

**„Synthese, Evaluierung und ^{18}F -Markierung
von neuen Liganden zur Visualisierung der
Strychnin-insensitiven Bindungsstelle des
NMDA-Rezeptors“**

Dissertation

zur Erlangung des Grades

„Doktor der Naturwissenschaften“

im Promotionsfach Chemie

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

Thomas Betzel

geb. am 04.04.1982 in Hofheim am Taunus

Mainz, im Juni 2010

Meiner Familie gewidmet.

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit vom 01.11.2006 bis 14.06.2010 am Institut für Kernchemie der Johannes Gutenberg-Universität Mainz durchgeführt.

*„Darin besteht das Wesen der Wissenschaft.
Zuerst denkt man an etwas, das wahr sein könnte.
Dann sieht man nach, ob es der Fall ist
und im allgemeinen ist es nicht der Fall.“*

Bertrand Russell (1872 – 1970)

Abstract

Glutamate controlled receptors play a central role in neuroexcitatory effects such as neuronal development and plasticity. Especially the NMDA receptor is involved in these neuronal functions. But also in case of neurodegenerative disorders like Parkinson's disease, Alzheimer's disease, cerebral ischemia and morbus Huntington, the NMDA receptor is of high interest. Therefore, the visualization of the NMDA receptor state is the option to study these processes.

The positron emission tomography (PET) is a powerful tool in molecular imaging sciences. Due to its high sensitivity it allows the *in vivo* visualization and quantification of biochemical processes and affords the investigation of pathological actions in neurosciences by the use of radiolabelled tracers.

To date, there are no suitable PET tracers, which can be used to study the NMDA receptor state. The loss of affinity and selectivity of synthesized PET ligands so far correlate with a high amount of unspecific binding. The glycine-binding site of the NMDA receptor is an appropriate target, to design novel tracers for the visualization of the receptor state. For this subtype, highly affine structures are known which show an excellent selectivity and *in vivo* activity.

Due to these promising biological data, 4,6-dichloro-3-(2-oxo-3-phenylimidazolidin-1-ylmethyl)-1*H*-indole-2-carboxylic acid (MDJ-114) and (E)-4,6-dichloro-3-(2-phenylcarbamoylvinyl)-1*H*-indole-2-carboxylic acid (GV150526), both derivatives of the 3-imidazolidine-substituted 4,6-dichloro-indolecarboxylic acid, were dedicated for the design of PET analogues. In addition the 7-chloro-4-hydroxy-3-(3-phenoxyphenyl)-1*H*-quinolin-2-one (L-701,324) was chosen as an alternative compound with a different basic structure.

Based on their promising biological data, these ligands were used to design novel derivatives for PET imaging. To determine their *in vitro* properties, the ¹⁹F-labelled analogues were synthesized by the introduction of a fluoroethoxy group in the terminal phenylring of the corresponding molecule. A variation of the fluoroethoxy position in ortho-, meta- and para-substitution allowed to determine the best affinity in a competitive receptor binding assay of [³H]MDL-105,519. To estimate the lipophily, log D-values were determined using the HPLC-method. Due to these data, the precursors of the GV150526- and L-701,324-derivatives were synthesized (**34**: log D = 0,23 ± 0,03, IC₅₀ = 0,20 ± 0,25 μM, K_i = 0,13 ± 0,16 μM; **55**: log D = - 0,25 ± 0,01, IC₅₀ = 78 ± 37 μM, K_i = 51 ± 24 μM). These molecules were ¹⁸F-labelled by the use of the labelling agent 2-[¹⁸F]fluoro-ethyltosylate, which was generated by the reaction of ethylene ditosylate and [¹⁸F]fluoride to give the desired radiotracer [¹⁸F]**34** (4,6-dichloro-3-{2-[4-(2-[¹⁸F]fluoroethoxy)-phenylcarbamoyl]-vinyl}-1*H*-indole-2-carboxylic acid) and [¹⁸F]**55** (7-chloro-3-{3-[4-(2-[¹⁸F]fluoroethoxy)-phenoxy]-phenyl}-4-hydroxy-1*H*-quinolin-2-one). In both cases, the radiosynthesis was optimized to obtain the corresponding tracers in high radiochemical yields up to 86 %. For purification and quality control, HPLC methods were established.

Additionally for the indole derivative [¹⁸F]**34**, autoradiographic studies were performed. In Mg²⁺ and glutamate activated slices of the rat brain, [¹⁸F]**34** showed a heterogeneous binding with no correspondence with the known distribution of NMDA-receptor rich areas. In addition, a high amount of unspecific binding was observed.

Both compounds were evaluated in μPET studies and showed low radioactivity levels in the rat brain. In contradiction with the findings of the unsubstituted derivatives both PET tracers are not suitable to penetrate the blood-brain-barrier and therefore cannot be used to image the NMDA receptor state *in vivo*. The carboxylate of the indole derivative and the 4-hydroxy-quinolin-2-one structure of the L-701,324 derivative may be the main reason for this negative influence on blood-brain-barrier penetration. Due to these findings, new approaches can be started to synthesize prodrugs with improved bioavailability to investigate the NMDA receptor state. Additionally, new structures establish the possibility of the new design of novel potential PET tracers.

Inhaltsverzeichnis

1.	Einleitung	1
1.1	Bedeutende Nobelpreise für die Lebenswissenschaften.....	1
1.2	Bildgebende Verfahren	2
1.2.1	Röntgen- und Computertomographie (CT)	2
1.2.2	Magnetresonanztomographie (MRT).....	3
1.2.3	Nuklearmedizinische Verfahren	4
1.2.3.1	Einzelphotonenemissionstomographie (SPECT).....	4
1.2.3.2	Positronenemissionstomographie (PET)	5
1.2.3.3	Entwicklungen und Anwendungen der PET.....	7
1.3	Kernchemische Aspekte	10
1.4	¹⁸ F-Fluor – Eigenschaften und Produktion	11
1.4.1	Einführung von ¹⁸ F in organische Moleküle und Markierungsstrategien.....	12
1.4.1.1	Elektrophile Fluorierung	12
1.4.1.2	Nukleophile Fluorierung	13
1.4.1.3	Fluorierung über prosthetische Gruppen	15
1.5	Klassifizierung von Aminosäurerezeptoren (ASR).....	15
1.6	Der NMDA-Rezeptor	17
1.6.1	Aufbau des NMDA-Rezeptors.....	17
1.6.2	Bindungsstellen des NMDA-Rezeptors	18
1.6.2.1	Liganden der Strychnin-insensitiven Glycinbindungsstelle	19
1.6.2.2	Liganden der Glutamatbindungsstelle.....	20
1.6.2.3	Liganden der Polyaminbindungsstelle	21
1.6.2.4	Liganden des Ionenkanals	22
1.7	Liganden für die PET	23
2.	Problemstellung	25
3.	Ergebnisse der organischen Synthesen.....	27
3.1	Synthesen der inaktiven Referenzverbindungen.....	28
3.1.1	Synthesen der 3-imidazolidin-substituierten Indolcarbonsäurederivate.....	28
3.1.1.1	Mechanistische Betrachtung.....	32
3.1.2	Synthesen der Derivate des GV150526.....	38
3.1.2.1	Mechanistische Betrachtung.....	41
3.1.3	Synthesen der Derivate des L-701,324.....	44
3.1.3.1	Mechanistische Betrachtung.....	45
3.1.4	Synthesen der Synthesebausteine.....	48
3.2	Synthesen der Markierungsvorläufer	49

3.2.1	Synthese des Markierungsvorläufers MV- 11	49
3.2.2	Synthese des Markierungsvorläufers MV- 34	50
3.2.3	Synthese des Markierungsvorläufers MV- 55	51
4.	Ergebnisse der Radiosynthesen	53
4.1	Reaktionskinetische Aspekte	53
4.1.1	Synthese von 4,6-Dichlor-3-{2-[4-(2-[¹⁸ F]fluorethoxy)-phenylcarbamoyl]-vinyl}-1 <i>H</i> -indol-2-carbonsäure ([¹⁸ F] 34)	54
4.1.1.1	Aufnahme der Markierungskinetik	55
4.1.1.2	Abtrennung und Qualitätskontrolle	56
4.1.1.3	Bestimmung der spezifischen Aktivität	58
4.1.1.4	Darstellung von [¹⁸ F] 31 und Umsetzung zu [¹⁸ F] 34	59
4.1.2	Darstellung von 7-Chlor-3-{3-[4-(2-[¹⁸ F]fluorethoxy)-phenoxy]-phenyl}-4-hydroxy-1 <i>H</i> -chinolin-2-on ([¹⁸ F] 55)	61
4.1.2.1	Aufnahme der Markierungskinetik	61
4.1.2.2	Abtrennung und Qualitätskontrolle	63
5.	Ergebnisse der Evaluierung	66
5.1	Bestimmung der Lipophilie	66
5.1.1	Bestimmung der Lipophilie der Referenzverbindungen	66
5.1.2	Bestimmung der Lipophilie über die Rückextraktion der ¹⁸ F-markierten Verbindung	69
5.2	Bestimmung der in vitro-Affinitäten	69
5.3	Autoradiographie	71
5.4	PET-Experimente	74
5.5	<i>Ex vivo</i> -Studie	76
6.	Experimentalteil	77
6.1	Verwendete Methoden	77
6.1.1	Verwendete Chemikalien	77
6.1.2	Chromatographiemethoden	79
6.1.3	HPLC	79
6.1.4	NMR-Spektroskopie	79
6.1.5	Massenspektroskopie	79
6.1.6	Aktivimeter und PET-Scanner	79
6.1.7	Diverse Geräte	79
6.2	Synthese von imidazolidin-substituierten Indolcarbonsäurederivaten	80
6.2.1	Synthese der Dichlorderivate	80
6.2.1.1	3,5 Dichlorphenylhydrazin Hydrochlorid (1)	80
6.2.1.2	2-[(<i>E/Z</i>)-2-(3,5-Dichlorphenyl)-hydrazono]-propionsäureethylester (2)	81
6.2.1.3	4,6-Dichlorindol-2-carbonsäureethylester (3)	82

