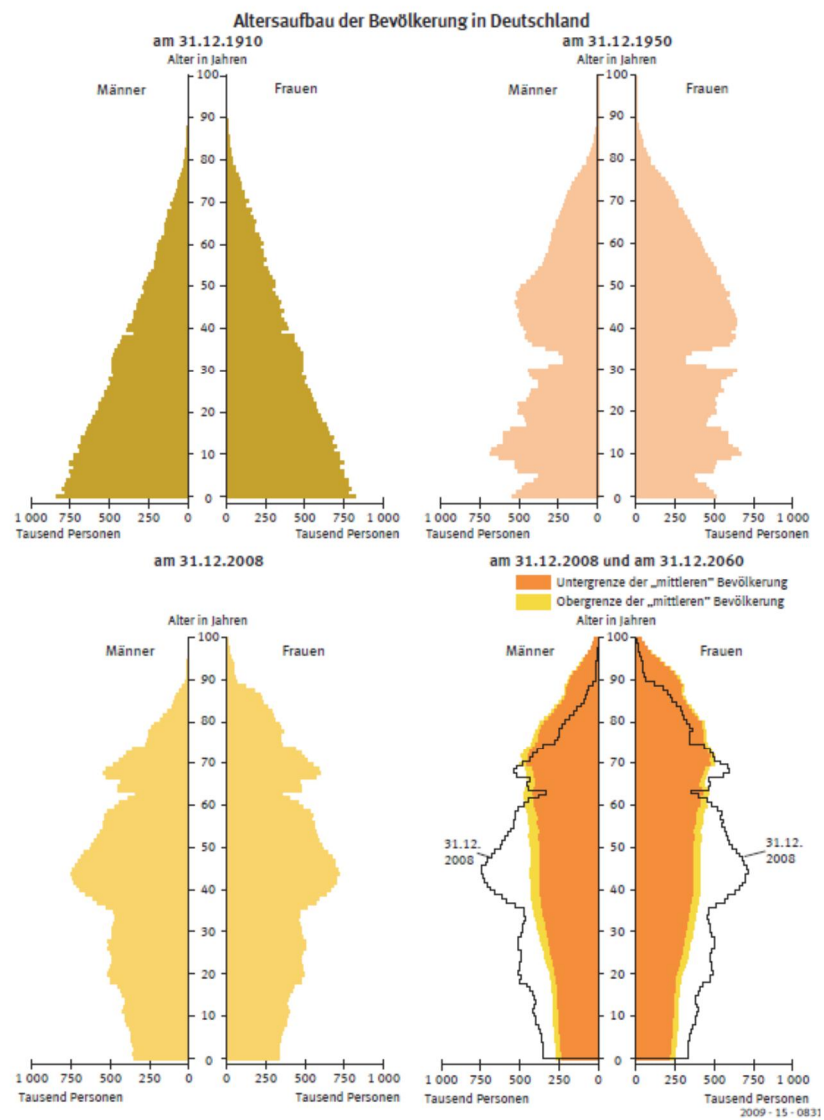


Abbildung 5: Alterspyramiden Deutschlands für die Jahre 1910, 1950, 2008 und 2060 [27]

Dieses große Patientenkollektiv zeigt die Notwendigkeit einer möglichst kostengünstigen und dennoch leistungsstarken Herzdiagnostik und im Verlauf der Behandlung eines Therapiemonitorings zur Optimierung der Versorgung.

Bei der KHK sammeln sich über Jahre arteriosklerotische Ablagerungen in den Herzkranzgefäßen an (Abbildung 6), wodurch diese zunehmend versteifen. Ansammlungen von Cholesterin, inflammatorische Prozesse und Plaquebildung verengen dabei die Arterien und vermindern somit die Durchblutung und die Versorgung des dahinterliegenden Herzmuskelgewebes [28].



*Abbildung 6: Autopsiepräparat der Aorta. Das Bild zeigt eine der Länge nach geöffnete Aorta, welche im Inneren morphologischen Veränderungen durch arteriosklerotische Ablagerungen zeigt [29]*

Risikofaktoren sind u.a. Rauchen, arterielle Hypertonie, Bewegungsmangel, Diabetes mellitus, genetische Disposition und Hypercholesterinämie. Obwohl sich klinisch über Jahre nicht zwingend Symptome manifestieren, resultiert aus der Unterversorgung u.a. ein Sauerstoffmangel (Ischämie) im Herzgewebe. Man unterscheidet dabei:

- Einen kompletten Verschluss einer Koronararterie (oder eines Astes), wodurch eine ausgeprägte Unterversorgung des Gewebes mit Sauerstoff und Nährstoffen resultiert, was zum myokardialen Zelltod führt (akute Ischämie). Das abgestorbene Gewebe nennt man nekrotisch, es ist nicht mehr (kaum noch) durchblutet.
- Sogenanntes hibernating (winterschlafendes) Gewebe findet man bei Herzen mit chronischer Ischämie, deren Zellen vital sind. Die vitalen Zellen arbeiten dabei auf „Sparflamme“ und kompensieren so das verminderte Angebot. Ihre Funktion ist eingeschränkt.

### 1.3 Bildgebende Verfahren in der Kardiologie

Bildgebende Verfahren spielen eine herausragende Rolle bei der Diagnostik und Therapieüberwachung der Koronaren Herzkrankheit im klinischen Alltag. Dabei wird meist auf die „klassischen“ Bildgebungsverfahren wie Echokardiographie zurückgegriffen. Die Koronarangiographie ist ein interventionelles (minimal-invasiv, diagnostisch aber mit therapeutischer Komponente) Verfahren, durch das detaillierte Informationen über den morphologischen Zustand und die Perfusionsmöglichkeiten der Herzkranzgefäße erlangt werden. Zusätzlich ist es hierbei möglich, dass durch den Zugang über den Leistenbereich hinein ins Herz direkt ein therapeutischer Eingriff (Stent, Ballondilatation o.ä.) erfolgen kann. Allerdings haben diese Methoden den entscheidenden Nachteil, dass eine Vitalitätsbeurteilung der Herzzellen auf diesem Weg nicht möglich ist. Besonders um die Durchblutung, den Stoffwechsel und die Vitalität (nekrotisches, ischämisches und winterschlafendes Gewebe) des Herzens abschätzen zu können, bedient man sich dem Einsatz der SPECT und PET-Technik. Sie sollen dabei helfen, den Einsatz von kardiologischen Pharmaka zu optimieren, den Therapieplan zu erstellen und zu optimieren sowie den Erfolg der Therapie zu kontrollieren.

Tabelle 4: Überblick über häufig verwendete Herztracer in der Nuklearmedizin

Radiopharmakon	Energie/Methode	T <sub>1/2</sub>	Aufnahmemechanismus in die Herzzellen	FDA
<sup>201</sup> Tl-Thalliumchlorid	79 keV (SPECT)	73 h	K <sup>+</sup> -Analogon	ja
<sup>99m</sup> Tc-Sestamibi	140 keV (SPECT)	6 h	Passive Diffusion, Retention durch Ladung (Mitochondrien)	ja
<sup>99m</sup> Tc-Tetrofosmin	140 keV (SPECT)	6 h	Passive Diffusion, Retention durch Ladung (Mitochondrien)	ja
<sup>82</sup> Rb-Rubidiumchlorid	511 keV (PET)	75 s	K <sup>+</sup> -Analogon	ja
<sup>13</sup> N-Ammoniak	511 keV (PET)	10 min	Diffusion, metabolisches Trapping	ja
<sup>15</sup> O-Wasser	511 keV (PET)	2 min	Freie Diffusion	nein
<sup>18</sup> F-2-Fluor-2-deoxy-D-glucose	511 keV (PET)	110 min	Glukosemetabolismus → Vitalität	ja

Tabelle 4 gibt einen Überblick über häufig eingesetzte Radiopharmaka in der Nuklearmedizin [30], [31]. Aus dieser Tabelle ist ersichtlich, dass der weitaus größte Anteil der eingesetzten SPECT- und PET-Tracer sogenannte Perfusionstracer sind, die eine Quantifizierung des myokardialen Blutflusses ermöglichen.

### 1.3.1 Perfusionstracer

Die Bildgebung mittels Perfusionstracern basiert darauf, dass das an koronarer Herzkrankheit erkrankte Herz unter Stressbedingungen regionale Unterschiede im arteriellen Blutfluss der Koronararterien aufweist [32]. Dabei soll der ideale Perfusionstracer u.a.

- 1.) einen hohen First-Pass-Uptake oder Extraktion besitzen,
- 2.) einen proportionalen Zusammenhang zwischen Perfusion und Aufnahme ins Herzen und
- 3.) wenig Rückdiffusion aus der Herzzelle zeigen.

Zusätzlich sollte er natürlich sicher in der Anwendung (nicht-toxisch in den eingesetzten Dosen) und leicht zu verabreichen sein sowie lediglich geringe Kosten produzieren[32]. Zusätzlich sollte die Bildgebung über eine hohe Sensitivität verfügen, eine hohe räumliche und zeitliche Auflösung haben sowie einen quantifizierbaren Zusammenhang zwischen der Signalintensität und der Konzentration des Perfusionstracers ermöglichen [32].

Zu den Perfusionstracern zählen vor allem kurzlebige PET-Tracer wie  $^{13}\text{N}$ -Ammoniak,  $^{82}\text{Rb}$ -Chlorid und  $^{15}\text{O}$ -Wasser. Da diese jedoch (mit Ausnahme des  $^{82}\text{Rb}^+$ ) ein Zyklotron zur Herstellung benötigen, finden sie immer weniger Anwendung in der klinischen Routinediagnostik. Weitaus verbreiteter ist der Einsatz der zwei SPECT-Nuklide  $^{201}\text{Tl}$  und  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ .

### <sup>201</sup>Tl-Thalliumchlorid

<sup>201</sup>Tl wird an einem Zyklotron produziert, hat aber auf Grund seiner langen Halbwertszeit von 73 Stunden den Vorteil, dass auch lange Transportwege möglich sind. <sup>201</sup>Tl-Thalliumchlorid wird no-carrier-added (NCA) in isotonischer Kochsalzlösung mit 0,9 % Benzylalkohol-Lösung als zugelassenes Radiopharmakon kommerziell vertrieben und kann etwa 5-6 Tage gelagert werden.

<sup>201</sup>Tl wirkt *in vivo* als K<sup>+</sup>-Analogon. Obwohl sich das Thallium in der Gruppe IIIA wiederfindet, bildet es dennoch monovalente Tl<sup>+</sup>-Ionen mit einem dem K<sup>+</sup> ähnlichen Ionenradius. Es gelangt so simultan zum K<sup>+</sup> mit der Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase durch die Zellmembran der Herzmuskelzellen (Kardiomyozyten). Die Ausscheidung findet hauptsächlich renal statt [33].

Zur Unterscheidung zwischen ischämischer Gewebeareale und Infarktgewebe werden Ruhe- und Stressaufnahmen gemacht (Abbildung 7): Begonnen wird meist mit einem Stresstest, bei welchem sich der Patient konditionell verausgaben muss (Laufband oder Fahrrad) oder der Stress medikamentös herbeigeführt wird (Dipyridamol, Adenosin o.a.). Auf dem Höhepunkt der Stresleistung werden etwa 100 MBq <sup>201</sup>Tl-Thalliumchlorid injiziert und nach einer kurzen Pause (ca. 5 min) die SPECT-Stressbilder aufgenommen. Nach erneuten 4 Stunden folgen dann Ruheaufnahmen, welche die Redistribution der Aktivität im Herzen visualisieren. Dabei zeigt sich, dass alle vitalen Zellen Tl aufnehmen, Narbengewebe jedoch nicht (Vitalitätsmessung). Da die Tl-Aufnahme Blutfluss-abhängig ist ergibt sich jedoch, dass minderversorgtes Gewebe zu Beginn weniger Tl aufnehmen kann als gut durchblutetes Gewebe (Durchblutungsmessung). Man misst somit einen vermindere Anreicherung. In spätere Aufnahmen (Redistributionsmessung) sieht man, dass schlecht durchblutetes, aber vitales Gewebe, das weniger <sup>201</sup>Tl relativ zum Blut aufgenommen hatte, weiterhin <sup>201</sup>Tl aufnimmt [34], [35]. Daraus ergibt sich, dass

- ein Defekt sowohl in Stress- und Ruhebildern bei infarktgeschädigtem Gewebe aufgezeigt wird. Dieses Gewebe ist nicht revaskularisierbar.
- ein Defekt im Stressbild, der in den Ruheaufnahmen verschwindet - ischämisches, vitales Gewebe zeigt, welches revaskularisierbar ist, d.h. Bypass oder Angioplastie sind erfolgsversprechend.

Es gibt eine Reihe von abweichenden Protokollen für die <sup>201</sup>Tl-Thalliumchlorid-SPECT-Diagnostik. Nachteilig für die Herzvitalitäts-Diagnostik mittels <sup>201</sup>Tl-Thalliumchlorid sind die schlechten Nuklideigenschaften des <sup>201</sup>Tl für die SPECT. <sup>201</sup>Tl emittiert 69-80 keV Photonen, welche eine hohe Streuung aufweisen. Des Weiteren ist zwar die lange Halbwertszeit für Transporte über lange Strecken von Vorteil jedoch ist diese sehr nachteilig für die Strahlenbelastung des Patienten.

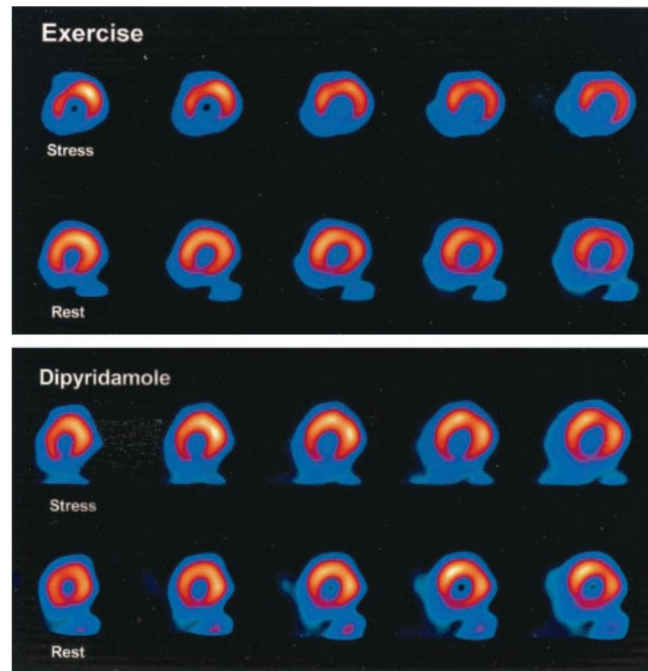


Abbildung 7:  $^{201}\text{Tl}$ -SPECT Aufnahmen eines Patienten mit verminderter  $^{201}\text{Tl}$ -Aufnahme während Anstrengung und reversibler  $^{201}\text{Tl}$  Aufnahme Ruhe [36]

#### $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Sestamibi (Cardiolite) und $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Tetrofosmin (Myoview)

Auf Grund der guten Verfügbarkeit des  $^{99}\text{Mo}/^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Radionuklidgeneratorsystem und der benutzerfreundlichen „Kit“-Anwendung finden die beiden lipophilen, monokationischen  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Komplexe  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Sestamibi und  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Tetrofosmin (beide Abbildung 8) sehr häufig Anwendung in der Myokardszintigraphie.

Im  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Sestamibi liegt das Tc im Oxidationszustand (+1) vor und wird durch 6 Methoxyisobutylisonitril-Gruppen (MIBI) stabilisiert. Beim  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Tetrofosmin liegt das Tc in der Oxidationsstufe (+5) vor und wird von zwei sich gegenüberliegenden Sauerstoffatomen sowie von vier Phosphoratomen der zweizähligen Diphosphinliganden komplexiert.

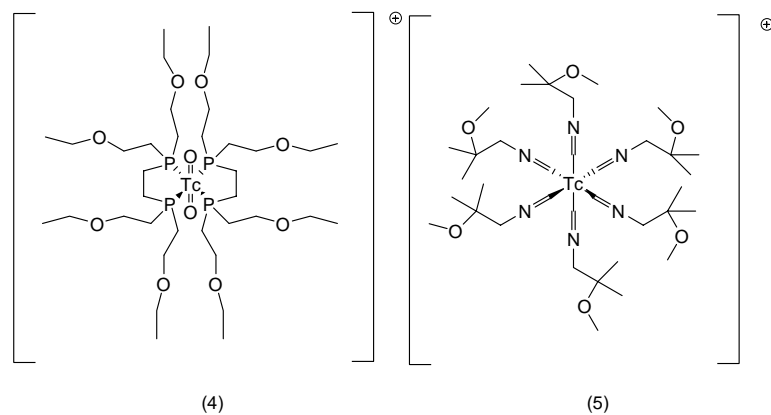


Abbildung 8: SPECT-Tracer  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Tetrofosmin (4) und  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Sestamibi (5)

Im Gegensatz zu dem aktiven Transport des Kalium-analogons  $^{201}\text{Tl}$ -Thalliumchlorid über die  $\text{Na}^+$ - $\text{K}^+$ -ATPase diffundieren  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Sestamibi und  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Tetrofosmin passiv über die Zellmembran und werden dort auf Grund ihrer positiven Ladung vom negativen Zellmembranpotential des Mitochondriums zurückgehalten [37],[38],[39],[40]. Beide Radiopharmaka werden bei Stress zu ungefähr 1,2 % aufgenommen und im Ruhezustand zu etwa 1 %. Dabei beträgt die Rate der First-Pass-Extraktion 64 % fürs  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Sestamibi und 54 % für  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Tetrofosmin[32]. Es konnte gezeigt werden, dass sich etwa 90 % der aufgenommenen Aktivität im Mitochondrium befinden [40]. Dies spricht auch für den sehr langsamen myokardialen Wash-Out von  $t_{1/2} = 7 \text{ h}$  und der fehlenden Metabolisierung *in vivo* [41].

Es gibt verschiedene Protokolle zur Diagnostik mit  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -sestamibi (Cardiolite) und  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -tetrofosmin (Myoview). Analog zu  $^{201}\text{Tl}$ -Thalliumchlorid werden auch hier Stress- und Ruheaufnahmen aufgezeichnet (siehe Abbildung 9), allerdings mit dem Unterschied, dass bei Sestamibi keine Redistribution stattfindet und daher eine Visualisierung des „winterschlafenden“ Gewebes schwieriger ist.

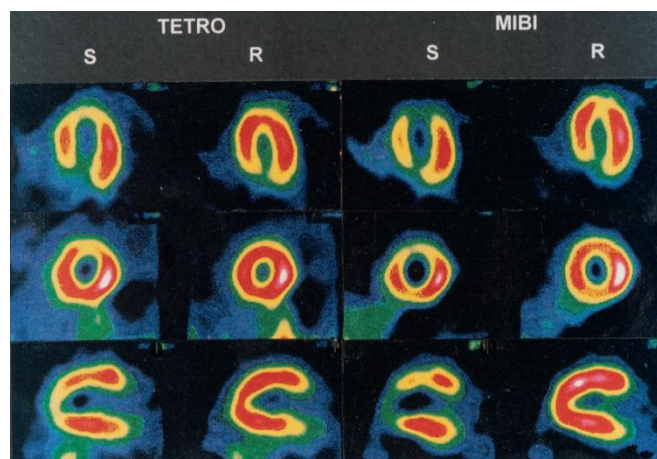


Abbildung 9: Vergleich der Abbildung von  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Tetrofosmin (links) und  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Sestamibi (rechts) unter Stress (Dipyridamol, S) und in Ruhe (R) [42]

Die nachfolgende Abbildung 10 zeigt, dass die hohe Aufnahme der  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Radiopharmaka die Aktivitätsbestimmung des Herzens erschweren kann [43].

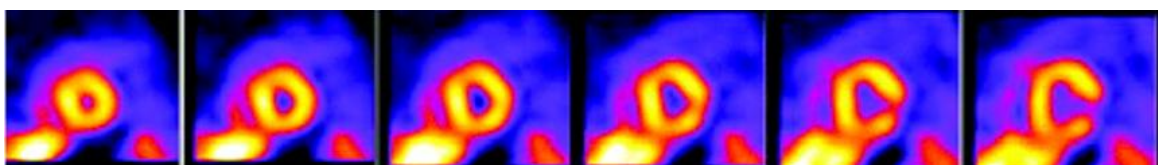


Abbildung 10: Short-Axis Aufnahmen (Schnitt senkrecht zur Herzlängsachse) eines 49-jährigen Mannes mit Herzwand-Defekten mit  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Tetrofosmin. Neben dem Herzen sieht man auch die deutliche Aufnahme in Leber/Verdauungstrakt [44]



$^{82}\text{Rb}$ -Rubidiumchlorid

$^{82}\text{Rb}$  ist ein PET-Nuklid mit einer Halbwertszeit von lediglich 75 s. Damit ist es hervorragend für repetitive Perfusionsmessungen geeignet. Gewonnen wird das  $^{82}\text{Rb}$  durch den  $^{82}\text{Sr}/^{82}\text{Rb}$ -Generator, welcher für diese spezielle Anwendung als Infusionssystem entwickelt wurde. Analog dem  $^{201}\text{Tl}$  wirkt  $^{82}\text{Rb}$  *in vivo* als ein  $\text{K}^+$ -Analogon. Es wird somit mittels der  $\text{Na}^+\text{-K}^+$ -ATPase in die Herzzellen aufgenommen [14]. Der Wash-out des  $^{82}\text{Rb}$  ist in nekrotischen Zellen schneller im Vergleich zu vitalen/gesunden Zellen (Vitalitätsmarker)[45], [46].

Für die Aufnahmen werden den Patienten 2,22 GBq  $^{82}\text{Rb}$  per Infusion im Ruhezustand und anschließend erneut 2,22 GBq im Stresszustand (mittels Dipyridamol, Adenosin oder andere) verabreicht/appliziert. Trotz der hohen Positronenenergie des  $^{82}\text{Rb}$  gelingen mit  $[^{13}\text{N}]\text{-NH}_3$  vergleichbare Aufnahmen (siehe Abbildung 11 und Abbildung 12) [47].

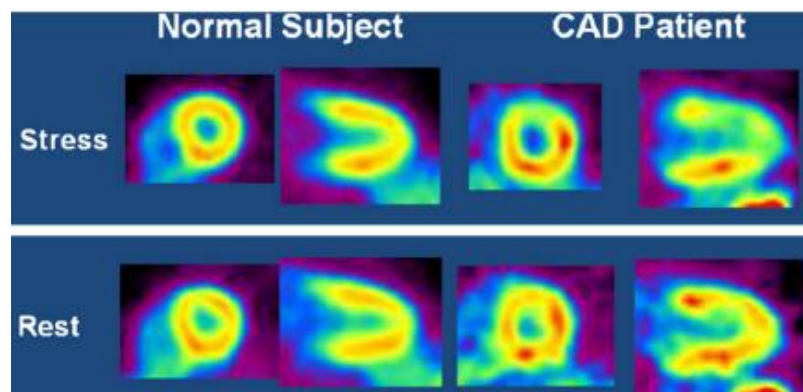


Abbildung 11:  $^{82}\text{Rb}$ -Rubidiumchlorid-PET-Aufnahmen von einem gesunden Menschen (links) und einem 47-jährigen Mann (rechts), der an koronarer Herzkrankheit leidet. Die Aufnahmen links zeigen eine normale Perfusion des Herzen sowohl im Stress als auch in der Ruhe. Die rechten Aufnahmen zeigen reversible Perfusionsdefekte im Vorderherzbereich (ischämisches Gewebe) [48]

 $^{13}\text{N}$ -Ammoniak

$^{13}\text{N}$  ist ein kurzlebiges PET-Nuklid ( $t_{1/2} = 10$  min), welches jedoch nicht den Vorteil einer Radionuklidgenerator-Verfügbarkeit besitzt. Für die Produktion von  $^{13}\text{N}$  ist die Nähe zu einem Zyklotron notwendig, was nur an wenigen Zentren möglich ist.  $^{13}\text{N}$ -Ammoniak liegt *in vivo* im Gleichgewicht zwischen seiner ungeladenen und geladenen Form ( $\text{NH}_3$  und  $\text{NH}_4^+$ ) vor und diffundiert als neutrales Ammoniak über die Zellmembran in die Zelle. Innerhalb der Zelle stellt sich das Gleichgewicht zwischen diesen zwei Formen wieder neu ein. Da jedoch geladenes  $\text{NH}_4^+$  in Form von Glutamin fixiert wird, wird  $^{13}\text{N}$  in dieser Form in der Zelle retiniert [14], [49], [50]. Ein Beispiel für eine Myokard-PET-Aufnahme mittels  $^{13}\text{N}$ -Ammoniak findet man in Abbildung 12.

### $^{15}\text{O}$ -Wasser

$^{15}\text{O}$ -Wasser ist in der Lage mittels freier Diffusion mit fast 100 %-igen Extraktionrate über die Zellmembran zu gelangen und ist metabolisch inert. Allerdings akkumuliert es nicht in den Zellen, sondern beginnt mit der Aufnahme in die Zelle auch mit dem Wash-Out, bis sich ein Gleichgewicht zwischen dem Extra- und Intrazellularraum eingestellt hat. Um den regionalen Herzfluss quantifizieren zu können muss zusätzlich auch das Blutvolumen des Herzens bestimmt werden.  $^{15}\text{O}$ -Wasser wurde bisher nicht von der FDA zugelassen [30], [51]. Ein Vergleich mit den beiden PET-Herztracern  $^{82}\text{Rb}$ -Rubidiumchlorid und  $^{13}\text{N}$ -Ammoniak liefert die nachfolgende Abbildung 12.

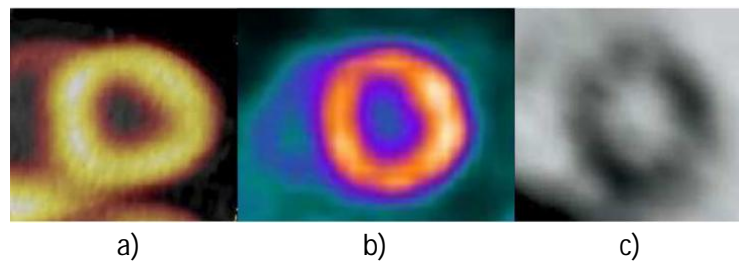


Abbildung 12: PET-Perfusionsbilder (short axis, Kurzachse) zum Vergleich von a)  $^{13}\text{N}$ -Ammoniak, b)  $^{82}\text{Rb}$ -Rubidiumchlorid und c)  $^{15}\text{O}$ -Wasser. Man erkennt die deutlich bessere Aufnahmequalität der ersten beiden Radiopharmaka [52]

### 1.3.2 Funktionelle Tracer/ metabolisches Imaging

#### $^{18}\text{F}$ -2-Fluor-2-deoxy-D-glucose ( $^{18}\text{F}$ -FDG)

$^{18}\text{F}$ -FDG ist das am meist verwendete PET-Radiopharmakon. Es wird routinemäßig verwendet, um Zellen mit erhöhtem Energiebedarf zu visualisieren. Als Glukoseanalogon/-derivat wird  $^{18}\text{F}$ -FDG in die Zelle aufgenommen und dort metabolisch getrappt, indem es über die Hexokinase zu FDG-6-phosphat umgewandelt wird und kann im Anschluss weder weiter verstoffwechselt werden noch wieder aus der Zelle austreten [13], [53]. Hierdurch kommt es zu einer Akkumulation in der Zelle, wodurch auch eine Abbildung des Glukoseverbrauchs des Herzens ermöglicht wird. Bei einer akuten Ischämie steigt der Glukoseverbrauch gegenüber dem Fettsäure-Verbrauch an. Mild-ischämisches und hypoxisches (hibernating) Gewebe hat allgemein einen erhöhten Glukosebedarf im Gegensatz zu Infarktgewebe (Narbengewebe), welches durch verminderten Blutfluss und Sauerstoffverbrauch einen niedrigeren Glukoseumsatz hat (siehe Abbildung 13). Eine Diffusion der  $^{18}\text{F}$ -FDG zeigt Areale an, die schlecht perfundiert sind, aber vital und deshalb möglicherweise revaskularisierbar sind [54].

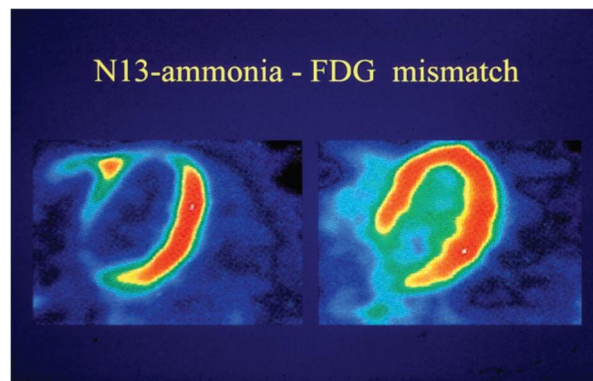


Abbildung 13: Vergleich von PET-Bildern mit  $^{13}\text{N-NH}_3$  und  $^{18}\text{F}$ -FDG zur Vitalitätsbestimmung. Das Missverhältnis zwischen der Herzdurchblutung ( $^{13}\text{N-NH}_3$ ) und der  $^{18}\text{F}$ -FDG-Aufnahme nennt man Perfusion-Metabolismus mismatch und zeigt "winterschlafendes" Herzgewebe an [55]

Derzeit wird eine Reihe von Protokollen zur Diagnostik mittels  $^{18}\text{F}$ -FDG angewendet. Bei allen bedarf es der Vorbereitung des Patienten: Normalerweise bezieht das Herz einen Großteil seiner Energie durch die  $\beta$ -Oxidation von Fettsäuren. Der Glukoseverbrauch kann jedoch durch Verabreichung von Glukose vor der Untersuchung vermehrt werden wodurch man eine bessere Bildqualität erhält [54].

### Andere Tracer zur Bildgebung des Herzmetabolismus

Auch andere Radiopharmaka wie etwa  $^{123}\text{I}$ -Fettsäuren,  $^{11}\text{C}$ -Palmitinsäure,  $^{13}\text{N}$ -Aminosäuren wurden teilweise zur Bildgebung des Herzens eingesetzt, finden aber aus verschiedenen Gründen kaum Anwendung (Deiodierung *in vivo*, aufwändige Synthese, komplizierte Datenverarbeitung der Ergebnisse, ) [13], [26], [28].

$^{11}\text{C}$ -Acetat-PET stellt den oxidativen Metabolismus des Herzens dar [13], [54].

Mit  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Pyrophosphat kann man innerhalb der ersten Tage (6-10 Tage) nach einem Herzinfarkt betroffenes Gewebe darstellen. Man vermutet, dass in den Mitochondrien nach einem Infarkt kleine Körnchen aus Calcium und Phosphat deponiert werden, an die das  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Pyrophosphat bindet [56].

$^{123}\text{I}$ -Metaiodbenzylguanidin (MIBG) ist ein Norephedrinanalogon. Die Herzaufnahme zeigt das Ausmaß der Innervierung des Herzens an [44], [57], [58], [59].

### $^{18}\text{F}$ -Flurpiridaz

Bereits seit Jahren wird nach neuen Angriffspunkten zur Vitalitätsmessung von Herzzellen geforscht. Wie bereits zuvor beschrieben besitzen Herzmuskelzellen auf Grund ihres hohen Energiebedarfs einen hohen Volumenanteil an Mitochondrien. Mitochondrien besitzen als einzige Organelle eine Doppelmembran, welche sie für ihre wichtigste Funktion, der Synthese von ATP, benötigen. Durch diese Doppelmembran werden insgesamt 5 Kompartimente unterteilt:

- die äußere Mitochondrienmembran
- der Intermembranraum
- die innere Membran
- die Cristae
- und die Matrix (der Raum in der inneren Membran).

Für die Herzdiagnostik wichtig ist die innere Mitochondrienmembran. In ihr befinden sich die 4 Enzymkomplexe, die die Atmungskette ermöglichen. Innerhalb dieser Atmungskette gibt das  $\text{NADH}+\text{H}^+$  seine Protonen an den Sauerstoff ab, wodurch Wasser gebildet wird. Dies entspricht chemisch gesehen einer Knallgasreaktion. Um die stark exotherme Reaktion möglichst gewinnbringend zur ATP-Synthese nutzen zu können, verläuft diese Reaktionen kaskadenartig durch die vier Komplexe innerhalb der inneren Mitochondrienmembran ab (Abbildung 14).

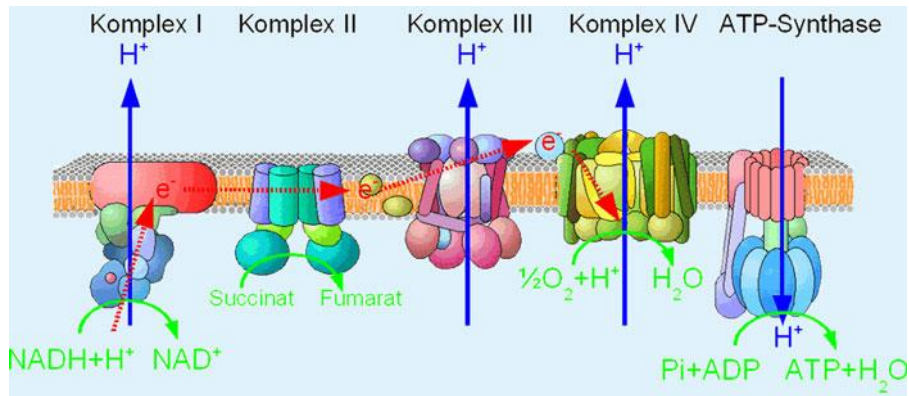
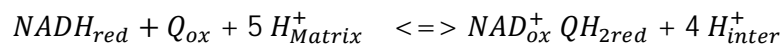


Abbildung 14: Die Atmungskette in der inneren Mitochondrienmembran [60]

Angriffspunkt für eine Reihe von herzaffinen Verbindungen ist der Komplex I der Atmungskette, die NADH-Q-Oxidoreduktase oder NADH-Dehydrogenase. Sie katalysiert den Elektronenübertrag des intramitochondrialen NADHs auf das Ubichinon (Coenzym Q) in der inneren Mitochondrienmembran [60].



Formel 4: Gleichung des Elektronenübertrages des intramitochondrialen NADHs auf das Coenzym Q in der inneren Mitochondrienmembran

Gekoppelt ist dieser Elektronentransport an eine Protonenpumpe, um das Membranpotential aufrecht zu erhalten.