6.2.1.4	4,6-Dichlor-3-formylindol-2-carbonsäureethylester (4).....	83
6.2.1.5	4,6-Dichlor-3-[(2-hydroxyethylamino)-methyl]-1 <i>H</i> -indol-2-carbonsäureethylester (5).....	84
6.2.1.6	4,6-Dichlor-3-[3-[3-(2-fluorethoxy)-phenyl]-1-(2-hydroxyethylamino)-ureidomethyl]-1 <i>H</i> -indol-2-carbonsäureethylester (6)	85
6.2.1.7	4,6-Dichlor-3-[3-[4-(2-fluorethoxy)-phenyl]-1-(2-hydroxyethylamino)-ureidomethyl]-1 <i>H</i> -indol-2-carbonsäureethylester (7)	86
6.2.1.8	4,6-Dichlor-3-{3-[3-(2-fluorethoxy)-phenyl]-2-oxo-imidazolidin-1-ylmethyl}-1 <i>H</i> -indol-2-carbonsäureethylester (8)	87
6.2.1.9	4,6-Dichlor-3-{3-[4-(2-fluorethoxy)-phenyl]-2-oxo-imidazolidin-1-ylmethyl}-1 <i>H</i> -indol-2-carbonsäureethylester (9)	88
6.2.1.10	4,6-Dichlor-3-{3-[3-(2-fluorethoxy)-phenyl]-2-oxo-imidazolidin-1-ylmethyl}-1 <i>H</i> -indol-2-carbonsäure (10)	89
6.2.1.11	4,6-Dichlor-3-{3-[4-(2-fluorethoxy)-phenyl]-2-oxo-imidazolidin-1-ylmethyl}-1 <i>H</i> -indol-2-carbonsäure (11)	90
6.2.2	Synthese der Difluorderivate	91
6.2.2.1	2-[(<i>E/Z</i>)-2-(3,5-Difluorphenyl)-hydrazono]-propionsäureethylester (12).....	91
6.2.2.2	4,6-Difluorindol-2-carbonsäureethylester (13).....	92
6.2.2.3	4,6-Difluor-3-formylindol-2-carbonsäureethylester (14)	93
6.2.2.4	4,6-Difluor-3-[(2-hydroxyethylamino)-methyl]-1 <i>H</i> -indol-2-carbonsäureethylester (15)	94
6.2.2.5	4,6-Difluor-3-[3-[4-(2-fluorethoxy)-phenyl]-1-(2-hydroxyethyl)-ureidomethyl]-1 <i>H</i> -indol-2-carbonsäureethylester (16)	95
6.2.2.6	4,6-Difluor-3-{3-[4-(2-fluorethoxy)-phenyl]-2-oxo-imidazolidin-1-ylmethyl}-1 <i>H</i> -indol-2-carbonsäureethylester (17)	96
6.2.2.7	4,6-Difluor-3-{3-[4-(2-fluorethoxy)-phenyl]-2-oxo-imidazolidin-1-ylmethyl}-1 <i>H</i> -indol-2-carbonsäure (18)	97
6.2.3	Synthese der Modellverbindungen (unsubstituierte Derivate)	98
6.2.3.1	4,6-Dichlor-3-[1-(2-hydroxyethyl)-3-phenylureidomethyl]-1 <i>H</i> -indol-2-carbonsäureethylester (19).....	98
6.2.3.2	4,6-Dichlor-3-(2-oxo-3-phenylimidazolidin-1-ylmethyl)-1 <i>H</i> -indol-2-carbonsäureethylester (20).....	99
6.2.3.3	4,6-Dichlor-3-(2-oxo-3-phenylimidazolidin-1-ylmethyl)-1 <i>H</i> -indol-2-carbonsäure (21)	100
6.2.4	Synthesen des Markierungsvorläufers.....	101
6.2.4.1	3-[3-(4-Benzyloxyphenyl)-1-(2-hydroxyethyl)-ureidomethyl]-4,6-dichlor-1 <i>H</i> -indol-2-carbonsäureethylester (22).....	101
6.2.4.2	3-[3-[4-(tert.-Butyldiphenylsilyloxy)-phenyl]-1-(2-hydroxyethyl)-ureidomethyl]-4,6-dichlor-1 <i>H</i> -indol-2-carbonsäureethylester (23)	102
6.2.4.3	3-{3-[4-(tert.-Butyldiphenylsilyloxy)-phenyl]-2-oxo-imidazolidin-1-ylmethyl}-4,6-dichlor-1 <i>H</i> -indol-2-carbonsäureethylester (24)	103
6.3	Synthese der Derivate des GV150526.....	104
6.3.1	Synthese der Dichlorderivate.....	104

6.3.1.1	tert.-Butoxycarbonylmethyltriphenylphosphoniumchlorid (25).....	104
6.3.1.2	(Triphenyl- λ^5 -phosphanyliden)-essigsäure-tert.-butylester (26).....	105
6.3.1.3	(E)-3-(2-tert.-Butoxycarbonylvinyl)-4,6-dichlor-1 <i>H</i> -indol-2-carbonsäureethylester (27) ...	106
6.3.1.4	(E)-3-(2-Carboxyvinyl)-4,6-dichlor-1 <i>H</i> -indol-2-carbonsäureethylester (28).....	107
6.3.1.5	(E)-4,6-Dichlor-3-{2-[2-(2-fluorethoxy)-phenylcarbamoyl]-vinyl}-1 <i>H</i> -indol-2-carbonsäure-ethylester (29)	108
6.3.1.6	(E)-4,6-Dichlor-3-{2-[3-(2-fluorethoxy)-phenylcarbamoyl]-vinyl}-1 <i>H</i> -indol-2-carbonsäureethylester (30).....	109
6.3.1.7	(E)-4,6-Dichlor-3-{2-[4-(2-fluorethoxy)-phenylcarbamoyl]-vinyl}-1 <i>H</i> -indol-2-carbonsäureethylester (31).....	110
6.3.1.8	(E)-4,6-Dichlor-3-{2-[2-(2-fluorethoxy)-phenylcarbamoyl]-vinyl}-1 <i>H</i> -indol-2-carbonsäure (32)	111
6.3.1.9	(E)-4,6-Dichlor-3-{2-[3-(2-fluorethoxy)-phenylcarbamoyl]-vinyl}-1 <i>H</i> -indol-2-carbonsäure (33)	112
6.3.1.10	(E)-4,6-Dichlor-3-{2-[4-(2-fluorethoxy)-phenylcarbamoyl]-vinyl}-1 <i>H</i> -indol-2-carbonsäure (34)	113
6.3.2	Synthese der Difluorderivate	114
6.3.2.1	(E)-3-(2-tert.-Butoxycarbonylvinyl)-4,6-difluor-1 <i>H</i> -indol-2-carbonsäureethylester (35)....	114
6.3.2.2	(E)-3-(2-Carboxyvinyl)-4,6-difluor-1 <i>H</i> -indol-2-carbonsäureethylester (36)	115
6.3.2.3	(E)-4,6-Difluor-3-{2-[4-(2-fluorethoxy)-phenylcarbamoyl]-vinyl}-1 <i>H</i> -indol-2-carbonsäureethylester (37).....	116
6.3.2.4	(E)-4,6-Difluor-3-{2-[4-(2-fluorethoxy)-phenylcarbamoyl]-vinyl}-1 <i>H</i> -indol-2-carbonsäure (38)	117
6.3.3	Synthese der Modellverbindungen.....	118
6.3.3.1	(E)-4,6-Dichlor-3-(2-phenylcarbamoylvinyl)-1 <i>H</i> -indol-2-carbonsäureethylester (39).....	118
6.3.3.2	(E)-4,6-Dichlor-3-(2-phenylcarbamoylvinyl)-1 <i>H</i> -indol-2-carbonsäure (40).....	119
6.3.4	Synthese der Markierungsvorläufer	120
6.3.4.1	(E)-3-[2-(4-Benzylxyphenylcarbamoyl)-vinyl]-4,6-dichlor-1 <i>H</i> -indol-2-carbonsäure-ethylester (41)	120
6.3.4.2	(E)-3-{2-[4-(tert.-Butyldiphenylsilanyloxy)-phenylcarbamoyl]-vinyl}-4,6-dichlor-1 <i>H</i> -indol-2-carbonsäureethylester (42)	121
6.3.4.3	(E)-4,6-Dichlor-3-[2-(4-hydroxyphenylcarbamoyl)-vinyl]-1 <i>H</i> -indol-2-carbonsäure-ethylester (43)	122
6.3.4.4	(E)-4,6-Dichlor-3-[2-(4-hydroxyphenylcarbamoyl)-vinyl]-1 <i>H</i> -indol-2-carbonsäure (44)...	123
6.3.4.5	(E)-3-{2-[4-(tert.-Butyldiphenylsilanyloxy)-phenylcarbamoyl]-vinyl}-4,6-difluor-1 <i>H</i> -indol-2-carbonsäureethylester (45)	124
6.3.4.6	(E)-4,6-Difluor-3-[2-(4-hydroxyphenylcarbamoyl)-vinyl]-1 <i>H</i> -indol-2-carbonsäure-ethylester (46)	125
6.4	Synthese der Derivate des L-701,324	126
6.4.1	Synthesen der inaktiven Referenzverbindung	126

6.4.1.1	3-Hydroxyphenylethylacetat (47)	126
6.4.1.2	[3-(4-Nitrophenoxy)-phenyl]-essigsäuremethylester (48).....	127
6.4.1.3	[3-(4-Aminophenoxy)-phenyl]-essigsäuremethylester (49)	128
6.4.1.4	[3-(4-Hydroxyphenoxy)-phenyl]-essigsäure (50)	129
6.4.1.5	[3-(4-Hydroxyphenoxy)-phenyl]-essigsäuremethylester (51)	130
6.4.1.6	{3-[4-(2-Fluorethoxy)-phenoxy]-phenyl}-essigsäuremethylester (52).....	131
6.4.1.7	{3-[4-(2-Fluorethoxy)-phenoxy]-phenyl}-essigsäure (53).....	132
6.4.1.8	4-Chlor-2-(2-{3-[4-(2-fluorethoxy)-phenoxy]-phenyl}-acetylamino)-benzoesäure- methylester (54)	133
6.4.1.9	7-Chlor-3-{3-[4-(2-fluorethoxy)-phenoxy]-phenyl}-4-hydroxy-1 <i>H</i> -chinolin-2-on (55)	134
6.4.2	Synthese des Markierungsvorläufers	135
6.4.2.1	[3-(4-Benzylphenoxy)-phenyl]-essigsäuremethylester (56)	135
6.4.2.2	[3-(4-Benzylphenoxy)-phenyl]-essigsäure (57)	136
6.4.2.3	2-{2-[3-(4-Benzylphenoxy)-phenyl]-acetylamino}-4-chlor-benzoesäure- methylester (58)	137
6.4.2.4	3-[3-(4-Benzylphenoxy)-phenyl]-7-chlor-4-hydroxy-1 <i>H</i> -chinolin-2-on (59)	138
6.4.2.5	7-Chlor-4-hydroxy-3-[3-(4-hydroxyphenoxy)-phenyl]-1 <i>H</i> -chinolin-2-on (60)	139
6.5	Synthese der Synthesebausteine	140
6.5.1	Synthese der Nitrobenzol-Derivate	140
6.5.1.1	2-(2-Fluorethoxy)-nitrophenol (61)	140
6.5.1.2	3-(2-Fluorethoxy)-nitrophenol (62)	141
6.5.1.3	4-(2-Fluorethoxy)-nitrophenol (63)	142
6.5.2	Synthese der Anilin-Derivate	143
6.5.2.1	2-(2-Fluorethoxy)-anilin (64)	143
6.5.2.2	2-(2-Fluorethoxy)-anilin Hydrochlorid (65).....	144
6.5.2.3	3-(2-Fluorethoxy)-anilin (66)	145
6.5.2.4	4-(2-Fluorethoxy)-anilin (67)	146
6.5.2.5	4-(tert.-Butyldiphenylsilyloxy)-phenylamin (68).....	147
6.5.2.6	Synthese des 2-Fluorethyltosylats (69)	148
6.5.2.7	Synthese des 2-[¹⁸ F]Fluorethyltosylats.....	149
7.	Zusammenfassung und Ausblick	151
8.	Anhang	156
8.1	Abkürzungsverzeichnis	156
8.2	Abbildungsverzeichnis	157
8.3	Tabellenverzeichnis	160
8.4	Literaturverzeichnis	161

1. Einleitung

1.1 Bedeutende Nobelpreise für die Lebenswissenschaften

Viele Nobelpreise wurden für grundlegende Arbeiten verliehen, aus denen sich in der nachfolgenden Zeit eine Reihe bedeutender Arbeitsmethoden und technischer Anwendungen entwickelt haben. Für das weite Feld der molekularen Bildgebung, welche im Gesundheitssektor einen immer größeren Stellenwert einnimmt, sind diese Forschungsergebnisse von essentieller Bedeutung.

Den erstmals 1901 vergebenen Nobelpreis für Physik erhielt Wilhelm Conrad Röntgen für die Entdeckung der Röntgenstrahlen¹, welche bereits seit 1896 in der Medizin ihre Anwendung finden. Radioaktive Elemente spielen besonders im Bereich der Nuklearmedizin eine zentrale Rolle und haben dort ein breites Anwendungsspektrum.² Die Entdeckung der Radioaktivität durch Henri Becquerel³ und die Studien über radioaktive Elemente durch Marie und Pierre Curie, welche 1903 ebenfalls mit dem Nobelpreis geehrt wurden, gaben den Startschuss für eine ganze Reihe an weiteren Entdeckungen auf diesem Gebiet. Die Erzeugung verschiedener radioaktiver Elemente und Nuklide mit ihren verschiedenen Eigenschaften sind über die Jahre hinweg in den Fokus der Wissenschaft gerückt. So stellte Enrico Fermi durch Neutronenbeschuss gezielt neue radioaktive Elemente dar⁴ und wurde 1938 mit dem Nobelpreis ausgezeichnet. Trotz der damals vorhandenen Möglichkeiten, neue künstliche Elemente herzustellen, war ein breites Spektrum an Nukliden noch nicht zugänglich. Erst mit der Erfindung des Zyklotrons gelang Ernest Lawrence ein großer Schritt, neue Radionuklide zu synthetisieren. Durch Beschuss von stabilen Kernen mit geladenen Teilchen (beispielsweise Protonen oder Deuteronen) war es nun möglich, neutronenarme Kerne herzustellen.^{5,6} Hierfür wurde ihm 1939 der Nobelpreis zuerkannt. Heutzutage ist bei der routinemäßigen Synthese von neutronendefizitären Nukliden auf das Zyklotron nicht mehr zu verzichten. Physikalisch-mathematische Methoden sind bei den bildgebenden Verfahren essentiell, um aus den erhaltenen Daten die entsprechenden Bilder zu rekonstruieren und zu verbessern. Mit der Entwicklung solcher rekonstruktiver Methoden haben Cormack und Hounsfield entscheidend zum Erfolg der Computertomographie (CT) und der Positronenemissionstomographie (PET) beigetragen, was 1979 schließlich ebenso in einem Nobelpreis resultierte.^{7,8}

In der Chemie wurde ebenso eine Vielzahl von Nobelpreisen vergeben, die für die zukünftige Entwicklung der molekularen Bildgebung entscheidend waren. Im Jahre 1908 erhielt Ernest Rutherford den Nobelpreis für die Erkenntnisse über den Zerfall der Elemente und die Chemie der radioaktiven Stoffe und trug so zum allgemeinen Verständnis dieses Phänomens bei. Genauso vermittelte Frederick Soddy mit seinen Untersuchungen über das Vorkommen und der Natur der Isotope einen entscheidenden Beitrag zum Grundverständnis in der atomaren Welt, wofür er 1921 mit dem Nobelpreis geehrt wurde. Ein für die molekulare Bildgebung ganz bedeutender Nobelpreis wurde 1943 an George de Hevesy für die Formulierung des Tracerprinzips vergeben. Er untersuchte Transportvorgänge in Pflanzen mit Hilfe des Bleisotops ²¹²Pb und führte somit erste *in vivo*-Experimente durch.⁹ Gleichzeitig legte er den Grundstein für die nicht-invasive molekulare Diagnostik.

Um sich die Erkenntnisse aus Physik und Chemie für die medizinische Anwendung am Menschen nutzbar zu machen, ist es notwendig, grundlegendes Verständnis über die Funktionen des menschlichen Organismus zu gewinnen. So wurden zahlreiche Nobelpreise für Medizin in diesem Kontext vergeben. Schon im Jahr 1904 wurde Camillo Golgi für seine Arbeiten an der Aufdeckung der Struktur des Nervensystems geehrt. Aufbauend aus diesen Erkenntnissen konnte die Funktion der Neuronen durch Charles Scott Sherrington zusammen mit Edgar Douglas Adrian aufgeklärt werden, wofür 1932 der Nobelpreis verliehen wurde. Schließlich konnte durch die Arbeiten von Bernhard

Katz, Ulf von Euler und Julius Axelrod die Wirkung von Signalsubstanzen an Nervenzellen demonstriert werden, was 1970 mit dem Nobelpreis ausgezeichnet wurde. Für ihre Arbeiten zur Signaltransduktion im zentralen Nervensystem erhielten Arvid Carlsson, Paul Greengard und Eric C. Kandel im Jahr 2000 den Nobelpreis. Darauffolgend erhielten im Jahr 2003 Paul C. Lauterbur und Peter Mansfield die Auszeichnung für ihre seit 1973 kontinuierlichen Arbeiten zu der Abbildung mit Magnetresonanz. Computertomographie und Magnetresonanztomographie sind heutzutage nicht mehr wegzudenkende Methoden der medizinischen Diagnostik.

All diese gewonnen Erkenntnisse aus der Physik, Chemie und Medizin vereinen sich in dem Fachgebiet der Radiopharmazeutischen Chemie. Mit Hilfe von physikalischen Anwendungen und Messprinzipien können mit entsprechender Kenntnis der biologischen und biochemischen Vorgänge geeignete chemische Moleküle je nach medizinischer Fragestellung entsprechend entwickelt und eingesetzt werden.

1.2 Bildgebende Verfahren

Bildgebende Verfahren finden in den unterschiedlichsten Bereichen eine weitverbreitete Rolle. Die Erzeugung eines Radarbildes in der Flugsicherung, die zerstörungsfreie Materialprüfung oder die Röntgenaufnahme eines Knochenbruchs sind dabei einige nennenswerte Beispiele. Das Prinzip jeder Anwendung beruht darauf, dass durch Wechselwirkung von Strahlung mit Materie orts aufgelöst Informationen durch Helligkeitsunterschiede oder farbliche Kodierung abgeleitet werden und so ein informatives Bild entsteht. In der Medizin wird dieses Prinzip neben der Sonographie und der optischen Bildgebung beim klassischen Röntgen, der Computertomographie (CT) und der Magnetresonanztomographie (MRT) sowie in den nuklearmedizinischen Verfahren wie der Positronenemissionstomographie (PET) und der Einzelphotonenemissionstomographie (SPECT) angewendet.

1.2.1 Röntgen- und Computertomographie (CT)

Bei der Röntgen- und Computertomographie werden Elektronen im Kilovoltbereich aus einer externen Strahlenquelle emittiert, welche mit dem zu untersuchenden Gewebe wechselwirken. Aufgrund der unterschiedlichen Dichteverteilungen des Gewebes werden die einfallenden Röntgenstrahlen verschieden stark absorbiert und nur ein Teil der Strahlen trifft auf den Röntgenfilm, welcher das Röntgenbild erzeugt. Dieses Bild gibt somit die unterschiedliche Dichteverteilung wieder. Da es sich hier um eine Projektion des Volumens auf eine Fläche handelt, gehen Informationen, welche die dreidimensionale Darstellung betreffen, weitgehend verloren. Man kann nicht unterscheiden, ob eine Schwächung der Absorption aus einer größeren Schichtdicke oder einer anderen Morphologie resultiert.

Dieses Problem wird bei der Computertomographie umgangen. Hier werden verschiedene Röntgenbilder durch eine rotierende Röntgenquelle aufgenommen und im Computer zu einem dreidimensionalen Bild rekonstruiert. Durch diese scheibenweise (tomographische) Aufnahme ist eine genauere Differenzierung gewährleistet.

In beiden Methoden werden für verschiedene Bereiche des Körpers unterschiedliche Energien der Röntgenstrahlung benötigt, um unterschiedlich dichte Gewebsarten, wie zum Beispiel Knochen oder Fettgewebe zu durchdringen. Je nach Untersuchungsart verwendet man harte (50 – 120 keV) oder weiche (um 40 keV) Röntgenstrahlung. Harte Röntgenstrahlung ist dazu geeignet, dichtes Gewebe und auch Materialien wie Gips zu durchdringen. Kontrastunterschiede werden hier jedoch stark abgemildert. Im Falle der weichen Röntgenstrahlung wird ein Großteil der eingesetzten Strahlung vom

Gewebe absorbiert, sodass man feinere Unterschiede in der Gewebisdichte darstellen kann. Will man noch kleinere Gewebsunterschiede visualisieren, die selbst mit weicher Röntgenstrahlung nicht ausreichend abgebildet werden können, kommen Kontrastmittel zum Einsatz. Diese bestehen aus Flüssigkeiten mit hoher Dichte und werden vor der Untersuchung verabreicht. Das Kontrastmittel reichert sich in bestimmten Arealen an, verändert so die Dichteverteilung, sodass Gewebsgrenzen besser abgezeichnet werden können.

Röntgen- und CT-Aufnahmen sind bildgebende Verfahren, die in ihrer Anwendung zwar limitiert, aber für die meisten Fragestellungen ausreichend gut geeignet sind. Nachteilig ist jedoch die recht hohe Strahlenbelastung. Diese liegt bei der CT bei ungefähr 5 – 20 mSv pro Aufnahme, was im Vergleich mit der natürlichen Strahlenbelastung von rund 2 mSv pro Jahr deutlich aufwiegt.