Verschiedene Verbindungen, u.a. Insektizide, greifen an dem mitochondrialen Komplex 1 MC-I an und werden momentan als potenzielle Herzdiagnostika für die KHK erprobt. Dabei unterscheidet man zwischen drei Typen, die mit dem Ubichinon um die Bindungsdomäne konkurrieren [61], [62]:

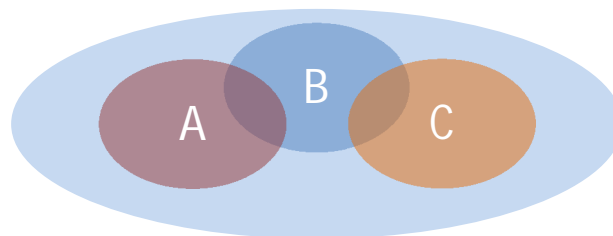


Abbildung 15: Schematische Darstellung der Bindungsstellen der Inhibitoren des MC-I nach [62]

- Typ A: repräsentiert durch Piericidin A
- Typ B: repräsentiert durch Rotenon und
- Typ C: repräsentiert durch Capsaicin

2007 wurde ein Pyridaben-Derivat mit hoher Affinität ( $IC_{50} = 11,0 \text{ nM}$ ) zum MC-I Komplex vorgestellt, das  $^{18}\text{F}$ -Flurpiridaz ((7),  $^{18}\text{F}$ -BMS-747158-02, Abbildung 16). Dieses Fluor-markierte Insektizid unterscheidet sich somit kaum von der Affinität des Insektizids Pyridaben ((6),  $IC_{50}=8 \text{ nM}$ ) [63], [64].

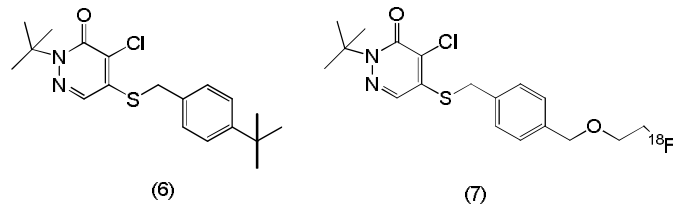


Abbildung 16: Strukturformel des (6) Insektizids Pyridaben und des (7)  $^{18}\text{F}$ -Flurpiridaz

Pharmakophore Einheiten und somit essentiell für eine gute Bindung an den MC-I sind hierbei der *tert*-Butyl-Rest am Stickstoff sowie das Chloratom des Pyridazinons. Toleriert werden dagegen eine Substitution des Schwefelatoms durch Sauerstoff sowie Variationen der Alkylkette des Phenylrings.  $^{18}\text{F}$ -Flurpiridaz wurde bereits sehr erfolgreich in Tierversuchen getestet [63], [65], [66]. Erste Versuche im Menschen zeigten, dass das Organ mit der höchsten Aufnahme des Tracers die Nieren sind, gefolgt von dem Herzen. Die Aufnahme des Tracers im Herzen blieb über 5 Stunden konstant, wie man in Abbildung 17 erkennen kann [67].

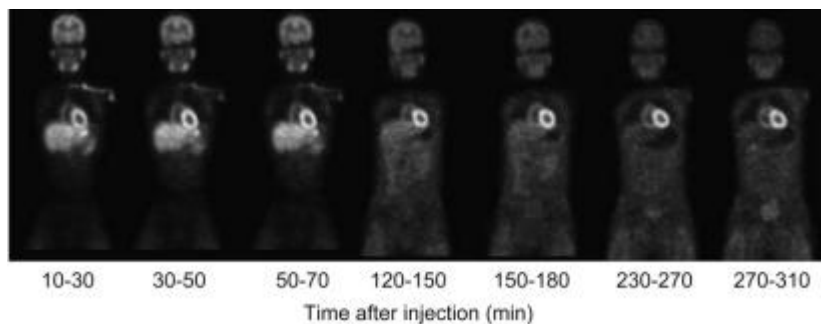


Abbildung 17: Koronare Ganzkörperaufnahmen von einem Menschen zu unterschiedlichen Zeitpunkten nach Gabe von  $^{18}\text{F}$ -Flurpiridaz [67]

$^{18}\text{F}$ -Flurpiridaz befindet sich zurzeit in der dritten Phase der klinischen Studien und ist ein hoffnungsvoller Kandidat für den routinemäßigen Einsatz [68]. Die folgende Abbildung 18 zeigt einen Vergleich zwischen dem routinemäßig in der klinischen Praxis eingesetzten SPECT-Derivat  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Sestamibi (links) und dem  $^{18}\text{F}$ -Flurpiridaz (rechts).

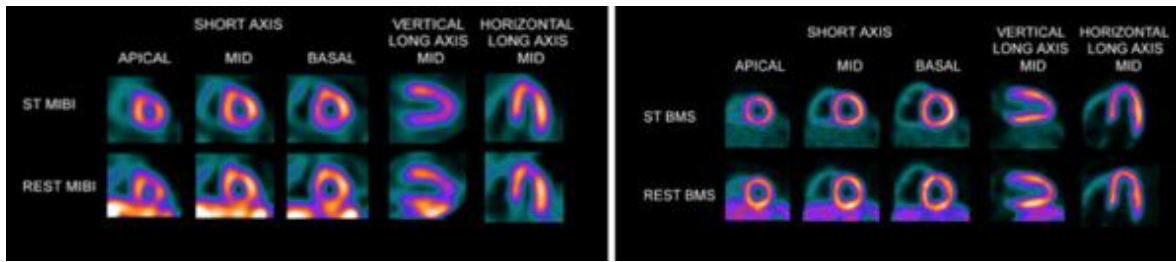


Abbildung 18: Sress (ST)- und Ruheaufnahmen (Rest) von apical, mid-ventricular und basal Kurzachsen- sowie vertikalen und horizontalen mid-ventrikularen Langachsen-Ansichten. Aufgenommen von einer 61-jährigen Patienten, symptomfrei, mit links:  $^{99m}\text{Tc}$ -Sestamibi und  $^{18}\text{F}$ -Flurpiridaz. Man erkennt deutlich die höhere Bildqualität rechts.

### $^{68}\text{Ga}$ -Schiff'sche Basen

Vielversprechende Ansätze zur Entwicklung eines  $^{68}\text{Ga}$ -basierenden Herztracers liefern Schiff'sche Basen-Derivate, welche sowohl in der Lage sind, das  $^{68}\text{Ga}$  stabil zu komplexieren als auch eine Anreicherung in den Kardiomyozyten zeigten. Die ersten Versuche erfolgten mit tripodalen Schiff'schen Basen-Strukturen basierend auf einem  $\text{N}_3\text{O}_3^{3-}$ -Rückgrat (Abbildung 19). Bei Komplexierung des  $\text{Ga}^{3+}$  entstehen lipophile ( $\log D > 2,5$ ), ungeladene Komplexe, welche hohe Herzzellaufnahmen in Ratten ( $\sim 2\%$  nach 2 Minuten) zeigten. Nachteilig war die mangelnde Retention der Tracer in den Rattenherzzellen. Bereits nach 5 Minuten waren 50 % der zuvor aufgenommenen Aktivität bereits wieder ausgewaschen [69], [70].

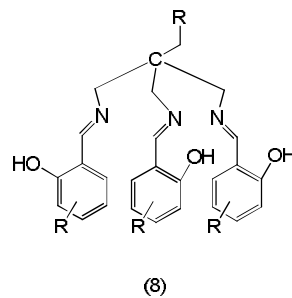


Abbildung 19: Strukturformel einer tripodalen Schiff'schen Base (8)

Eine Verbesserung der Retention wurde in Analogie zu den  $^{99m}\text{Tc}$ -Herzradiopharmaka gefunden, die trotz ihrer hohen Lipophilie eine positive Ladung tragen. Grund dafür ist vermutlich, dass durch die Lipophilie der Verbindung das Radiopharmakon die Zellmembran überwinden kann und dann im Zellinneren durch das negative Zellmembranpotential der Mitochondrien die (+1) geladene Verbindung zurückgehalten wird. Um diesen Wirkmechanismus für das Gallium verfügbar zu machen, wurde ein  $\text{N}_4\text{O}_2^{2-}$ -Rückgrat verwendet. Zusammen mit  $\text{Ga}^{3+}$  bildet sich so ein einfach positiv geladener, lipophiler, pseudo-oktaedrischer Komplex (Abbildung 20).

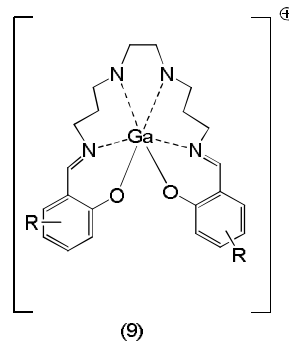


Abbildung 20: allgemeine Strukturformel eines Ga-Schiff'schen Base-Komplexes basierend auf einem  $N_4O_2^{2-}$  Rückgrat

Verschiedene Ga-Schiff'sche Basen basierend auf diesem Rückgrat wurden synthetisiert und zeigten auch bei geringen Variationen des Substitutionsmusters der verwendeten Aromaten einen erheblichen Einfluss auf die pharmakologischen Eigenschaften [71–75]. Als eine der vielversprechendsten Ga-Schiff'sche Basen-Verbindungen zeigte sich das  $[^{67/68}\text{Ga}(3\text{-MeOsal})_2\text{BAPDMEN}]^{1+}$  oder auch BAPDMEN-2, welches in Ratten eine Herzaufnahme von 2 % sowohl 60 Sekunden als auch noch nach 2 Stunden nach Injektion (p.i.) zeigte. Des Weiteren zeichnet sich das Derivat durch sehr hohe Herz zu non-target-Verhältnisse aus [73].

Positiv für spätere Herzdiagnostikanwendungen ist auch, dass Schiff'sche Basen-Derivate des Galliums, analog zu manchen  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Radiopharmaka, teilweise Substrate des P-Glykoproteins sind [43], [75], [76]. Dieser Effluxtransporter sorgt für eine schnellere Eliminierung aus der Leber, wodurch störende Aufnahme von Radioaktivität in die Leber, die die Herzdiagnostik erschweren kann, verringert wird.

Um zukünftig routinemäßige Untersuchungen der Herzperfusion und -vitalität in der Klinik durchführen zu können, ist in Analogie zu den  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Radiopharmaka eine einfache „Kit“-Anwendung von Vorteil. Yang et al. zeigten 2010, dass eine Kit-Anwendung mit einem Schiff'schen Basen-Derivat (BAPEN) und  $^{68}\text{Ga}$  gelingt und die gebildeten Komplexe stabil und zur *in vivo*-Anwendung geeignet sind [77].



## 2 Problemstellung

Die nuklearmedizinischen Verfahren PET und SPECT ermöglichen die *nicht-invasive Untersuchung* des Herzzustands eines Patienten. Dadurch wird ein Weg zur „personalized medicine“ geebnet. Für präoperative Planung, postoperatives Monitoring (beispielsweise nach einer Bypass-Operation oder Herztransplantation) bieten diese Methoden den Vorteil, dass sie im Gegensatz zu den gängigen invasiven Diagnostik-Verfahren Koronarangiografie und Angio-CT nicht nur morphologische Informationen liefern, sondern auch Informationen über den funktionellen Zustand der Herzzellen ermöglichen. Dabei ist man mit der PET sogar in der Lage absolute Quantifizierungen durchzuführen [58], [78]. Momentan verwendete PET-Tracer wie die Perfusionstracer  $^{15}\text{O}\text{-H}_2\text{O}$  und  $^{13}\text{N}\text{-NH}_3$  benötigen jedoch auf Grund ihrer kurzen Halbwertszeit die unmittelbare Nähe eines Zyklotrons zum Patienten. Die Zyklotronabhängigkeit beeinflusst die Kosten und Verfügbarkeit der einsetzbaren Radiopharmaka.

Die routinemäßig verwendeten Radionuklidgenerator-basierenden SPECT Tracer  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -sestamibi (Cardiolite) und  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -tetrofosmin (Myoview) haben gezeigt, dass ihr Einsatz im klinischen Alltag der Herzdiagnostik sehr gefragt ist. Ein Radiopharmakon auf Basis eines PET-Nuklids wäre in der Lage sein, die Vorteile der PET-Methode gegenüber der SPECT wie beispielsweise die mögliche absolute Quantifizierung und verbesserte Auflösung nutzen zu können. Gleichzeitig wäre es von Vorteil, wenn die pharmakologischen Eigenschaften der etablierten SPECT-Tracer noch verbessert werden könnten, d.h. eine höhere Aufnahme ins vitale und revaskularisierbare Gewebe stattfinden würde und gleichzeitig die Aufnahme in Nicht-Zielgewebe minimiert werden würde.

Auf Grund der Verfügbarkeit des  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ -Generators würde sich ein PET-Radiopharmakon auf  $^{68}\text{Ga}$ -Basis zur Kit-Anwendung eignen. Als Chelatorsystem zeigten Schiff'sche Basen-Verbindungen, dass sie stabile Komplexe mit  $^{68}\text{Ga}$  ausbilden, die in den Kardiomyozyten akkumulieren. Allerdings variierte das *in vivo*-Verhalten der  $^{68}\text{Ga}$ -Komplexe abhängig von dem Substitutionsmuster der Aldehyde, der Ladung des Komplexes und des verwendeten Rückgrats [69–75].

Um den Einfluss von Lipophilie, Ladung, Substitutionsmuster und Rückgrat genauer zu untersuchen, sollten in der vorliegenden Arbeit daher

- 1.) das literaturbekannte Schiff'sche Basen-Rückgrat bis(N,N'-amino-2,2-dimethylpropane)ethylenediamine (BADED) mit unterschiedlich substituierten Aldehyden synthetisiert werden. Diese Aldehyden sollten lipophile Gruppen tragen

- (Methyl-, Bromreste), Ethergruppen enthalten (Beeinflussung der Leberaufnahme [43]) oder polare Gruppen enthalten (-NEt<sub>2</sub>).
- 2.) drei bekannte Rückgrate (BAPEN, BAPDMEN, BADED) mit jeweils 3 Aldehyden synthetisiert werden.
  - 3.) Dieser Verbindungen sollten diese mit <sup>68</sup>Ga markiert werden und
  - 4.) auf ihre physikochemischen Eigenschaften wie Lipophilie, Ladung sowie Stabilität in physiologischer Kochsalzlösung, humanem Serum sowie gegen apo-Transferrin untersucht werden.
  - 5.) Zellversuche in HL-1-Mäuseherzzellen mit/ohne Zusatz von Valinomycin sollten zeigen, welche Tracer eine besonders hohe Aufnahme in die Herzzellen aufweisen und welche Tracer besonders durch eine Störung des Zellmembranpotentials beeinflusst werden.
  - 6.) Des Weiteren sollten in Tierstudien *in vivo* mittels  $\mu$ PET die SUV (standardized uptake values) der <sup>68</sup>Ga-Schiff'sche Basen-Verbindungen in Rattenherzen ermittelt werden.
  - 7.) Die Organverteilung des erfolgversprechendsten Kandidaten sollte mittels *ex vivo*-Biodistributionen ermittelt werden.

Ein anderer Ansatz zur Entwicklung eines <sup>68</sup>Ga-basierenden Myokard-selektiven Radiopharmakons zur Herzdiagnostik ist die Kopplung einer lipophilen Schiff'schen Base mit einem Targeting-Molekül. Dadurch soll eine spezifischere Anreicherung im Herzen erreicht werden. Ein sehr vielversprechendes Targeting-Molekül ist das Flurpiridaz. Es zeichnet sich durch eine hohe Bindungsaffinität (IC<sub>50</sub> = 11,0 nM) zu seinem Ziel im Körper, dem MC-I Komplex der Mitochondrienmembran aus. Die Vereinigung dieses Moleküls mit einer <sup>68</sup>Ga-Schiff'schen Base sollte idealerweise die Affinität des Gesamtmoleküls zum MC-I-Komplex weitestgehend erhalten und zum anderen über die gesteigerte Lipophilie und den kationischen Charakter eine erhöhte Aufnahme in die Herzzelle ermöglichen.

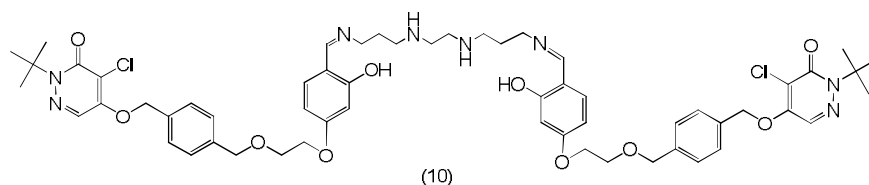


Abbildung 21: Strukturformel von Flurpiridaz-BAPEN

- 8.) Daher war ein weiteres Ziel dieser Arbeit die Synthese des Flurpiridaz und seine anschließende Kopplung an das Schiff'sche Basen Rückgrat 1,2-Bis(3-aminopropylamino)ethan (BAPEN).
- 9.) Das resultierte Flurpiridaz-Schiff'sche Basen-Derivat (Abbildung 21) sollte anschließend mit  $^{68}\text{Ga}$  markiert werden.
- 10.) Bei den diversen Evaluierungen sollten  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Sestamibi und  $^{18}\text{F}$ -Flurpiridaz als Referenztracer verwendet werden.

## 3 Ergebnisse und Diskussion

### 3.1 Synthesen der Schiff'schen Basen

In der vorliegenden Arbeit wurden Schiff'sche Basen mit einem  $N_4O_2$ -Rückgrat synthetisiert. Diese bestehen retrosynthetisch betrachtet aus 2 Einheiten, dem Rückgrat und dem Aldehyd.

#### 3.1.1 Synthese der Rückgrate

Zur Evaluierung der Schiff'schen Basen-Verbindungen wurden drei verschiedene Rückgrate verwendet (Abbildung 22):

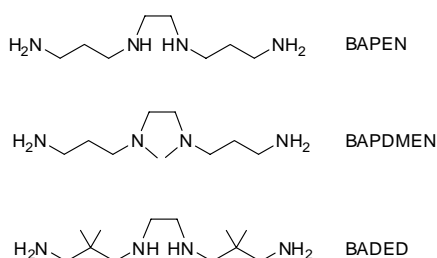


Abbildung 22: Überblick über die verwendeten Rückgrate der Schiff'schen Basen

Hierbei konnte das BAPEN-Rückgrat (1,2-Bis(3-aminopropylamino)ethane), kommerziell von Sigma-Aldrich bezogen werden.

Das BAPDMEN-Rückgrat (bis(2,2-dimethyl-3-aminopropyl)ethylenediamine) wurde nach folgendem in der Literatur beschriebenen Syntheseweg dargestellt (Abbildung 23) [73]:

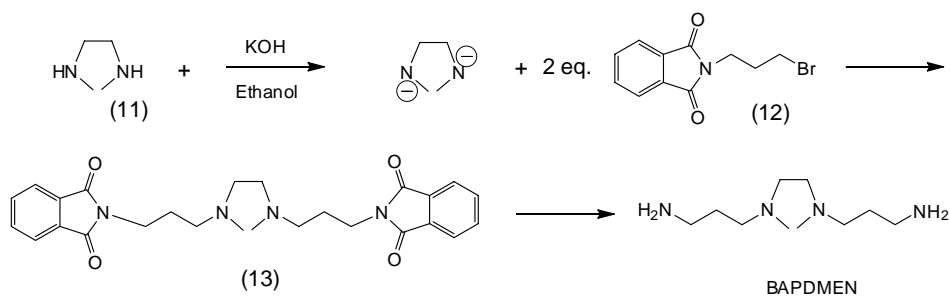


Abbildung 23: Synthese des BAPDMEN-Rückgrats

Hierzu wurde das kommerziell erhältliche N,N'-Dimethylethylamin (11) wurde zur Kettenverlängerung zunächst mit KOH deprotoniert, um eine nukleophilen Addition an das N-3-Brompropylphthalimid (12) zu ermöglichen. Nach Darstellung des disubstituierten Produktes (13) erfolgte die saure Hydrazinspaltung mittels 6N HCl unter Rückfluss. Durch Abkühlen der Reaktionsmischung fiel die entstandene Phthalsäure aus und konnte abgefiltert werden. Das Filtrat wurde eingeeengt und das Produkt BAPDMEN durch Ausschütteln und säulenchromatographisch aufgereinigt.

Die Darstellung des BADED-Rückgrats (bis(N,N'-amino-2,2-dimethylpropane)ethylenediamine) erfolgte nach Literatur-bekannter Synthese [75], [76].

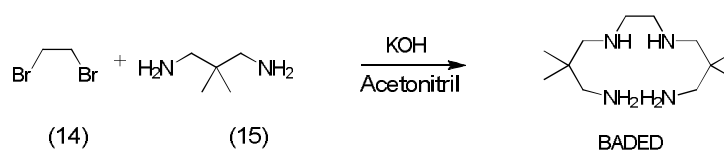


Abbildung 24: Synthese des Rückgrats BADED

Zur Kettenverlängerung des 1,2-Dibromoethan (14) wurde beidseitig das des 2,2-Dimethyl-1,3-propanediamin (15) addiert. Um eine weitere Kettenverlängerung weitestgehend zu vermeiden, wurde mit einem 5-fachen Aminüberschuss gearbeitet. Dennoch wurden auch weitere Mehrfachaddukte erhalten, die durch eine destillative Aufreinigung im Vakuum (0,1mbar, 110°C) abgetrennt werden konnten. Das BADED konnte auf diesem Weg in 35 %-iger Ausbeute erhalten werden.

### 3.1.2 Synthese der Schiff'schen Basen

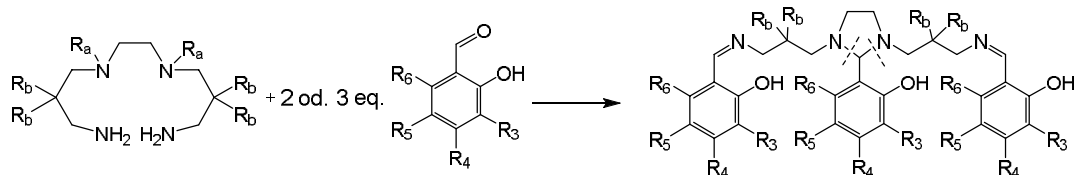


Abbildung 25: Synthese der Schiff'schen Basen. Gestrichelte Linien demonstrieren den Imidazolring, welcher bei Markierung mit  $^{68/67}\text{Ga}$  geöffnet wird.

Zur Darstellung der Schiff'schen Basen wurden die Rückgrate mit den entsprechenden Aldehyden nach literaturbekannten Vorschriften gekoppelt (Abbildung 25). BAPEN und BADED besitzen neben den endständigen primären Aminen jeweils zwei innere sekundäre Amine, die ebenso wie die primären Amine eine Bindung mit den Aldehyden eingehen. Dabei entsteht eine Verbrückung der zwei Stickstoffe, wodurch ein Imidazolidinring ausgebildet wird. Das Proton des Imidazolidinrings bei 3.7 ppm im  $^1\text{H-NMR}$  ist charakteristisch für diese Verbindungen. Daher werden bei der Synthese dieser Schiff'schen Basen 3 eq. Aldehyd eingesetzt.

BAPDMEN hingegen besitzt neben den äußeren primären Aminen zwei tertiäre Amine, deren Reaktionsbereitschaft meist zu gering ist, um den Imidazolidinring auszubilden. In diesen Fällen wurden lediglich 2 eq. des Aldehyds verwendet. Die Synthese der Schiff'schen Basen ist bereits bei Zugabe des Aldehyds zum Rückgrat durch einen deutlichen Farbumschlag von farblos nach orange erkennbar und verläuft quantitativ. Zur Aufreinigung eines Überschusses des Aldehyds wurde aus Ether umkristallisiert.

Zum Vergleich der drei Rückgrate wurden folgende Schiff'sche Basen synthetisiert:

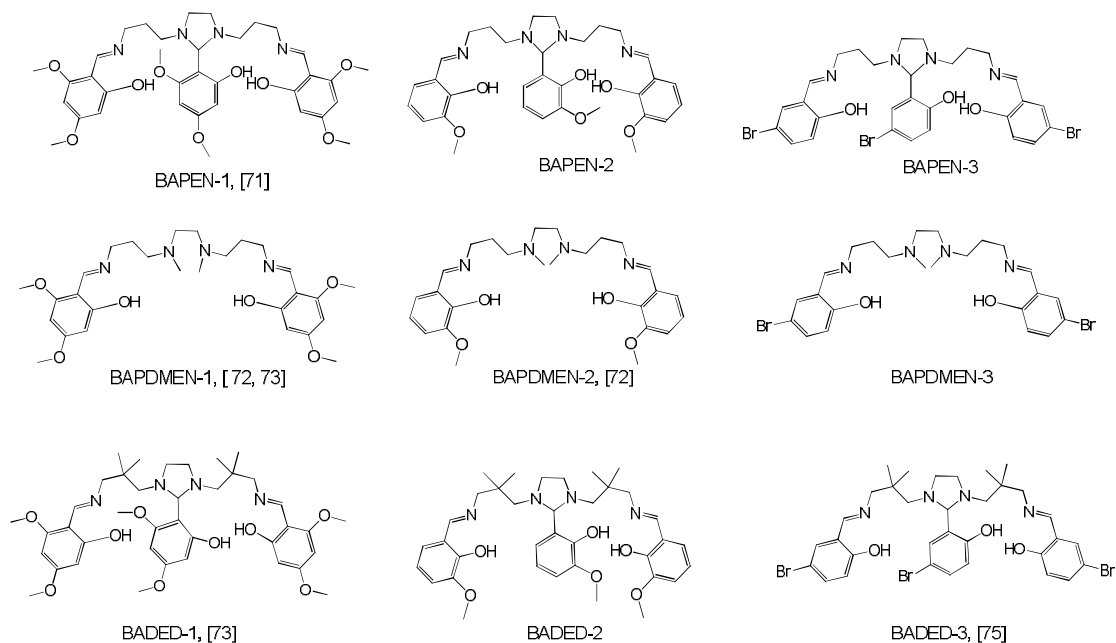


Abbildung 26: Überblick über die synthetisierten Schiff'schen Basen, die dieselben Aldehyde tragen, mit den Rückgraten BAPEN, BAPDMEN und BADED

Die Synthese der Schiff'schen Basen unter Verwendung des Rückgrats BADED ergab folgende Verbindungen:

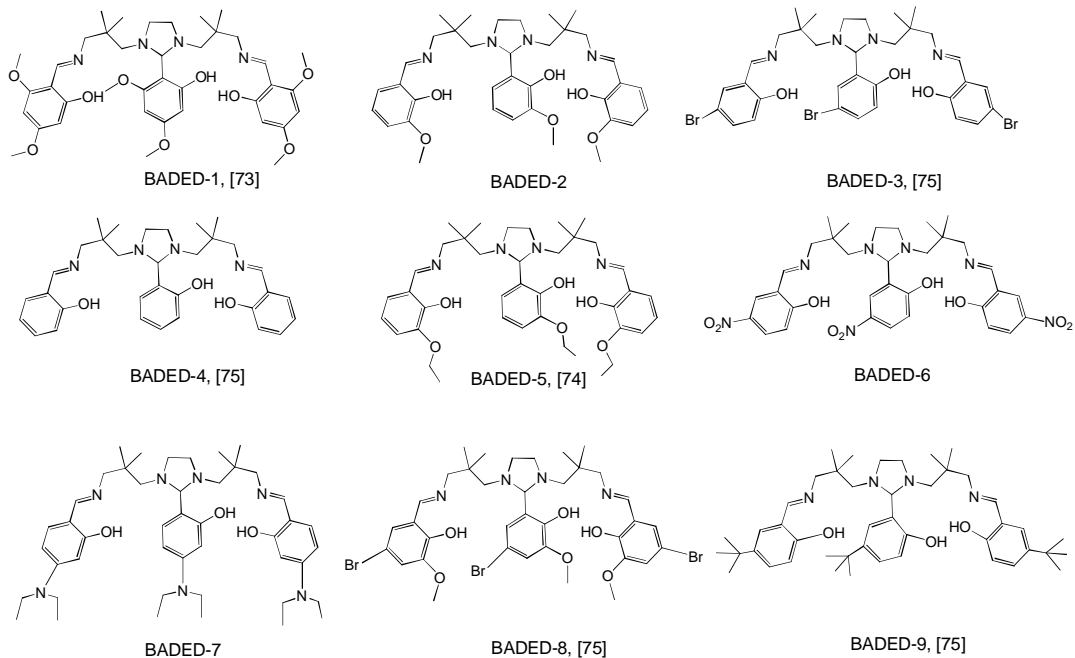


Abbildung 27: Überblick über die synthetisierten Schiff'sche Basen Verbindungen mit dem BADED-Rückgrat

Die bereits in der Literatur beschriebenen Verbindungen wurden, soweit bekannt, entsprechend gekennzeichnet.

### 3.1.3 Synthese der Flurpiridaz-Schiff'schen Base

Die Darstellung der Flurpiridaz-Schiff'schen Base erfolgte nach folgendem Syntheschema:

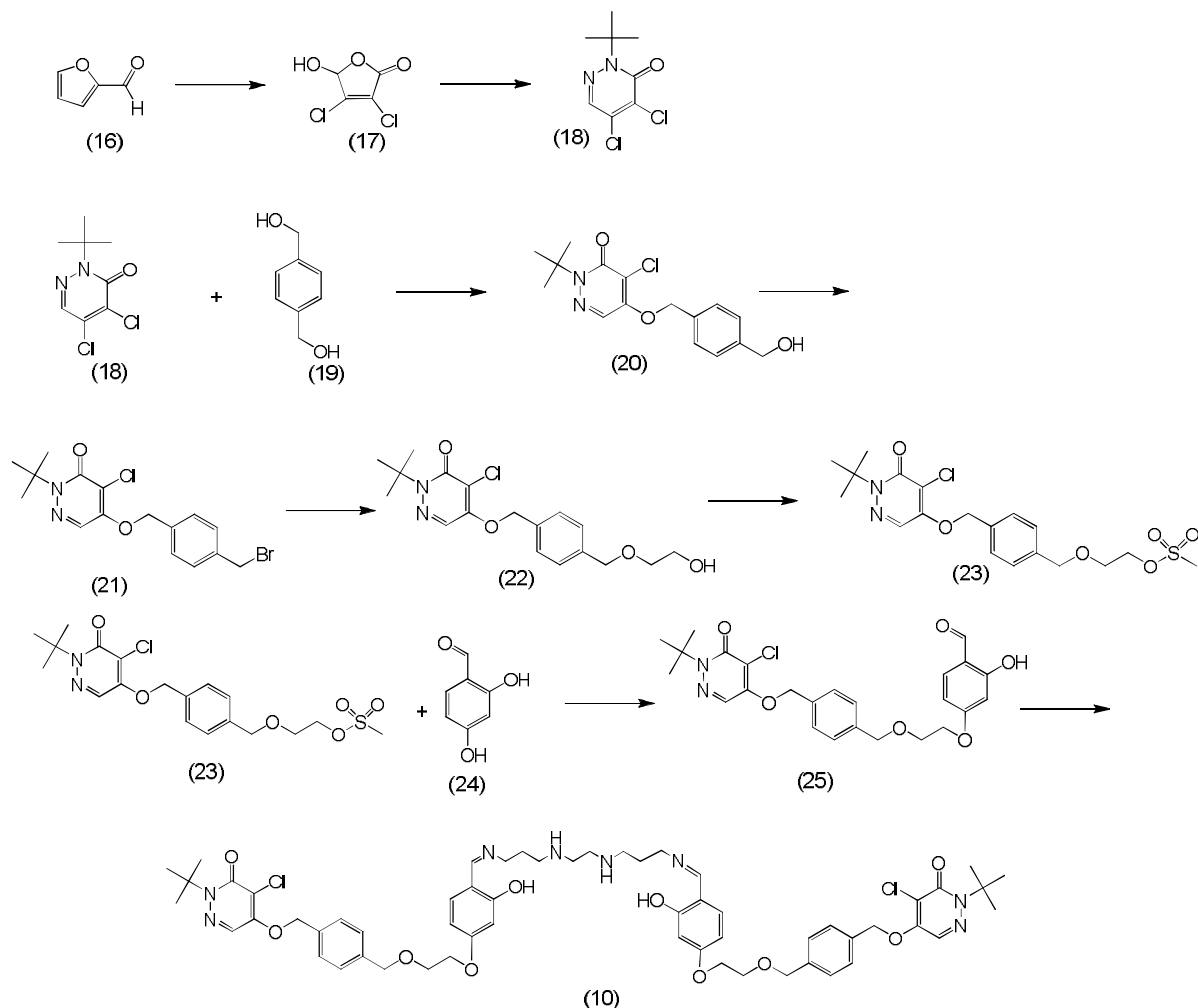


Abbildung 28: Synthese der Flurpiridaz-Schiff'schen Base

Zunächst wurde nach literaturbekannter Synthese das Grundgerüst des Flurpiridaz synthetisiert [79]. Dazu wurde Furfurylaldehyd mit eisgekühlter konzentrierter Salzsäure und Kaliumpermanganat versetzt und vorsichtig erhitzt, bis sich die Lösung orange färbte. Nach Abkühlen wurde das Reaktionsgemisch filtriert und der Rückstand aus Wasser umkristallisiert. Dabei konnte das reine 2,3-Dichlor-4-oxo-2-butenoic acid (DCA) (17) in 45 % Ausbeute gewonnen werden. Anschließend folgte die Ringerweiterung des DCA unter basischen Bedingungen mit *tert*-Butylhydrazinhydrochlorid. Das orangene, kristalline Produkt 2-*tert*-Butyl-4,5-dichlor-2H-pyridazin-3-on (DCP) (18) wurde mittels Extraktion im sauren und basischen aufgereinigt und konnte in 59 % Ausbeute gewonnen werden. Im nächsten Schritt erfolgte die Kopplung des 1,4-



Phenylendimethanol an das DCP. Durch säulenchromatographische Aufreinigung konnte im Anschluss das 2-(*tert*-Butyl)-4-chloro-5-((4-(hydroxymethyl)benzyl)oxy)pyridazin-3(2H)-on (20) sowie das Edukt DCP (18) gewonnen werden. Zur Aktivierung dieser Hydroxylgruppe war eine Aktivierung durch Einführung einer besseren Abgangsgruppe nötig. Mittels  $\text{PBr}_3$  wurde die Hydroxylgruppe von (20) in die bromierte Form überführt. Charakteristisch für diese Appel-Reaktion ist der intensive Farbumschlag nach orange. Das 2-(*tert*-Butyl)-4-chloro-5-((4-(bromomethyl)benzyl)oxy)pyridazin-3(2H)-on (21) wurde durch Extraktion aufgereinigt und konnte in 78 % Ausbeute gewonnen werden. Zur Kettenverlängerung bzw. als Abstandshalter zu dem Chelator, in diesem Fall der Schiff'schen Base, wurde eine Ethylenglykolgruppe eingeführt. Dazu wurde Ethylenglykol mit Kalium-*tert*-Butoxid deprotoniert, um einen nukleophilen Angriff an das aktivierte Pyridazinon (21) zu ermöglichen. Nach Extraktion mit Chloroform und säulenchromatographischer Aufreinigung konnte das Produkt (22) in 58 % Ausbeute in Form eines farblosen Öls gewonnen werden. Anschließend erfolgte erneut eine Aktivierung der Hydroxyl-Abgangsgruppe, diesmal mit Mesylchlorid, zu (23).

Die Verbindung des mesylierten Produkts (23) mit dem Dihydroxybenzaldehyd war der Schlüsselschritt zur Darstellung der Flurpiridaz-Schiff'schen Base. Dazu wurden die beiden Edukte in Acetonitril gelöst und mittels Kaliumcarbonat basisch gestellt. Die Reaktionsmischung wurde auf 60-70°C erhitzt und für zwei Tage gerührt. Die Aufreinigung erfolgte erneut säulenchromatographisch mittels Ethylacetat:Hexan (3:7). Dabei konnte mittels 2D- $^1\text{H}$ -NMR nachgewiesen werden, dass selektiv an die gewünschte *para*-Position gekoppelt wurde. In diesem Fall war es von äußerster Wichtigkeit, dass die *ortho*-Position unsubstituiert blieb, da diese für spätere Komplexierung des Galliums benötigt wird. Grund für die erfolgreiche selektive Kopplung ist möglicherweise zum einen die sterisch bessere Verfügbarkeit der *para*-Position, aber womöglich auch eine Sauerstoffbrückenbindung zwischen Hydroxyl-Proton und dem Aldehyd-Sauerstoff, wodurch eine Deprotonierung an dieser Stelle möglicherweise erschwert ist gegenüber der *para*-Position.

Nach erfolgter Darstellung des Aldehyds (25) wurde dieses nach der allgemeinen Reaktionsvorschrift zur Herstellung der Schiff'schen Basen (0) mit BAPEN-Rückgrat zur Flurpiridaz-Schiff'schen Base (10)(Abbildung 29) umgesetzt.

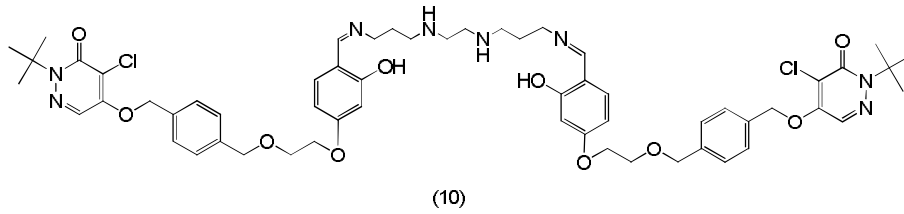


Abbildung 29: Strukturformel von Flurpiridaz-BAPEN, disubstituiert

Dabei zeigte sich, dass neben dem erwarteten di-substituierten Derivat auch das tri-substituierte Derivat gewonnen werden konnte (Abbildung 30). Damit verhält sich das Flurpiridaz-BAPEN trotz seiner Größe bei der Synthese analog zu den zuvor synthetisierten „einfachen“ bzw. kleineren Aldehyd-Schiff'schen Basen.

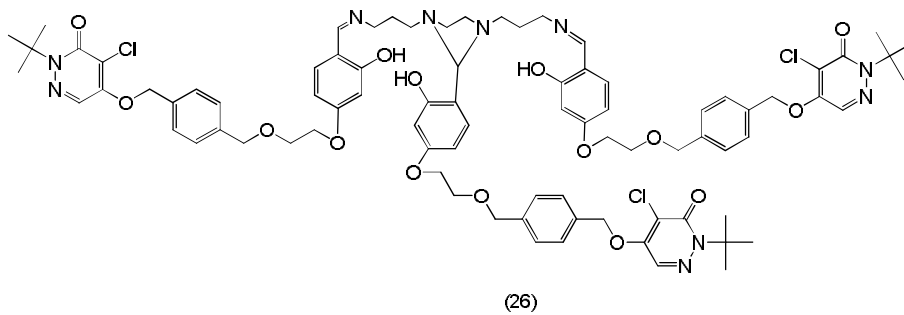


Abbildung 30: Strukturformel von Flurpiridaz-BAPEN, trisubstituiert

### 3.1.4 Darstellung der inaktiven Verbindungen $^{67}\text{Ga}$ -BADED-2 und $^{67}\text{Ga}$ -BADED-3

Zur analytischen Referenz mittels HPLC sowie für die Bestimmung der Toxikologie der Verbindungen wurden  $^{67}\text{Ga}$ -BADED-2- und  $^{67}\text{Ga}$ -BADED-3-Komplexe als kalte Referenzverbindungen hergestellt (Abbildung 31). Hierzu wurde jeweils 1 eq. der Schiff'sche Basen-Verbindung in alkoholischer Lösung mit 1 eq.  $\text{Ga}(\text{acac})_3$  umgesetzt. Die Darstellung der inaktiven Komplexe erfolgte quantitativ. Das zugehörige  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum zeigte, dass das zuvor vorhandene Imidazol-Proton nun fehlt. Ursache hierfür ist, dass zur Komplexierung der Imidazolring abgespalten wird und die zwei freigewordenen Aminostickstoffen der Komplexierung des Galliums beteiligt sind. Es bildet sich somit ein  $\text{N}_4\text{O}_2$ -Kern um das  $^{67}\text{Ga}$  [75].

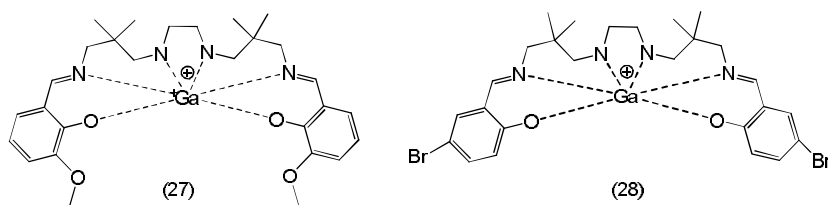


Abbildung 31: Strukturformeln des  $^{67}\text{Ga}$ -BADED-2 (27) und  $^{67}\text{Ga}$ -BADED-3 (28)

## 3.2 Radiomarkierungen

### 3.2.1 Radiomarkierung der Schiff'schen Basen mit $^{68}\text{Ga}$

Zur Markierung der Schiff'schen Basen eignen sich grundsätzlich zwei bekannte Methoden.

Ein erster Ansatz ergibt sich durch die hohe Lipophilie der Schiff'schen Basen-Verbindungen, wodurch eine Markierung im organischen Medium (Chloroform) möglich ist. Dazu wird der Generator eluiert [16] und der Kationenaustauscher anschließend nicht mit einer Mischung aus Aceton und Salzsäure, sondern mit einem Acetylacetonat-Aceton-Gemisch eluiert [18]. Dadurch wird ein labiler Primärkomplex, das  $^{68}\text{Ga}(\text{acac})_3$  gebildet. Das Aceton wird anschließend abgedampft und in Chloroform aufgenommen. Nach Zugabe der Schiff'schen Base-Verbindung gibt der Primärkomplex das  $^{68}\text{Ga}$  dann an die Schiff'sche Base zur Bildung des  $^{68}\text{Ga}$ -Schiff'sche Base-Komplexes.

Abbildung 32 zeigt die Kinetik der Markierung von  $^{68}\text{Ga}$ -BADED-2 mittels  $^{68}\text{Ga}(\text{acac})_3$  über einen Zeitraum von 10 Minuten. Hohe Ausbeuten können schon bei niedrigeren Temperaturen erreicht werden. Schiff'sche Basen-Verbindungen sind somit generell für Synthesen bei niedrigen Temperaturen geeignet. Dennoch wurden die Synthesen bei höheren Temperaturen (80-95°C im Thermoshaker) durchgeführt, um das Reaktionsmedium Chloroform (Siedepunkt: 61°C) zeitgleich entfernen zu können. Die resultierende  $^{68}\text{Ga}$ -Schiff'sche Basen-Verbindung konnte nach 10 Minuten in einem breiten Spektrum an Medien aufgenommen werden. Für Tierversuche erfolgte z.B. die Aufnahme in isotonischer Kochsalzlösung mit einem Zusatz von 10 % Ethanol, um die Löslichkeit des Komplexes zu gewährleisten. Als problematisch erwies sich hierbei jedoch die hohe Lipophilie der Verbindungen, wodurch die  $^{68}\text{Ga}$ -Komplex in hohem Maße an die Kunststoffwand des Eppendorfgefäßes adsorbierten. Ein Lösen der Komplexe von der Gefäßwand gelang nur mit Zusatz von Ethanol im Ultraschall-Bad.

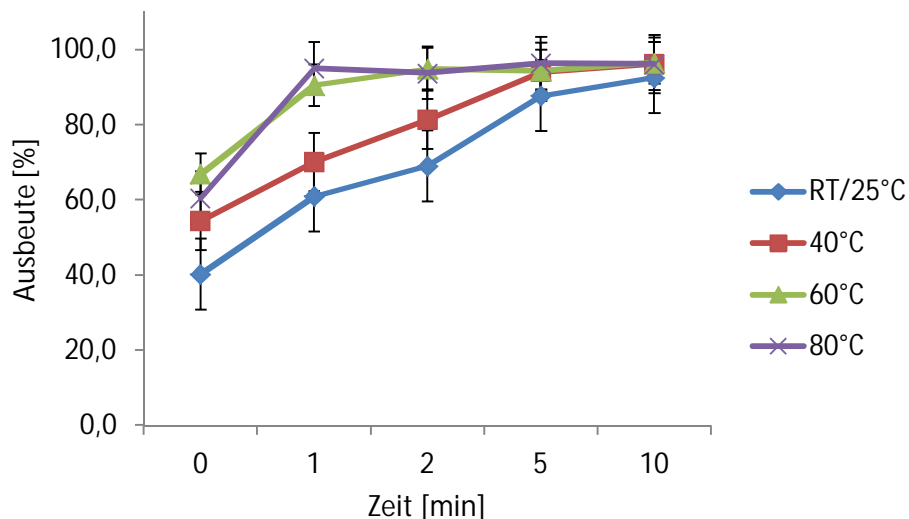


Abbildung 32: Kinetik der  $^{68}\text{Ga}$ -Markierung von 30 nmol BADED-2 in Chloroform mittels  $^{68}\text{Ga}(\text{acac})_3$

Ein zweiter Ansatz zur Markierung der  $^{68}\text{Ga}$ -Schiff'schen Basen ist die Markierung im wässrigen Milieu durch Verwendung eines 0,1 M Na-HEPES-Puffers und jeweils 400  $\mu\text{l}$  aufgereinigtes Generatoreluats ( $\text{N}_2$ -Lösung) [76]. In Abbildung 33 erkennt man eine deutliche Temperaturabhängigkeit der Bildung des  $^{68}\text{Ga}$ -Schiff'schen Basen-Komplexes. Vorteil bei dieser Methode ist, dass der Umweg über den Primärkomplex  $^{68}\text{Ga}(\text{acac})_3$  entfällt.

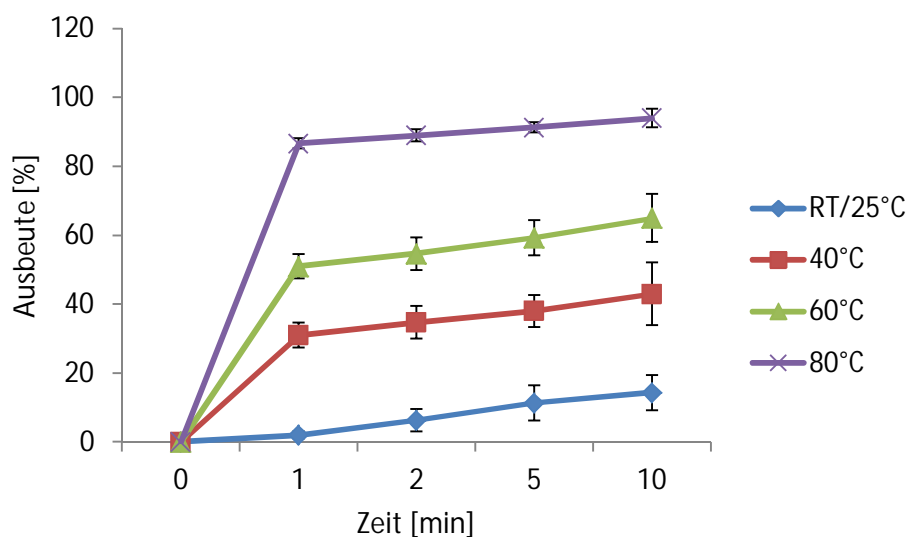
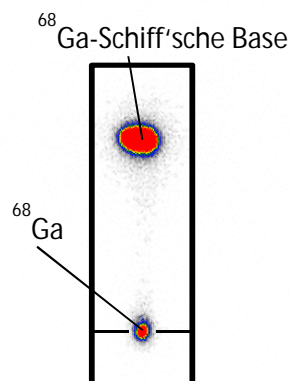


Abbildung 33: Kinetik der  $^{68}\text{Ga}$ -Markierung von 30 nmol BADED-3 in 0,12 M HEPES Puffer

Reaktionskontrolle mittels Dünnschichtchromatographie (DC) zeigte, dass der aktive Komplex mit  $R_f = 0,9$  wanderte, während unkomplexiertes  $^{68}\text{Ga}$  auf der Startlinie liegen blieb (Abbildung 34).



blieb.

Abbildung 34: Reaktionskontrolle der  $^{68}\text{Ga}$ -Markierung der Schiff'schen Basen-Verbindungen mittels DC in 90 % MeOH: 10 % NaCl

### Aufreinigung

Zur Aufreinigung der  $^{68}\text{Ga}$ -Schiff'sche Base Komplexe wurde der Komplex mit Wasser aufgenommen und über eine präkonditionierte C-18-Kartusche gegeben. Durch Spülen mit Wasser konnte nicht komplexiertes Gallium entfernt werden. Der aufgereinigte  $^{68}\text{Ga}$ -Schiff'sche Base Komplex konnte dann mittels Ethanol in < 87 % radiochemischer Reinheit eluiert werden.

## 3.2.2 Radiomarkierung der Flurpiridaz-Schiff'schen Base mit

### $^{68}\text{Ga}$

Da bei der Herstellung der Flurpiridaz Schiff'schen Base eine Mischung aus Di- und Trimeren sowie ein Flurpiridaz-Edukt erhalten wurde, wurden zur ersten Radiomarkierung 50  $\mu\text{l}$  einer 1 mg/ml Stammlösung eingesetzt. Anschließend wurde analog der Beschreibung unter 0 die Markierung mit  $^{68}\text{Ga}$  im wässrigen sowie im organischen Lösungsmittel gearbeitet. Dabei zeigte sich, dass im organischen Lösungsmittel 52 % des Galliums komplexiert wurde (s. Abbildung 35). Allerdings war die Ausbeute der Markierung im wässrigen Lösungsmittel sehr viel geringer (5 %). Von daher ist es nötig zunächst einmal die Mischung erneut aufzureinigen und dann anschließend die Reaktionsbedingungen zu optimieren.

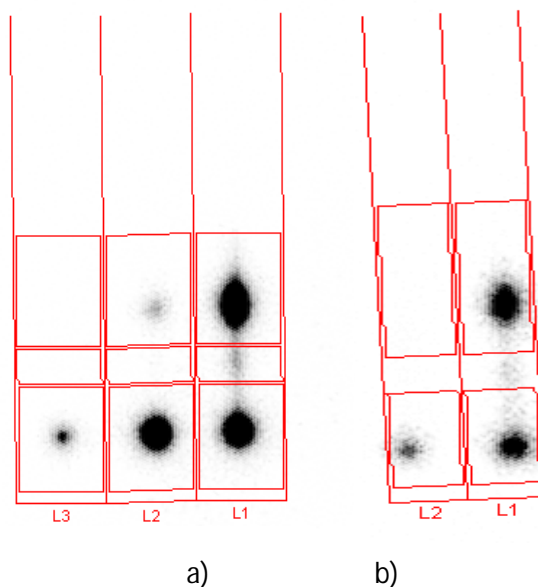


Abbildung 35: DCs der Radiomarkierung der Flurpiridaz-Schiff'schen Base mit  $^{68}\text{Ga}$

a) zeigt links: reines  $^{68}\text{Ga}$ , mitte: Reaktionsmischung im wässrigen, rechts: Reaktionsmischung in Chloroform b) zeigt links: reines  $^{68}\text{Ga}$ , rechts: Eluat der Strata-x-Kartusche. Das Produkt läuft in dem verwendeten Laufmittel nach oben, während  $^{68}\text{Ga}$  liegen bleibt.

Von Nachteil war auch, dass eine Aufreinigung analog zu den  $^{68}\text{Ga}$ -Schiff'schen Basen (s. 0) nicht möglich war.

### 3.2.3 Radiomarkierung des Flurpiridaz mit $^{18}\text{F}$

Als Vergleichssubstanz für die *ex vivo*-Biodistributionen und *in vivo*-PET Daten wurde der Tosylvorläufer des Flurpiridaz mit  $^{18}\text{F}[\text{F}]$  umgesetzt. Anlehnend einer Vorschrift von Purohit et al. für die Fluorierung von Pyridaben-Insektiziden gearbeitet [80]. Die Aufarbeitung des  $^{18}\text{F}$ -Flurpiridaz erfolgte jedoch nicht unter den in der Literatur beschriebenen HPLC-Bedingungen (Laufmittelgradient), sondern (zur Übertragbarkeit auf verschiedene HPLC-Systeme) isokratisch mit konstantem Laufmittelgemisch Acetonitril: Ammoniumformiat 1:1. Hierbei konnte  $^{18}\text{F}$ -Flurpiridaz nach einer Gesamtsynthesezeit von 70-90 Minuten in 99 % Reinheit gewonnen werden (Abbildung 36). Im Anschluss wurde die Produktfraktion mit Wasser verdünnt, auf einer C-18 Kartusche (Strata-X, Phenomenex, USA) fixiert, mit Ethanol eluiert und das Elluat am Rotationsverdampfer eingengt. Analog zu den  $^{68}\text{Ga}$ -Schiff'schen Base Tracern wurde auch das  $^{18}\text{F}$ -Flurpiridaz in isotonischer Kochsalzlösung mit 10 % Ethanolzusatz aufgenommen.

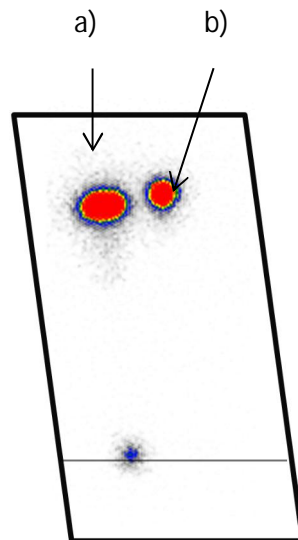


Abbildung 36: Überprüfung der radiochemischen Reinheit des  $^{18}\text{F}$ -Flurpiridaz mittels Radio-DC. a) Reaktionsgemisch vor HPLC-Aufreinigung, b) nach HPLC-Aufreinigung

### 3.2.4 Radiomarkierung des Sestamibi mit $^{99\text{m}}\text{Tc}$

Die Synthese des  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Sestamibi wurde freundlicherweise von der Nuklearmedizin Mainz durchgeführt.



### 3.3 *In vitro*-Evaluierung der $^{68}\text{Ga}$ -Schiff'schen Basen

#### 3.3.1 Bestimmung der Lipophilien (log D-Wert)

Die Ermittlung der Lipophilien fand per „shake-flask-Methode“ statt, bei welcher die Aktivitätsverteilung zwischen Octanol und PBS-Puffer-Phase ermittelt wird. Hervorzuheben ist, dass der erste Durchgang wurde stets verworfen, um Reste von  $^{68}\text{Ga}$  und Salzen zu minimieren, die das Ergebnis der Verteilung beeinträchtigen können. Obwohl die Ergebnisse sowohl mittels Imager als auch dem Curiemeter gemessen wurden, wurden zur Angabe des log D-Wertes lediglich die Imager-Werte verwendet (s. Tabelle 5). Kritisch bei der Verwendung der Daten des Curiemeters wird es, wenn die Aktivität der Octanol- oder PBS-Phasen  $< 50\text{-}100\text{ kBq}$  sind, da sie sich somit nicht mehr deutlich genug von der Untergrundaktivität abheben. Im Falle der sehr lipophilen  $^{68}\text{Ga}$ -Schiff'sche Base Komplexe war bereits nach dem ersten Durchgang die Aktivität in der wässrigen Phase sehr gering. Durch die Berechnung des log D-Wertes durch folgende Gleichung:

$$\text{Log } D = \text{Log} \left( \frac{\text{Aktivität}_{\text{Octanol}}}{\text{Aktivität}_{\text{PBS}}} \right)$$

*Formel 5: Berechnung des log D Wertes der  $^{68}\text{Ga}$ -Schiff'schen Basen*

entstehen somit im Falle der  $^{68}\text{Ga}$ -Schiff'schen Basen künstlich erhöhte log D-Werte.

Zur Vergleichbarkeit der beiden Methoden wurde  $^{68}\text{Ga}$ -BAPEN-2 synthetisiert, aufgereinigt und 6-mal die Verteilung der Octanol-Wasser-Aktivität gemessen, wobei auf eine Mehrfachextraktion verzichtet wurde. Es ergaben sich dabei ein  $\log D = 1,44 \pm 0,1$  für die Curiemetermessung, sowie  $\log D = 1,44 \pm 0,07$  für die Messung mittels Imager. Die Methoden sind somit vergleichbar.

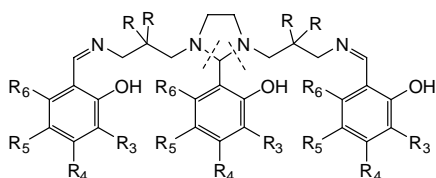


Abbildung 37: Darstellung der verschiedenen Schiff'schen Basen.  $R = \text{H}$  oder  $-\text{CH}_3$ ,  $R_3\text{-}R_6$  (s. Tabelle 5)

Die folgende Tabelle gibt eine Übersicht über die Ergebnisse der Lipophilie-Bestimmung:

Tabelle 5: Übersicht über die  $^{68}\text{Ga}$ -Schiff'schen Basen und die Ergebnisse der Lipophiliebestimmung, geordnet nach steigender Lipophilie

Verbindung	Rückgrat	R3	R4	R5	R6	log D
$^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Sestamibi						0,64±0,25
$^{68}\text{Ga}$ -BAPEN-3	1	H	H	Br	H	0,87±0,24
$^{68}\text{Ga}$ -BAPDMEN-1	2	H	OCH <sub>3</sub>	H	OCH <sub>3</sub>	1,07±0,27
$^{68}\text{Ga}$ -BADED-2	3	OCH <sub>3</sub>	H	H	H	1,16±0,09
$^{68}\text{Ga}$ -BAPDMEN-2	2	OCH <sub>3</sub>	H	H	H	1,16±0,05
$^{68}\text{Ga}$ -BADED-6	3	H	H	NO <sub>2</sub>	H	1,30±0,16
$^{68}\text{Ga}$ -BADED-7	3	H	N(CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	H	H	1,46±0,06
$^{68}\text{Ga}$ -BAPDMEN-3	2	H	H	Br	H	1,48±0,14
$^{68}\text{Ga}$ -BADED-4	3	H	H	H	H	1,60±0,03
$^{68}\text{Ga}$ -BAPEN-1	1	H	OCH <sub>3</sub>	H	OCH <sub>3</sub>	1,60±0,15
$^{68}\text{Ga}$ -BAPEN-2	1	OCH <sub>3</sub>	H	H	H	1,71±0,17
$^{18}\text{F}$ -Flurpiridaz						1,76±0,31
$^{68}\text{Ga}$ -BADED-1	3	H	OCH <sub>3</sub>	H	OCH <sub>3</sub>	1,92±0,14
$^{68}\text{Ga}$ -BADED-5	3	OCH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	H	H	H	2,03±0,09
$^{68}\text{Ga}$ -BADED-9	3	H	H	C(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub>	H	2,43±0,12
$^{68}\text{Ga}$ -BADED-3	3	H	H	Br	H	2,49±0,07
$^{68}\text{Ga}$ -BADED-8	3	OCH <sub>3</sub>	H	Br	H	2,72±0,14

Aus der Tabelle wird ersichtlich, dass das BADED-Rückgrat auf Grund seiner 4 zusätzlichen Methylengruppen Verbindungen mit höherer Lipophilie bildet. Trotz lediglich geringer Änderungen im Molekül variierten die logP Werte von 0,87±0,24 bis 2,72±0,14. Kim et al. verglichen mehrere kationische  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Verbindungen aus der Literatur und kamen zu dem Schluss,

dass für diese Verbindungen der ideale logP-Wert zwischen 0,9 und 1,2 liegt [43]. Alle hier untersuchten Verbindungen liegen in diesem Spektrum bzw. sind leicht lipophiler.

### 3.3.2 Bestimmung der *in vitro*-Stabilitäten

Die  $^{68}\text{Ga}$ -Schiff'schen Basen Verbindungen wurden alle in Zweifachbestimmung über einen Zeitraum von 60 Minuten auf ihre Stabilität in a) humanem Serum, b) isotonischer Kochsalzlösung und c) gegen apo-Transferrin getestet. Die Stabilität in diesen Medien ist deshalb wichtig, weil

- der Tracer intravenös appliziert wird. Er kommt somit unmittelbar mit dem Blut in Kontakt und sollte in Anwesenheit der dort enthaltenen Proteine stabil sein.  
(→ humanes Serum)
- das Radiopharmakon zur Applikation in isotonischem Kochsalz aufgenommen wird, um in dieser Form dem Patienten appliziert zu werden.  
(→ isotonische Kochsalzlösung)
- apo-Transferrin ein im Körper häufiges Glykoprotein ist, welches dort die Aufgabe hat, Eisen zu transportieren. Auf Grund der Homologie des Eisens zum Gallium besitzt das Protein auch eine hohe Gallium-Stabilitätsbindungskonstante. Daher ist es wichtig, dass der eingesetzte Komplex stabil gegenüber apo-Transferrin ist.  
(→ apo-Transferrin)

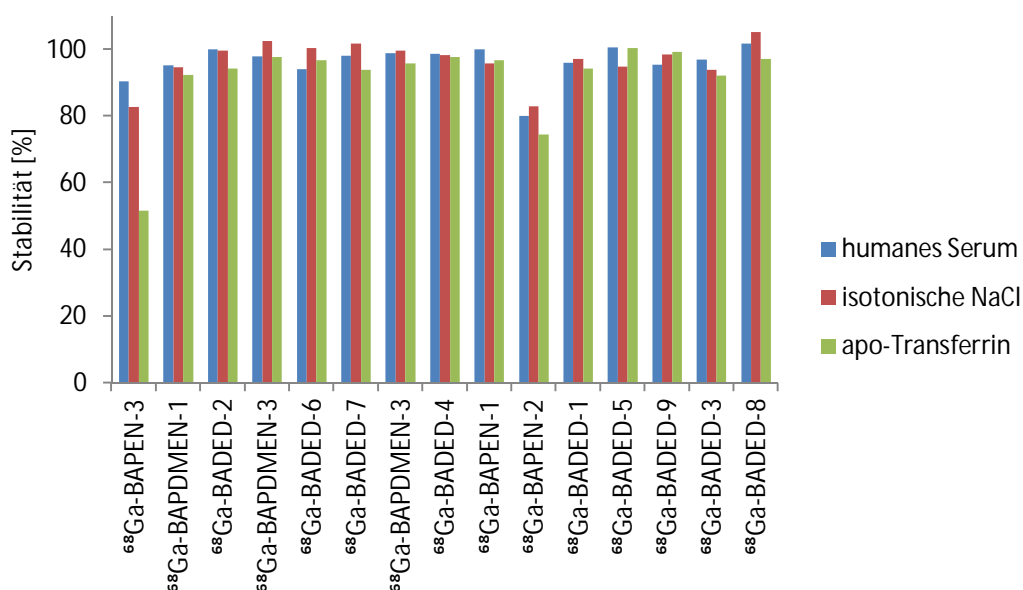


Abbildung 38: Ergebnisse der Stabilitäten der  $^{68}\text{Ga}$ -Schiff'schen Basen in isotonischer Kochsalzlösung, humanem Serum und apo-Transferrin nach 60 Minuten

Die Ergebnisse der *in vitro*-Stabilitäten der  $^{68}\text{Ga}$ -Schiff'schen Basen-Komplexe sind in Abbildung 38 und Tabelle 6 gezeigt. Man erkennt, dass alle Verbindungen hohe *in vitro*-Stabilitäten ( $\geq 92\%$ ) aufweisen. Ausnahmen davon sind die Verbindung  $^{68}\text{Ga}$ -BAPEN-3 mit 83 % in isotonischer Kochsalzlösung sowie 52 % in apo-Transferrin sowie  $^{68}\text{Ga}$ -BAPEN-2 mit 74 % in apo-Transferrin, 83 % in isotonischer Kochsalzlösung sowie 80 % im humanen Serum. Die Messwerte zu den Stabilitätsbestimmungen sind im Anhang zu finden.

Tabelle 6: Stabilitäten der  $^{68}\text{Ga}$ -Schiff'schen Basen-Verbindungen [%] in den Medien: a) humanes Serum, b) isotonische Kochsalzlösung und c) apo-Transferrin nach 60 Minuten

Verbindung	log D	humanes Serum	isotonische NaCl	apo-Transferrin
$^{68}\text{Ga}$ -BAPEN-3	0,87±0,24	90	83	52
$^{68}\text{Ga}$ -BADMEN-1	1,07±0,27	95	95	92
$^{68}\text{Ga}$ -BADED-2	1,16±0,09	100	100	94
$^{68}\text{Ga}$ -BAPDMEN-2	1,16±0,05	98	103	98
$^{68}\text{Ga}$ -BADED-6	1,3±0,16	94	100	97
$^{68}\text{Ga}$ -BADED-7	1,46±0,06	98	102	94
$^{68}\text{Ga}$ -BAPDMEN-3	1,48±0,14	99	100	96
$^{68}\text{Ga}$ -BADED-4	1,6±0,03	99	98	98
$^{68}\text{Ga}$ -BAPEN-1	1,6±0,15	100	96	97
$^{68}\text{Ga}$ -BAPEN-2	1,71±0,17	80	83	74
$^{68}\text{Ga}$ -BADED-1	1,92±0,14	96	97	94
$^{68}\text{Ga}$ -BADED-5	2,03±0,09	101	95	101
$^{68}\text{Ga}$ -BADED-9	2,43±0,12	96	98	99
$^{68}\text{Ga}$ -BADED-3	2,49±0,07	97	94	92
$^{68}\text{Ga}$ -BADED-8	2,72±0,14	102	105	97

### 3.3.3 Bestimmung der Ladung der <sup>68</sup>Ga-Schiff'sche Base

#### Verbindungen

Da sich durch die <sup>99m</sup>Tc -Radiopharmaka Sestamibi und Tetrofosmin gezeigt hat, dass eine positive Ladung durch das negative Zell- und Mitochondrienmembranpotential vorteilhaft für die Retention des Radiopharmakons in der Herzzelle ist, wurden die synthetisierten <sup>68</sup>Ga-Schiff'schen Basen-Verbindungen auf ihre Ladung hin überprüft. Dazu wurden die aktiven Verbindungen wie unter 0 beschrieben synthetisiert, aufgereinigt und anschließend mittels Papierelektrophorese untersucht. Essentiell dabei war, dass die Versuche unter dem physiologischen pH= 7 stattfinden sollten. Durch die hohe Lipophilie der <sup>68</sup>Ga-Schiff'schen Basen Verbindungen und ihrer Wechselwirkung der mit dem Trägermaterial musste ein hoher Ethanolanteil zugesetzt werden (50 %). Bei der Durchführung der Elektrophorese zeigte sich, dass trotz Anlegen einer konstanten Spannung von 600 Volt unterschiedliche Widerstände und somit, nach der Gleichung  $U=R \cdot I$ , auch unterschiedliche Stromstärken und somit Ladungstransporte pro Zeit stattfanden. Die Papierelektrophorese wird durch vielerlei Faktoren entscheidend beeinflusst [81] [81] [82]:

- Der Zusammensetzung des Laufmittels.
- Die Größe und Art des verwendeten Papierstreifens.
- Des Einweichungsgrades des Papiers mit dem Laufmittel.
- Der Kühlung der Elektrophoresekammer und der Lauffläche (da sonst ein Großteil des Laufmittelgemisches durch die Wärmeentwicklung verdunstet und sich somit auch die Zusammensetzung dieses verändert).

Da die Angabe von  $R_f$ -Werten stark fehlerbehaftet ist, wurde auf die Ermittlung dieser verzichtet. Alle <sup>68</sup>Ga-Schiff'schen Basen Verbindung zeigen jedoch, dass sie sich deutlich von der Startlinie weg zur Kathode hin bewegen (s. Abbildung 39). Dies stimmt mit den Ergebnissen von Tsang et al. überein, die die Verbindung <sup>67</sup>Ga-BAPEN-1 mittels Zelluloseacetat-Elektrophorese analysiert haben [72].

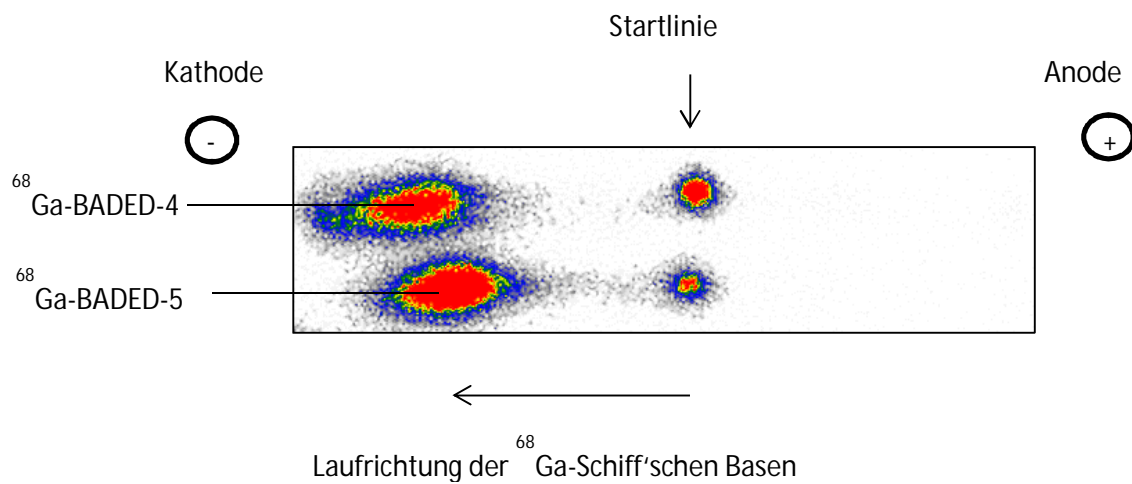


Abbildung 39: Elektrophorese von  $^{68}\text{Ga}$ -BADED-4 und  $^{68}\text{Ga}$ -BADED-5

### 3.3.4 *In vitro*-Zellversuche

Zur Bestimmung der Vitalität der Kardiomyozyten sollte sich ein geeigneter Herztracer einerseits in den vitalen Herzzellen anreichern und dort retiniert werden und sich andererseits nicht im irreversibel geschädigtem Gewebe (Narbangewebe) anreichern. Dieses Verhalten ist für die beiden  $^{99m}\text{Tc}$ -Radiopharmaka Tetrofosmin und Sestamibi nachgewiesen [37][40]. Um zu überprüfen, ob die  $^{68}\text{Ga}$ -Schiff'schen Basen-Verbindungen ein ebenso günstiges Verhalten aufweisen, wurde die Aufnahme dieser Verbindungen in HL-1 Mäuseherzzellen bestimmt. Kontrollzellen wurden zum Vergleich mit Valinomycin vorbehandelt. Dieses Ionophor zerstört das Zellmembranpotential und soll somit irreversibel geschädigten Kardiomyozyten imitieren. In diesen Zellen erwartete man dementsprechend eine geringere Aufnahme des Herztracers.