1.2.2 Magnetresonanztomographie (MRT)

Kann aufgrund des zu geringen Dichteunterschieds der betroffenen Gewebsschichten, wie es beispielsweise bei Knorpel-, Sehnen- und Bindegewebe der Fall ist, nur eine unzureichende Aussage mit der CT gemacht werden, kommt die Magnetresonanztomographie (MRT) zum Einsatz. Das Prinzip beruht auf der Kernspinresonanz. Protonen und Neutronen verfügen über einen Eigendrehimpuls (Spin) und weisen ein magnetisches Dipolmoment auf. In der Materie sind alle Dipolmomente der Kerne in zufälliger Richtung ausgerichtet. Durch das Anlegen eines externen, statischen Magnetfeldes richten sich die Dipolmomente in der Richtung des Magnetfeldes aus. Wird nun senkrecht zum statischen Magnetfeld ein magnetisches Wechselfeld mit der Resonanzfrequenz der Kerne eingestrahlt (Ultrakurzwellenbereich, 1 Tesla, 42,58 MHz), werden die Dipolmomente der Kerne ausgelenkt. Durch Ausschalten des magnetischen Wechselfeldes, richten sich die Dipolmomente wieder entlang des statischen Magnetfeldes aus. Die dabei emittierten schwachen Radiowellen werden detektiert und ausgewertet. Die Art, wie ein Dipolmoment wieder in seine Ausrichtung zurückkehrt, steht in direkter Abhängigkeit zur Gewebsart. Das Signal repräsentiert zunächst den unterschiedlichen Gehalt von Wasserstoffatomen. Der große Vorteil dieses Verfahrens ist, dass es ohne Anwendung von ionisierenden Strahlen auskommt. Eine besondere Stärke liegt darin, dass Weichteilkontraste des gesamten menschlichen Körpers detailliert abgebildet werden können. Generell ist die MRT aufgrund der hohen Kontraste von Weichteilen besonders für den Nachweis tumoröser, entzündlicher und traumatischer Erkrankungen geeignet.

Durch die Gabe von Kontrastmitteln kann auch hier eine weitere Verbesserung der diagnostischen Möglichkeiten erzielt werden, wenn es beispielsweise um die Identifizierung von Entzündungsherden oder vitales Tumorgewebe geht. Mit superparamagnetischen Kontrastmitteln ist es möglich, pathologische Entartungen durch hochspezifische Anreicherung zu kennzeichnen und als sogenannte „hot spots“ darzustellen. Unter Berücksichtigung des BOLD-Effekts können funktionelle Aussagen über den Oxygenierungsgrad des Gewebes getroffen werden.^{10,11} Somit ist die MRT zur Zeit als einziges Verfahren in der Lage sowohl anatomische als auch funktionelle bzw. molekulare Informationen zu liefern, wengleich die besondere Stärke auf der Visualisierung der Morphologie liegt.

Das erste brauchbare Bild des menschlichen Organismus wurde im Jahr 1977 erstellt. Seit Anfang der 1980er Jahre wird die MRT in der medizinischen Diagnostik verwendet und zählt mittlerweile zu den routinemäßig verwendeten Diagnoseverfahren.

1.2.3 Nuklearmedizinische Verfahren

Die Stärke der beiden nuklearmedizinischen Verfahren SPECT und PET liegt darin, dass biochemische Vorgänge sowie biologische Strukturen und pathologische Prozesse auf subzellulärer Ebene visualisiert werden können. So ist es möglich, Krankheiten frühzeitig auf biochemischer Ebene zu erkennen, bevor morphologische Veränderungen nachweisbar sind. Durch die intravenöse Applikation von radioaktiv markierten Tracern kann deren Verteilung im Organismus verfolgt und eine Anreicherung des Radiopharmakons visualisiert werden. So ist es möglich, auf nicht-invasivem Weg, Stoffwechselprozesse *in vivo* tomographisch darzustellen. Aus der Tracerverteilung lassen sich Rückschlüsse auf den Zell- und Organstoffwechsel schließen sowie Zell- und Organfunktionen beurteilen, woraus sich diagnostische Befunde ableiten lassen. Aufgrund der hohen Sensitivität der Tracer werden diese nur in minimalen Mengen (Femto- bis Nanogramm) verabreicht, sodass der natürliche Stoffwechsel unbeeinflusst bleibt. Gerade wegen der nicht-therapeutischen Dosen kann gewährleistet werden, dass pathologische Prozesse ohne störende Einflüsse dargestellt werden können. Je nach Fragestellung werden verschiedene Nuklide für die Bildgebung mittels SPECT oder PET verwendet.

1.2.3.1 Einzelphotonenemissionstomographie (SPECT)

Bei diesem Verfahren werden Radionuklide verwendet, die eine detektierbare monochromatische γ -Strahlung im 100 – 300 keV-Bereich aussenden. Häufig eingesetzte Nuklide sind Technetium-99m, Iod-123 und Thallium-201. Gammastrahlen werden bei dem Übergang eines Isotops im angeregten Zustand in den Grundzustand ausgesendet. Die Detektion dieser Strahlung erfolgt durch Szintillationskristalle, in denen die Gammastrahlen Lichtblitze erzeugen, welche durch Photomultiplier verstärkt und registriert werden.

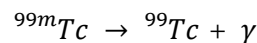


Abb. 1: Einzelphotonenemission am Beispiel des Technetiums

Durch die Einzelaufnahmen der Aktivitätsverteilung wird das diagnostische Bild generiert. Um überhaupt eine räumliche Auflösung zu ermöglichen und um Streustrahlen zu vermeiden werden Kollimatoren eingesetzt. Diese sind im Wesentlichen Bleiblöcken, welche den Raumwinkel der von den einzelnen Bildpunkten emittierten Gammastrahlung begrenzen. Je kleiner der Raumwinkel, desto besser wird die Auflösung. Dies hat jedoch den Nachteil, dass dadurch die Strahlensensitivität und die Nachweiswahrscheinlichkeit sinken.

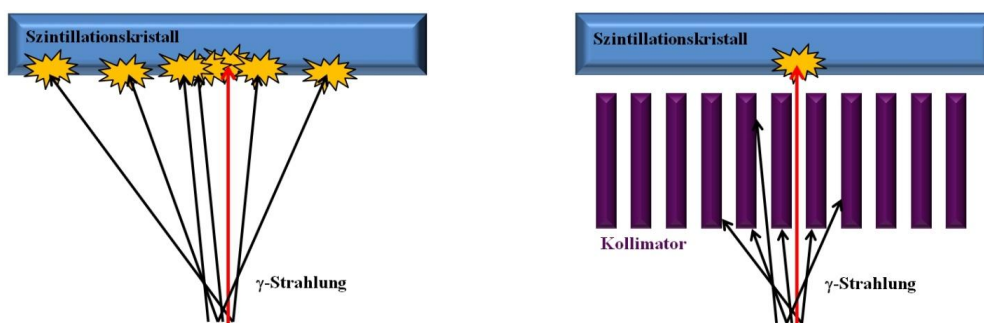


Abb. 2: Funktionsweise eines Kollimators

1.2.3.2 Positronenemissionstomographie (PET)

Das Prinzip der PET beruht auf der Verwendung von neutronenarmen Nukliden, die sich durch einen β^+ -Zerfall stabilisieren. Bei dem Zerfallsprozess wird ein Proton in ein Neutron umgewandelt und ein Positron (β^+) sowie ein Neutrino werden emittiert.

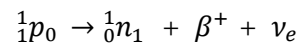


Abb. 3: Zerfallsgleichung einer β^+ -Umwandlung

Unmittelbar nach der Emission des Positrons verliert dieses durch Stöße mit der umgebenen Materie sukzessive an kinetischer Energie bis es schließlich mit seinem Antiteilchen, dem Elektron, zum Positronium kombiniert. Dieses wasserstoffähnliche Intermediat hat eine kurze Lebensdauer von etwa $10^{-7} - 10^{-10}$ Sekunden bevor es zerstrahlt. Bei diesem sogenannten Annihilationsprozess wird das Energieäquivalent der Positron- und Elektronmasse in Form von 2 γ -Quanten in einem 180° -Winkel mit einer Energie von je 511 keV emittiert.¹² Diese Vernichtungsstrahlung wird bei der Detektion mit Hilfe eines ringförmig angeordneten Detektors bei einer PET-Messung genutzt. Treffen innerhalb eines bestimmten Zeitfensters von wenigen Nanosekunden γ -Quanten auf zwei gegenüberliegenden Detektoren, wird dieses Ereignis registriert. Dieses Vorgehen wird als Koinzidenzmessung bezeichnet. Auf der Verbindungslinie der gegenüberliegenden Detektoren muss der Ort des Zerfalls liegen. Viele Millionen solcher Prozesse lassen sich dann über geeignete Bildrekonstruktionsverfahren zurückrechnen und erzeugen so ein tomographisches Bild. Da das Positron vor seiner Annihilation in Abhängigkeit seiner β -Energie eine Wegstrecke von wenigen Millimetern zurücklegt, entsteht eine gewisse Ortsunschärfe.

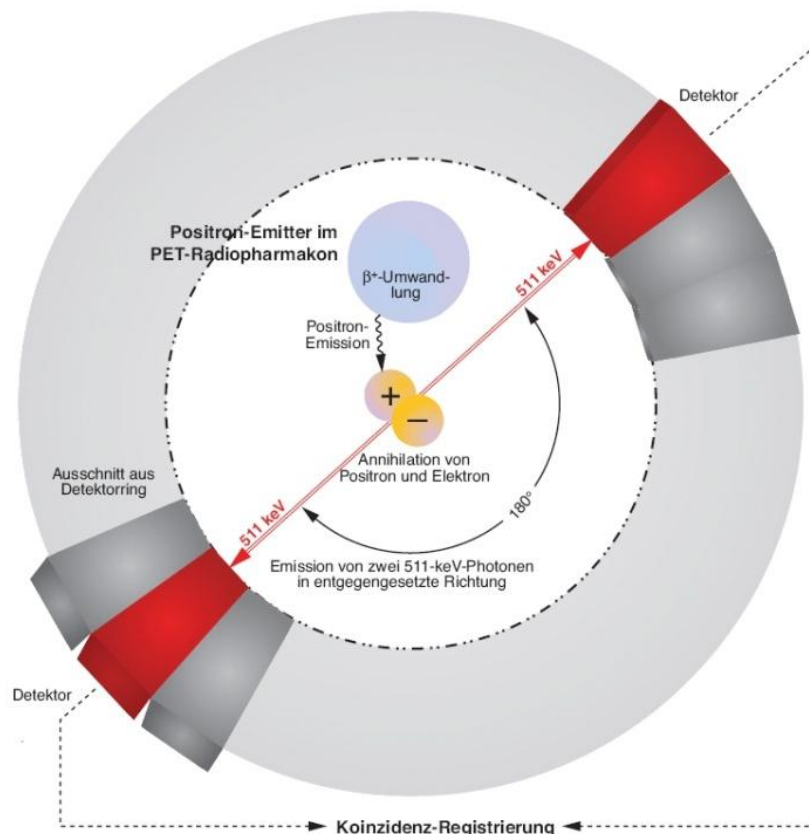


Abb. 4: Prinzip der Koinzidenzmessung¹³

Die Detektion der Strahlung erfolgt über so genannte Detektormodule von denen etwa 40 Stück in einem PET-Scanner eingebaut sind. Ein Modul besteht aus 4 – 8 Detektorblöcken, die wiederum aus bis zu 6×6 Einzelkristallen bestehen. Ein jeder Kristall ist 6 – 8 mm breit und etwa 20 – 30 mm lang. Dabei sind die rund 10.000 Kristalle ringförmig angeordnet und mit rund 1000 Photomultipliern gekoppelt. Die aus der Positronenemission resultierenden einfallenden Photonen erzeugen im Detektorkristall durch Szintillation einen Lichtimpuls, der mit Hilfe des Photomultipliers in ein elektrisches Signal umgewandelt und verstärkt wird. Ein Fokus liegt hier auf dem Detektormaterial. Da die Wechselwirkung von γ -Strahlung mit Materie recht schwach ist, muss das Detektormaterial eine hohe Dichte aufweisen, damit ein Photon registriert werden kann. Zudem werden eine hohe Lichtausbeute sowie eine geringe Totzeit des Detektormaterials angestrebt. Nach dem Einfallen eines Photons und dessen Detektion dauert es eine gewisse Zeit, bis der Detektor wieder bereit ist, ein weiteres Photon zu detektieren. Diese Zeit wird als Totzeit bezeichnet. Eine Reduzierung der Totzeit kommt eine zentrale Rolle zu, da bei deren Reduzierung um die Hälfte, theoretisch die Hälfte der ursprünglich eingesetzten Aktivität genutzt werden kann, um ein gleich gutes Bild zu erhalten. Zur Herstellung von Detektoren werden Verbindungen wie Bismutgermanat ($\text{Bi}_4\text{Ge}_3\text{O}_{12}$, BGO), Ce^{3+} -dotierte Verbindungen, wie Lutetiumoxyorthosilikat ($\text{Lu}_2\text{SiO}_5:\text{Ce}^{3+}$, LSO) oder Lutetiumyttriumoxyorthosilikat ($\text{LuYSiO}_5:\text{Ce}^{3+}$, LYSO), verwendet, deren Eigenschaften in Dichte, Totzeit, Lichtausbeute, Sensitivität und Handhabung variieren.¹⁴⁻¹⁶