Nach einer Inkubationszeit wurden die Zellen vom Medium getrennt und die Aktivität der beiden Phasen bestimmt. Dabei zeigte sich, dass:

- die Aufnahme der Tracer in die Herzzellen über ein großes Spektrum variiert (zwischen 3 und 46 %, Abbildung 40). Dabei fällt auf, dass besonders die Verbindungen  $^{68}\text{Ga}$ -BADED-7 und  $^{68}\text{Ga}$ -BADED-9 eine hohe Aufnahme (> 40 %) in die Herzzellen haben.
- die Zellaufnahme nicht eindeutig mit der Lipophilie korreliert (Abbildung 40). Die Annahme, dass man durch eine steigende Lipophile somit auch eine höhere Aufnahme in die Herzzellen erhält, konnte nicht bestätigt werden. Allerdings fällt auf, dass sowohl  $^{68}\text{Ga}$ -BADED-7 als auch  $^{68}\text{Ga}$ -BADED-9 im Vergleich zu den anderen Tracern eine deutlich höhere Aufnahme haben. Da beide über Ethylgruppen verfügen, könnte dies möglicherweise in einer Wechselwirkung dieser Gruppen mit der Zellmembran begründet liegen.

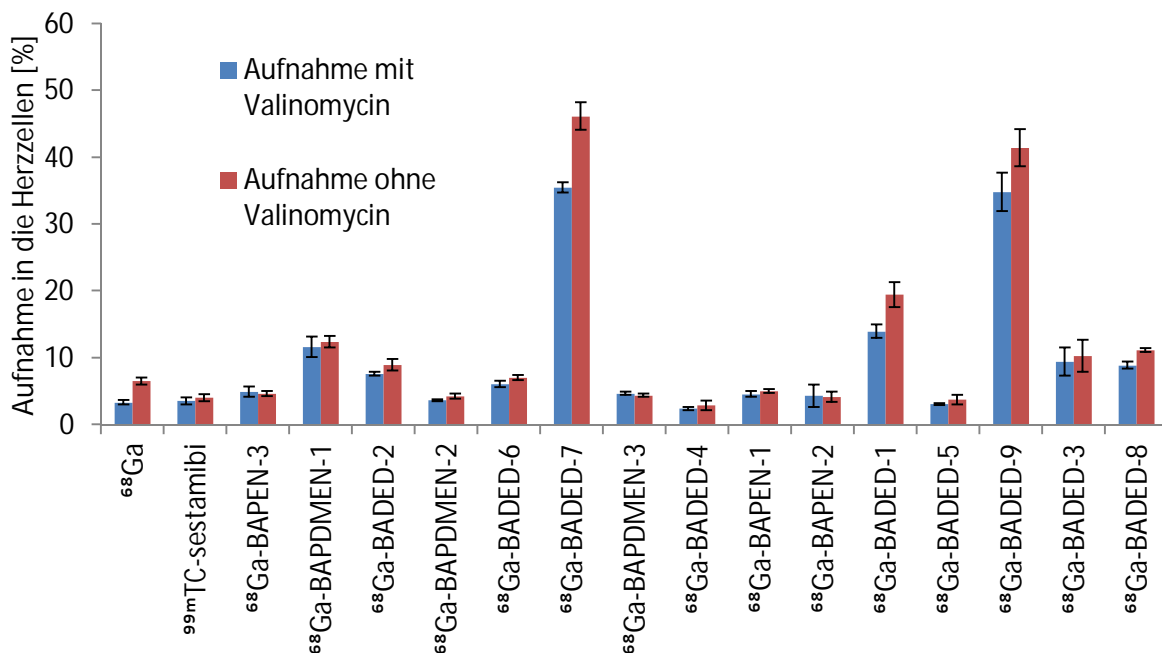


Abbildung 40: Zellaufnahme der  $^{68}\text{Ga}$ -Schiff'schen Basen-Verbindungen in An- und Abwesenheit von Valinomycin geordnet nach steigender Lipophilie der Tracer

- die Zugabe des Valinomycins die Aufnahme der meisten Tracer sowie der Referenzverbindung  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Sestamibi in die Herzzellen um 7-28 % reduziert. Die Aufnahme des reinen  $^{68}\text{Ga}$  konnte mittels Valinomycin sogar um fast 50 % reduziert werden. Grund dafür könnte die größere Ladung des  $\text{Ga}^{3+}$  sein (Abbildung 41).
- Einen gegenteiligen Effekt besitzen die Tracer  $^{68}\text{Ga}$  -BAPEN-3,  $^{68}\text{Ga}$  -BAPDMEN-3,  $^{68}\text{Ga}$  -BAPEN-2. Diese zeigten sogar 4-6 % mehr Zellaufnahme mit Valinomycin. Da die Aufnahme des reinen  $^{68}\text{Ga}$  extrem deutlich reduziert werden konnte ist dies vermutlich kein Effekt einer labilen Komplexbildung.



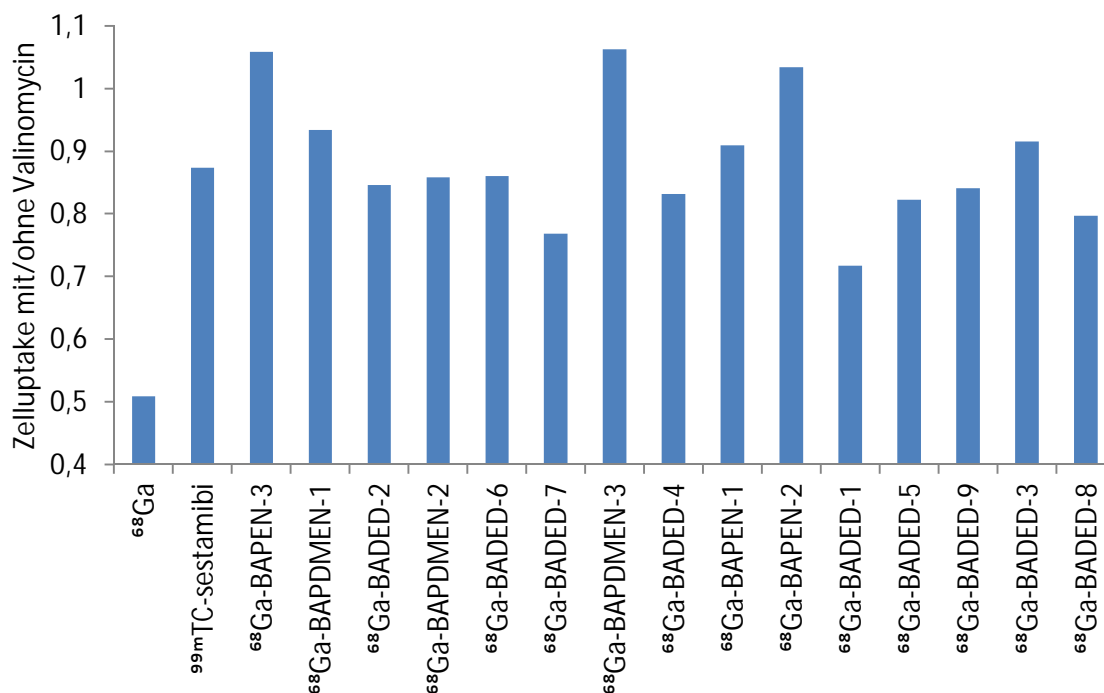


Abbildung 41: Verhältnis der Zellaufnahme des Tracers in Anwesenheit von Valinomycin im Vergleich zu den Kontrollzellen ohne Valinomycinzusatz, aufgetragen gegen die Tracer in steigender Lipophilie

- auch der Einfluss des Zell- oder Mitochondrienmembranpotentials auf die Traceraufnahme nicht eindeutig mit der Lipophilie korreliert (Abbildung 41).

Neben  $^{68}\text{Ga}$ -BADED-7 und  $^{68}\text{Ga}$ -BADED-9 zeigen auch die Verbindungen  $^{68}\text{Ga}$ -BAPDMEN-1 und  $^{68}\text{Ga}$ -BADED-1 hohe Aufnahme in die Herzzellen. In beiden Verbindungen wurde das Aldehyd 4,6-Dimethoxysalicylaldehyd mit dem jeweiligen Rückgrat 2 bzw. 3 synthetisiert. Das hydrophilere BAPEN mit dem dazugehörigen Aldehyd, die Verbindung  $^{68}\text{Ga}$ -BAPEN-1, sowie die zwei anderen Verbindungen dieses Rückgrates ( $^{68}\text{Ga}$ -BAPEN-2 und  $^{68}\text{Ga}$ -BAPEN-3) zeigen nur eine sehr geringe Zellaufnahme. Besonders deutlich wird das, wenn man die Verbindungen nach dem Rückgrat sortiert (Abbildung 42). Hier kann man deutlich erkennen, dass allgemein das Rückgrat BADED die höchsten Zellaufnahmen aufweist. Vielleicht kommt auch dieses durch eine Wechselwirkung der Isomethylgruppen mit der Zellmembran zustande.

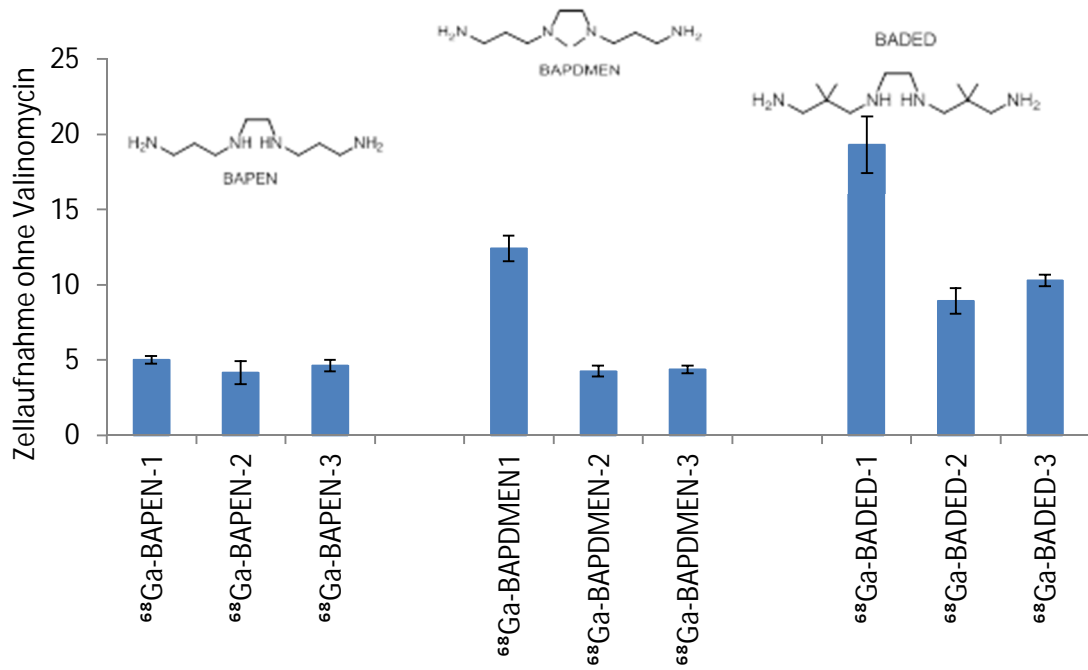


Abbildung 42: Zellaufnahme in Abhängigkeit des verwendeten Rückgrats

Schon zuvor wurde publiziert, dass die Aufnahme der Tracer bis  $\log D = 1$  ansteigt und danach sensitiv gegenüber der Anwesenheit von Alkoxygruppen sei [74].

### 3.3.5 *In vivo*-PET-Daten

Zur Bestimmung der *in vivo*-Aufnahme der  $^{68}\text{Ga}$ -Schiff'schen Basen in das Herz wurden PET-Aufnahmen von allen Verbindungen in Sprague-Dawley Ratten durchgeführt. Über 60 Minuten nach Injektion wurden Zeit-Aktivitätskurven (time activity curve= TAC-Kurven) bestimmt. Abbildung 43 zeigt ausgewählte TAC-Kurven der Verbindungen  $^{68}\text{Ga}$ -BAPDMEN-2,  $^{68}\text{Ga}$ -BADED-2,  $^{68}\text{Ga}$ -BAPEN-2 und  $^{68}\text{Ga}$ -BAPDMEN-2.

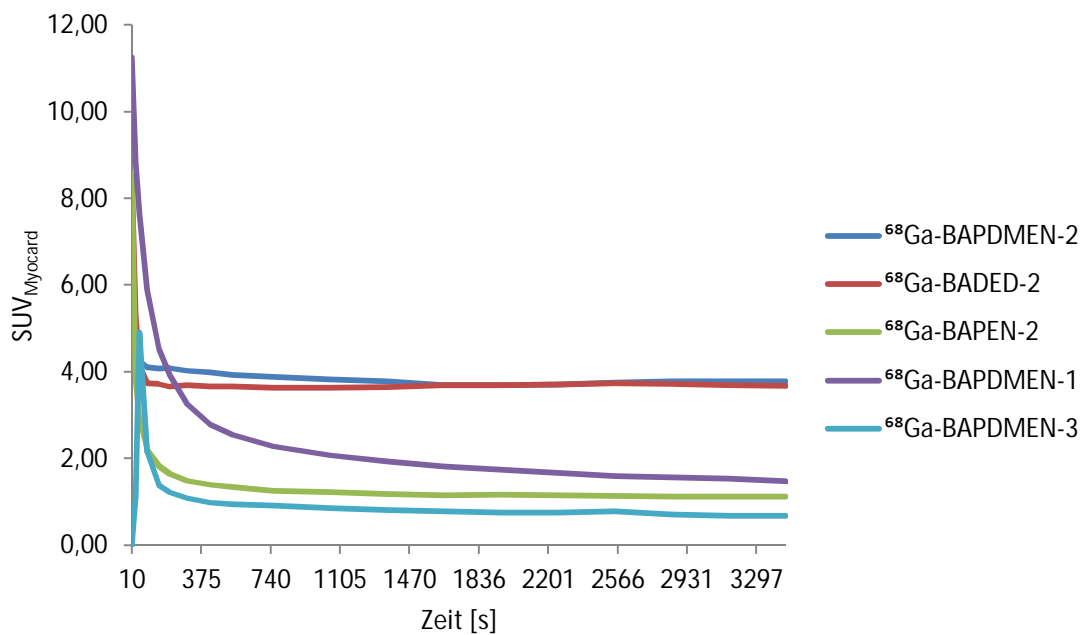


Abbildung 43: TAC-Kurven ausgewählter  $^{68}\text{Ga}$ -Schiff'sche Basen-Verbindungen

Daraus wird deutlich, dass alle Komplexe zunächst auf Grund der Bolus-Injektion des Radiotracers eine deutliche Aufnahme im Herzen zeigen. Nach etwa 5-10 Minuten erreichen alle Tracer ein konstantes Niveau. Die Tracer werden danach über den gesamten Messzeitraum (60 min) im Herzen retardiert und zeigen somit ein für einen Herztracer gewünschtes Verhalten einer schnellen Aufnahme sowie geringen Wash-Outs [32].

Die folgende Tabelle 7 gibt einen Überblick über die gemessenen  $SUV_{Myokard}$  ( $SUV=$  standardized uptake value) zum Zeitpunkt  $t= 60$  min.

*Tabelle 7: Überblick über die über PET ermittelten  $SUV_{Myokard}$  zum Zeitpunkt  $t= 60$  min, geordnet nach steigender Lipophilie.*

Tracer	Lipophilie	$SUV_{Myokard}$
$^{68}\text{Ga}$ -BAPEN-3	$0,87\pm 0,24$	$0,63\pm 0,15$
$^{68}\text{Ga}$ -BAPDMEN-1	$1,07\pm 0,27$	$1,66\pm 0,26$
$^{68}\text{Ga}$ -BADED-2 (♂ Männchen)	$1,16\pm 0,09$	$3,35\pm 0,47$
$^{68}\text{Ga}$ -BADED-2 (♀ Weibchen)	$1,16\pm 0,09$	$2,18\pm 0,66$
$^{68}\text{Ga}$ -BAPDMEN-2	$1,16\pm 0,05$	$2,98\pm 1,12$
$^{68}\text{Ga}$ -BADED-6	$1,3\pm 0,16$	$0,46\pm 0,11$
$^{68}\text{Ga}$ -BADED-7	$1,46\pm 0,06$	$0,57\pm 0,02$
$^{68}\text{Ga}$ -BAPDMEN-3	$1,48\pm 0,14$	$0,68$
$^{68}\text{Ga}$ -BADED-4	$1,6\pm 0,03$	$3,16\pm 0,15$
$^{68}\text{Ga}$ -BAPEN-1	$1,6\pm 0,15$	$2,07\pm 0,02$
$^{68}\text{Ga}$ -BAPEN-2	$1,71\pm 0,17$	$1,11$
$^{18}\text{F}$ -Flurpiridaz	$1,76\pm 0,31$	$6,85$
$^{68}\text{Ga}$ -BADED-1	$1,92\pm 0,14$	$1,29$
$^{68}\text{Ga}$ -BADED-5	$2,03\pm 0,09$	$2,29\pm 0,74$
$^{68}\text{Ga}$ -BADED-9	$2,4\pm 0,12$	$0,93$
$^{68}\text{Ga}$ -BADED-3	$2,49\pm 0,07$	$0,92\pm 0,33$
$^{68}\text{Ga}$ -BADED-8	$2,72\pm 0,14$	$2,72\pm 0,86$

Die gemessenen SUVs liegen im Bereich von 0,46 bis 3,35 und sind damit trotz zum Teil hoher Aufnahme und hervorragender Bildgebung deutlich niedriger als die Vergleichssubstanz  $^{18}\text{F}$ -

Flurpiridaz. Zudem zeigt sich, dass die Aufnahme in den größeren männlichen Tieren höher ist als in den kleineren Weibchen. Eigentlich sollte das Gewicht bei der Bestimmung der SUVs keinen Einfluss haben, da diese auf das Gewicht normiert werden. Dennoch ist das Herzvolumen einer männlichen, großen Ratte sehr viel größer als das einer kleinen weiblichen Ratte, wodurch vermutlich bei Gewichtsunterschieden kein unmittelbarer Vergleich der SUV-Werte möglich ist (s.a. [83]).

Die folgende Abbildung zeigt die SUV-Daten der  $^{68}\text{Ga}$ -Schiff'schen Basen mit steigender Lipophilie.

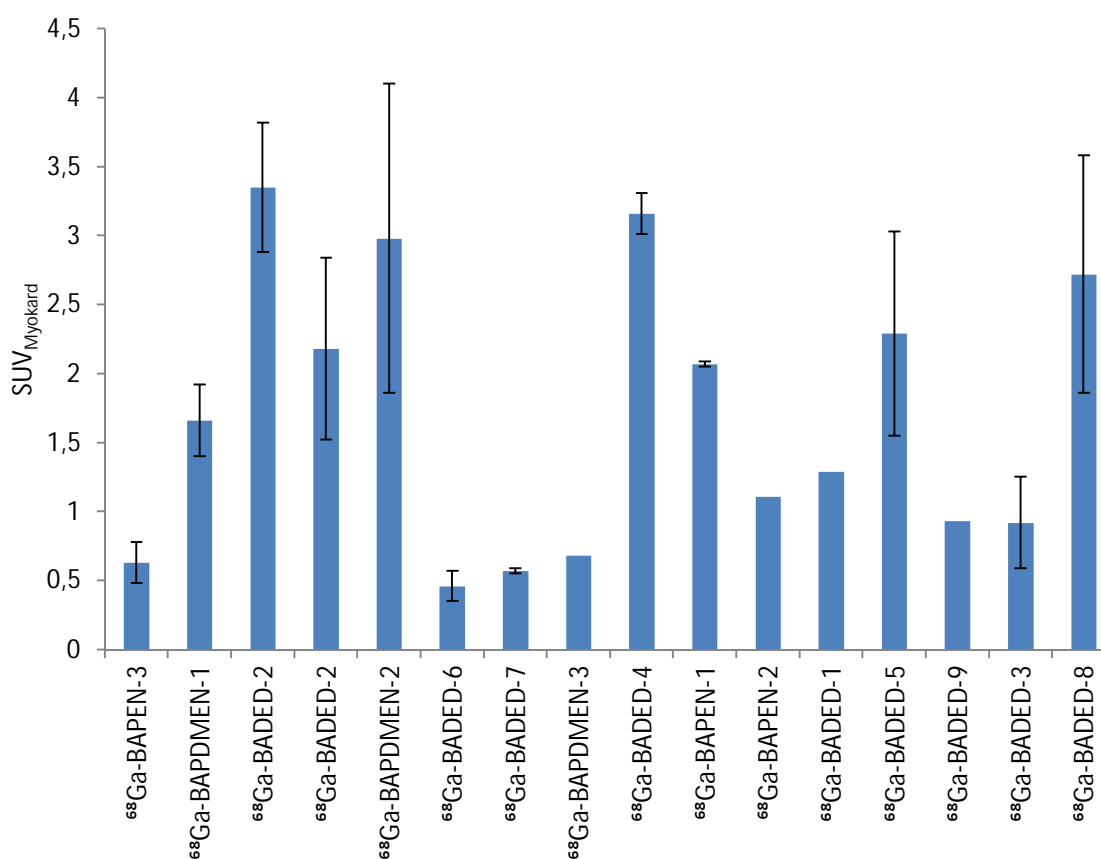


Abbildung 44: Abhängigkeit der SUVs der  $^{68}\text{Ga}$ -Schiff'schen Basen von der Lipophilie.

Auch die *in vivo* Daten zeigen keine direkte Korrelation der Lipophilie mit der Aufnahme ins Herz.

Zur detaillierteren Auswertung hinsichtlich Struktur-Wirkungsbeziehung wurden die Verbindungen auch nach dem verwendeten Rückgrat zusammengefasst (Abbildung 45):

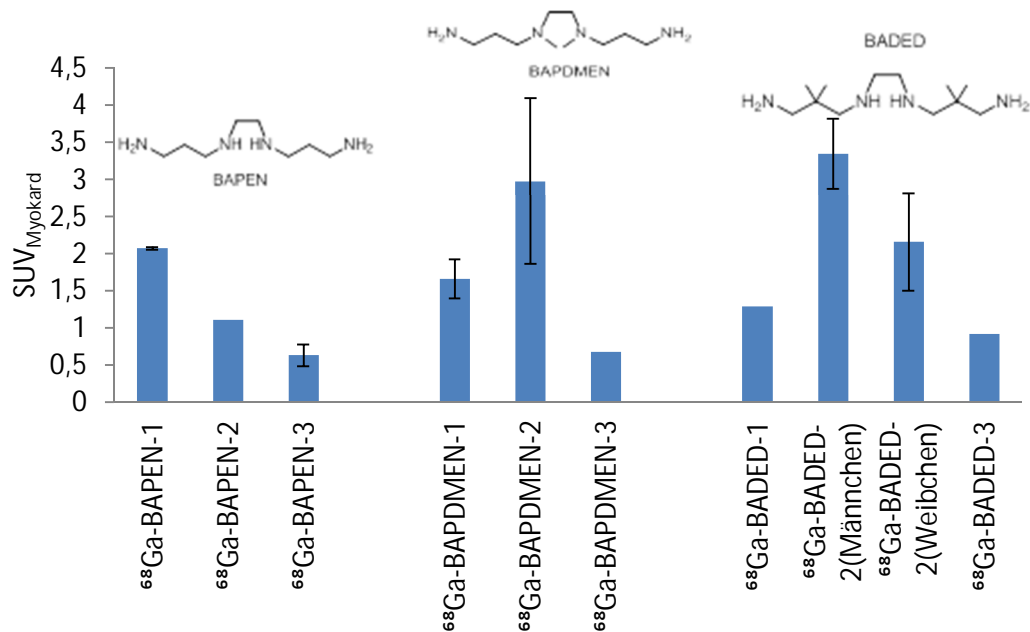


Abbildung 45: SUVs der  $^{68}\text{Ga}$ -Schiff'schen Basen in Abhängigkeit vom Rückgrat

Im Gegensatz zu den *in vitro*-Daten, bei welchen Verbindungen mit Rückgrat 3 eindeutig die höchste Anreicherung in den Herzzellen zeigte, ist hier das Bild nicht mehr einheitlich. Alle drei Rückgrate haben hohe und weniger hohe Herzaufnahmen zwischen 0,63 und 2,98 (Weibchen) bzw. 3,35 (Männchen). Dafür zeigen beides Mal die Rückgrate 2 und 3 mit 3-Methoxysalicylaldehyd die höchste Aufnahme in das Myokard. Zudem wird deutlich, dass alle mit 5-Brom-Salicylaldehyd (Aldehyd 3) gekoppelten Verbindungen die geringste Aufnahme ins Herz aufweisen (s. Abbildung 46).

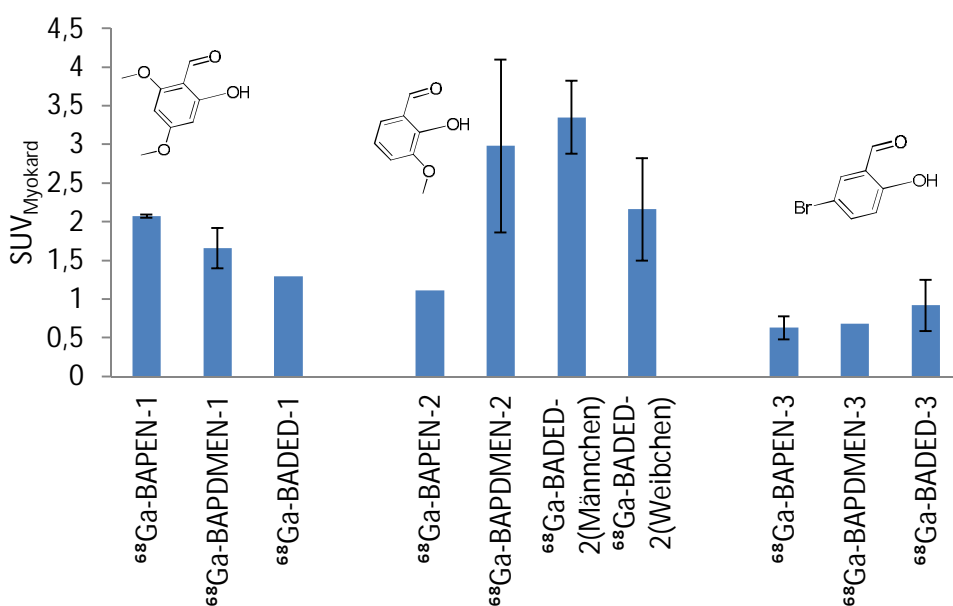


Abbildung 46: SUVs der  $^{68}\text{Ga}$ -Schiff'schen Basen in Abhängigkeit der Aldehyde

Beispielhaft für die gute Visualisierung des Herzens mittels  $^{68}\text{Ga}$ -Schiff'schen Basen ist Abbildung 47. Man sieht sowohl in den axialen als auch koronaren Schnitten der PET-Bilder eindeutig die Aktivitätsanreicherung im Herzen. Des Weiteren zeigt sich eine hohe Aktivität im Abdomen.

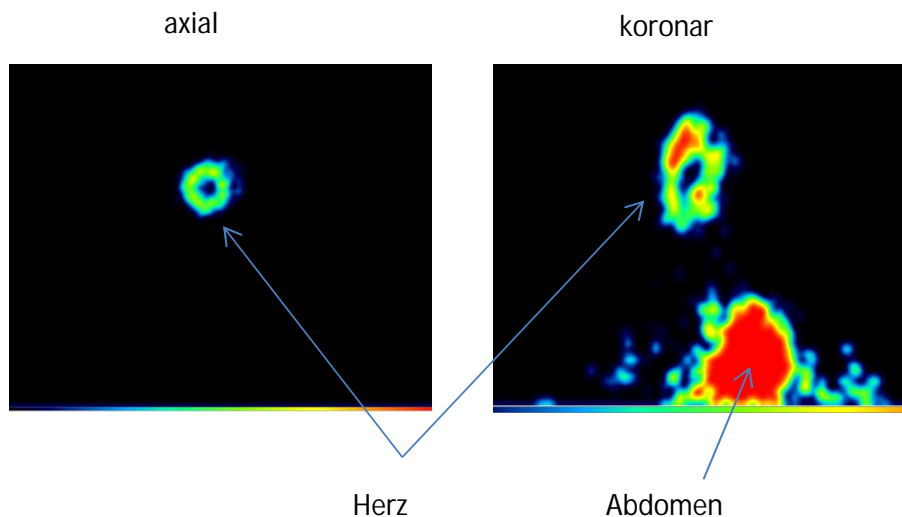


Abbildung 47: PET-Bild von  $^{68}\text{Ga}$ -BADED-2,  $t= 900\text{ s}-3600\text{ s}$  in einer Sprague-Dawley Ratte

Zum Vergleich der  $^{68}\text{Ga}$ -Schiff'schen Basen wurde neben dem literaturbekannten Derivat  $^{68}\text{Ga}$ -BAPDMEN-2 auch das  $^{18}\text{F}$ -Flurpiridaz in *in vivo*-PET-Messungen untersucht. Die TAC-Kurve zeigt hier in den ersten 7 Minuten einen leichten Anstieg und fällt dann ganz sanft ab. Dabei bewegt sich die Aktivitätsmenge jedoch konstant in einem Bereich hohen SUV-Bereich von 6-7 SUV.

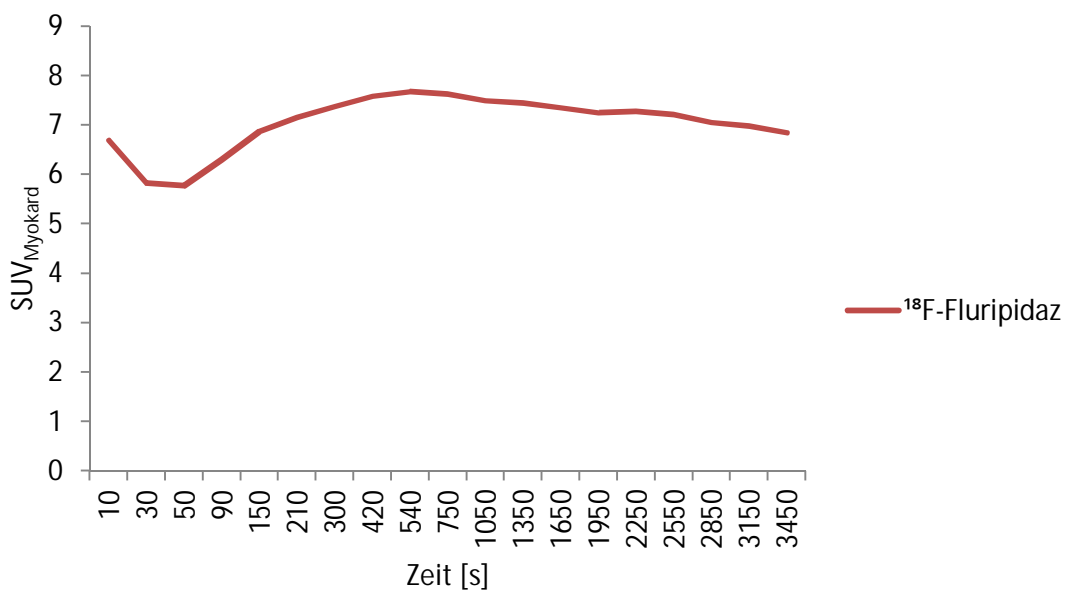


Abbildung 48: TAC des  $^{18}\text{F}$ -Flurpiridaz

Um Informationen über die unterschiedliche Verteilung der Radioaktivität im Körper zu erhalten (Abbildung 49) wurden sowohl von dem  $^{18}\text{F}$ -Flurpiridaz als auch von  $^{68}\text{Ga}$ -BAPDMEN-2 Ganzkörper-PET-Aufnahmen nach Akquisition der dynamischen Bilder (d.h. rund 60 Minuten nach Injektion des Tracers) gemacht. Man erkennt hierbei sehr deutlich die sehr hohe Aktivitätsaufnahme des  $^{18}\text{F}$ -Flurpiridaz im Herzen. Dies entspricht den Beobachtung von Yalamanchili et al. in Mäusen [63], Yu et al. in Ratten [64] und Sherif et al. in Schweinen [65]. Geringe Aktivitätsmengen sind auch im Abdomen sowie eine leichte „Hintergrundaktivität“, vermutlich durch Aufnahme des Tracers ins Körpermuskelgewebe, erkennbar. Das  $^{68}\text{Ga}$ -BADMEN-2 hingegen zeigt eine geringere Aufnahme ins Herz, allerdings auch eine deutlich geringere Aufnahme in die Leber. Dieser Befund wird auch durch die Ergebnisse der Biodistributionen, die unter Punkt 0 besprochen werden, gestützt. Hier zeigt das  $^{18}\text{F}$ -Flurpiridaz ein Herz: Leber-Verhältnis von 8,2 während das Verhältnis bei  $^{68}\text{Ga}$ -BADMEN-2 bei 18,6 liegt. Wie auch aus den PET-Aufnahmen hervorgeht, ist die Aufnahme der Aktivität in den Nieren beim BAPDMEN-2 deutlich höher als beim  $^{18}\text{F}$ -Flurpiridaz. Allerdings ist der Abstand zwischen Herz und Niere größer als zwischen Herz und Leber und sollte dementsprechend die Bildgebung des Herzens nicht mehr beeinflussen.

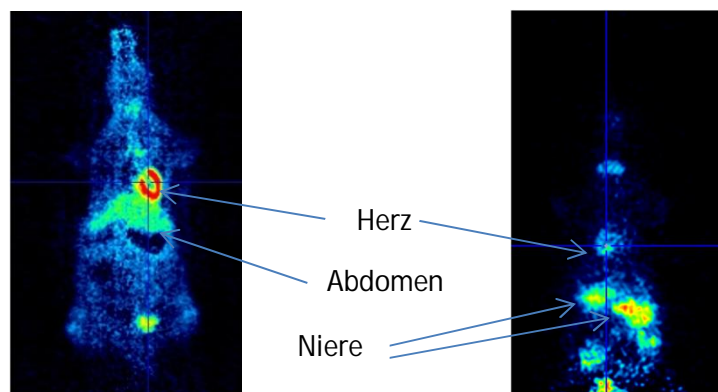


Abbildung 49: Vergleich der *in vivo*-PET-Ganzkörperbilder des  $^{18}\text{F}$ -Flurpiridaz mit dem  $^{68}\text{Ga}$ -BAPDMEN-2.



### 3.3.6 Ex vivo-Biodistributionen

Da die Ermittlung des  $SUV_{Myokard}$  zeigte, dass die männlichen Tiere mit dem Tracer  $^{68}\text{Ga}$ -BADED-2 die höchste Aufnahmen zeigten, wurde dieser Tracer zur genaueren Quantifizierung der Organverteilungen für eine Biodistributionsstudie ausgewählt. Als Vergleichssubstanzen wurde analog zu den Messungen mit  $^{68}\text{Ga}$ -BADED-2 Biodistributionen mit  $^{99m}\text{Tc}$ -Sestamibi,  $^{18}\text{F}$ -Flurpiridaz und  $^{68}\text{Ga}$ -BAPDMEN-2 durchgeführt. Für diese ex vivo-Studien wurden pro Tracer jeweils vier Tiere (2 Männchen und 2 Weibchen) untersucht. Für die Biodistributionsstudie wurde die Aktivitätsverteilung 60 min p.i. des Tracers in Lunge, Herz, etc. bestimmt und die prozentuale Dosis pro Gramm Gewebe bestimmt (%inj. Dosis/g Gewebe). Die Ergebnisse sind in Tabelle 8 für  $^{68}\text{Ga}$ -BADED-2, in Tabelle 9 für  $^{99m}\text{Tc}$ -Sestamibi, in Tabelle 10 für  $^{18}\text{F}$ -Flurpiridaz sowie in Tabelle 11 für  $^{68}\text{Ga}$ -BAPDMEN-2 zusammengefasst.

Tabelle 8: Ex vivo-Organaufnahmen und Herz-zu-Organ-Verhältnisse von  $^{68}\text{Ga}$ -BADED-2 nach 60 Minuten

	$^{68}\text{Ga}$ -BADED-2		
	insgesamt	Männchen ( $\pm 190$ g)	Weibchen ( $\pm 220$ g)
Lunge	0,46% $\pm$ 0,18%	0,61% $\pm$ 0,11%	0,31% $\pm$ 0,06%
Blut	0,05% $\pm$ 0,01%	0,07% $\pm$ 0,01%	0,04% $\pm$ 0,00%
Leber	0,29% $\pm$ 0,13%	0,41% $\pm$ 0,07%	0,18% $\pm$ 0,01%
Milz	0,58% $\pm$ 0,21%	0,76% $\pm$ 0,12%	0,39% $\pm$ 0,03%
Niere	3,07% $\pm$ 0,60%	3,60% $\pm$ 0,30%	2,55% $\pm$ 0,05%
Muskel	0,22% $\pm$ 0,11%	0,32% $\pm$ 0,05%	0,12% $\pm$ 0,01%
Herz	1,94% $\pm$ 0,49%	2,39% $\pm$ 0,06%	1,49% $\pm$ 0,09%
Hirn	0,01% $\pm$ 0,00%	0,01% $\pm$ 0,00%	0,01% $\pm$ 1,23%
Verhältnisse			
Herz:Blut	35,73 $\pm$ 4,25	35,92 $\pm$ 2,00	35,44 $\pm$ 2,04
Herz:Lunge	4,22 $\pm$ 1,66	3,90 $\pm$ 0,90	4,88 $\pm$ 1,08
Herz:Leber	6,64 $\pm$ 2,15	5,90 $\pm$ 1,10	8,32 $\pm$ 0,90

Die Biodistribution des Tracers  $^{68}\text{Ga}$ -BADED-2 ergab eine Herzaufnahme von 1,94% $\pm$ 0,49%, welches die geringste Aufnahme in dieser Studie war. Männchen zeigten dabei eine deutlich höhere Aufnahme als die Weibchen (2,39% $\pm$ 0,06% vgl. mit 1,49% $\pm$ 0,09%). Vergleichbar hingegen sind wieder die Herz:Blut-Verhältnisse. Bei den Herz:Lunge sowie Herz:Leber-Verhältnissen zeigen die Weibchen für eine Bildgebung bessere Werte. Aus den Erfahrungen im klinischen Alltag mit der Bildgebung des Herzens mit  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Sestamibi ist hier besonders das Herz:Leber-Verhältnis von Bedeutung. Dies liegt mit 6,64 $\pm$ 2,15 deutlich höher als das Herz:Leber-Verhältnis des  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Sestamibi in dieser Arbeit. Organ mit der höchsten Aufnahme des  $^{68}\text{Ga}$ -BADED-2 ist die Niere. Die Männchen zeigen hier mit 3,60% $\pm$ 0,30% eine etwas höhere Aufnahme im Vergleich zu den Weibchen mit 2,55% $\pm$ 0,05%. Zu erwarten war auch eine Aufnahme des  $^{68}\text{Ga}$ -BADED-2 in das Muskelgewebe, da auch dieses sehr reich an Mitochondrien ist. Allerdings fällt hier die Aufnahme mit 0,22% $\pm$ 0,11% geringer aus erwartet. Wie auf Grund der Ladung, der Struktur des Moleküls sowie der Größe des  $^{68}\text{Ga}$ -BADED-2 anzunehmen war, findet man keine Aktivität im Gehirn.

Tabelle 9: Ex vivo-Organaufnahmen und Herz-zu-Organ-Verhältnisse von  $^{99m}\text{Tc}$ -Sestamibi nach 60 Minuten

	$^{99m}\text{Tc}$ -Sestamibi		
	insgesamt	Männchen ( $\pm 220$ g)	Weibchen ( $\pm 190$ g)
Lunge	0,33% $\pm$ 0,17%	0,38% $\pm$ 0,09%	0,27% $\pm$ 0,22%
Blut	0,03% $\pm$ 0,01%	0,03% $\pm$ 0,00%	0,03% $\pm$ 0,01%
Leber	0,89% $\pm$ 0,09%	0,90% $\pm$ 0,07%	0,87% $\pm$ 0,10%
Milz	1,06% $\pm$ 0,12%	1,10% $\pm$ 0,15%	1,01% $\pm$ 0,10%
Niere	2,70% $\pm$ 1,14%	2,92% $\pm$ 1,39%	2,48% $\pm$ 0,99%
Muskel	0,18% $\pm$ 0,04%	0,20% $\pm$ 0,04%	0,17% $\pm$ 0,04%
Herz	3,26% $\pm$ 0,49%	3,58% $\pm$ 0,17%	2,95% $\pm$ 0,52%
Hirn	0,04% $\pm$ 0,02	0,05% $\pm$ 0,02%	0,04% $\pm$ 0,01%
Verhältnisse			
Herz:Blut	109,40 $\pm$ 6,95	105,89 $\pm$ 4,14	113,96 $\pm$ 8,28
Herz:Lunge	10,04 $\pm$ 2,57	9,30 $\pm$ 1,61	11,12 $\pm$ 3,31
Herz:Leber	3,69 $\pm$ 0,95	3,96 $\pm$ 0,71	3,41 $\pm$ 1,00

Der Referenztracer  $^{99m}\text{Tc}$ -Sestamibi zeigt eine höhere Aufnahme in das Herzgewebe als das  $^{68}\text{Ga}$ -BADED-2 (3,26% $\pm$ 0,49 vgl. 1,94% $\pm$ 0,49%) und auch hier zeigen die Männchen wieder eine etwas höhere Aufnahme als die Weibchen (3,58% $\pm$ 0,17% vgl. 2,95% $\pm$ 0,52%). Während analog zu dem BADED-2-Derivat auch hier die Weibchen das bessere Herz: Lungen-Verhältnis aufweisen zeigt sich jedoch das Herz: Leber-Verhältnis tendenziell eher besser für die Männchen. Auch  $^{99m}\text{Tc}$ -Sestamibi zeigt keine Aufnahme von Aktivität ins Gehirn der Ratten und geringe Aktivitätsaufnahme in das Muskelgewebe.

Tabelle 10: Ex vivo-Organaufnahmen und Herz-zu-Organ-Verhältnisse von  $^{18}\text{F}$ -Flurpiridaz nach 60 Minuten

	$^{18}\text{F}$ -Flurpiridaz		
	insgesamt	Männchen ( $\pm 180$ g)	Weibchen ( $\pm 180$ g)
Lunge	0,46% $\pm$ 0,05%	0,48% $\pm$ 0,06%	0,45% $\pm$ 0,03%
Blut	0,40% $\pm$ 0,03%	0,40% $\pm$ 0,05%	0,41% $\pm$ 0,01%
Leber	0,86% $\pm$ 0,10%	0,92% $\pm$ 0,11%	0,81% $\pm$ 0,05%
Milz	0,36% $\pm$ 0,01%	0,36% $\pm$ 0,02%	0,36% $\pm$ 0,01%
Niere	1,62% $\pm$ 0,10%	1,57% $\pm$ 0,11%	1,66% $\pm$ 0,08%
Muskel	0,56% $\pm$ 0,06%	0,56% $\pm$ 0,06%	0,55% $\pm$ 0,06%
Herz	7,07% $\pm$ 0,76%	7,39% $\pm$ 0,76%	6,74% $\pm$ 0,70%
Hirn	1,15% $\pm$ 0,08%	1,15% $\pm$ 0,03%	1,15% $\pm$ 0,13%
Verhältnisse			
Herz:Blut	17,52 $\pm$ 1,83	18,67 $\pm$ 2,05	16,41 $\pm$ 1,43
Herz:Lunge	15,21 $\pm$ 1,92	15,52 $\pm$ 1,92	14,88 $\pm$ 1,61
Herz:Leber	8,20 $\pm$ 1,35	8,05 $\pm$ 1,34	8,37 $\pm$ 1,16

Das  $^{18}\text{F}$ -Flurpiridaz zeigt die höchste Aufnahme von Aktivität ins Herzgewebe 7,07% $\pm$ 0,76%. Erneut kann man hier erkennen, dass bei gleichem Gewicht die Männchen mehr Aktivität im Herzen aufnehmen als die Weibchen (7,39% $\pm$ 0,76% vgl. 6,74% $\pm$ 0,70%). Im Gegensatz zu den anderen Tracern zeigt  $^{18}\text{F}$ -Flurpiridaz eine deutliche Aufnahme ins Muskelgewebe sowie im Blut. Zudem ist es der einzige Tracer dieser Arbeit, der die Blut-Hirn-Schranke überwindet. Es wurden 1,15% $\pm$ 0,08% der inj. Dosis im Gehirn gemessen.

Tabelle 11: Ex vivo-Organaufnahmen und Herz-zu-Organ-Verhältnisse von  $^{68}\text{Ga}$ -BAPDMEN-2 nach 60 Minuten

	$^{68}\text{Ga}$ -BAPDMEN-2		
	insgesamt	Männchen ( $\pm 500\text{g}$ )	Weibchen ( $\pm 180\text{g}$ )
Lunge	0,41% $\pm$ 0,21%	0,41% $\pm$ 0,25%	0,42% $\pm$ 0,17%
Blut	0,02% $\pm$ 0,01%	0,01% $\pm$ 0,00%	0,03% $\pm$ 0,00%
Leber	0,12% $\pm$ 0,03%	0,09% $\pm$ 0,00%	0,15% $\pm$ 0,02%
Milz	0,54% $\pm$ 0,14%	0,45% $\pm$ 0,87%	0,64% $\pm$ 0,07%
Niere	2,68% $\pm$ 0,81%	1,95% $\pm$ 0,12%	3,40% $\pm$ 0,37%
Muskel	0,15% $\pm$ 0,06%	0,09% $\pm$ 0,02%	0,20% $\pm$ 0,02%
Herz	2,27% $\pm$ 1,01%	1,34% $\pm$ 0,13%	3,20% $\pm$ 0,28%
Hirn	0,02% $\pm$ 0,01%	0,01% $\pm$ 0,01%	0,02% $\pm$ 0,02%
Verhältnisse			
Herz:Blut	113,93 $\pm$ 9,59	101,50 $\pm$ 3,56	120,10 $\pm$ 3,60
Herz:Lunge	5,48 $\pm$ 2,28	3,30 $\pm$ 1,54	7,60 $\pm$ 1,91
Herz:Leber	18,61 $\pm$ 3,67	14,32 $\pm$ 1,40	21,29 $\pm$ 2,26

Für die Biodistribution der Verbindung  $^{68}\text{Ga}$ -BAPDMEN-2 wurden deutlich schwerere Männchen untersucht als Weibchen, um den Einfluss des Gewichts zu untersuchen. Es zeigt sich, dass hier die größeren Männchen eine geringere Aufnahme in das Herzgewebe haben als die kleineren Weibchen (1,34 % $\pm$ 0,13 % vgl. 3,20 % $\pm$ 0,28 %). Das mag daran liegen, dass ältere Tiere im Vergleich zu jüngeren weniger Energieumsatz haben. Analog zu der anderen untersuchten Schiff'schen Base  $^{68}\text{Ga}$ -BADED-2 zeigt auch  $^{68}\text{Ga}$ -BAPDMEN-2 kaum Aufnahme in das Blut, die Leber, das Muskelgewebe und das Hirn. Allerdings findet sich  $^{68}\text{Ga}$ -BAPDMEN-2 mit 2,68 % $\pm$ 0,81 % inj. Dosis im Nierengewebe wieder.

Beim Vergleich der beiden Tracer  $^{68}\text{Ga}$ -BADED-2 und  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Sestamibi zeigt sich die in Abbildung 50 dargestellte *ex vivo* Verteilung nach 60 Minuten.

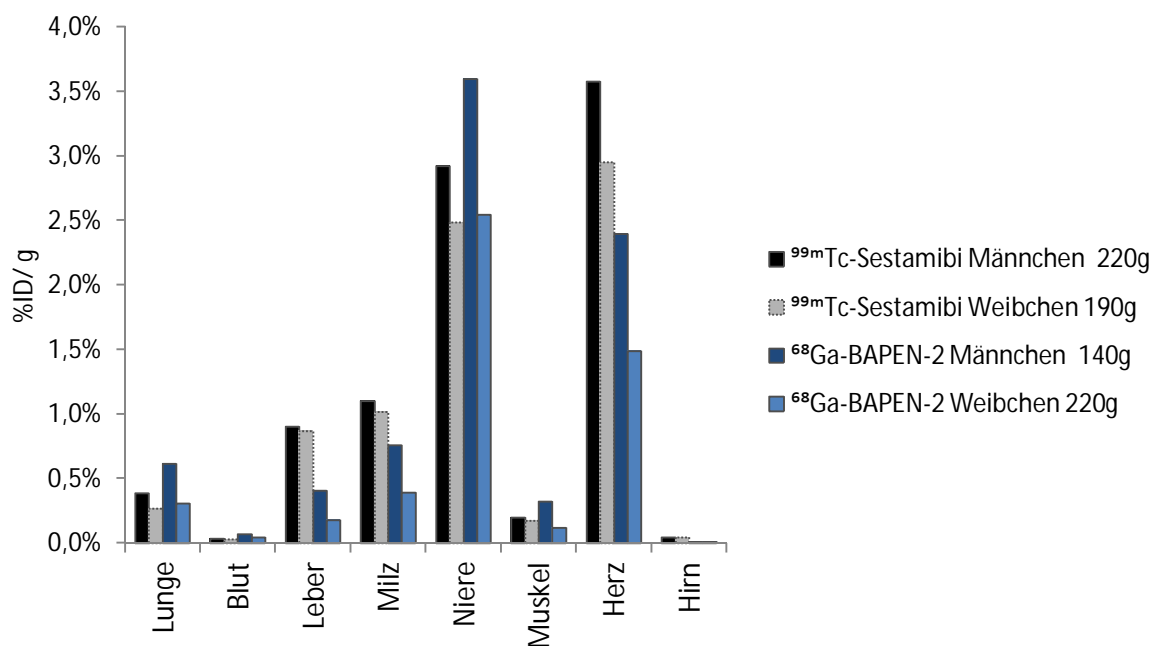


Abbildung 50: Vergleich der Biodistributionen von  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Sestamibi und  $^{68}\text{Ga}$ -G1L3

Dabei zeigt sich, dass die Aufnahme des  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Sestamibis im Herzen sowohl bei den Weibchen als auch den Männchen mit 3,0-3,5 % höher ist als das des  $^{68}\text{Ga}$ -BADED-2. Da für einen Herztracer nicht nur eine hohe Herzaufnahme essentiell ist, sondern auch hohe Target: non-Target-Verhältnisse, ist auch die Bestimmung der Aktivität in anderen Organen von entscheidender Bedeutung. Sowohl  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Sestamibi als auch  $^{68}\text{Ga}$ -BADED-2 werden bevorzugt über die Niere ausgeschieden.  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Sestamibi zeigt jedoch eine deutlich höhere Leberaufnahme als  $^{68}\text{Ga}$ -BADED-2. Dies spiegelt sich auch in den Herz: Leber Verhältnissen wider:  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Sestamibi hat ein relativ schlechtes Verhältnis von 3,69, was sich auch in der Anwendung am Menschen wiederfindet [84].

Abbildung 51 zeigt alle untersuchten Tracer. Dabei zeigt sich, dass  $^{18}\text{F}$ -Flurpiridaz mit 7 % eine doppelt so hohe Aufnahme im Vergleich zu den anderen untersuchten Verbindungen aufweist. Obwohl die Leberaufnahme des  $^{18}\text{F}$ -Flurpiridaz vergleichbar mit der des  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Sestamibis ist, besitzt der Fluortracer dennoch deutlich höhere Herz: Leber-Verhältnisse (8,20 bzw. 3,69).

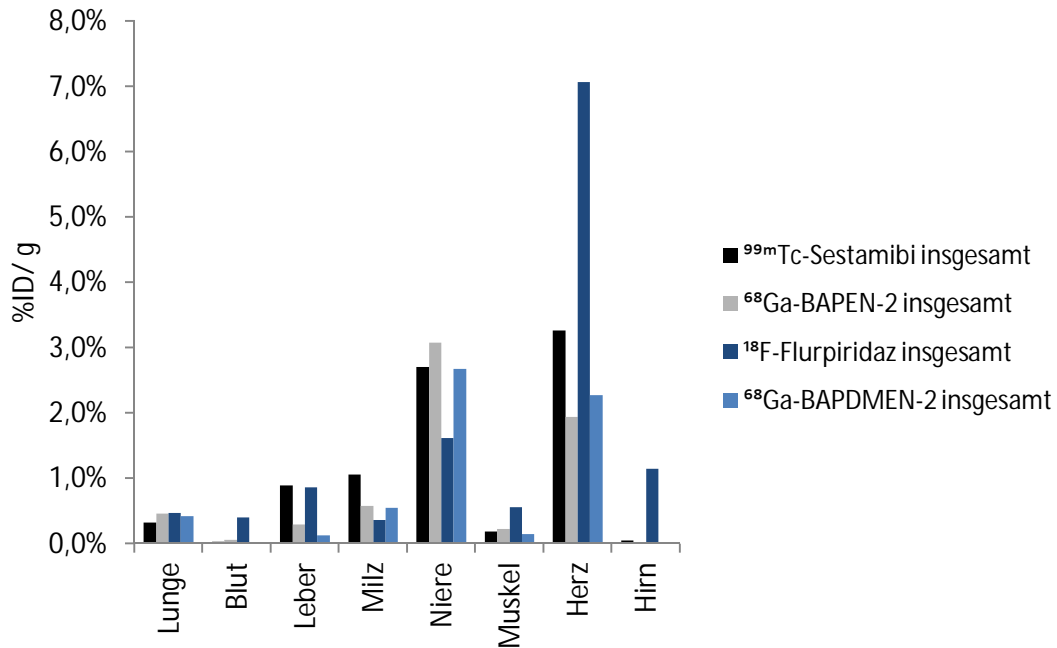


Abbildung 51: Vergleich der Mittelwerte über Männchen und Weibchen der Biodistributionen von <sup>99m</sup>Tc-Sestamibi, <sup>68</sup>Ga-BADED-2, <sup>18</sup>F-Flurpiridaz und <sup>68</sup>Ga-BAPDMEN-2

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass

- Alle Tracer eine vergleichbare Lungenaufnahme zeigen (etwa 4 % injizierten Dosis).
- Nur <sup>18</sup>F-Flurpiridaz eine merkliche Aktivität im Blut zeigt.
- Die Leberaktivitäten der Schiff'schen Basen niedriger sind als die des <sup>99m</sup>Tc-Sestamibis und <sup>18</sup>F-Flurpiridaz.
- <sup>99m</sup>Tc-Sestamibis die höchste Milzanreicherung zeigt.
- <sup>99m</sup>Tc-Sestamibis sowie die untersuchten Schiff'schen Basen größtenteils über die Niere ausgeschieden werden. <sup>18</sup>F-Flurpiridaz hat eine deutlich geringe Aufnahme in der Niere.
- <sup>18</sup>F-Flurpiridaz eine Aktivitätsaufnahme von 0,56 % in das Muskelgewebe zeigt. Das erklärt die „Hintergrundaktivität“ des PET-Ganzkörper-scans mit <sup>18</sup>F-Flurpiridaz (s.h. Abbildung 49).
- <sup>18</sup>F-Flurpiridaz mit über 7 % die höchste Herzaufnahme zeigt.
- <sup>18</sup>F-Flurpiridaz in der Lage ist die Blut-Hirn-Schranke zu überwinden. Dies wird auch deutlich in Betrachten der humanen Ganzkörper-PET-Bilder (s.h. Abbildung 17). Alle anderen Verbindungen sind nicht hirngängig.

## 4 Experimenteller Teil

### 4.1 Allgemeines und Messgeräte

Alle Chemikalien wurden von kommerziellen Anbietern (Sigma-Aldrich, Fluka Acros Organics, Alfa Aesar, Fisher Scientific, VWR und Merck) erworben und ohne weitere Aufreinigung verwendet. Trockene Lösungsmittel wurden von Sigma-Aldrich bezogen, deuterierte Lösungsmittel für die NMR-Spektroskopie wurden von der Firma Deutero GmbH.

$^{68}\text{Ga}$  wurde von einem  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ -generator (Cyclotron Obninsk Ltd. Co. (Russland) bzw. von einem EZAG-IGG100-Generator /Eckert & Ziegler AG, Berlin) erhalten. Startaktivitäten nach Elution variierten zwischen 90 und 600 MBq.

#### 4.1.1 Chromatographische Methoden

Zur Reaktionskontrolle wurden Dünnschichtchromatographie (DC)-Fertigfolien der Firma Merck, Darmstadt, Kieselgel 60 F254 mit dem jeweils angegebenen Laufmittelgemisch (v/v) verwendet. Die Detektion inaktiver Substanzen erfolgte mit UV-Licht ( $\lambda=254\text{ nm}$ ) r, bei radioaktiven Reaktionen, mit dem Instant Imager (Canberra Packard, Schwadorf, Österreich).

Säulenchromatographische Trennungen erfolgten unter Normaldruck mit Silicagel der Firma Acros, Fisher Scientific und Sigma Aldrich (Kieselgel 60, Partikelgröße 0,04-0,063 nm).

Zur Festphasenextraktion wurden C-18 Kartuschen der Firma Waters (Sep-Pak C18 Plus Light Cartridge, 130 mg) verwendet.

Der Nachweis der radioaktiven Schiff'schen Basen erfolgte zusätzlich mittels HPLC (Merck Hitachi-HPLC, Säule: Phenomenex Lux Cellulose 2 Säule 250 x 4,6 mm, Laufmittel: 65 % Acetonitril, 35 % 0,1 M  $\text{NH}_4\text{PF}_6$ -Lösung, Fluss: 1 ml/min.



### 4.1.2 Messgeräte

Kernresonanzspektroskopie:  $^1\text{H}$ - und  $^{13}\text{C}$ -Spektren wurden an einem Bruker AC-300-Spektrometer gemessen (300 MHz  $^1\text{H}$ -NMR; 75,5 MHz  $^{13}\text{C}$ -NMR). 2D-NMR-Messung erfolgte an einem Bruker DIX-400-Spektrometer (400 MHz  $^1\text{H}$ -NMR). Chemische Verschiebungen wurden im Vergleich zu Tetramethylsilan als Standard angegeben ( $\delta = 0$  ppm) und auf den Lösungsmittelpeak ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta_{\text{H}} = 7,26$ ) bezogen. Die Auswertung der Spektren erfolgte mit der Software MestRe-C 2.3a.

Massenspektrometrie: FD-Spektren wurden mit einem MAT 95-Spektrometer (Firma Finnigan) und ESI-Massenspektren mit einem ThermoQuest Navigator Instrument (ThermoElectron).

Aktivitätsmessungen: Aktivitätsmessungen wurden mit einem Isomed 2000-Aktivimeter (MED Nuklear-Medizintechnik Dresden GmbH, Dresden) bestimmt. Dünnschichtchromatographische Auswertung fand mittels Instant Imager Canberra Packard, Schwadorf, Österreich) statt.

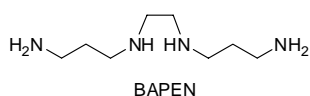
PET-Messungen: Messungen wurden an einem  $\mu\text{PET}$  Focus 120 Klein-Tier-PET-Scanner gemessen (Siemens/Concorde, Knoxville, USA).

## 4.2 Synthesevorschriften

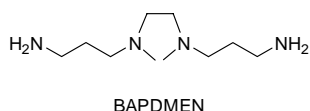
### 4.2.1 Synthese der Schiff'schen Basen

#### 4.2.1.1 Synthese der Rückgrate

BAPEN (1,2-Bis(3-aminopropylamino)ethane) wurde kommerziell von Sigma Aldrich erworben.



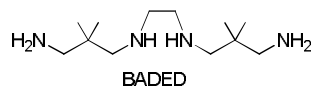
Die Synthese des BADMEN (N,N'-Bis(2,2-Dimethyl-3-amino propyl)ethylenediamine oder bis(2,2-Dimethyl-3-aminopropyl)ethyl-enediamine, DM-BAPEN) erfolgte nach Literatur-bekannter Methode [73].



1,7 g (30 mmol) KOH wurden in 70 ml absolutem Ethanol unter Argonatmosphäre gelöst. 10 g (119 mmol) N,N'-Dimethylethylamin (85 %) wurden zugegeben und die Reaktionsmischung für 2 h bei 70°C unter Rückfluss erhitzt. Anschließend wurden 60 g (223 mmol) N-3-Brompropylphthalimid hinzugefügt und das Reaktionsgemisch über Nacht unter Rückfluss erhitzt. Die heiße Lösung wurde abfiltriert und der Rückstand mit Ethanol gewaschen. Das Filtrat wurde am Rotationsverdampfer eingedunstet und ein viskoses gelbliches Öl erhalten. Dieses wurde mit 400 ml 6 N HCl versetzt und über Nacht refluxiert. Nach Abkühlen im Eisbad wurde der entstandene weiße Feststoff abgesaugt und das Filtrat eingedunstet. Es wurde ein weißer Feststoff und gelbliches Öl erhalten, welches mit 2 N NaOH basisch gestellt wurde. Die erhaltenen 2 Phasen wurden getrennt und die obere Phase im Vakuum eingedunstet. Nach Aufreinigung mittels Säulenchromatographie (DCM:MeOH 8:1) wurde 4,09 g (20 mmol, 20 %) Produkt erhalten.

$^1\text{H NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm)= 1,38 (s, 4 H); 1,57 (quint, 4 H); 2,18 (s, 6 H); 2,36 (t, 4 H); 2,42 (s, 4 H); 2,68 (t, 4 H)

BADED (bis(N,N'-amino-2,2-dimethylpropan)ethylenediamine) wurde nach Literatur-bekannter Vorschrift synthetisiert [75], [76].



2,2-Dimethyl-1,3-propandiamin (1 eq.) wurde in 95 % Ethanol gelöst. Unter Eiskühlung wurde 1,2-Dibromethan (0,2 eq) über 2 h zugetropft und anschließend wurde die Reaktionsmischung für 2 h unter Rückfluss erhitzt und für weitere 12 h bei 50°C gerührt. Nach Abkühlen der Lösung wurde ein Überschuss Kaliumhydroxid zugegeben (25.0 g) und erneut für 30 Min unter Rückfluss gerührt. Nach Kühlung des Reaktionsgemisches wurde der Rückstand abgefiltert und mit kaltem Ethanol gewaschen. Die Lösung wurde im Vakuum eingengt, bis ein öliger Rückstand erhalten wurde. Der Überschuss des Diamins wurde bei 6-8 mbar und 45°C destilliert. Der Rückstand wurde in Diethylether aufgenommen und abfiltriert. Nach erneuter Destillation (0,1 mbar, 110 °C) wurden 10,5 g des Produkts (35 %) als klare Lösung erhalten.

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm) = 0,85 (s, 12H); 1,37 (bs, 6H); 2,38 (s, 4H); 2,50 (s, 4H); 2,67 (s, 4H)

### 4.2.1.2 Synthese der Schiff'schen Basen

Die Darstellung der Schiff'schen Basen erfolgte nach Fellner et al. [76].

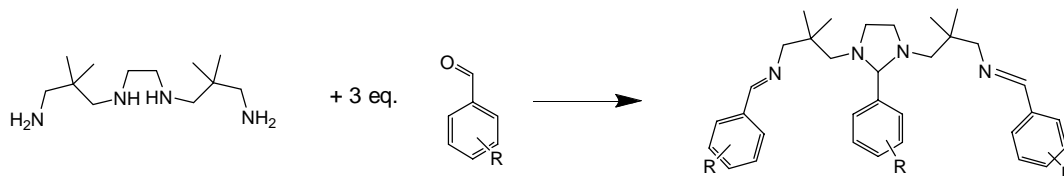
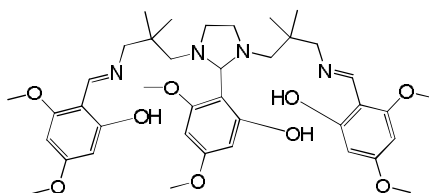


Abbildung 52: Allgemeine Synthese der Schiff'schen Basen

3,06 eq. des entsprechenden Salicylaldehyds wurden in 10–15 ml trockenem Dichlormethan gelöst und Molekularsieb (4A) zugegeben, um das entstehende Wasser zu binden. Das entsprechende Rückgrat (1 eq.) wurde in 1 ml Dichlormethan gelöst und zugegeben. Anschließend wurde die Reaktionsmischung bei RT über Nacht gerührt, abgefiltert, mit Dichlormethan gewaschen und im Vakuum eingeeengt. Es wurden gelbe bis orangene Feststoffe erhalten, die für 2 Tage unter Vakuum getrocknet wurden. Die Aufreinigung der Schiff'schen Basen erfolgte durch Umkristallisieren aus Ether statt. Die Produkte wurden in Ausbeuten von 96 bis 99 % der Theorie erhalten.