Heutige PET-Geräte haben eine Ortsauflösung von etwa 3 – 5 mm. Für spezielle Anwendungen, wie beispielsweise an Kleintier-PET-Geräten, beträgt die Auflösung weniger als 2 mm. Die Reichweite des Positrons im Gewebe korreliert mit der maximalen β -Energie des jeweiligen Nuklids. Daher ist die Ortsunschärfe auch nuklidabhängig.

Tab. 1: Übersicht ausgewählter PET-Nuklide¹⁷

Nuklid	Halbwertszeit $t_{1/2}$	$E_{\beta^+, \max} / \text{MeV}$
^{11}C	20,3 min	0,960
^{13}N	9,97 min	1,190
^{15}O	122,2 s	1,72
^{18}F	1,8295 h	0,635
^{68}Ga	1,130 h	1,899
^{72}As	26,0 h	2,49
^{76}Br	16,0 h	3,4
^{86}Y	14,74 h	1,2
^{124}I	4,176 d	2,14

Je nach medizinischer Fragestellung wird dem Patienten ein Radiopharmakon verabreicht, welches ein positronenemittierendes Nuklid enthält. Dieses kann in Abhängigkeit des eingesetzten Nuklids entweder kovalent im Molekül eingebaut sein, in Form eines Nuklid-Liganden-Komplex vorliegen oder direkt eingesetzt werden (Abb. 5).

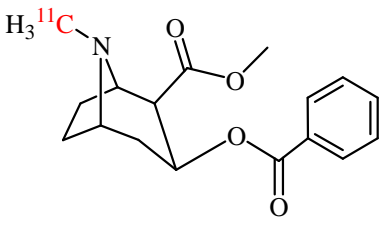
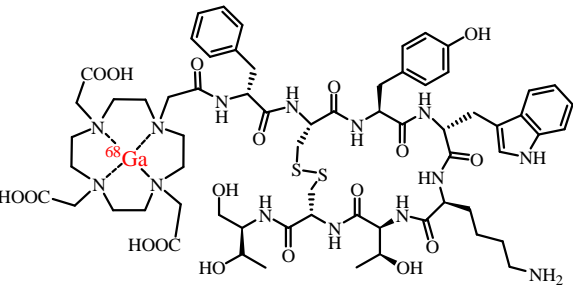

kovalente Bindung	Komplexbindung	freies Vorliegen
		
[¹¹ C]Kokain	[⁶⁸ Ga]DOTATOC	[¹⁸ F]Fluorid
Neurologie, Visualisierung des Dopamintransporters (Suchterkrankung)	Onkologie, Visualisierung von neuroendokrinen Tumoren	Onkologie, Visualisierung von Knochenmetastasen

Abb. 5: Übersicht der verschiedenen chemischen Zustände von Radionukliden

Gemäß seiner biologischen Eigenschaften reichert sich das radioaktive Pharmakon an seinem Zielort im Organismus an und kann so lokalisiert werden. Aufgrund der Wechselwirkung von Strahlung mit Materie wird die Emissionsstrahlung durch den Patienten abgeschwächt. Deshalb wird in der Regel vor der PET-Messung eine Transmissionsmessung ohne Patient durchgeführt. Hier wird durch eine rotierende Punktquelle die Intensität der Strahlung ohne Schwächung bestimmt. Im Anschluss daran wird dem Patienten das Radiopharmakon appliziert. Erst dann erfolgt die eigentliche PET-Messung, bei der dann der Schwächungsfaktor, hervorgerufen durch die Absorption der Strahlung im Patienten, genau bestimmt werden kann. Durch dieses Verfahren ist es möglich, die absolute Aktivitätskonzentration im Gewebe zu bestimmen und macht die PET zu einem quantifizierenden Verfahren. Desweiteren zeichnet sich die PET durch die mögliche Durchführung dynamischer Messungen sowie durch eine bessere Auflösung im Vergleich zur SPECT aus.

1.2.3.3 Entwicklungen und Anwendungen der PET

Schon in den frühen 1950er Jahren wurden erste PET-Versuche für medizinische Zwecke durchgeführt. Gordon L. Brownell regte an, die Annihilationsstrahlung nach einem β^+ -Zerfall für ein neues bildgebendes Verfahren zu nutzen. Er erhoffte so, die Qualität, Sensitivität und Auflösung von „nuklearen Bildern“ zu verbessern. Im Massachusetts General Hospital wurde der erste Positronenscanner, der aus zwei gegenüberliegenden Natriumiodid-Detektoren bestand, in Betrieb genommen.¹⁸ Damals lag der Fokus auf der Abbildung und Lokalisierung von Hirntumoren. Obwohl der Aufbau so einfach war, lieferte dieser Scanner bessere Bilddaten als alle anderen vergleichbaren Verfahren, sodass stetig an dessen Fortentwicklung bei der Wahl des besten Detektormaterials und deren Anordnung sowie der Datenaufarbeitung¹⁹ gearbeitet wurde.

Parallel zu technischen Innovationen haben sich auf der chemischen Seite viele neue Möglichkeiten und Anwendungen ergeben. In den 1970er Jahren erfolgten erste Experimente, die maßgeblich auf dem Radionuklid ¹⁵O basierten. So wurden Lungenfunktionsmessungen mit [¹⁵O]O₂-Gas sowie Blutflussmessungen, Hirn- und Herzuntersuchungen mit [¹⁵O]CO₂ durchgeführt. Hinzu kamen Anwendungen mit dem Nuklid ¹³N, welches als [¹³N]Ammoniak zur Untersuchung von Leberkrankheiten genutzt wurde.²⁰

Da zur Herstellung der notwendigen Radionuklide meist leistungsstarke Zyklotrone benötigt werden, war das Anwendungsspektrum von kerntechnischer Seite zunächst recht eingeschränkt. Leistungsfähige Zyklotrone standen nur in den großen Regierungslaboratorien zur Verfügung. Es dauerte bis Mitte der 1970er Jahre, bis kleinere, aber trotzdem leistungsfähige Zyklotrone biomedizinischen Fakultäten zur Verfügung standen, um neben ^{15}O auch die Nuklide ^{13}N , ^{11}C und ^{18}F herzustellen. Letzteres wurde zunächst durch Neutronenbestrahlung am Reaktor hergestellt.

Gerade die Arbeiten von Alfred Wolf und Joana Fowler, vor allem die Entwicklung von [^{18}F]FDG (2- [^{18}F]Fluor-desoxy-D-glukose) hat die PET stark vorangetrieben.²¹ Mithilfe von [^{18}F]FDG war es möglich, recht präzise Werte für den Glukoseumsatz in Hirn, Herz und anderen Organen zu bestimmen.²²

Neben [^{18}F]FDG wurde eine vielfältige Produktpalette an radiodiagnostischen Substanzen entwickelt. In der Diagnostik von Hirntumoren wird heute beispielsweise das [^{18}F]Fluorethyltyrosin ([^{18}F]FET) eingesetzt. Aufgrund der höheren Proliferation des Tumorgewebes wird diese radioaktiv markierte Aminosäure verstärkt aufgenommen. Die Visualisierung von Hirntumoren mit [^{18}F]FDG führt zu keinen aussagekräftigen Bildern, da je nach Art des Tumors eine verminderte, erhöhte und keine Anreicherung festgestellt werden kann. Daher wird [^{18}F]FDG eher zur Visualisierung von peripheren Tumoren genutzt.

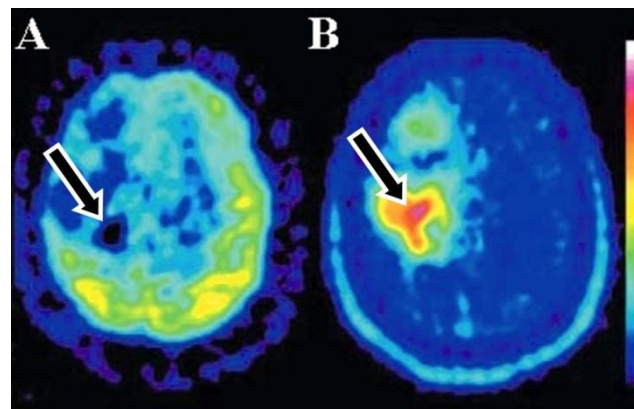


Abb. 6: PET-Aufnahme eines Hirntumors mit [^{18}F]FDG (A) und [^{18}F]FET (B): In A wird der Tumor durch einen verminderten Glukosestoffwechsel als Negativregion dargestellt. In B zeigt das Bild aufgrund des Tumorwachstums eine verstärkte Aufnahme der Aminosäure [^{18}F]FET²³

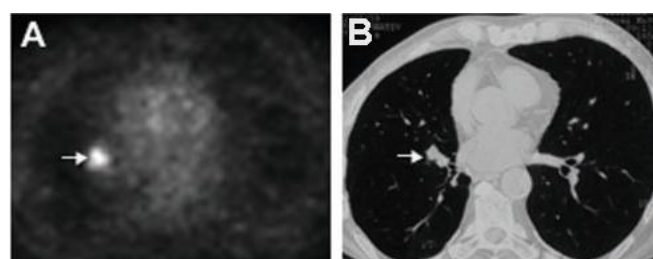


Abb. 7: Abbildung eines Lungentumors (Bild A: [^{18}F]FDG-PET, Bild B: CT-Aufnahme)²⁴

Besonders im Hinblick auf Hybridsysteme (PET/CT) oder durch die Bildfusion von PET- und MRT-Aufnahmen entwickelt dieses Feld ein ganz neues Potential (Abb. 8).