#### BADED-1

(2-(2-Hydroxy-4,6-dimethoxyphenyl)-1,3-bis[4-aza-5-(2-hydroxy-4,6-dimethoxyphenyl)-2,2-dimethyl-but-4-ene-1-yl]-1,3-imidazolidin)

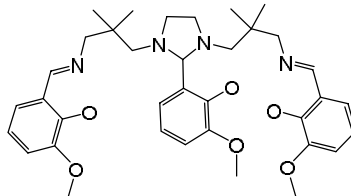


$^1\text{H NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm) = 0,83 (s, 6H); 0,98 (s, 6H); 2,23 (d, 20H); 2,53 (d, 20H); 2,62 (m, 21H); 2,96 (d, 21H); 3,57 (d, 2H); 3,51 (m, 2H); 3,77 (s, 1H); 3,75-3,83 (m, 18 H); 5,55-6,0 (m, 6H); 8,13 (s, 20,2H); 10,07 (s, 1,1,3H)

MS (FD): (M),  $m/z = 722,7$  [M] =  $\text{C}_{39}\text{H}_{54}\text{N}_4\text{O}_9$  (berechnet: 722,4)

*BADED-2*

(2-(2-Hydroxy-3-methoxyphenyl)-1,3-bis[4-aza-5-(2-hydroxy-3-methoxyphenyl)-2,2-dimethyl-but-4-ene-1-yl]-1,3-imidazolidin)

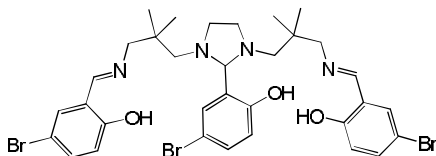


$^1\text{H NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm) = 0,80 (s, 6H); 0,83 (s, 6H); 2,27 (d, 2H); 2,53 (d, 2H); 2,65 (m, 2H); 3,04 (d, 2H); 3,37 (d, 2H); 3,51 (m, 2H); 3,77 (s, 1H); 3,81 (s, 3H); 3,89 (s, 6H); 6,57-6,90 (m, 9H); 8,04 (s, 2H, N=C-H); 10,29 (s, 1H); 14,22 (s, 2H)

MS (ESI):  $(\text{M}+\text{H})^+$ ,  $m/z = 633,42$  für  $[\text{M}+\text{H}]^+ = \text{C}_{36}\text{H}_{48}\text{N}_4\text{O}_6$  (berechnet: 633,36)

*BADED-3*

(2-(2-Hydroxy-5-bromophenyl)-1,3-bis[4-aza-5-(2-hydroxy-5-bromophenyl)-2,2-dimethyl-but-4-ene-1-yl]-1,3-imidazolidin)

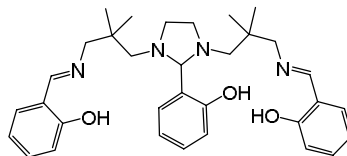


$^1\text{H NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm) = 0,80 (s, 6H); 0,82 (s, 6H); 2,23 (d, 2H); 2,50 (d, 2H); 2,63 (m, 2H); 3,08 (d, 2H); 3,36 (d, 2H); 3,53 (m, 2H); 3,66 (s, 1H); 6,59 (d, 1H); 6,80 (d, 2H); 7,03 (d, 1H); 7,15 (d, 1H); 7,27 (d, 2H); 7,32 (d, 1H); 7,35 (d, 1H); 8,01 (s, 2H); 9,82 (s, 1H); 13,48 (s, 2H)

MS (ESI):  $(\text{M}+\text{H})^+$ ,  $m/z = 779,13$  für  $[\text{M}+\text{H}]^+ = \text{C}_{33}\text{H}_{40}\text{Br}_3\text{N}_4\text{O}_3$  (berechnet: 779,06)

*BADED-4*

(2-(2-Hydroxyphenyl)-1,3-bis[4-aza-5-(2-hydroxyphenyl)-2,2-dimethyl-but-4-ene-1-yl]-1,3-imidazolidin)

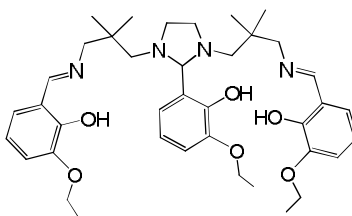


$^1\text{H NMR}$  (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm)=0,79 (s, 6H); 0,81 (s, 6H); 2,25 (d, 2H); 2,53 (d, 2H); 2,64 (d, 2H); 3,02 (d, 2H); 3,39 (d, 2H); 3,54 (d, 2H); 3,72 (s, 1H); 6,91 (m, 3H); 6,83 (m, 3H); 7,23 (m, 6H); 8,07 (s, 2H); 10,09 (s, 1H); 13,58 (s, 2H)

MS (ESI):  $(\text{M}+\text{H})^+$ ,  $m/z=543,36$  für  $[\text{M}+\text{H}]^+ = \text{C}_{33}\text{H}_{44}\text{N}_4\text{O}_3$  (berechnet: 543,33)

*BADED-5*

(2-(2-Hydroxy-3-ethoxyphenyl)-1,3-bis[4-aza-5-(2-hydroxy-3-ethoxyphenyl)-2,2-dimethyl-but-4-ene-1-yl]-1,3-imidazolidin)

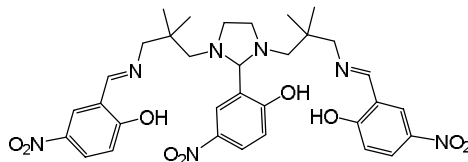


$^1\text{H NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm) = 0,78 (s, 6H); 0,80 (s, 6H); 1,37 (t, 3H); 1,46 (t, 6H); 2,27 (d, 2H); 2,52 (d, 2H); 2,64 (m, 2H); 3,02 (d, 2H); 3,37 (d, 2H); 3,50 (m, 2H); 3,75 (s, 1H); 4,02 (q, 2H); 4,08 (q, 4H); 6,70 (m, 7H); 6,86 (d, 2H); 8,03 (s, 2H); 10,25 (s, 1H); 14,08 (s, 2H)

MS (ESI):  $(\text{M}+\text{H})^+$ ,  $m/z=675,48$  für  $[\text{M}+\text{H}]^+ = \text{C}_{39}\text{H}_{55}\text{N}_4\text{O}_6$  (berechnet: 675,41)

## BADED-6

(2-(2-Hydroxy-5-nitrophenyl)-1,3-bis[4-aza-5-(2-hydroxy-5-nitrophenyl)-2,2-dimethyl-but-4-ene-1-yl]-1,3-imidazolidin)

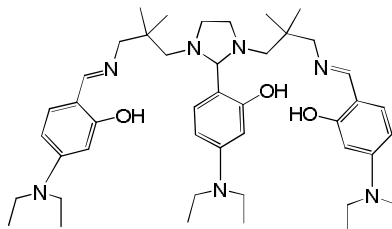


$^1\text{H NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm)= 0,86 (s, 6H); 0,90 (s, 6H); 2,32 (d, 2H); 2,61 (d,2H); 2,65 (m, 2H); 3,30 (m, 2H); 3,64 (m, 4H); 3,86 (s, 1H); 6,80 (m, 2H); 8,07 (m, 7H); 8,06 (s, 2H); 10,00 (s, OH)

MS (ESI):  $(\text{M}+\text{H})^+$ ,  $m/z= 678,31$  für  $[\text{M}+\text{H}]^+ = \text{C}_{33}\text{H}_{39}\text{N}_7\text{O}_9$  (berechnet: 678,29)

## BADED-7

(2-(2-Hydroxy-diethylaminophenyl)-1,3-bis[4-aza-5-(2-hydroxy-4-diethylaminophenyl)-2,2-dimethyl-but-4-ene-1-yl]-1,3-imidazolidin)

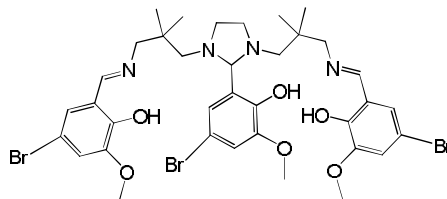


$^1\text{H NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm)= 0,80 (m, 6H); 0,84 (m, 6H); 1,16 (m, 18 H); 2,17 (d,2H); 2,57 (m,4H); 2,91 (d,2H); 3,33 m, 12H+2H); 3,48 (m, 2H); 3,60 (s, 1H); 6,01-6,27 (m, 7H); 6,94-6,94 (m, 2H); 7,6 (s, 2H); 9,48 (s, 1H); 14,92 (broad s, 2H)

MS (ESI):  $(\text{M}+\text{H})^+$ ,  $m/z= 756,60$  für  $[\text{M}+\text{H}]^+ = \text{C}_{45}\text{H}_{70}\text{N}_7\text{O}_3$  (berechnet: 756,55)

*BADED-8*

(2-(2-Hydroxy-3-methoxy-5-bromophenyl)-1,3-bis[4-aza-5-(2-hydroxy-3-methoxy-5-bromophenyl)-2,2-dimethyl-but-4-ene-1-yl]-1,3-imidazolidin)

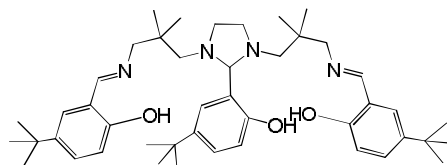


$^1\text{H NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm)=0,78 (s, 6H); 0,80 (s, 6H); 2,23 (d, 2H); 2,50 (d, 2H); 2,63 (m, 2H); 3,10 (d, 2H); 3,36 (d, 2H); 3,49 (d, 2H); 3,67 (s, 1H); 3,77 (s, 3H); 3,86 (s, 6H); 6,69 (d, 1H); 6,74 (d, 1H); 6,88 (d, 2H); 6,92 (d, 2H); 7,96 (s, 2H); 10,28 (s, 1H); 14,24 (s, 2H)

MS (ESI):  $(\text{M}+\text{H})^+$ ,  $m/z=869,17$  für  $[\text{M}+\text{H}]^+ = \text{C}_{36}\text{H}_{46}\text{Br}_3\text{N}_4\text{O}_6$  (berechnet: 869,09)

*BADED-9*

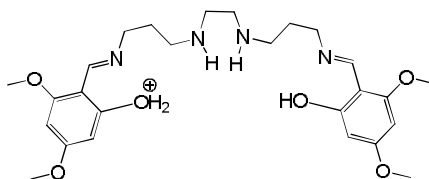
(2-(2-Hydroxy-5-tert-Butylphenyl)-1,3-bis[4-aza-5-(2-hydroxy-3,5-ditertbutylphenyl)-2,2-dimethyl-but-4-ene-1-yl]-1,3-imidazolidine)



$^1\text{H NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm)=0,77 (s, 6H); 0,79 (s, 6H); 1,27 (m, 27H); 2,27 (d, 2H); 2,54 (d, 2H); 2,65 (d, 2H); 3,02 (d, 2H); 3,40 (d, 2H); 3,53 (m, 2H); 3,72 (s, 1H); 3,91 (s, 2H); 6,66 (d, 1H); 6,83 (d, 1H); 7,07 (d, 1H); 7,17 (m, 2H); 7,31 (m, 3H); 8,17 (s, 2H); 10,04 (s, 1H); 13,34 (s, 2H)

MS (ESI):  $(\text{M}+\text{H})^+$ ,  $m/z=711,58$  für  $[\text{M}+\text{H}]^+ = \text{C}_{46}\text{H}_{67}\text{N}_4\text{O}_3$  (berechnet: 711,52)

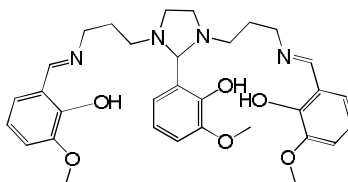


*BAPEN-1*(4,6-MeO<sub>2</sub>sal)<sub>3</sub>BAPEN

Produkt wurde als größtenteils als disubstituiertes Schiff'sche Basen-Produkt erhalten. Dennoch auch trisubstituierte Schiff'sche Basen-Verbindung in Mischung enthalten.

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm) = 1,81 (m, 8H); 2,53 (m, 4H); 3,43 (m, 4H); 3,70, 3,72, 3,76, 3,78 (s, 18H); 4,32 (s, 1H); 5,73 (m, 4H); 5,97 (m, 2H); 8,28 (m, 2H)

MS (ESI): (M)<sup>+</sup>, m/z=502,29 für [M+H]<sup>+</sup> = C<sub>26</sub>H<sub>39</sub>N<sub>4</sub>O<sub>6</sub> (berechnet: 502,29, zweifach-substituiert) und (M+H)<sup>+</sup>, m/z=503,29 für [M+H]<sup>+</sup> = C<sub>26</sub>H<sub>39</sub>N<sub>4</sub>O<sub>6</sub> (berechnet: 503,29, zweifach-substituiert)

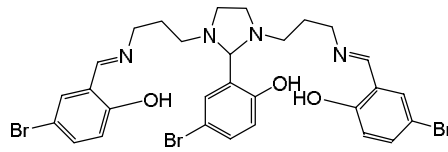
*BAPEN-2*(3-MeO-sal)<sub>3</sub>BAPEN

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm) = 1,80 (m, 4H); 2,49—2,6 und 3,39-3,62 (m, 8H); 3,85 (s, 3H); 3,86 (s, 6H); 3,90 (s, 1H); 6,52-7,20 (m, 9H); 8,11 (s, 2H)

MS (FD): (M), m/z= 576,6 [M] = C<sub>32</sub>H<sub>40</sub>N<sub>4</sub>O<sub>6</sub> (berechnet: 576,29)

BAPEN-3

(2-Hydroxy-5-bromophenyl)<sub>3</sub>BAPEN

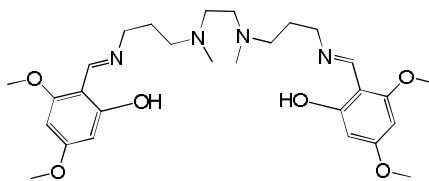


<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm) = 1,83 (q, 4H); 2,29 (m, 2H); 2,56 (m, 4H), 3,42 (m, 4H); 3,52 (s, 1H); 3,67 (m, 2H); 6,63 (d, 2H); 6,79 (2H, d); 6,97 (d, 1H); 7,16 (dd, 1 H); 7,26 (d, 2H); 7,34 (dd, 2H); 8,04 (s, 2H)

MS (ESI): (M+H)<sup>+</sup>, m/z= 742,99 für [M+H]<sup>+</sup> = C<sub>29</sub>H<sub>31</sub>Br<sub>3</sub>N<sub>4</sub>NaO<sub>3</sub> (berechnet: 742,98)

BAPDMEN-1

(4,6-MeO<sub>2</sub>sal)<sub>2</sub>BAPDMEN

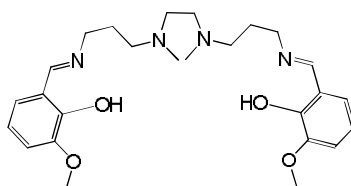


<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm) = 0,82 (s, 6H); (s, 6H); 2,25 (m, 6H); 2,65 (m, 2H); 2,92 (m, 2H); 3,30 (m, H); 3,71 (m, 6H); 3,76 (s, 12H); 4,43 (s, 1H); 5,72 (m, 6H); 8,14 (m, 2H)

MS (ESI): (M+H)<sup>+</sup>, m/z= 531,33 für [M+H]<sup>+</sup> = C<sub>28</sub>H<sub>43</sub>N<sub>4</sub>O<sub>6</sub> (berechnet: 531,32)

*BAPDMEN-2*

(3-MeO-sal)<sub>2</sub>BAPDMEN

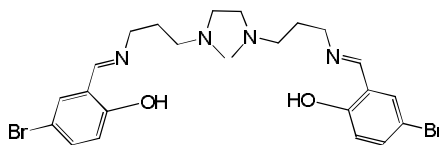


<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm) = 1,78 (q, 4H); 2,22 (s, 6H); 2,48 (t, 4-H); 2,49 (s, 4H); 3,54 (t, 4H); 3,76 (s, 6H); 6,0-7,0 (m,6H); 8,7 (s, 2H); 14,0 (br-s, 2H)

MS (ESI): (M+H)<sup>+</sup>, m/z= 471,29 für [M+H]<sup>+</sup> = C<sub>26</sub>H<sub>39</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub> (berechnet: 471,30)

*BAPDMEN-3*

(2-Hydroxy-5-bromophenyl)<sub>2</sub>BAPDMEN



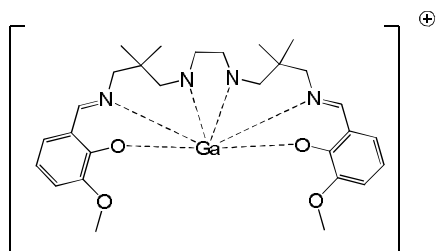
<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm) =1,90 (m, 4H); 2,30 (s, 6H); 2,50-2,60 (m, 8H);3,62 (t, 4H); 6,26-7,59 (m, 6H); 8,25 (s, 2H)

MS (ESI): (M+H)<sup>+</sup>, m/z= 569,11 für [M+H]<sup>+</sup> = C<sub>26</sub>H<sub>39</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub> (berechnet: 569,05)

## 4.2.2 Darstellung von inaktiven Komplexen

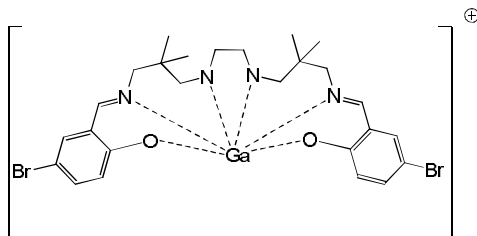
Zur Darstellung der inaktiven Verbindungen wurde eine abgewandte Synthese nach Hsaio et al. [73] verwendet. 100 mg, 0,3 mol der entsprechenden Schiff'schen Basen, wurde in 15 ml Ethanol gelöst und 0.3 mol  $\text{Ga}(\text{acac})_3$  in 15 ml warmen Ethanol hinzugefügt. Die Mischung wurde für 2 h unter Rückfluss erhitzt, anschließend wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Ausbeute betrug 99 % der Theorie.

### $^{67}\text{Ga}$ -BADED-2



MS (ESI):  $(\text{M}+\text{H})^+$ ,  $m/z = 563,30$  für  $[\text{M}+\text{H}]^+ = \text{C}_{28}\text{H}_{38}\text{GaN}_4\text{O}_4$  (berechnet: 563,21)

### $^{67}\text{Ga}$ -BADED-3



MS (ESI):  $(\text{M}+\text{H})^+$ ,  $m/z = 661,02$  für  $[\text{M}+\text{H}]^+ = \text{C}_{26}\text{H}_{32}\text{Br}_2\text{GaN}_4\text{O}_2$  (berechnet: 659,01)

### 4.2.3 Radioaktive Markierungen

Für die radioaktive Markierung mit  $^{68}\text{Ga}$  wurde der  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ -Generator nach bekanntem Verfahren eluiert und über der im Arbeitskreis Rösch entwickelten Methoden über den sauren Kationenaustauscher aufgereinigt [16]. Zur Abtrennung von metallischen Verunreinigungen wie beispielsweise Zink, Eisen, Titan und Germanium wurde der Austauscher mit 1 ml N1-Lösung (N1, 80 % Aceton + 20 % 0,15 M HCl) gewaschen. Anschließend wurde die Radioaktivsynthese unter Verwendung zweier unterschiedlicher Synthesewegedurchgeführt:

#### A) $^{68}\text{Ga}$ -Markierung im organischen Medium

Nach dem Waschschrift mit N1-Lösung wurde die Aktivität ( $^{68}\text{Ga}$ ) mit N3-Lösung (N3: 98 % Aceton und 2 % Acetylaceton) vom Kationenaustauscher eluiert. Diese Methode wurde bereits von Zoller et al. im Arbeitskreis evaluiert [18]. Die aktive Lösung wurde mit Hilfe eines Rotationsverdampfers oder durch Verwendung eines Thermo-Schüttlers bis zur Trockne abgedampft und anschließend wieder mit 400  $\mu\text{l}$  Chloroform aufgenommen. Im Anschluss wurden 20  $\mu\text{l}$  einer Stammlösung (1 mg/1 ml) der entsprechenden Schiff'schen Base in 400  $\mu\text{l}$  Chloroform gelöst und die aktive Lösung hinzugegeben. Anschließend wurde die Reaktionsmischung für 10 Min bei 80°C im Thermomixer bis zur Trockne geschüttelt und konnte dann in einem beliebigen Lösungsmittel aufgenommen und genutzt werden.

#### B) $^{68}\text{Ga}$ -Markierung im wässrigen Medium

Nach dem Waschschrift mit der N1-Lösung wurde die Aktivität ( $^{68}\text{Ga}$ ) mit N2 Lösung (N2: 97,6 % Aceton und 0,4 % 0,005 M 98 % HCl ) vom Kationenaustauscher eluiert [16], [17]. 20  $\mu\text{l}$  (1 mg/1 ml-Stammlösung) der entsprechenden Schiff'schen Base wurde in 400  $\mu\text{l}$  HEPES-Puffer (0,1 N) gelöst und die Reaktionsmischung bei 80°C für 10 Minuten im Thermomixer geschüttelt.

Optimierung: Zur Optimierung der Markierungskinetik wurde die Schiff'schen Base G1L3 bei verschiedenen Temperaturen (RT, 40°C, 60°C und 80°C) durchgeführt. Dabei wurde mit 20  $\mu\text{l}$  G1L3-Stammlösung nach der allgemeinen obigen Vorschrift für die  $^{68}\text{Ga}$ -Markierung im organischen Medium und wässrigen Medium verfahren und zum Zeitpunkt  $t=10\text{ s}$ , 1 min, 2, min, 5 min, 10 min ein Aliquot zur Reaktionskontrolle mittels DC entnommen.

Abtrennung: Die Aufreinigung der  $^{68}\text{Ga}$ -Schiff'schen Base fand mittels Festphasenextraktion über eine Waters C-18-Kartusche statt. Hierfür wurde der jeweilige radioaktive Komplex entweder nach Reaktionsende im wässrigen Medium aufgenommen oder lag schon als HEPES-Komplex vor

und wurde dann langsam auf einer C-18-Kartusche fixiert. Nicht reagiertes  $^{68}\text{Ga}^{3+}$  wurde mit durch Spülen der Kartusche mit Wasser abgetrennt und anschließend die Kartusche mit Luft getrocknet. Die Elution erfolgte mit 1 ml Ethanol. Das Lösungsmittel wurde am Rotationsverdampfer bzw. am Thermoschüttler bei 95°C entfernt.

## 4.3 *In vitro*-Evaluierung der $^{68}\text{Ga}$ -Schiff'schen Basen-Komplexe

### 4.3.1 Bestimmung der Lipophilie (log D)

Zur Bestimmung der Lipophilie wurde nach einer zuvor beschriebenen shake-flask“- Methode verfahren [76]. Hierzu wurden die entsprechenden  $^{68}\text{Ga}$ -Schiff'sche Basen-Komplexe, wie unter 0 beschrieben, hergestellt und aufgereinigt. Anschließend wurden die Komplexe in PBS aufgenommen und jeweils 5 MBq der reinen aktiven Verbindung zur 4-fach Bestimmung auf vier Eppendorfgefäße so verteilt, dass sich dort jeweils 700  $\mu\text{l}$  PBS-Puffer und 700  $\mu\text{l}$  Octanol (Wasser gesättigt) befanden.

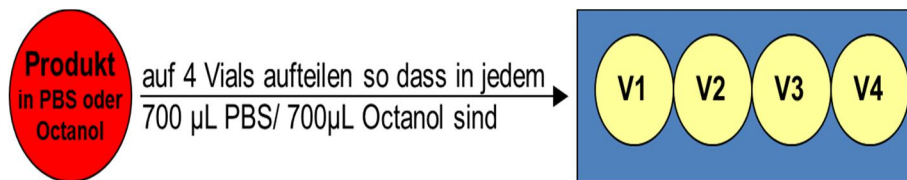


Abbildung 53: Ermittlung der Lipophilie mittels vierfach-Bestimmung

Die Phasen wurden bei 1500 Umdrehungen/min mittels Thermomixer gemischt und zum Separieren bei 12000 Umdrehungen/min zentrifugiert. 3  $\mu\text{l}$  der Octanolphase wurden anschließend auf ein saugfähiges Papier aufgetragen. 400  $\mu\text{l}$  der Octanolphase wurden dann entnommen, um damit den nächsten Extraktionszyklus zu starten.

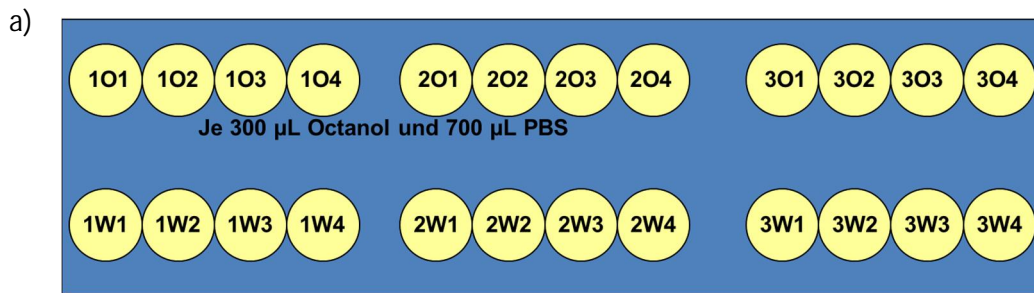


Abbildung 54: a) schematischer und b) realer Aufbau zur Ermittlung der Lipophilie mittels shake-flask-Methode und Rückextraktion

Von der Octanol/PBS-Mischphase wurden 400  $\mu$ l entnommen und verworfen. Weitere 400  $\mu$ l reine PBS-Phase wurden separiert und 3  $\mu$ l PBS-Phase analog zu der Octanol-Phase gespottet.

Dadurch ergaben sich zwei Messwerte: zum einen der Vergleich der jeweiligen 400  $\mu$ l Octanol und PBS-Phase im Curiemeter sowie die Messung der Aktivität des jeweiligen Aliquots aus den jeweiligen Phasen über den Imager.

Die entnommenen 400  $\mu$ l der Octanol-Phase wurden wie beschrieben dem erneuten Zyklus zugeführt. Dazu wurden sie in ein neues Eppendorfgefäß, bestückt mit 300  $\mu$ l Octanol und 700  $\mu$ l PBS-Puffer, überführt und wie oben beschrieben, erneut geschüttelt usw.

Der erste Zyklus wurde verworfen, die zwei anderen für die Bestimmung der Lipophilie verwendet (erste und zweite Rückextraktion)

Analog zu den  $^{68}\text{Ga}$ -Schiff'schen Basen wurden auch die Lipophilien des  $^{18}\text{F}$ -Flurpiridaz sowie  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Sestamibi bestimmt.



### 4.3.2 Bestimmung der *in vitro*-Stabilitäten

Zur Bestimmung der *in vitro*-Stabilität der  $^{68}\text{Ga}$ -Schiff'schen Basen-Komplexe wurde nach einem zuvor publiziertem Protokoll verfahren [76]. Jeweils 5 MBq der aufgereinigten  $^{68}\text{Ga}$ -Schiff'schen Basen-Verbindung wurde bei 37°C in 400 µl isotonischer NaCl, in 400 µl humanem Serum (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Taufkirchen, Germany) sowie in 400 µl apo-Transferrin Lösung (1 mg/ml PBS-Puffer Lösung, 160 eq.) inkubiert. Aliquots der Proben wurden nach 1, 10, 20, 30, 50 und 60 Minuten entnommen und die radiochemische Reinheit mittels Radio-DC bestimmt (Laufmittel Methanol: isotonische NaCl-Lösung 9:1). Die Messung der Stabilitäten in dem jeweiligen Medium erfolgte in Doppelbestimmung.

### 4.3.3 Bestimmung der Ladung mittels Papierelektrophorese

Die Papierelektrophorese wurde mit der Pharmacia LKB Biotechnologie Multiphore II Elektrophoreskammer (Uppsala, Schweden) durchgeführt. Abbildung 55 zeigt den schematischen Reaktionsaufbau zur Bestimmung der Ladung.

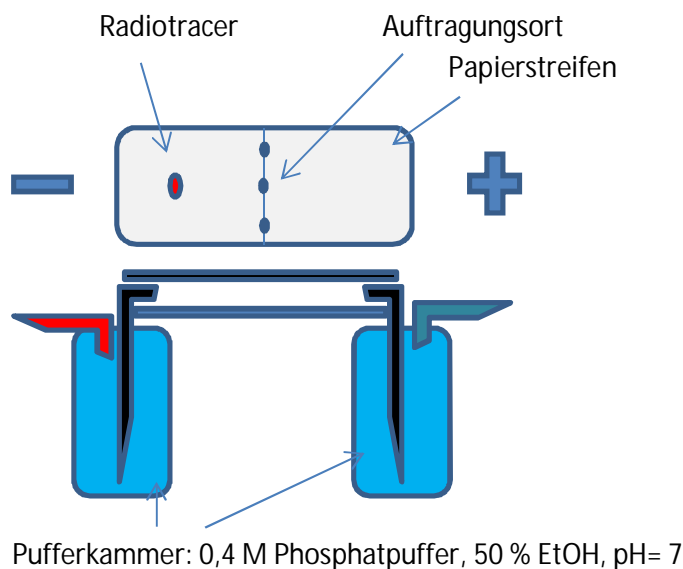


Abbildung 55: Aufbau der Papierelektrophorese

Zunächst wurden die Elektrophoresekammern mit dem Laufmittelgemisch gefüllt. Geeignet waren hierfür 0,4 M Phosphatpuffer als auch 0,4 M TRIS-Puffer (pH= 7,0) mit jeweils 50 %-igem Ethanolzusatz. Die Dochte (wicks) in den Vorratsgefäßen sowie die Papierstreifen, die Anode und Kathode verbinden, wurden ebenfalls mit dem Laufmittel getränkt. In der Mitte des

Papierstreifens wurde anschließend 1 µl der  $^{68}\text{Ga}$ -Schiff'schen Basen Verbindung aufgetragen, die sich nach Anlegen der Spannung auf Grund ihrer Ladung zur Kathode bewegten. Für zwei Stunden wurde eine konstante Spannung von 600 V angelegt (5,4 mA, 3 W) und die Lauffront mittels Instant Imager (Canberra Packard) ermittelt.

#### **4.3.4 Bestimmung der Aufnahme in die Herzzellen mittels *in vitro*- Zellversuchen**

Für die *in vitro*-Zellversuche wurden HL-1 Zells aus dem Mäuseherz verwendet. Diese Zellen wurden in einem Claycomb Medium supplementiert, welches mit 10 % fötalem Kälberserum (fetal calf serum, FCS) versetzt war. Die Zellen wurden bei 37°C unter 5 %  $\text{CO}_2$ -Atmosphäre einmal pro Woche subkultiviert. Für die Versuche wurden jeweils 1 Mio. Zellen in ein Plastikgefäß überführt und dispergiert. Um die Aufnahme der  $^{68}\text{Ga}$ -Schiff'schen Basen in Abhängigkeit von dem Zellmembranpotential zu betrachten, wurden die Versuche mit und ohne Valinomycin-Zusatz (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Taufkirchen, Germany, 1 µM pro Plastikgefäß vor Zugabe des Radiotracers) durchgeführt. Valinomycin ist ein  $\text{K}^+$ -Ionophor, welches das Zellmembranpotential zerstört. Durch den lipophilen Charakter der  $^{68}\text{Ga}$ -Schiff'schen Basen- Komplexe gelangen diese über die Zellmembran in die Zelle und sogar in das Mitochondrium, um dann dort auf Grund des negativen Zellmembranpotentials retiniert zu werden. Durch Zerstörung des Potentials wird eine geringere Retention der  $^{68}\text{Ga}$ -Schiff'schen Basen erwartet.

Circa 5 MBq aufgereinigter  $^{68}\text{Ga}$ -Schiff'schen Basen-Komplex wurde pro 1 Mio. Zellen in ein Probengefäß gegeben (n=2-5 je Tracer plus n=2-5 für die Kontrollzellen) und mit Medium für 30 min bei 37°C inkubiert. Anschließend erfolgte eine Zentrifugation, um den Überstand vom Zellpellet zu trennen. Überstand und Zellen wurden anschließend im Curimeter vermessen (M2316, Messelektronik Dresden GmbH, Germany).

## 4.4 *In vivo*- und *ex vivo*-Tierversuche

### 4.4.1 $\mu$ PET und Bildbearbeitung

Für die *in vivo*  $\mu$ PET-Untersuchungen wurden 235-560 g schwere männliche und weibliche Sprague Dawley Ratten von Charles Rivers Laboratories Deutschland verwendet. (n=4 für Verbindung  $^{68}\text{Ga}$ -BADED-2, davon jeweils 2 Männchen und 2 Weibchen, n=2 für 10 Verbindungen (weiblich), n=1 für 4 Verbindungen (weiblich)). Die Tiere wurden mit einer Mischung aus 2 % Isofluran und 98 % Sauerstoff narkotisiert. Der Radiotracer wurde jeweils als Bolusinjektion in etwa 0,7 ml isotonischer Kochsalz-Lösung (mit Zusatz von 10 v% Ethanol zur besseren Löslichkeit des  $^{68}\text{Ga}$ -Schiff'schen Basen-Komplexes) intravenös in die Schwanzvene appliziert. Die injizierte Dosis betrug  $17,8 \pm 5,7$  MBq, die mit 200  $\mu\text{l}$  heparinierter Kochsalzlösung nachgespült wurden. Zur Vergleichsbestimmung wurden analog zu den obigen Versuchen 18,5 MBq  $^{18}\text{F}$ - Flurpiridaz in ein 181 g schweres Rattenweibchen injiziert.

Für die  $\mu$ PET-Messungen wurden die Tiere auf dem Rücken liegend mit dem Kopf zuerst positioniert (head-first-suspine position). Nach einem 15-minütigen Transmissionsscan mit einer externen  $^{57}\text{Co}$ -Quelle folgte ein 60-minütiger dynamischer Scans des Brustkorbs. Für die Auswertung der erhaltenen Daten wurden diese in 19 Zeitfenster (3x20, 3x60, 3x120, 10x300 s) unterteilt und mit FBP und Streuungskorrektur rekonstruiert. Für die Auswertung mittels PMOD Software (PMOD Technologies LTD) wurden Volume of Interests (VOIs, Herz), manuell generiert. Hieraus wurden nachfolgend die Standardized Uptake Values (SUVs) berechnet:

$$SUV = \left( \text{Aktivität VOI} \left[ \frac{\text{Bq}}{\text{ml}} \right] * \text{Körpergewicht [g]} \right) * \text{injizierte Dosis [Bq]}$$

### 4.4.2 *Ex vivo*-Biodistributionen

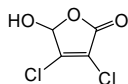
Es wurden 4 Biodistributionen mit  $^{68}\text{Ga}$ -BADED-2 und zum Vergleich jeweils 4 Biodistributionen mit den literaturbekannten Radiopharmaka  $^{68}\text{Ga}$ -BAPDMEN-2,  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -sestamibi und  $^{18}\text{F}$ -Flurpiridaz durchgeführt. Dazu wurden 140-500 g männliche und weibliche Sprague- Dawley Ratten (Charles Rivers Laboratories, Sulzfeld, Deutschland) verwendet.  $9,71 \pm 2,42$  MBq  $^{68}\text{Ga}$ -Schiff'sche Basen-Komplex,  $8,01 \pm 0,32$  MBq bzw.  $24,61 \pm 2,06$  MBq  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -sestamibi wurden den Tieren in die

Schwanzvene injiziert. Nach 60 Minuten erfolgte die Tötung der Tiere und Teile von Lunge, Blut, Leber, Milz, Niere, Skelettmuskel Herz und Hirn wurden entnommen und die Geweberadioaktivität in einem automatischem Gamma-Counter (Wizard<sup>2</sup>®, Perkin-Elmer, Rodgau, Deutschland) gemessen.

Bestimmt wurde die Gewebedosis als prozentuale Angabe, bezogen auf die gesamtapplizierte Dosis (injected dose per gram of tissue, %ID/g). Für die statistische Auswertung wurden die Ergebnisse als  $\pm$  SD angegeben.

## 4.5 Synthese der Flurpiridaz-Schiff'schen Base

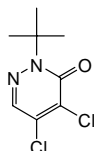
### 2,3-Dichloro-4-oxo-2-butensäure (17)



Mangan(IV)oxid (8 g; 92 mmol) wurde portionsweise zu 48 ml (58 mmol) gekühlter konzentrierter Salzsäure zugegeben. Bei einer Temperatur von 0 – 10°C wurden 2,4 g (25 mmol) Furfurylaldehyd (16) zugetropft und im Anschluss 30 min weiter rühren gelassen. Daraufhin wurde die Lösung auf 60 °C erhitzt, 4,2 g (50 mmol) MnO<sub>2</sub> zugegeben und die Suspension bei 100 °C gehalten. Nachdem ein Farbumschlag zu orange stattgefunden hatte, wurde der gelbe Feststoff bei Raumtemperatur abgesaugt und in 10 ml Et<sub>2</sub>O gelöst. Hierbei blieb trotz Behandlung im Ultraschallbad ein grauer Bodensatz zurück. Aus diesem Grund wurde erneut filtriert. Das Filtrat wurde eingengt und aus Wasser umkristallisiert. Das Produkt (1,97 g, 14 % der Theorie) wurde in Form eines gelb-orangen Feststoffes gewonnen.

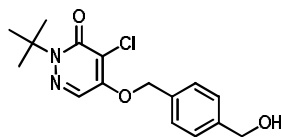
<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, DMSO-D<sub>6</sub>) δ (ppm)= 6,24 (s, 1 H); 8,65 (s, 1 H)

### 2-tert-Butyl-2,5-dichloro-2H-pyridazin-3-on (18)



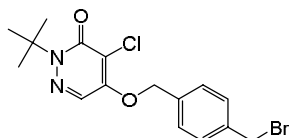
0,69 g (4,1 mmol) 2,3-Dichloro-4-oxo-2-butenoic acid (17) wurden unter Eiskühlung mit 1,9 g (1,8 mmol) Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> in 30 ml Wasser gelöst. Nachdem eine klare, orange Lösung entstanden war, wurden 0,51 g (4,1 mmol) *tert*-Butylhydrazinhydrochlorid zugegeben, wobei die Bildung eines weißen Niederschlags beobachtet werden konnte. Die Suspension wurde für drei Stunden unter Eiskühlung gerührt, filtriert, der Rückstand mit Wasser gewaschen und in 15 ml Benzol aufgenommen. Im nächsten Schritt wurden 1,1 g (18,2 mmol) Essigsäure zugefügt und die Mischung bei 35-45 °C gerührt. Nach 4 h wurde zur Aufarbeitung mit Wasser versetzt und die organische Phase abgetrennt. Diese wurde mit jeweils 5 ml 1,25 M NaOH-, 3 M HCl-Lösung und mit Wasser gewaschen. Als Trocknungsmittel diente Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Nach Abzug des Lösungsmittels im Vakuum wurde das Produkt (0,55 g, 59 % der Theorie) in Form eines orangen Feststoffs erhalten.

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, DMSO-D<sub>6</sub>) δ (ppm)= 1,64 (s, 9 H); 7,72 (s, 1H)

*2-(tert-Butyl)-4-chloro-5-((4-(hydroxymethyl)benzyl)oxy)pyridazin-3(2H)-on (20)*

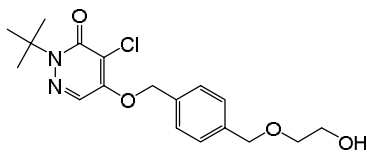
Im ersten Schritt wurde *2-tert-Butyl-2,5-dichloro-2H-pyridazin-3-on* (18) (3,21 g; 14,3 mmol) in trockenem Dimethylformamid (5 ml) gelöst. Im Anschluss wurde die Lösung langsam zu einer weißen Suspension aus 1,4-Phenylendimethanol (10,02 g; 72,6 mmol) und Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (19,00 g; 59,1 mmol) in trockenem DMF (40 ml) gegeben. Hierbei verfärbte sich die Lösung dunkel. Im zweiten Schritt wurde die Suspension für 6 h bei einer Temperatur von 65°C gehalten, wobei sich die Mischung orange färbte. Im Anschluss wurde die Reaktionsmischung filtriert. Dem Filtrat wurde gesättigte Natriumchlorid-Lösung (2 ml) zugesetzt und anschließend mit Dichlormethan extrahiert. Die organische Phase wurde mit Natriumsulfat getrocknet und zu einem gelben Öl im Vakuum aufkonzentriert. Durch säulenchromatographische Aufreinigung (EA/PE 2:1; R<sub>f</sub>= 0,7) wurde das Produkt (2,59 g, 55% der Theorie) als weißer Feststoff erhalten.

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm)= 1,61 (s, 9 H); 4,71 (s, 2 H); 5,30 (s, 2 H); 7,40 (s, 4 H); 7,72 (s, 1H)

*2-(tert-Butyl)-4-chloro-5-((4-(bromomethyl)benzyl)oxy)pyridazin-3(2H)-on (21)*

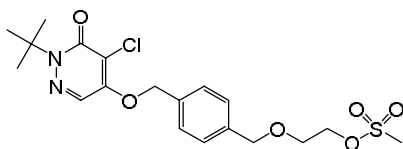
Eine 1,0 M Lösung PBr<sub>3</sub> (1,72 g; 6,4 mmol) in trockenem Chloroform wurde innerhalb von 30 Minuten bei Raumtemperatur zu einer gelben Lösung aus *2-(tert-Butyl)-4-chloro-5-((4-(hydroxymethyl)benzyl)oxy)pyridazin-3(2H)-on* (20) (3,9 g; 12,7 mmol) und CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (40 ml), zugegeben und 1 h bei RT gerührt. Nach dem Reaktionsende, welches per DC bestimmt wurde, wurde die Suspension mit Wasser (5 ml) verdünnt und mit Dichlormethan extrahiert. Die organische Phase wurde daraufhin mit gesättigter Natriumchlorid-Lösung extrahiert, über Natriumsulfat getrocknet und im Vakuum aufkonzentriert. Das Produkt (3,8 g; 78%) wurde als gelber Feststoff erhalten.

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm)= 1,61 (s, 9 H); 4,48 (s, 2 H); 5,28 (s, 2 H); 7,44-7,35 (m, 4 H); 7,72 (s, 1 H)

2-(*tert*-Butyl)-4-chloro-5-((4-((2-hydroxyethoxy)methyl)benzyl)oxy)pyridazin-3(2*H*)-on (22)

Zu einer klaren Lösung aus Ethylenglykol (20 ml; 260 mmol) und Kalium-*tert*-Butoxid (340 mg; 3,0 mmol) wurde 2-(*tert*-Butyl)-4-chloro-5-((4-(Brommethyl)benzyl)oxy)pyridazin-3(2*H*)-on (21) (1,23 g; 3,2 mmol) in trockenem THF (10 ml) gegeben und die Mischung 18 h auf 60°C erhitzt. Daraufhin wurde mit Wasser (4 ml) verdünnt, mit Dichlormethan extrahiert, über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und aufkonzentriert. Nach säulenchromatographischer Aufreinigung (EA/PE 2:1;R<sub>f</sub>= 0,3) wurde das Produkt (0,8 g, 67 % der Theorie) als farbloses Öl erhalten.

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm)= 1,62 (s, 9 H); 1,87 (1 H, s); 3,64-3,60 (m, 2 H); 3,79-3,76 (m, 2 H); 4,58 (s, 2 H); 5,31(s, 2 H); 7,40 (s, 4 H); 7,71 (s, 1 H)

2-(*tert*-Butyl)-4-chloro-5-((4-((2-mesyloxy)methyl)benzyl)oxy)pyridazin-3(2*H*)-on (23)

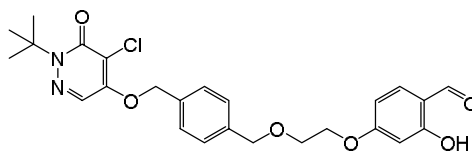
Zu Triethylamin (57,68 mg; 0,55 mmol) wurde 2-(*tert*-Butyl)-4-chloro-5-((4-((2-hydroxyethoxy)methyl)benzyl)oxy)pyridazin-3(2*H*)-on (22) (201 mg; 0,55 mmol) in trockenem Dichlormethan (5 ml) zugegeben. Anschließend wurde die Mischung auf 0°C gekühlt und Mesylchlorid (65 mg; 0,55 mmol) zugegeben. Dabei veränderte sich die klare Lösung zu einer weißen Suspension. Die Reaktionsmischung wurde über Nacht bei Raumtemperatur gerührt und im Anschluss filtriert, im Vakuum eingedampft und säulenchromatographisch (EA/PE 2:1;R<sub>f</sub>= 0,5) gereinigt. Hierdurch konnte das Produkt (130 mg, 53 % der Theorie) als weißer Feststoff erhalten werden.

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm)= 1,62 (s, 9 H); 3,04 (s, 3 H); 3,78-3,75 (m, 2 H); 4,42-4,39 (m, 2 H); 4,59 (s, 2 H); 5,31 (s, 2 H); 7,39 (s, 4 H); 7,72 (s, 1 H)

<sup>13</sup>C-NMR ((CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz) δ (ppm)): 27,75; 37,59; 66,33; 67,98; 68,92; 71,48; 72,77; 124,97; 127,24; 128,14; 134,49; 153,57

4-{2-[(1-tert-Butyl-5-chloro-6-oxo-1,6-dihydropyridazin-4-yl)oxy]methyl}phenyl)

methoxy}ethoxy}-2-hydroxybenzaldehyd (25)

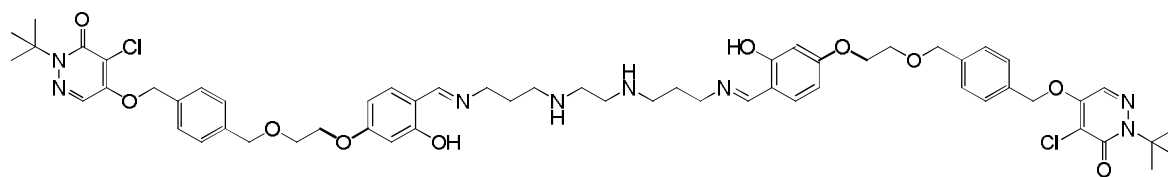


0,65 g (1,460 mol) des Tosylats (23) wurden mit 0,25 g (1,9 mol) 2,4-Dihydroxybenzaldehyd (24) und 0,3 g (2,25 mol) Kaliumcarbonat in 50 ml Acetonitril vereinigt. Die Reaktionsmischung wurde für 5h bei RT gerührt. Anschließend wurde die Suspension filtriert und säulenchromatographisch (EA/PE 2:1) aufgetrennt. Man erhielt 148 mg (0,3 mol, 21 %) des Produkts.

$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm)= 1,48 (s, 9 H); 3,73 (m, 2 H); 4,01 (m, 2 H); 4,50 (s, 2 H); 5,17 (s, 2 H); 6,41 (m, 1H); 6,44 (m, 1H); 7,30 (s, 4 H); 7,30 (s, 4 H); 7,59 (s, 1 H); 9,56 (s, 1H); 11,32 (s, 1H);

$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz)  $\delta$  (ppm): 27,14; 66,73; 68,14; 68,62; 71,90; 73,27; 101,57; 109,01; 115,58; 118,45; 125,40; 127,59; 128,53; 134,72; 135,60; 138,89; 153,99; 159,353; 164,65; 166,23; 194,73



*Flurpiridaz-BAPEN(10)*

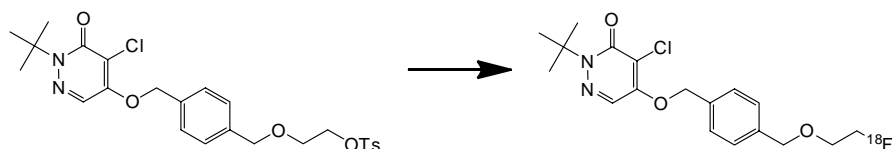
3,06 eq. Salicylaldehyds (25) wurden in 10–15 ml trockenem Dichlormethan gelöst und Molekularsieb (4A) zugegeben, um das entstehende Wasser zu binden. Das entsprechende Rückgrat wurde in 1 ml Dichlormethan gelöst und zugegeben. Anschließend wurde die Reaktionsmischung bei RT über Nacht gerührt, abfiltriert, mit Dichlormethan gewaschen und im Vakuum eingengt. Es wurden gelbe bis orangene Feststoffe erhalten, die für 2 Tage unter Vakuum getrocknet wurden. Nach säulenchromatographischer Aufreinigung wurden 3 Fraktionen erhalten, von denen die erste eine Mischung des dimeren (10) und trimeren (26) Produkts enthält. Eine Trennung dieser Mischung per HPLC nötig findet momentan statt.

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz)  $\delta$  (ppm): 9,72 (s); 7,89 (s); 7,40 (s); 7,39 (s); 6,26-7,0 (m); 5,30 (s); 4,62 (s, 2 H); 4,11 (m); 3,82 (m); 3,08 (m); 2,04-2,7 (m); 2,04 s; 1,62 (s)

MS (ESI):  $(\text{M}+\text{H})^+$ ,  $m/z=111,51$  für  $[\text{M}+\text{H}]^+ = \text{C}_{58}\text{H}_{73}\text{Cl}_2\text{N}_8\text{O}_{10}$  (berechnet: 1111,48) (dimer) und  $(\text{M}+\text{H})^+$ ,  $m/z=1579,64$  für  $[\text{M}+\text{H}]^+ = \text{C}_{83}\text{H}_{98}\text{Cl}_3\text{N}_{10}\text{O}_{15}$  (berechnet: 1579,63) (trimer)

## 4.6 Synthese des $^{18}\text{F}$ -Flurpiridaz

Zur Synthese des  $^{18}\text{F}$ -Flurpiridaz wurde nach einer Vorschrift von Purohit et al. gearbeitet [80].



3,4 GBq  $[^{18}\text{F}]\text{F}^-$  wurde auf einer mit  $\text{H}_2\text{O}$  und  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (1M) Lösung vorkonditionierten SepPak-QMA-Kartusche (Waters, USA) fixiert und mit 1 ml einer  $\text{H}_2\text{O}$ : ACN-Lösung (1:4) aus 3 mg  $\text{K}_2\text{CO}_3$  und 18 mg Kryptofix eluiert. Im Anschluss wurde die  $[^{18}\text{F}]\text{F}^-$ -Lösung unter Heliumstrom azeotrop bei  $85^\circ\text{C}$  durch mehrmalige Zugabe von 1 ml abs. MeCN im Vakuum getrocknet. Nach Kühlung wurden 1,5 mg der Flurpiridaz Markierungsvorläufer, gelöst in trockenem Acetonitril (1,5 mg/ml), zu dem getrockneten Kryptofix  $222/[^{18}\text{F}]\text{F}^-$ -Komplex zugefügt. Die Reaktionsmischung wurde für 30 min bei  $90^\circ\text{C}$  gerührt und anschließend in 0,6 ml Acetonitril aufgenommen und mittels HPLC (Säule: Phenomenex LUNA C-18 Säule 250 mm\*10 mm, 10  $\mu\text{m}$ ; Laufmittel: ACN: Ammoniumacetatpuffer (0,25 M) 60:40, Fluss: 5 ml/min) aufgereinigt. Die abgetrennte Produktfraktion wurde mit Wasser verdünnt, auf einer C-18 Festphasenkartusche fixiert, mit Ethanol eluiert und das Eluat am Rotationsverdampfer eingengt, wodurch 470 MBq  $^{18}\text{F}$ -Flurpiridaz in 99 %-iger Reinheit gewonnen werden konnte. Die radiochemische Reinheit wurde analog der  $^{68}\text{Ga}$ -Schiff'schen Basen mittels Radio-DC überprüft. Für die *in vivo*-Studien wurde das Produkt zur Applikation in physiologischer Kochsalzlösung (mit 10 v% Ethanol) aufgenommen.

## 5 Zusammenfassung und Ausblick

### Zusammenfassung

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit erfolgte die Synthese von 15, zum Teil Literatur-bekannte, Schiff'sche Basen. Dabei wurden

- 1.) verschieden substituierte Aldehyde sowie
- 2.) unterschiedliche Rückgrate verwendet, wodurch die Lipophile der Verbindungen beeinflusst wurde. Sie lag bei den  $^{68}\text{Ga}$ -Komplexen zwischen  $0,87\pm 0,24$  und  $2,72\pm 0,14$  und damit leicht höher als beim  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Sestamibi ( $0,64\pm 0,25$ ) aber im Bereich von  $^{18}\text{F}$ -Flurpiridaz ( $1,76\pm 0,31$ ).
- 3.) Bei der Radioaktivmarkierung mit  $^{68}\text{Ga}$  zeigte sich, dass sich die  $^{68}\text{Ga}$ -Schiff'schen Basen-Komplexe sowohl im wässrigen als auch im organischen Medium innerhalb kurzer Zeit ( $\leq 10$  min) mit hohen Ausbeuten bildeten. Die Aufreinigung der  $^{68}\text{Ga}$ -Komplexe gelang mittels SPE in hohen radiochemischen Reinheiten ( $\geq 87\%$ ).
- 4.) Untersuchungen der Ladung mittels Papierelektrophorese zeigte, dass die  $^{68}\text{Ga}$ -Schiff'schen Basen bei  $\text{pH} = 7$  positiv geladen sind. Die Stabilität der  $^{68}\text{Ga}$ -Schiff'schen Basen wurde *in vitro* in physiologischer Kochsalzlösung, im humanen Serum und gegen apo-Transferrin bestimmt. In allen Medien zeigten die  $^{68}\text{Ga}$ -Schiff'schen Basen-Verbindungen hohe Stabilitäten von über 92 %. Ausnahmen bildeten die Verbindungen  $^{68}\text{Ga}$ -BAPEN-3 (lediglich 83 % in isotonischer Kochsalzlösung sowie 52 % in apo-Transferrin) und  $^{68}\text{Ga}$ -BAPEN-2 mit 74 % in apo-Transferrin, 83 % in isotonischer Kochsalzlösung sowie 80 % im humanen Serum.
- 5.) *In vitro*-Zellversuche zeigten, dass alle  $^{68}\text{Ga}$ -Schiff'schen Basen eine höhere Aufnahme in die HL-1-Herzzellen zeigten, als die Vergleichssubstanz  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Sestamibi (Ausnahme: Aufnahme von  $^{68}\text{Ga}$ -BADED-5 mit 3,06 %). Jedoch variierte die Zellaufnahme der Aktivität über ein breites Spektrum zwischen 3 und 46 %. Um die Störung des Zellmembranpotentials untersuchen zu können, wurde ein Teil der Zellen mit Valinomycin behandelt. Dabei zeigte sich, dass die Zugabe des Ionophors die Aufnahme der Aktivität in die Herzzellen um 7-28 % senken konnte. Allerdings zeigten die Verbindungen  $^{68}\text{Ga}$ -BAPEN-3,  $^{68}\text{Ga}$ -BAPDMEN-3 und  $^{68}\text{Ga}$ -BAPEN-2 einen gegenteiligen Effekt. Da die Aufnahme des reinen  $^{68}\text{Ga}$  sogar um fast 50 % reduziert werden konnte, ist dies vermutlich kein Effekt einer labilen Komplexbildung. Eine Korrelation der Zellaufnahme und der Beeinflussung durch das Zellmembranpotentials zu der Lipophilie konnte nicht

- erkannt werden. Allerdings zeigte sich beim BADED-Rückgrat eine Tendenz zu höheren Aktivitätsaufnahmen in die Herzzellen. Die vermehrte Aktivität lässt eine Wechselwirkung der Methylgruppen mit den Zellmembranen der HL-1 Zellen vermuten.
- 6.) Mittels *in vivo*- $\mu$ PET Untersuchungen der  $^{68}\text{Ga}$ -Schiff'sche Basen-Verbindungen konnten Zeit-Aktivitätskurven aufgenommen und die SUVs der Verbindungen im Herzen bestimmt werden. Dabei zeigte sich, dass die Männlichen höhere SUV-Werte als die Weiblichen erzielten, weshalb die folgenden Untersuchungen jeweils in ca. 300 g Weibchen durchgeführt wurden, um vergleichbare Resultate zu gewährleisten. Nach etwa 5-10 Minuten erreichten alle Verbindungen ein Plateau, was bedeutet, dass die  $^{68}\text{Ga}$ -Verbindungen über den Messzeitraum von 60 min im Herzen zurückgehalten werden. Sie erfüllen damit ein für einen Herztracer gewünschtes Verhalten. Die SUV-Werte der  $^{68}\text{Ga}$ -Schiff'sche Basen-Verbindungen lagen zwischen  $0,63 \pm 0,15$  und  $2,98 \pm 0,86$ . Auch hier zeigte sich keine Korrelation zwischen Lipophilie und Herzaufnahme. Im Gegensatz zu den *in vitro*-Zellaufnahmen zeigte sich hier nicht, dass mit dem BADED-Rückgrat generell eine höhere Herzaufnahme erfolgte.
  - 7.) Auf Grund der guten SUV-Resultate von  $3,35 \pm 0,47$  in den Männchen sowie  $2,18 \pm 0,66$  in den Weibchen der Verbindung  $^{68}\text{Ga}$ -BADED-2 wurde diese Verbindung mittels *ex vivo*-Biodistribution in Sprague-Dawley Ratten untersucht. Es ergab sich dabei eine Herzaufnahme von  $2,39 \pm 0,06$  % der inj.D/g in Männchen bzw.  $1,49 \pm 0,09$  % in den Weibchen. Die Literaturverbindung  $^{68}\text{Ga}$ -BAPDMEN-2 zeigte hier leicht höhere Werte von  $2,27 \pm 1,01$  % (Männchen und Weibchen). Im direkten Vergleich mit den Substanzen  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Sestamibi ( $3,26 \pm 0,49$  %),  $^{18}\text{F}$ -Flurpiridaz ( $7,07 \pm 0,76$  %) sind die Aufnahmen in die Herzzellen somit geringer. Allerdings besitzt das  $^{68}\text{Ga}$ -BAPDMEN-2 bessere Herz:Leber-Werte als das  $^{18}\text{F}$ -Flurpiridaz, was bei der Herzbildgebung von entscheidender Bedeutung sein kann.
  - 8.) Des Weiteren wurde erfolgreich eine Flurpiridaz-Schiff'sche Base hergestellt. Die synthetisierte Verbindung zeigt wie die Schiff'schen Basen die Fähigkeit zur Dimer- und Trimerbildung.
  - 9.) Die synthetisierte Flurpiridaz-Schiff'sche Base wurde in ersten Markierungsversuchen mit  $^{68}\text{Ga}$  eingesetzt. Dabei zeigte sich, dass in organischem Lösungsmittel Ausbeuten  $>50$  % erreicht werden konnten.
  - 10.) Als Vergleichssubstanzen für die *in vitro* und *in vivo*-Evaluierungen konnte  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Sestamibi von der Nuklearmedizin Mainz eingesetzt werden.  $^{18}\text{F}$ -Flurpiridaz konnte durch eine Fluorierung des Tosylvorläufers synthetisiert werden.

### Ausblick

Die bisher synthetisierten  $^{68}\text{Ga}$ -Schiff'sche Basen Derivate zeigten, dass sie leicht zu synthetisieren und aufzureinigen sind und eine hohe *in vitro* Stabilität haben. Nach Injektion in die Ratten zeigten sie eine schnelle Aufnahme ins Herz und keinen nachfolgenden Wash-Out aus dem Herzgewebe. Für die weitere Evaluierung der  $^{68}\text{Ga}$ -Schiff'schen Basen sollten die geeignetsten Kandidaten (BAPDMEN-2 und BADED-2) auch in größeren Tieren (beispielsweise Schweinen oder Affen) untersucht werden. Eine erste Studie von BAPEN-Derivaten in Schweinen zeigten, dass diese Schiff'schen Basen eine unerwünschte sehr langsame Aufnahme in Herzgewebe hatten [71]. Allerdings konnte bereits in vielen Arbeiten gezeigt werden, dass das *in vivo*-Verhalten der  $^{68}\text{Ga}$ -Schiff'sche Basen-Komplexe sehr stark variiert. Dies wurde auch in der Studie von Tarkia et al. erneut aufgezeigt.

Neben der Stabilität *in vivo*, einer hohen Aufnahme und Retention in den Herzzellen ist es auch wichtig, dass der Tracer nicht toxisch ist. Dies sollte zunächst getestet werden.

Das  $^{18}\text{F}$ -Flurpiridaz schließt demnächst die Phase 3 der klinischen Studie ab und scheint ein sehr gelungener Kandidat für einen Herztracer zu sein. Eine Kopplung des  $^{68}\text{Ga}$ -Schiff'sche Basen Chelators an das Targeting-Molekül Flurpiridaz könnte spezifisch an den MC-I Komplex binden und eine Bildgebung des Herzens ohne Zugang zu einem Zyklotron ermöglichen. Erste Ergebnisse zeigen, dass die Flurpiridaz-Schiff'sche Base in organischem Lösungsmittel mit  $^{68}\text{Ga}$  markiert werden kann. Allerdings scheint die Aufreinigung mittels Strata-X-Kartusche nach ersten Untersuchungen nicht analog zu den leichteren  $^{68}\text{Ga}$ -Schiff'schen Basen zu funktionieren. Von daher muss eine andere Methode zur Aufreinigung gefunden werden, beispielsweise durch Ausschütteln gegen Chloroform: Wasser oder aber mittels HPLC. Anschließend sollte die Verbindung in ersten Versuchen in der Ratte evaluiert werden sowie Affinitäten zu dem MC-I bestimmt werden.

Des Weiteren wäre es interessant eine neutrale Schiff'sche Base wie die tripodalen Schiff'schen Basen mit dem Flurpiridaz zu koppeln. Diese zeigten in den ersten Minuten eine sehr starke Aufnahme ins Herz, konnten dann aber auf Grund der fehlenden Ladung nicht im Herzen retiniert werden. Durch Synthese einer solchen tripodalen Schiff'schen Base könnte man durch das Fehlen der Ladung möglicherweise eine noch höhere Aufnahme in die Zelle erreichen. Durch anschließendes Targeting an den MC-I könnte man dann eine Retention in dem Kardiomyozyten erreichen.

## 6 Anhang

### 6.1 Literaturverzeichnis

- [1] C. C. Cyran, C. Rist, P. M. Paprottka, M. Ingrisch, D. a. Clevert, A. Haug, M. F. Reiser, and K. Nikolaou, "Funktionelle und Molekulare Bildgebung – Aktueller Stand," *Wiener klinisches Magazin*, vol. 14, no. 5, pp. 16–21, 2011.
- [2] R. Beyer, "Grundlagen," in *PET/CT-Atlas*, 2006, pp. 11–40.
- [3] R. Standke, "Technische Grundlagen der  $^{18}\text{F}$ -Fluorodeoxyglukose-Positronen-emissionstomographie-Diagnostik," *Acta Medica Austria*, vol. 29, no. 5, pp. 149–155, 2002.
- [4] F. Zoller, "Radiosynthese und Evaluierung von  $^{68}\text{Ga}$ -markierten Porphirin-Derivaten für die Positronen-Emissions-Tomographie," 2008.
- [5] L. Geworski, "Voraussetzungen für die Quantifizierung in der Emissions-Tompgraphie," 2003.
- [6] M. S. Judenhofer and S. R. Cherry, "Applications for preclinical PET/MRI.," *Seminars in Nuclear Medicine*, vol. 43, no. 1, pp. 19–29, 2013.
- [7] Z. Cho, J. Chan, L. Ericksson, M. Singh, G. S.; N. Mac Donald, and Y. Yano, "Positron ranges obtained from biomedically important positron-emitting radionuclides.," *Journal of Nuclear Medicine*, vol. 16, no. 12, pp. 1174–1176, 1975.
- [8] G. Audi, O. Bersillon, J. Blachot, and A. H. Wapstra, "The Nubase evaluation of nuclear and decay properties," *Nuclear Physics A*, vol. 729, no. 1, pp. 3–128, 2003.
- [9] D. Suter, "Vorlesungsskript-Einführung in die Medizinphysik," *Technische Universität Dortmund*, 2007.
- [10] V. J. Molinski, "A review of  $^{99\text{m}}\text{Tc}$  generator technology," *The International Journal of Applied Radiation and Isotopes*, vol. 33, no. 10, pp. 811–819, 1982.
- [11] F. Rösch, "Radionuklid-Generatorsysteme für die PET," *Der Nuklearmediziner*, vol. 27, no. 4, pp. 226–235, 2004.
- [12] K. L. Gould, "Clinical Cardiac PET Using Generator-Produced Rb-82 : A Review," *Cardiovascular and Interventional Radiology*, vol. 12, pp. 245–251, 1989.
- [13] R. H. J. A. Slart, J. J. Bax, D. J. van Veldhuisen, E. E. van der Wall, R. a J. O. Dierckx, and P. L. Jager, "Imaging techniques in nuclear cardiology for the assessment of myocardial viability.," *The international Journal of Cardiovascular ilaging*, vol. 22, no. 1, pp. 63–80, 2006.

- [14] M. F. Di Carli, S. Dorbala, J. Meserve, G. El Fakhri, A. Sitek, and S. C. Moore, "Clinical Myocardial Perfusion PET/CT.," *Journal of Nuclear Medicine*, vol. 48, no. 5, pp. 783–93, 2007.
- [15] F. Rösch and P. J. Riss, "The Renaissance of the  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  Radionuclide Generator Initiates New Developments in  $^{68}\text{Ga}$  Radiopharmaceutical Chemistry," *Current Topics in Medicinal Chemistry*, vol. 10, no. 36, pp. 1633–1668, 2010.
- [16] K. P. Zhernosekov, D. V. Filosofov, R. P. Baum, P. Aschoff, H. Bihl, A. A. Razbash, M. Jahn, M. Jennewein, and F. R., "Processing of Generator-Produced Medical Application for," *JNM*, vol. 48, no. 10, pp. 1741–1748, 2007.
- [17] M. Asti, G. De Pietri, A. Fraternali, E. Grassi, R. Sghedoni, F. Fioroni, F. Roesch, A. Versari, and D. Salvo, "Validation of  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  generator processing by chemical purification for routine clinical application of  $^{68}\text{Ga}$ -DOTATOC.," *Nuclear medicine and biology*, vol. 35, no. 6, pp. 721–4, 2008.
- [18] F. Zoller, P. J. Riss, F.-P. Montforts, and F. Rösch, "Efficient post-processing of aqueous generator eluates facilitates  $^{68}\text{Ga}$ -labelling under anhydrous conditions," *Radiochimica Acta*, vol. 98, no. 3, pp. 157–160, 2010.
- [19] M. D. Bartholomä, A. S. Louie, J. F. Valliant, and J. Zubieta, "Technetium and gallium derived radiopharmaceuticals: comparing and contrasting the chemistry of two important radiometals for the molecular imaging era.," *Chemical reviews*, vol. 110, no. 5, pp. 2903–20, 2010.
- [20] J. Notni, K. Pohle, and H.-J. Wester, "Comparative gallium-68 labeling of TRAP-, NOTA-, and DOTA-peptides: practical consequences for the future of gallium-68-PET.," *EJNMMI research*, vol. 2, no. 1, p. 28, 2012.
- [21] J. Šimeček, P. Hermann, H.-J. Wester, and J. Notni, "How is  $^{68}\text{Ga}$  labeling of macrocyclic chelators influenced by metal ion contaminants in  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  generator eluates?," *ChemMedChem*, vol. 8, no. 1, pp. 95–103, 2013.
- [22] D. S. Liu, S.; Edwards, "Bifunctional Chelators for Therapeutic Lanthanide Radiopharmaceuticals," *Bioconjugate Chemistry*, vol. 12, no. 1, pp. 7–34, 2001.
- [23] Wikipedia, "Anatomie des Herzens," *Thieme*, 2005. [Online]. Available: ([http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Diagram\\_of\\_the\\_human\\_heart\\_\(cropped\)\\_de.svg](http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Diagram_of_the_human_heart_(cropped)_de.svg)).
- [24] R. Klinke, Rainer; Baumann, *Physiologie*. 2010, p. 143.
- [25] Statistisches Bundesamt, "Gesundheit-Todesursachen in Deutschland 2011," *Statistisches Bundesamt Wiesbaden*, 2012.
- [26] R. Dietz, B. Rauch, M. Gottwik, B. Levenson, T. Meinertz, A. Osterspey, R. Strasser, U. Tebbe, K. Werdan, G. Arnold, S. Heinemann, K. Held, and H. Katus, "Leitlinie zur Diagnose und Behandlung der chronischen koronaren Herzerkrankung der Deutschen Gesellschaft für Kardiologie – Herz- und Kreislaufforschung ( DGK )," *Zeitschrift für Kardiologie*, vol. 92, no. 6, pp. 501–521, 2003.

- [27] Statistisches Bundesamt, "Bevölkerung Deutschlands bis 2060-Prognose der Lebenserwartungen in Deutschland," 2009.
- [28] A. der W. M. F. Bundesärztekammer, Kassenärztliche Vereinigung, "Nationale Versorgungsleitlinie: Chronische KHK - Langfassung," 2011.
- [29] Wikipedia, *Bild artherosklerotisch veränderte Arterie*. 2013.
- [30] F. M. Bengel, T. Higuchi, M. S. Javadi, and R. Lautamäki, "Cardiac positron emission tomography.," *Journal of the American College of Cardiology*, vol. 54, no. 1, pp. 1–15, 2009.
- [31] R. R. Russel, J. A. Arrighi, and Y.-H. Liu, "Nuclear Cardiac Imaging," in *Cardiovascular Imaging*, 2010, pp. 44–80.
- [32] M. Salerno and G. a Beller, "Noninvasive Assessment of Myocardial Perfusion.," *Circ Cardiovasc Imaging*, vol. 2, no. 5, pp. 412–24, 2009.
- [33] G. B. Saha, "Diagnostic Uses of Radiopharmaceuticals in Nuclear Medicine: Heart," in *Fundamentals of Nuclear Pharmacy*, 2010, pp. 299–319.
- [34] G. M. Pohost, N. M. Alpert, J. S. Ingwall, and H. W. Strauss, "Thallium Redistribution: Mechanisms and Clinical Utility.," *Seminars in Nuclear Medicine*, vol. 10, no. 1, pp. 70–93, 1980.
- [35] T. P. Rocco, V. Dilisizian, K. A. McKusick, A. J. Fischman, C. A. Boucher, and H. W. Strauss, "Comparison of Thallium Redistribution with Rest 'Reinjection' Imaging for the Detection of Viable Myocardium," *The American Journal of Cardiology*, vol. 66, pp. 158–163, 1990.
- [36] K. Hatada, L. M. Riou, M. Ruiz, Y. Yamamichi, A. Duatti, R. L. Lima, A. R. Goode, D. D. Watson, G. A. Beller, and D. K. Glover, "a New Myocardial Perfusion Imaging Agent with Rapid Liver Clearance : Comparison with  $^{99m}\text{Tc}$ -Sestamibi and  $^{99m}\text{Tc}$ -Tetrofosmin in Rats," *J Nucl Med*, vol. 45, no. 12, pp. 2095–2101, 2004.
- [37] A. Younès, J. A. Songadele, J. Maublant, E. Platts, R. Pickett, and A. Veyre, "Mechanism of uptake of technetium-tetrofosmin. II: Uptake into isolated adult rat heart mitochondria.," *Journal of Nuclear Cardiology*, vol. 2, no. 4, pp. 327–33, 1995.
- [38] J. Piwnica-Worms, David; Kronaauge, B. L. Holman, A. Davison, and A. Jones, "Comparative Myocardial Uptake Characteristics of Hexakis (Alkylisonitrile) Technetium(I)Complexes- Effect of Lipophilicity," *Invest Radiol*, vol. 24, pp. 25–29, 1989.
- [39] S. T. Dahlberg and J. A. Leppo, "Myocardial kinetics of radiolabeled perfusion agents: Basis for perfusion imaging.," *Journal of Nuclear Cardiology*, vol. 1, no. 2 Pt 1, pp. 189–97, 1994.
- [40] P. Crane, R. Lalibert, S. Heminway, M. Thoolen, and C. Orlandi, "Effect of mitochondrial viability and metabolism on technetium-99m-sestamibi myocardial retention," *European Journal of Nuclear Medicine*, vol. 20, pp. 20–25, 1993.
- [41] F. J. T. Wackers, D. S. Berman, J. Maddai, D. D. Watson, G. A. Beller, H. W. Strauss, C. A. Boucher, M. Picard, B. L. Holman, R. Fridrich, E. Inglese, B. Delaloye, A. Bischof-delaloye, L. Camin, and K. Mckusick, "Technetium-99m Hexakis 2-Methoxyisobutyl Isonitrile : Human



- Biodistribution , Dosimetry , Safety , and Preliminary Comparison to Thallium-201 for Myocardial Perfusion Imaging," *J Nucl Med*, vol. 30, no. 3, pp. 301–311, 1989.
- [42] P. Soman, R. Taillefer, E. G. DePuey, J. E. Udelson, and A. Lahiri, "Enhanced detection of reversible perfusion defects by Tc-99m- sestamibi compared to Tc-99m-tetrofosmin during vasodilator stress SPECT imaging in mild-to-moderate coronary artery disease.," *Journal of the American College of Cardiology*, vol. 37, no. 2, pp. 458–62, 2001.
- [43] Y.-S. Kim, F. Wang, and S. Liu, "Minimizing liver uptake of cationic Tc radiotracers with ether and crown ether functional groups.," *World Journal of Hepatology*, vol. 2, no. 1, pp. 21–31, 2010.
- [44] J. J. Bax, O. Kraft, A. E. Buxton, J. G. Fjeld, P. Parízek, D. Agostini, J. Knuuti, A. Flotats, J. Arrighi, A. Muxi, M.-J. Alibelli, G. Banerjee, and A. F. Jacobson, "<sup>123</sup>I-mIBG scintigraphy to predict inducibility of ventricular arrhythmias on cardiac electrophysiology testing: a prospective multicenter pilot study.," *Circulation. Cardiovascular imaging*, vol. 1, no. 2, pp. 131–40, 2008.
- [45] K. L. Gould, K. Yoshida, M. J. Hess, M. Haynie, N. Mullani, and R. W. Smalling, "Myocardial Metabolism of Fluorodeoxyglucose Compared to Cell Membrane Integrity for the Potassium Analogue Rubidium-82 for Assessing Infarct Size in Man by PET.," *Journal of Nuclear Medicine*, vol. 32, no. 1, pp. 1–9, 1991.
- [46] G. B. Saha, R. T. Go, W. J. MacIntyre, T. H. Marwick, A. Beachler, J. L. King, and D. R. Neumann, "Use of the <sup>82</sup>Sr/<sup>82</sup>Rb Generator in Clinical PET Studies," *Nuclear Medicine and Biology*, vol. 17, no. 8, pp. 763–8, 1990.
- [47] G. El Fakhri, A. Kardan, A. Sitek, S. Dorbala, N. Abi-Hatem, Y. Lahoud, A. Fischman, M. Coughlan, T. Yasuda, and M. F. Di Carli, "Reproducibility and Accuracy of Quantitative Myocardial Blood Flow Assessment with (82)Rb PET: Comparison with (13)N-ammonia PET.," *Journal of Nuclear Medicine*, vol. 50, no. 7, pp. 1062–71, 2009.
- [48] K. Yoshinaga, R. Klein, and N. Tamaki, "Generator-produced rubidium-82 positron emission tomography myocardial perfusion imaging-From basic aspects to clinical applications.," *Journal of Cardiology*, vol. 55, no. 2, pp. 163–73, 2010.
- [49] H. R. Schelbert, M. E. Phelps, E. J. Hoffman, S.-C. Huang, C. E. Selin, and D. E. Kuhl, "Regional Myocardial Perfusion Assessed With N-13 Labeled Ammonia and Positron Mission Computerized Axial Tomography.," *The American Journal of Cardiology*, vol. 43, no. 2, pp. 209–18, 1979.
- [50] G. Wisenberg, H. R. Schelbert, E. J. Hoffman, M. E. Phelps, G. D. Robinson, C. E. Selin, J. Child, D. Skorton, and D. E. Kuhl, "In vivo quantitation of regional myocardial blood flow by positron- emission computed tomography," *Circulation*, vol. 63, no. 6, pp. 1248–1258, 1981.
- [51] M. Senda, S. Nishizawa, Y. Yonekura, N. Tamaki, H. Saji, T. Mukai, and J. Konishi, "A new subtraction method for obtaining myocardial perfusion images with oxygen-15 water and positron emission tomography," *Annals of Nuclear Medicine*, vol. 2, no. 2, pp. 101–106, 1988.