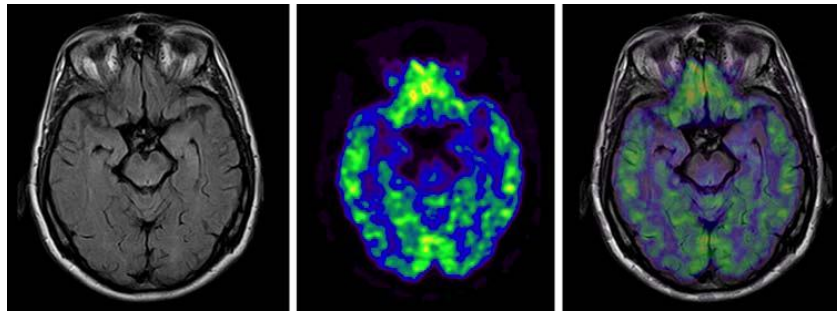


Abb. 8: Bildfusion einer MRT- und einer [^{18}F]FDG-PET-Aufnahme (MRT: links, PET: mitte, Bildfusion: rechts)²⁵

Da die Tracerverteilung sehr spezifisch ist und nur wenig anatomische Details dargestellt werden, kann die Kombination von anatomischer Bildgebung und nuklearmedizinischem Verfahren einen entscheidenden Beitrag leisten. Die Überlagerung aus PET/CT- bzw. PET/MRT-Bildern (Bildfusion) zeigt die morphologische Struktur zu der korrespondierenden Information des metabolisch veränderten Stoffwechsels und ermöglicht so die genau Lokalisierung des betreffenden Areals (Abb. 9).

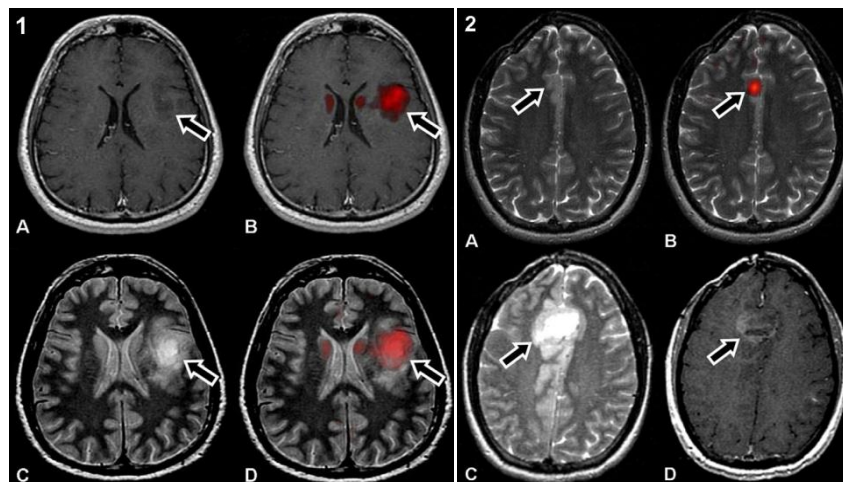


Abb. 9: Bild 1: Hirntumor (Oligodendroglioma) im MRT (A, C) und dargestellt durch Bildfusion (MRT/PET) (B, D); Bild 2: Hirntumor in der MRT-Darstellung mit verschiedenen Kontrastmitteln (A, C, D) und in der Bildfusion mit PET (B)²⁶

Auch im Bereich der Bildgebung von neurologischen Prozessen wurden in den 1980er Jahren Forschungsschwerpunkte in ersten Humanversuchen gesetzt.²⁷ Die große Stärke der PET liegt in der Möglichkeit, neurologische Vorgänge darzustellen, ohne dabei in pharmakologische Vorgänge einzugreifen. So können aufgrund der hohen Sensitivität Dysfunktionen aufgezeigt werden, noch bevor der Patient pathologische Symptome zeigt. So ist es beispielsweise möglich, Unterschiede in einem kranken und einem gesunden Gehirn darzustellen. Hier werden hochspezifische Agonisten bzw. Antagonisten zur Visualisierung des betreffenden Rezeptorstatus appliziert. So können Rückschlüsse auf neurologische Hintergründe einer Erkrankung gezogen werden, als auch auf das Krankheitsstadium bei positivem Befund.

1.3 Kernchemische Aspekte

In der Natur kommt Fluor nur in der Form des stabilen Isotops ^{19}F vor. Das radioaktive Isotop ^{18}F muss wie alle neutronenarme Kerne künstlich hergestellt werden. Liegt ein radioaktives Nuklid ohne Verunreinigung durch seine stabilen Isotope vor, so spricht man von Trägerfreiheit. Faktisch kann diesen Fall nur ein Nuklid erfüllen, von dem keine stabilen Isotope existieren (z. B. ^{211}At). Im Falle des ^{18}F sind Verunreinigungen mit natürlichem ^{19}F nicht zu vermeiden und können lediglich minimiert werden. So kann durch das Vorhandensein von inaktivem Fluor in verschiedenen Materialien die isotope Verunreinigung das 10 bis 1.000-fache betragen. Deshalb definiert sich bei solchen Nukliden der Begriff „kein Träger zugesetzt“. Wird einem Nuklid vorsätzlich eine gewisse Menge seines inaktiven Isotops zugesetzt, so spricht man von einem geträgerten Nuklid.

trägerfrei (carrier-free, cf):	Radionuklid ohne isotope Verunreinigung, da stabile Isotope nicht vorhanden
ohne zugesetzten Träger (no-carrier-added, nca):	keine Zugabe eines Trägers zum Radionuklid, isotope Verunreinigungen sind aber nicht zu vermeiden
geträgert (carrier-added, ca):	Zugabe eines Trägers zum Radionuklid in Form seines stabilen Isotops

In diesem Zusammenhang definiert sich der Begriff der spezifischen Aktivität. Bei trägerfreien Nukliden ist die spezifische Aktivität maximal. Bei Nukliden, denen kein Träger zugesetzt wird, ist die spezifische Aktivität durch Kontaminationen mit isotonen Verunreinigungen limitiert. Im Falle dass ein Träger zugesetzt wurde, ist die spezifische Aktivität sehr niedrig. Zudem verschlechtert sich die spezifische Aktivität mit der Zeit kontinuierlich, da die Aktivitätsmenge zerfallsbedingt abnimmt, jedoch der Anteil an inaktivem Isotop konstant bleibt (Abb. 10). Für das ^{18}F ergibt sich die spezifische Aktivität aus dem Quotienten der vom ^{18}F hervorgerufenen Aktivität und der Masse von ^{18}F sowie der Masse des inaktiven Isotops ^{19}F . Die maximale spezifische Aktivität beträgt hier 63.377 GBq/ μmol .

$$SA = \frac{A_{^{18}\text{F}}}{m_{^{18}\text{F}} + m_{^{19}\text{F}}}$$

$sA = \text{spezifische Aktivität}, A_{^{18}\text{F}} = \text{Aktivität von } ^{18}\text{F}, m_{^{18}\text{F}} = \text{Masse an } ^{18}\text{F}, m_{^{19}\text{F}} = \text{Masse an } ^{19}\text{F}$

Abb. 10: Gleichung der spezifischen Aktivität am Beispiel des ^{18}F

Da man für zeitlich anspruchsvollere Synthesen und länger andauernde Studien Nuklide mit längerer Halbwertszeit benötigt, werden Nuklide wie ^{18}F ($t_{1/2} = 109,77 \text{ min.}$), ^{124}I ($t_{1/2} = 4,176 \text{ d}$) und ^{76}Br ($t_{1/2} = 60 \text{ h}$) eingesetzt, die oftmals zu einer Modifizierung des Originalmoleküls führen. Aus diesem Grund werden die resultierenden Verbindungen Analogtracer genannt. Mögliche Veränderungen der physiologischen Eigenschaften der Analogtracer basieren auf der veränderten Ladungsverteilung und Sterik innerhalb des Radiotracers sowie der Fähigkeit, Wasserstoffbrückenbindungen auszubilden. Eine Überprüfung der analog-markierten Verbindung hinsichtlich ihrer pharmakologischen Eignung ist unabdingbar. Resultierende Effekte können aber durchaus erwünscht sein, wie im Falle des „metabolischen Trappings“ des [^{18}F]FDG.^{22,28,29}

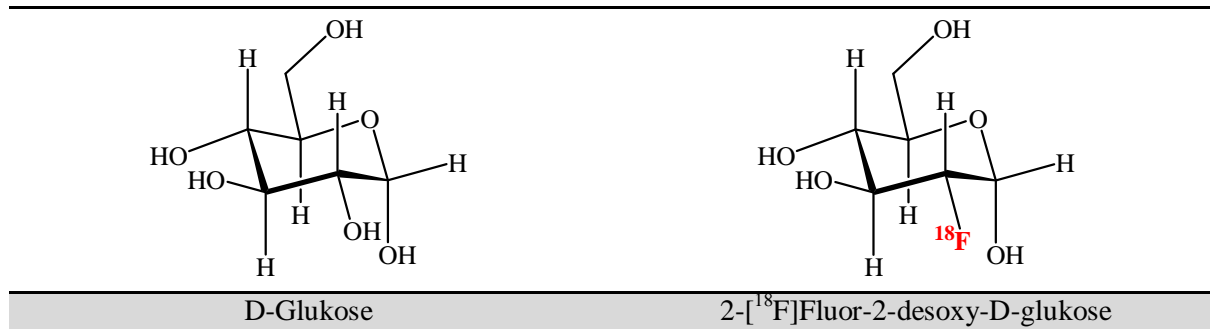


Abb. 11: D-Glukose und [¹⁸F]FDG im Vergleich

Die Synthese von Analogtracern basiert auf sterischen und chemischen Analogien der Radioisotope und den substituierten Atomen oder funktionellen Gruppen. ⁷⁶Br und ¹²⁴I stellen beispielsweise Strukturanaloga für Methylgruppen dar.³⁰ Da der van-der-Waals-Radius von Fluor ähnlich dem des Wasserstoffs ist, weisen diese Elemente eine sterische Ähnlichkeit auf. Ähnlich wie Hydroxylgruppen können Fluoratome als Elektronenpaardonoren fungieren und sich so an der Ausbildung von Wasserstoffbrücken beteiligen. Ferner sind die Bindungslängen von C-F und C-OH vergleichbar. Wegen der wesentlich höheren Elektronegativität des Fluors im Vergleich zum Wasserstoff sind Auswirkungen in der Elektronendichteverteilung zu beachten.