- [52] T. H. Schindler, H. R. Schelbert, A. Quercioli, and V. Dilsizian, "Cardiac PET Imaging for the Detection and Monitoring of Coronary Artery Disease and Microvascular Health.," *JACC. Cardiovascular imaging*, vol. 3, no. 6, pp. 623–40, 2010.
- [53] M. Bauser and L. Lehmann, "Positronen-Emissions-Tomographie-Biochemie im Bild," *Chemie in unserer Zeit*, vol. 46, no. 2, pp. 80–99, 2012.
- [54] G. B. Saha, W. J. MacIntyre, R. C. Brunken, R. T. Go, S. Raja, C. O. Wong, and E. Q. Chen, "Present Assessment of Myocardial Viability by Nuclear Imaging," *Seminars in Nuclear Medicine*, vol. XXVI, no. 4, pp. 315–335, 1996.
- [55] A. F. L. Schinkel, D. Poldermans, A. Elhendy, and J. J. Bax, "Assessment of myocardial viability in patients with heart failure.," *Journal of nuclear medicine : official publication, Society of Nuclear Medicine*, vol. 48, no. 7, pp. 1135–46, 2007.
- [56] W. Silber, S.; Schwaiger, M. Fleck, E. Klein, U.; Rudolph, "Größenbestimmung akuter Myokardinfarkte mit Technetium-99m-Pyrophosphat," *Herz*, vol. 5, no. Nr.2, pp. 101–106, 1980.
- [57] A. Druschky, A. Spitzer, G. Platsch, D. Claus, H. Feistel, K. Druschky, M.-J. Hilz, and B. Neundörfer, "Cardiac sympathetic denervation in early stages of amyotrophic lateral sclerosis demonstrated by <sup>123</sup>I-MIBG-SPECT.," *Acta Neurologica Scandinavica*, vol. 99, no. 5, pp. 308–14, 1999.
- [58] F. T. Range, C. Wenning, K. Rahbar, K. Schober, and M. Schäfers, "Nuklearmedizinische Bildgebung an Herz und großen Gefäßen-State of the art," *Zeitschrift für Herz-,Thorax- und Gefäßchirurgie*, vol. 3, pp. 169–184, 2010.
- [59] H. Herzog and F. Rösch, "PET- und SPECT-Technik: Chemie und Physik der Bildgebung," *Pharmazie in unserer Zeit*, vol. 34, no. 6, pp. 468–473, 2005.
- [60] B. I. L.-Universität Hannover, "Modelle der Bioenergetik und ihre Umsetzung ins Internet," *Homepage*, 2006.
- [61] M. Degli Esposti, "Inhibitors of NADH-ubiquinone reductase: an overview.," *Biochimica et Biophysica Acta*, vol. 1364, no. 2, pp. 222–35, 1998.
- [62] J. G. Okun, P. Lümmen, and U. Brandt, "Three Classes of Inhibitors Share a Common Binding Domain in Mitochondrial Complex I (NADH:ubiquinone oxidoreductase).," *The Journal of Biological Chemistry*, vol. 274, no. 5, pp. 2625–30, 1999.
- [63] P. Yalamanchili, E. Wexler, M. Hayes, M. Yu, J. Bozek, M. Kagan, H. S. Radeke, M. Azure, A. Purohit, D. S. Casebier, and S. P. Robinson, "Mechanism of uptake and retention of F-18 BMS-747158-02 in cardiomyocytes: A novel PET myocardial imaging agent," *Journal of Nuclear Cardiology*, vol. 14, no. 6, pp. 782–788, 2007.
- [64] M. Yu, M. T. Fuaraldi, M. Mistry, and M. Kagan, "BMS-747158-02: A novel PET myocardial perfusion imaging agent," *Journal of Nuclear Cardiology*, vol. 14, no. 6, pp. 789–798, 2007.
- [65] H. M. Sherif, S. G. Nekolla, A. Saraste, S. Reder, M. Yu, S. Robinson, and M. Schwaiger, "Simplified Quantification of Myocardial Flow Reserve with flurpiridaz F-18 : Validation

- with Microspheres in a Pig Model," *Journal of Nuclear Medicine*, vol. 52, no. 4, pp. 617–624, 2011.
- [66] M. Yu, S. G. Nekolla, M. Schwaiger, and S. P. Robinson, "The Next Generation of Cardiac Positron Emission Tomography Imaging Agents: Discovery of Flurpiridaz F-18 for Detection of Coronary Disease.," *Seminars in Nuclear Medicine*, vol. 41, no. 4, pp. 305–13, 2011.
- [67] J. Maddahi, J. Czernin, J. Lazewatsky, S.-C. Huang, M. Dahlbom, H. Schelbert, R. Sparks, A. Ehlgren, P. Crane, Q. Zhu, M. Devine, and M. Phelps, "Phase I, first-in-human study of BMS747158, a novel  $^{18}\text{F}$ -labeled tracer for myocardial perfusion PET: dosimetry, biodistribution, safety, and imaging characteristics after a single injection at rest.," *Journal of Nuclear Medicine*, vol. 52, no. 9, pp. 1490–8, 2011.
- [68] Lantheus, "Clinical Trials," *Phase 3*, 2011. [Online]. Available: <http://clinicaltrials.gov/show/NCT01347710>.
- [69] M. A. Green, M. J. Welch, C. J. Mathias, K. A. A. Fox, R. M. Knabb, and J. C. Huffman, "Gallium-68 1,1,1-Tris(5-Methoxysalicylaldiminomethyl)Ethane : A Potential Tracer for Evaluation of Regional Myocardial Blood Flow," *Journal of Nuclear Medicine*, vol. 26, no. 15, pp. 170–180, 1985.
- [70] M. A. Green, C. J. Mathias, W. L. Neumann, P. E. Fanwick, M. Janik, and E. A. Deutsch, "Potential Gallium-68 Tracers for Imaging the Heart with PET: Evaluation of Four Gallium Complexes with Functionalized Tripodal Tris(Salicylaldimine) Ligands.," *Journal of Nuclear Medicine*, vol. 34, no. 2, pp. 228–33, 1993.
- [71] M. Tarkia, A. Saraste, T. Saanijoki, V. Oikonen, T. Vähäsilta, M. Strandberg, C. Stark, T. Tolvanen, M. Teräs, T. Savunen, M. a Green, J. Knuuti, and A. Roivainen, "Evaluation of  $^{68}\text{Ga}$ -labeled tracers for PET imaging of myocardial perfusion in pigs," *Nuclear Medicine and Biology*, vol. 39, no. 5, pp. 715–23, 2012.
- [72] B. W. Tsang, C. J. Mathias, and M. A. Green, "A Gallium-68 Radiopharmaceutical That is Retained in Myocardium:  $^{68}\text{Ga}[(4,6\text{-MeO}_2\text{sal})_2\text{BAPEN}]^+.$ ," *Journal of Nuclear Medicine*, vol. 34, no. 7, pp. 1127–31, Jul. 1993.
- [73] Y. Hsiao, C. J. Mathias, S. Wey, P. E. Fanwick, and M. A. Green, "Synthesis and biodistribution of lipophilic and monocationic gallium radiopharmaceuticals derived from N,N'-bis(3-aminopropyl)-N,N'-dimethylethylenediamine: potential agents for PET myocardial imaging with  $^{68}\text{Ga}$ ," *Nuclear Medicine and Biology*, vol. 36, no. 1, pp. 39–45, 2009.
- [74] B. W. Tsang, C. J. Mathias, P. E. Fanwick, and M. A. Green, "Structure-Distribution Relationships for Metal-Labeled Myocardial Imaging Agents: Comparison of a Series of Cationic Gallium (III) Complexes with Hexadentate Bis(salicylaldimine) Ligands.," *Journal of Medicinal Chemistry*, vol. 37, no. 25, pp. 4400–6, 1994.
- [75] V. Sharma, A. Beatty, S. Wey, J. Dahlheimer, C. M. Pica, C. L. Crankshaw, L. Bass, M. A. Green, and M. J. Welch, "Novel gallium ( III ) complexes transported by MDR1 P-glycoprotein : potential PET imaging agents for probing P-glycoprotein-mediated transport activity in vivo," *Chemistry & Biology*, vol. 7, no. 5, pp. 335–343, 2000.

- [76] M. Fellner, W. Dillenburg, H.-G. Buchholz, N. Bausbacher, M. Schreckenberger, F. Renz, F. Rösch, and O. Thews, "Assessing p-Glycoprotein (Pgp) Activity In Vivo Utilizing  $^{68}\text{Ga}$ -Schiff Base Complexes.," *Molecular Imaging and Biology* :, vol. 13, no. 5, pp. 985–94, 2011.
- [77] B. Y. Yang, J. M. Jeong, Y. J. Kim, J. Y. Choi, Y.-S. Lee, D. S. Lee, J.-K. Chung, and M. C. Lee, "Formulation of  $^{68}\text{Ga}$  BAPEN kit for myocardial positron emission tomography imaging and biodistribution study," *Nuclear Medicine and Biology*, vol. 37, no. 2, pp. 149–55, 2010.
- [78] A. Hager, M. Hauser, G. Schumacher, J. Hess, and K. Bühlmeier, "12 Funktionsuntersuchungen," in *Klinische Kinderkardiologie*, 2008, pp. 137–150.
- [79] T. Mou, H. Jing, W. Yang, W. Fang, C. Peng, F. Guo, X. Zhang, Y. Pang, and Y. Ma, "Preparation and biodistribution of  $^{18}\text{F}$ FP2OP as myocardial perfusion imaging agent for positron emission tomography.," *Bioorganic & medicinal chemistry*, vol. 18, no. 3, pp. 1312–20, 2010.
- [80] A. Purohit, H. Radeke, M. Azure, K. Hanson, R. Benetti, F. Su, P. Yalamanchili, M. Yu, M. Hayes, M. Guaraldi, M. Kagan, S. Robinson, and D. Casebier, "Synthesis and Biological Evaluation of Pyridazinone Analogues as Potential Cardiac Positron Emission Tomography Tracers.," *Journal of Medicinal Chemistry*, vol. 51, no. 10, pp. 2954–70, 2008.
- [81] B. Sansoni and L. Baumgartner, "Trennung von Phosphaten durch Papierelektrophorese," *Fresenius' Zeitschrift für Analytische Chemie*, vol. 158, no. 4, pp. 241–251, 1957.
- [82] K. Bächmann, "Anwendung der Hochspannungselektrophorese zur Trennung von Radionukliden," *Z. analyt. Chem.*, vol. BD. 218, pp. 321–338, 1965.
- [83] T. Krohn, "Entwicklung und Validierung eines Voxel-basierten Bildverarbeitungstools zur dreidimensionalen SUV-Analyse von onkologischen PET-Studien," Technische Hochschule Aachen, 2005.
- [84] G. Germano, T. Chua, H. Kiat, J. S. Areeda, and D. S. Berman, "A quantitative phantom analysis of artifacts due to hepatic activity in technetium-99m myocardial perfusion SPECT studies.," *Journal of Nuclear Medicine*, vol. 35, no. 2, pp. 356–9, 1994.

## 6.2 Abkürzungsverzeichnis

Acac	Acetylaceton
BADED	bis(N,N'-amino-2,2-dimethylpropane)ethylenediamine
BAPDMEN	(bis(2,2-dimethyl-3-aminopropyl)ethylenediamine)
BAPEN	(1,2-Bis(3-aminopropylamino)ethane)
CT	Computertomographie
DCA	2,3-Dichloro-4-oxo-2-butenoicacid
DCP	2-tert-Butyl-4,5-dichloro-2H-pyridazin-3-on
DOTA	2-[4,7,10-Tris(carboxymethyl)-1,4,7,10-tetrazacyclododec-1-yl]essigsäure
EA	Ethylacetat
ESI	Electron-spray-ionization
FDA	Food and Drug Administration
FDG	Fluordesoxyglucose
GMP	Good Manufacturing Practice
HEPES	2-(4-(2-Hydroxyethyl)-1-piperazinyl)-ethansulfonsäure
inj.	injizierte
KHK	Koronare Herzkrankheit
KOH	Kaliumhydroxid
MC-I	Mitochondrialer Komplex 1
MECN	Acetonitril
MeOH	Methanol
MIBG	Metaiodbenzylguanidin
MRT	Magnetresonanztomographie
MS	Massenspektroskopie

NaCl	Natriumchlorid
NAD/NADH	Nicotinsäureami-Adenin-Dinukleotid oxidierte/reduzierte Form
NCA	No-carrier-added
NMR	(engl. nuclear magnetic resonance) Kernspintomographie
NOTA	
PBS	(engl.: phopsphate buffered saline) Phosphatgepufferte Salzlösung
PE	Petrolether
PET	Positonen-Emissions-Tomographie
Rest	Ruheaufnahmen
RT	Raumtemperatur
SPECT	Single-Photon-Emission-Computed- Tomographie
ST	Stressaufnahmen
SUV	Standadized uptake values
TAC	(engl.: time activity curve) Zeit-Aktivitätskurve

## 6.3 Bilderverzeichnis

Abbildung 1: Detektion der PET-Nuklide [4] .....	9
Abbildung 2: Strukturformeln von DOTA (1), NOTA (2) und TRAP (3) .....	15
Abbildung 3: Aufbau eines bifunktionellen Chelators mit einem Targeting Molekül [22] .....	15
Abbildung 4: Anatomie des Herzens [23].....	17
Abbildung 5: Alterspyramiden Deutschlands für die Jahre 1910, 1950, 2008 und 2060 [27].....	18
Abbildung 6: Autopsiepräparat der Aorta. Das Bild zeigt eine der Länge nach geöffnete Aorta, welche im Inneren morphologischen Veränderungen durch arteriosklerotische Ablagerungen zeigt [29] .....	19
Abbildung 7: $^{201}\text{Tl}$ -SPECT Aufnahmen eines Patienten mit verminderter $^{201}\text{Tl}$ -Aufnahme während Anstrengung und reversibler $^{201}\text{Tl}$ Aufnahme Ruhe [36] .....	23
Abbildung 8: SPECT-Tracer $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Tetrofosmin (4) und $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Sestamibi (5) .....	23
Abbildung 9: Vergleich der Abbildung von $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Tetrofosmin (links) und $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Sestamibi (rechts) unter Stress (Dipyridamol, S) und in Ruhe (R) [42] .....	24
Abbildung 10: Short-Axis Aufnahmen (Schnitt senkrecht zur Herzlängsachse) eines 49-jährigen Mannes mit Herzwand-Defekten mit $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Tetrofosmin. Neben dem Herzen sieht man auch die deutliche Aufnahme in Leber/Verdauungstrakt [44] .....	24
Abbildung 11: $^{82}\text{Rb}$ -Rubidiumchlorid-PET-Aufnahmen von einem gesunden Menschen (links) und einem 47-jährigen Mann (rechts), der an koronarer Herzkrankheit leidet. Die Aufnahmen links zeigen eine normale Perfusion des Herzen sowohl im Stress als auch in der Ruhe. Die rechten Aufnahmen zeigen reversible Perfusionsdefekte im Vorderherzbereich (ischämisches Gewebe) [48] .....	25
Abbildung 12: PET-Perfusionsbilder (short axis, Kurzachse) zum Vergleich von a) $^{13}\text{N}$ -Ammoniak, b) $^{82}\text{Rb}$ -Rubidiumchlorid und c) $^{15}\text{O}$ -Wasser. Man erkennt die deutlich bessere Aufnahmequalität der ersten beiden Radiopharmaka [52] .....	26
Abbildung 13: Vergleich von PET-Bildern mit $^{13}\text{N}$ - $\text{NH}_3$ und $^{18}\text{F}$ -FDG zur Vitalitätsbestimmung. Das Missverhältnis zwischen der Herzdurchblutung ( $^{13}\text{N}$ - $\text{NH}_3$ ) und der $^{18}\text{F}$ -FDG-Aufnahme nennt man Perfusions-Metabolismus mismatch und zeigt "winterschlafendes" Herzgewebe an [55] .....	27
Abbildung 14: Die Atmungskette in der inneren Mitochondrienmembran [60].....	29
Abbildung 15: Schematische Darstellung der Bindungsstellen der Inhibitoren des MC-I nach [62] .....	29
Abbildung 16: Strukturformel des (6) Insektizids Pyridaben und des (7) $^{18}\text{F}$ -Flurpiridaz.....	30

Abbildung 17: Koronare Ganzkörperaufnahmen von einem Menschen zu unterschiedlichen Zeitpunkten nach Gabe von $^{18}\text{F}$ -Flurpiridaz [67] .....	30
Abbildung 18: Sress (ST)- und Ruheaufnahmen(Rest) von apical, mid-ventricular und basal Kurzachsen- sowie vertikalen und horizontalen mid-ventrikularen Langachsen-Ansichten. Aufgenommen von einer 61-jährigen Patienten, symptomfrei, mit links: $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Sestamibi und $^{18}\text{F}$ -Flurpiridaz. Man erkennt deutlich die höhere Bildqualität rechts.....	31
Abbildung 19: Strukturformel einer tripodalen Schiff'schen Base (8) .....	31
Abbildung 20: allgemeine Strukturformel eines Ga-Schiff'schen Base-Komplexes basierend auf einem $\text{N}_4\text{O}_2^{2-}$ -Rückgrat .....	32
Abbildung 21: Strukturformel von Flurpiridaz-BAPEN .....	34
Abbildung 22: Überblick über die verwendeten Rückgrate der Schiff'schen Basen.....	36
Abbildung 23: Synthese des BAPDMEN-Rückgrats.....	36
Abbildung 24: Synthese des Rückgrats BADED.....	37
Abbildung 25: Synthese der Schiff'schen Basen. Gestrichelte Linien demonstrieren den Imidazolring, welcher bei Markierung mit $^{68/67}\text{Ga}$ geöffnet wird.....	38
Abbildung 26: Überblick über die synthetisierten Schiff'schen Basen, die dieselben Aldehyde tragen, mit den Rückgraten BAPEN, BAPDMEN und BADED .....	39
Abbildung 27: Überblick über die synthetisierten Schiff'sche Basen Verbindungen mit dem BADED-Rückgrat.....	39
Abbildung 28: Synthese der Flurpiridaz-Schiff'schen Base .....	40
Abbildung 29: Strukturformel von Flurpiridaz-BAPEN, disubstituiert .....	42
Abbildung 30: Strukturformel von Flurpiridaz-BAPEN, trisubstituiert.....	42
Abbildung 31: Strukturformeln des $^{67}\text{Ga}$ -BADED-2 (27) und $^{67}\text{Ga}$ -BADED-3 (28) .....	43
Abbildung 32: Kinetik der $^{68}\text{Ga}$ -Markierung von 30 nmol BADED-2 in Chloroform mittels $^{68}\text{Ga}(\text{acac})_3$ .....	45
Abbildung 33: Kinetik der $^{68}\text{Ga}$ -Markierung von 30 nmol BADED-3 in 0,12 M HEPES Puffer .....	45
Abbildung 34: Reaktionskontrolle der $^{68}\text{Ga}$ -Markierung der Schiff'schen Basen-Verbindungen mittels DC in 90 % MeOH: 10 % NaCl.....	46
Abbildung 35: DCs der Radiomarkierung der Flurpiridaz-Schiff'schen Base mit $^{68}\text{Ga}$ .....	47
Abbildung 36: Überprüfung der radiochemischen Reinheit des $^{18}\text{F}$ -Flurpiridaz mittels Radio-DC. a) Reaktionsgemisch vor HPLC-Aufreinigung, b) nach HPLC-Aufreinigung .....	48
Abbildung 37: Darstellung der verschiedenen Schiff'schen Basen. R= H oder $-\text{CH}_3$ , R3-R6 (s. Tabelle 5) .....	49



Abbildung 38: Ergebnisse der Stabilitäten der $^{68}\text{Ga}$ -Schiff'schen Basen in isotonischer Kochsalzlösung, humanem Serum und apo-Transferrin nach 60 Minuten .....	51
Abbildung 39: Elektrophorese von $^{68}\text{Ga}$ -BADED-4 und $^{68}\text{Ga}$ -BADED-5 .....	54
Abbildung 40: Zellaufnahme der $^{68}\text{Ga}$ -Schiff'schen Basen-Verbindungen in An- und Abwesenheit von Valinomycin geordnet nach steigender Lipophilie der Tracer .....	56
Abbildung 41: Verhältnis der Zellaufnahme des Tracers in Anwesenheit von Valinomycin im Vergleich zu den Kontrollzellen ohne Valinomycinzusatz, aufgetragen gegen die Tracer in steigender Lipophilie .....	57
<i>Abbildung 42: Zellaufnahme in Abhängigkeit des verwendeten Rückgrats.....</i>	<i>58</i>
Abbildung 43: TAC-Kurven ausgewählter $^{68}\text{Ga}$ -Schiff'sche Basen-Verbindungen .....	59
<i>Abbildung 44: Abhängigkeit der SUVs der <math>^{68}\text{Ga}</math>-Schiff'schen Basen von der Lipophilie. ....</i>	<i>61</i>
Abbildung 45: SUVs der $^{68}\text{Ga}$ -Schiff'schen Basen in Abhängigkeit vom Rückgrat .....	62
Abbildung 46: SUVs der $^{68}\text{Ga}$ -Schiff'schen Basen in Abhängigkeit der Aldehyde.....	62
Abbildung 47: PET-Bild von $^{68}\text{Ga}$ -BADED-2, $t = 900\text{ s}$ - $3600\text{ s}$ in einer Sprague-Dawley Ratte .....	63
Abbildung 48: TAC des $^{18}\text{F}$ -Flurpiridaz.....	63
Abbildung 49: Vergleich der in vivo-PET-Ganzkörperbilder des $^{18}\text{F}$ -Flurpiridaz mit dem $^{68}\text{Ga}$ -BAPDMEN-2. ....	64
Abbildung 50: Vergleich der Biodistributionen von $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Sestamibi und $^{68}\text{Ga}$ -G1L3 .....	70
Abbildung 51: Vergleich der Mittelwerte über Männchen und Weibchen der Biodistributionen von $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Sestamibi, $^{68}\text{Ga}$ -BADED-2, $^{18}\text{F}$ -Flurpiridaz und $^{68}\text{Ga}$ -BAPDMEN-2 .....	71
Abbildung 52: Allgemeine Synthese der Schiff'schen Basen.....	76
Abbildung 53: Ermittlung der Lipophilie mittels vierfach-Bestimmung.....	87
Abbildung 54: a) schematischer und b) realer Aufbau zur Ermittlung der Lipophilie mittels shake-flask-Methode und Rückextraktion.....	88
Abbildung 55: Aufbau der Papierelektrophorese.....	89

## 6.4 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Häufige Nuklide in der PET und ihre Nuklideigenschaften [7],[8] .....	10
Tabelle 2: Produktion der häufigsten PET-Nuklide [9] .....	11
Tabelle 3: Übersicht über ausgewählte Radionuklid-Generatorsysteme und ihre Eigenschaften [11] .....	12
Tabelle 4: Überblick über häufig verwendete Herztracer in der Nuklearmedizin.....	20
Tabelle 5: Übersicht über die $^{68}\text{Ga}$ -Schiff'schen Basen und die Ergebnisse der Lipophiliebestimmung, geordnet nach steigender Lipophilie .....	50
Tabelle 6: Stabilitäten der $^{68}\text{Ga}$ -Schiff'schen Basen-Verbindungen [%] in den Medien: a) humanes Serum, b) isotonische Kochsalzlösung und c) apo-Transferrin nach 60 Minuten.....	52
Tabelle 7: Überblick über die über PET ermittelten $\text{SUV}_{\text{Myokard}}$ zum Zeitpunkt $t=60$ min, geordnet nach steigender Lipophilie.....	60
Tabelle 8: Ex vivo-Organaufnahmen und Herz-zu-Organ-Verhältnisse von $^{68}\text{Ga}$ -BADED-2 nach 60 Minuten .....	66
Tabelle 9: Ex vivo-Organaufnahmen und Herz-zu-Organ-Verhältnisse von $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Sestamibi nach 60 Minuten .....	67
Tabelle 10: Ex vivo-Organaufnahmen und Herz-zu-Organ-Verhältnisse von $^{18}\text{F}$ -Flurpiridaz nach 60 Minuten .....	68
Tabelle 11: Ex vivo-Organaufnahmen und Herz-zu-Organ-Verhältnisse von $^{68}\text{Ga}$ -BAPDMEN-2 nach 60 Minuten .....	69

## 6.5 Ergebnisse der *in vitro*-Stabilitäten

In humanem Serum:

Verbindung	Minuten						Abweichung
	1	10	20	30	50	60	
G1L1	93,2	91,95	93	92,4	93,7	91,9	1,3
G1L2	91,55	90,85	91,8	91	88,35	92,2	-0,65
G1L3	96,17	98,33	96,67	96,10	97,54	96,23	-0,07
G1L7	87,25	88,35	83,3	82,15	87,35	81,4	5,85
G1L9	98,2	99,2	98,6	97,9	96,4	95,1	3,1
G1L10	95,3	91,9	90,9	92,0	93,7	93,5	1,8
G1L11	93,5	91,5	93,7		93,9	95,3	-1,8
G1L12	99,1	94,7	94,1	94,5	95,5	94,6	4,5
157	77,15	74,7	71,15	74,35	76,25	77,3	-0,15
147	83,3	76,9	78,6	70,0	65,0	63,4	19,9
127	90,85	84,35	89,1	86,9	85,55	81,25	9,6
D2	95,7	94,75	94,7	94,45	93,65	90,9	4,8
175	98,9	96,2	95,7	96,4	96,5	96,9	2,0
185	94,1	94,9	94,25	93,65	93,05	93,05	1,05
143	95,95	97,8	94,2	97,7	92,3	91,9	4,05
G1L3	96,2	98,3	96,7	96,1	97,5	96,2	-0,1
G1L9	98,2	99,2	98,6	97,9	96,4	95,1	3,1

In 0,9 % NaCl:

Verbindung	Minuten						Abweichung
	1	10	20	30	50	60	
G1L1	92,2	93,5	91,75	90,65	91,6	90,6	1,6
G1L2	98,45	94,2	95	88,3	87,45	93,3	5,15
G1L3	96,52	98,995	99,125	91,16	97,11	96,13	0,39
G1L7	84,85	84,25	83,6	85,05	85,4	85,2	-0,35
G1L9	99,55	99,55	98,85	96,1	94	93,45	6,1
G1L10	86,2	82,05	84,7	86,4	90,35	88	-1,8
G1L11	89,65	90,9	91,95	91,9	95,15	94,95	-5,3
G1L12					97,05	98,45	1,55
157	76,9	72,35	73,35	74,15	72,1	72,8	4,1
147	86,7	76,9	73,85	72,6	70,5	69,7	17
127	71,3	69,25	61,05	64,35	61,25	54,1	17,2
D2	86,8	87,85	85,35	85,4	83,15	81,4	5,4
175/Green 2	96,805	96,69	95,81	97,335	70,42	99,335	-2,53
185	94,8	95,25	94,85	93,7	94,8	94,45	0,35
143	96	96,95	91,7	94,55	88,4	93,2	2,8
G1L3	96,52	98,995	99,125	91,16	97,11	96,13	0,39
G1L9	99,55	99,55	98,85	96,1	94	93,45	6,1

gegen apo-Transferrin:

Verbindung	Minuten						Abweichung
	1	10	20	30	50	60	
G1L1	90,85	92,15	90,35	87,8	90,3	88,55	2,3
G1L2	96,2	95,45	94,25	95,85	96,75	96,7	-0,5
G1L3	97,11	93,22	95,615	95,205	93,825	91,48	5,63
G1L7	86,5	83	83,95	83,45	83,3	73,5	3,2
G1L9	99,05	97,4	96,85	97,95	90,05	91,25	7,8
G1L10	88,05	92,95	91,8	93,4	94,4	94,05	-6
G1L11	91,9	91,05	91,35	85,65	89,45	89,15	2,75
G1L12	89,45	89,7	85,6	90,95	85,1	88,65	0,8
157/189	75,25	73,9	69,9	66,6	65,8	72,1	3,15
147	89,25	75,65	69,35	67,4	79,45	63,7	25,55
127	79,3	69,95	62,85	51,95	46,2	30,85	48,45
D2	91,55	83,25	88,35	86,8	86,15	84	7,55
175/Green2	97,505	95,88	94,28	96,37	94,78	95,2	2,305
185	93,45	90,45	90,05	89,15	89,4	89,35	4,1
143	95,6	95,4	92,7	92,2	92,15	89,85	5,75
G1L3	97,11	93,22	95,615	95,205	93,825	91,48	5,63
G1L9	99,05	97,4	96,85	97,95	90,05	91,25	7,8

## 6.6 Benennung der Schiff'schen Basen

Zum besseren Verständnis/ Unterscheidung der chemischen Verbindungen wurde die ursprüngliche Namensgebung der Substanzen abweichend von den Laborbuchnamen nach folgendem Schema geändert:

MZ157/189	BAPEN-1
MZ 147	BAPEN-2
MZ 127/191	BAPEN-3
D2	BAPDMEN-1
MZ 175	BAPDMEN-2
MZ 141/185	BAPDMEN-3
MZ 143	BADED-1
G1L3	BADED-2
G1L9	BADED-3
G1L1	BADED-4
G1L2	BADED-5
G1L7	BADED-6
G1L10	BADED-7
G1L11	BADED-8
G1L12	BADED-9

## 7 Lebenslauf

### Persönliche Daten

Name Melanie Juliana Zimny  
Anschrift Draiser Straße 47  
55128 Mainz  
Telefon 0176/22931311  
E-mail zimny@uni-mainz.de  
Geburtsdatum 08. Februar 1984  
Familienstand ledig



### Schulbildung

08/1990-06/1994 Goethe Grundschule Lahnstein  
08/1994-03/2003 Marion-Dönhoff-Gymnasium Lahnstein  
Abschluss: Abitur (Mathematik, Sozialkunde, Englisch, Note: 2,1)

### Universitäre Ausbildung

04/2003-06/2009 Studium der Biomedizinischen Chemie an der Johannes Gutenberg-Universität Mainz (JGU Mainz)  
06/2009 Abschluss des Studiums als Diplom-Chemiker mit Schwerpunkt Radiopharmazeutische Chemie (Note: sehr gut), JGU Mainz  
Thema:  $^{68}\text{Ga}$ -Markierung von Sulfonylharnstoffderivaten zur Visualisierung der  $\beta$ -Zellmasse *in vivo*

08/2006-03/2007	Auslandssemester an der University of Massachusetts (Amherst/USA) am Polymer Science and Engineering Department
08/2007-01/2008	Studentische Hilfskraft in der „Prozessentwicklung Feste Arzneimittel“, Abteilung Drug Delivery bei Boehringer Ingelheim Pharma GmbH & Co. KG (nach GMP)
04/2009 – 09/2011	Übungsgruppenleiter „Einführung in die Kernchemie, später
08/2009-heute	Doktorarbeit, Arbeitskreis Prof. Rösch, JGU Mainz  Thema: Synthese und Evaluierung von $^{68}\text{Ga}$ -Schiff'schen Basen zur Diagnostik der koronaren Herzerkrankung für die Positronen- Emissionstomografie (PET), <i>2 Jahre Stipendium der Scheuing-Stiftung</i>

## Auszeichnungen

2001	1. Bundessieger beim Schüler-„Start Up“-Gründungswettbewerb
2006	Auslands-Stipendium des DAAD (Amherst, USA)
2009	CIMST Summer School on Multimodal Bio-medical Imaging (ETH Zürich)
2010	Stipendium der Dr. Georg Scheuing-Stiftung
2011	Konferenzstipendium des DAAD (Amsterdam, Niederlande)
2011	1st World Congress on Gallium-68 and Peptide Receptor Radionuclide Therapy (PRRNT) in Bad Berka, 2. Posterpreis
2013	Konferenzstipendium des DAAD (Chandigarh, Indien)

Melanie Zimny

Mainz, 8. April 2013