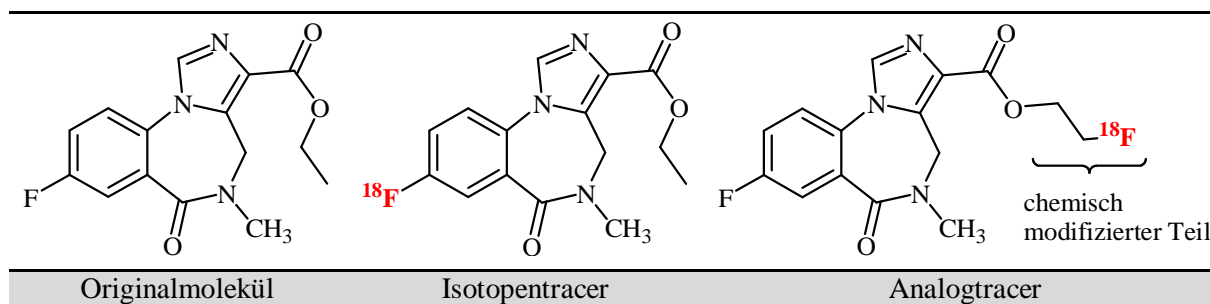


Abb. 12: Isotopen- und Analogtracer im Vergleich zum Originalmolekül

1.4 ¹⁸F-Fluor – Eigenschaften und Produktion

¹⁸F zerfällt mit einer Halbwertszeit von 109,77 min zu dem stabilen Nuklid ¹⁸O. Um ¹⁸F herzustellen, gibt es verschiedene Verfahren. Früher wurde ¹⁸F am Kernreaktor in einer ternären Reaktion durch die Bestrahlung von ⁶Li und Sauerstoff mit Neutronen dargestellt. Dabei entsteht beim Beschuss des Lithiums mit Neutronen unter Aussendung eines α-Teilchens ein ³H-Kern, der wiederum mit dem ¹⁶O unter Emission eines Neutrons die Kernreaktion zum ¹⁸F bildet. Heute erfolgt die Produktion von ¹⁸F fast ausschließlich am Zyklotron. Hier werden geladene Teilchen (Projektile) kreisförmig beschleunigt und auf die vorgelegte Targetverbindung geschossen. Je nach Target- und Projektilwahl kann man ¹⁸F in zwei verschiedenen chemischen Formen darstellen. Als nukleophiles [¹⁸F]Fluorid liegt das Nuklid in wässriger Lösung vor, wobei in der zweiten Variante auch elektrophiles [¹⁸F]F₂-Gas dargestellt werden kann. Hier aber muss die Kernreaktion mit inaktiven [¹⁹F]F₂-Gas geträgert werden, um eine Absorption des entstehenden ¹⁸F an der Targetwand zu verhindern. Bei der [¹⁸F]F₂-Gasproduktion tauscht ein produziertes ¹⁸F-Atom mit einem ¹⁹F-Atom aus dem [¹⁹F]F₂-Gas aus. Folglich ist hier die spezifische Aktivität im Vergleich zum nukleophilen [¹⁸F]Fluorid gering. Die meist genutzte Syntheseroute heutzutage führt zur Herstellung des nukleophilen [¹⁸F]Fluorids, welches durch die Kernreaktion von hochangereichertem [¹⁸O]H₂O mit Protonen erzielt wird.

Tab. 2: Übersicht der Produktionsrouten von ^{18}F

chemische Form des ^{18}F Fluors	Targetverbindung	Kernreaktion	Projektil-energie	erreichbare spezifische Aktivität
$^{18}\text{F}^-_{\text{aq}}$	$[^{18}\text{O}]\text{H}_2\text{O}$	$^{18}\text{O}(\text{p},\text{n})^{18}\text{F}$	16 MeV	bis $37 \cdot 10^5$ GBq/mmol
$^{18}\text{F}^-_{\text{aq}}$	H_2O	$^{16}\text{O}({}^3\text{He},\text{p})^{18}\text{F}$	36 MeV	bis $37 \cdot 10^5$ GBq/mmol
$[^{18}\text{F}]\text{F}_2$	$[^{18}\text{O}]\text{O}_2$, Kr (+ 1 % F_2), 20 bar	$^{18}\text{O}(\text{p},\text{n})^{18}\text{F}$	10 MeV	37 – 1850 GBq/mmol
$[^{18}\text{F}]\text{F}_2$	^{20}Ne (+ 0,1 % – 0,2 % F_2), 18 bar	$^{20}\text{Ne}(\text{d},\alpha)^{18}\text{F}$	11,2 MeV	37 – 370 GBq/mmol
$^{18}\text{F}^-_{\text{aq}}$	$[^6\text{Li}]\text{Li}_2\text{CO}_3$	$^6\text{Li}(\text{n},\alpha)^3\text{H}$ ↓ $^{16}\text{O}({}^3\text{H},\text{n})^{18}\text{F}$	1 MW $10^{13} \text{ ncm}^{-2}\text{s}^{-1}$	

1.4.1 Einführung von ^{18}F in organische Moleküle und Markierungsstrategien

Es gibt drei verschiedene Wege, ^{18}F in ein biologisches Molekül einzuführen.

- i) elektrophile Fluorierung mit ca $[^{18}\text{F}]\text{F}_2$
- ii) nukleophile Fluorierung mit nca $[^{18}\text{F}]\text{F}^-_{\text{aq}}$
- iii) Einführung von ^{18}F über prosthetische Gruppen

In den ersten beiden Varianten kann das ^{18}F direkt in das Molekül eingeführt werden, wobei in der dritten Variante zunächst ein recht einfaches, gut markierbares Molekül mit ^{18}F umgesetzt wird, welches dann an das eigentliche Biomolekül gekoppelt wird.

1.4.1.1 Elektrophile Fluorierung

In diesem Verfahren wird das $[^{18}\text{F}]\text{F}_2$ -Gas direkt zur Fluorierung genutzt. Es besteht jedoch die Möglichkeit, dieses recht harsche Fluorierungsreagenz durch nachfolgende Reaktionen in mildere Fluorierungsreagenzien, wie $[^{18}\text{F}]\text{XeF}_2$ und $[^{18}\text{F}]\text{AcOF}$, zu überführen. Neben der schlechten Regiospezifität und der niedrigen spezifischen Aktivität wird diese Reaktionsführung nur noch selten genutzt. Zudem beträgt die theoretisch maximale radiochemische Ausbeute nur 50 %. Lediglich in Bereichen, wo es nicht auf eine hohe spezifische Aktivität ankommt (vor allem bei metabolischen Tracern), wird die elektrophile Fluorierung noch bei aromatischen Aminosäuren, wie beispielsweise 6- $[^{18}\text{F}]\text{Fluor-L-DOPA}$ genutzt.³¹

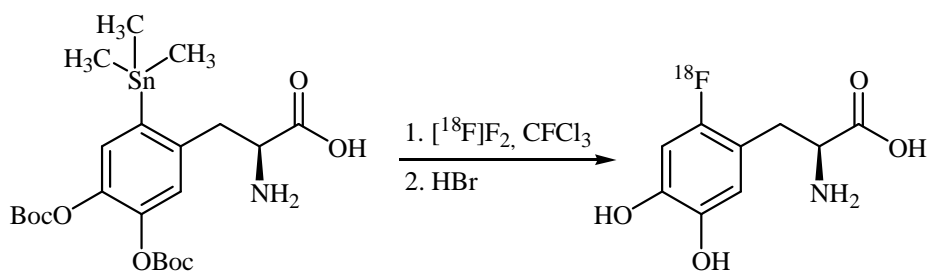


Abb. 13: Elektrophile Fluorierung zur Herstellung von 6- ^{18}F Fluor-L-DOPA³²

1.4.1.2 Nukleophile Fluorierung

Die bedeutendste Methode zur Synthese ^{18}F -markierter Radiopharmaka ist die nukleophile Fluorierung mit ^{18}F Fluorid. Das ^{18}F Fluorid liegt nach seinem Produktionsprozess in wässriger Form vor und ist aufgrund seiner hohen Ladungsdichte stark solvatisiert ($\Delta H_{\text{Hyd}} = 506 \text{ kJ/mol}$). In diesem Zustand ist es von seiner Reaktivität her stark abgemildert. Dazu kommt, dass das ^{18}F Fluorid durch Protonen sehr leicht zum Fluorwasserstoff protoniert werden kann und als solches ein flüchtiges Gas darstellt. Daher müssen für eine Markierungsreaktion speziell auf das Fluor abgestimmte Reaktionsparameter gewählt werden.

Lösungsmittel

Um eine Protonierung des ^{18}F Fluorids zu verhindern verwendet man wasserfreie, aprotische Lösungsmittel mit einer hohen Dielektrizitätskonstante wie beispielsweise DMSO, DMF oder Acetonitril. Diese wirken zudem dissoziierend auf Salze.

Basensystem

Durch die Verwendung basischer Anionen wie Oxalat oder Carbonat wird sichergestellt, dass das ^{18}F Fluorid nicht mit Protonen zu ^{18}F HF reagieren kann. Zudem wird durch die Verwendung von Basen die Adsorption des Fluorids an den Gefäßwänden verringert, da die Salze als nicht-isotoper Träger fungieren.

Phasentransferkatalysatoren

Um die Löslichkeit und Nukleophilie des Fluors in aprotischen Lösungsmitteln zu erhöhen, verwendet man Phasentransferkatalysatoren wie Tetrabutylammoniumhydroxid oder Aminopolyether, wie beispielsweise das Kryptofix[®] 2.2.2. in Verbindung mit Kaliumcarbonat. Im Falle des Kryptofix[®] 2.2.2. wird hierdurch das Kalium-Kation komplexiert und so dem ^{18}F Fluorid entzogen, was eine Steigerung der Reaktivität zur Folge hat.

Besonders wichtig im Hinblick auf eine erfolgreiche Markierungsreaktion ist die Trocknung des ^{18}F Fluorids. Hierzu wird das wässrig vorliegende ^{18}F Fluorid mit dem Phasentransferkatalysator sowie der entsprechenden Base versetzt und in Gegenwart von Acetonitril azeotrop getrocknet. Das so erhaltene, reaktive ^{18}F Fluorid wird dann für die Markierungsreaktion genutzt. Der Markierungsvorläufer wird dann in einem geeigneten Lösungsmittel dem getrockneten ^{18}F Fluorid zugegeben und erhitzt.

Nukleophile, aliphatische Markierungsreaktionen laufen nach einem $\text{S}_{\text{N}}2$ -Mechanismus ab. Das ^{18}F Fluorid wird über eine Substitution von Abgangsgruppen in das zu markierende Molekül eingeführt. Als Abgangsgruppen eignen sich Halogene oder Sulfonsäureester (Tosylat, Mesylat oder Triflat). Gemäß der Natur einer $\text{S}_{\text{N}}2$ -Reaktion sind auch bei einer Markierung stereospezifische

Reaktionen möglich, da das [^{18}F]Fluorid in anti-Stellung zur Abgangsgruppe eintritt und so eine Walden-Umkehr erfolgt. Auf diese Weise wird beispielsweise [^{18}F]FDG hergestellt.

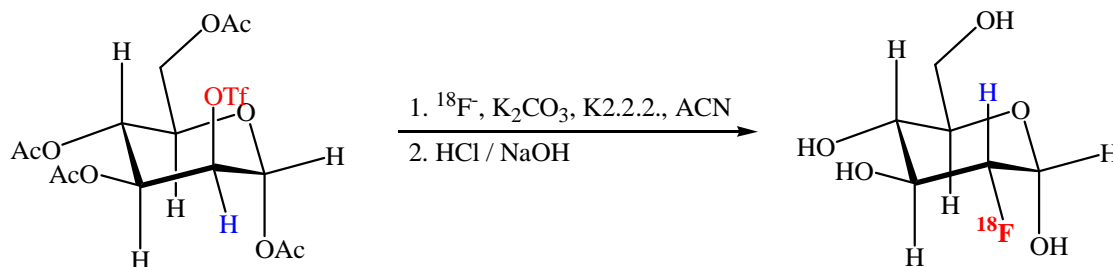
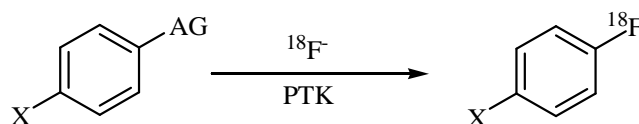


Abb. 14: $\text{S}_{\text{N}}2$ -Reaktion am Beispiel der [^{18}F]FDG-Synthese

Bei nukleophilen, aromatischen Substitutionen benötigt man zusätzlich zu den Abgangsgruppen einen aktivierten Aromaten. Eine Aktivierung wird durch elektronenziehende Substituenten in ortho- oder para-Stellung zur Abgangsgruppe erreicht. Klassische aktivierende Gruppen sind aufgrund ihres $-M$ -Effekts Nitro-, Cyano- und Carbonylgruppen. Aber auch Halogene wie Chlor, Brom und Iod können genutzt werden. Als Abgangsgruppen werden Nitroverbindungen, aber auch quaternäre Ammoniumsalze und Halogene verwendet. Die Verwendung von Fluor als Abgangsgruppe führt allerdings zu geträgerten Produkten mit verminderter, spezifischer Aktivität. Eine Sonderstellung kommt dem Triflatsalz der Trimethylammoniumgruppe zu. Diese Abgangsgruppe weist die größte Nukleofugie auf und führt zu meist hohen radiochemischen Ausbeuten.³³ Selbst durch halogensubstituierte, schwach aktivierte Aromaten lassen sich auf diese Weise markieren. Ein Nachteil ist die konkurrierende Reaktion zur Bildung von [^{18}F]Fluormethan, die bis zu 67 % betragen kann und stark von der Art und der Position der aktivierenden Substituenten abhängt.³⁴



X = NO_2 , CN, CHO, RCO, COOR, Cl, Br, I

AG = NO_2 , F, Cl, Br, I, $\text{N}(\text{CH}_3)_3^+$

PTK = K2.2.2.; $(\text{C}_4\text{H}_9)_4\text{N}^+$

Abb. 15: Nukleophile Substitution mit nca [^{18}F]Fluorid an aktivierten Aromaten

Ebenso wurden Strategien entwickelt, desaktivierte Aromaten zu fluorieren. Hier gibt es die Möglichkeit asymmetrisch substituierte Diaryliodoniumsalze zu verwenden. Die entstehenden Spaltprodukte weisen je nach Substitution mit elektronenschiebenden oder -ziehenden Substituenten [^{18}F]Fluorarene oder [^{18}F]Flurbenzol auf.³⁵ Aber auch zweistufige Synthesen sind dazu geeignet. Zunächst wird ein aktivierter Aromat markiert und anschließend der aktivierende Substituent derivatisiert oder entfernt. Mit Hilfe der Baeyer-Villiger-Oxidation lassen sich 2- und 4-[^{18}F]Fluorphenole ausgehend von [^{18}F]Fluorphenylketonen und [^{18}F]Fluorphenylaldehyden darstellen.³⁶

Für eine Direktmarkierung werden standardmäßig Temperaturen im Bereich von 80 – 180 °C verwendet. Unter diesen teils recht harschen, basischen Bedingungen kann es zur Zersetzung des Markierungsvorläufers oder der Phasentransferkatalysator/Basen-Systeme kommen und so eine Fluorierungsreaktion ausbleiben.

1.4.1.3 Fluorierung über prosthetische Gruppen

Lassen sich Verbindungen nicht auf direktem Wege fluorieren, so besteht die Möglichkeit eine Markierung über prosthetische Gruppen vorzunehmen. Bei dieser Methode wird ein gut zu markierendes Molekül *nca* mit [¹⁸F]Fluorid umgesetzt und dieses in recht milden Reaktionsbedingungen an das eigentliche Zielmolekül gekoppelt (Abb. 16).

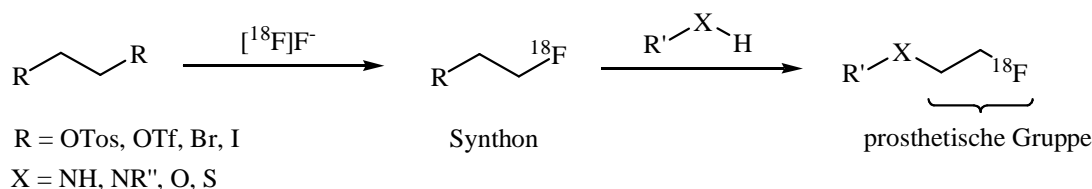


Abb. 16: Allgemeine Übersicht über die Einführung einer prosthetischen Gruppe durch ein Synthon

Auf diese Weise werden vor allem [¹⁸F]Fluoralkylierungen, [¹⁸F]Fluoracylierungen und [¹⁸F]Fluoramidierungen vorgenommen. Im Falle der [¹⁸F]Fluoralkylierung werden bifunktionelle Alkane hergestellt. Am gebräuchlichsten sind ¹⁸F-fluorierte Tosylate, Triflate oder Bromide. Ein wichtiges Synthon ist das 2-[¹⁸F]Fluorethyltosylat ([¹⁸F]FETos). Dieses wird durch die Reaktion von [¹⁸F]Fluorid mit Ethylenditosylat dargestellt (Abb. 17).

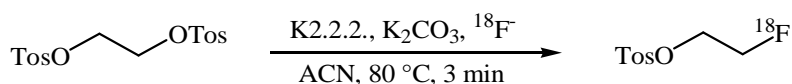


Abb. 17: Synthese des 2-[¹⁸F]Fluorethyltosylats

Nach anschließender Aufreinigung über HPLC oder Festphasenextraktion kann das Synthon an das eigentliche Zielmolekül gekoppelt werden. Dies geschieht über nukleophile Gruppen wie beispielsweise Amid-, Amino-, Hydroxyl-, Säure- oder Thiolgruppen. Auf diese Weise lassen sich unter milden Bedingungen hohe radiochemische Ausbeuten erreichen.

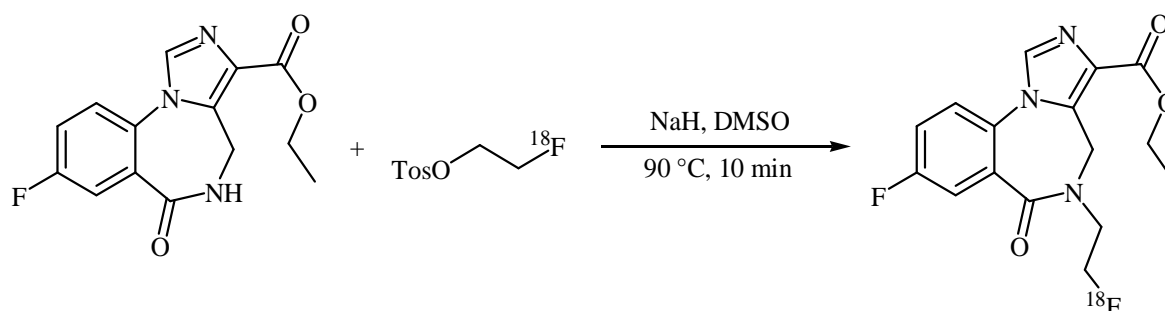


Abb. 18: Synthese des [¹⁸F]Fluorethylflumazenils mit Hilfe einer prosthetischen Gruppe³⁷

1.5 Klassifizierung von Aminosäurerezeptoren (ASR)

Die membranständigen Aminosäurerezeptoren (ASR) werden in zwei verschiedene Klassen eingeteilt. Man unterscheidet inhibitorische und exzitatorische ASR. Der Strychnin-sensitive Glycin-Rezeptor und die GABA_{A-C}-Rezeptoren werden der Gruppe der inhibitorischen ASR zugeordnet und zeichnen sich durch hemmende Effekte aus, wobei die exzitatorischen ASR sich durch erregende bzw. stimulierende Effekte kennzeichnen und durch die Aminosäure L-Glutamat als endogenem Liganden

aktiviert werden. L-Glutamat ist zudem der wichtigste erregende Neurotransmitter im zentralen Nervensystem. Die exzitatorischen ASR bezeichnet man deshalb auch als Glutamatrezeptoren³⁸, welche sich wiederum in zwei Gruppen unterteilen lassen. Man unterscheidet membranständige, G-Protein gekoppelte, metabotrope Rezeptoren (mGluR1-3), welche indirekt über Second Messenger wirken sowie ligandgesteuerte, ionotrope Rezeptoren (iGlu), welche die Öffnung von Ionenkanälen regulieren.

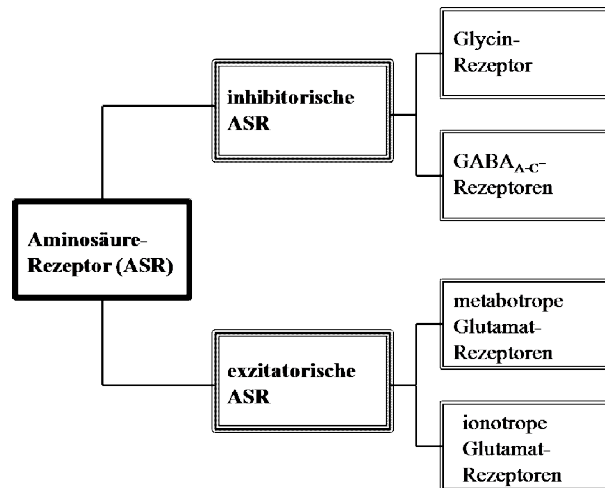


Abb. 19: Übersicht der Aminosäurerezeptoren

Die ionotropen Rezeptoren unterteilen sich in die Klassen der NMDA-Rezeptoren und der nicht-NMDA-Rezeptoren. Charakteristisch für deren Bezeichnung ist der jeweilige selektive exogene Agonist, durch welchen sie aktiviert werden.³⁹ So wird der NMDA-Rezeptor vom Glutamatagon N-Methyl-D-Aspartat aktiviert. Die nicht-NMDA-Rezeptoren AMPA und Kainat werden entsprechend durch AMPA ((S)-2-Amino-3-(3-hydroxy-5-methylisoxazol-4-yl)-propionat) und Kainat (2-[2-Carboxy-4-(2-propenyl)-pyrrolidin-3-yl]-acetat aktiviert. Da bei nicht-NMDA-Rezeptoren der Fluss von Na⁺- und K⁺-Ionen innerhalb von Mikrosekunden abläuft, sind sie für eine schnelle Signaltransduktion verantwortlich. Darüber hinaus bewirkt der AMPA-Rezeptor eine Vordepolarisation des NMDA-Rezeptors. Im Gegensatz dazu verläuft die Rezeptorantwort beim NMDA-Rezeptor deutlich langsamer im Millisekundenbereich, hält aber in seiner Dauer länger an.

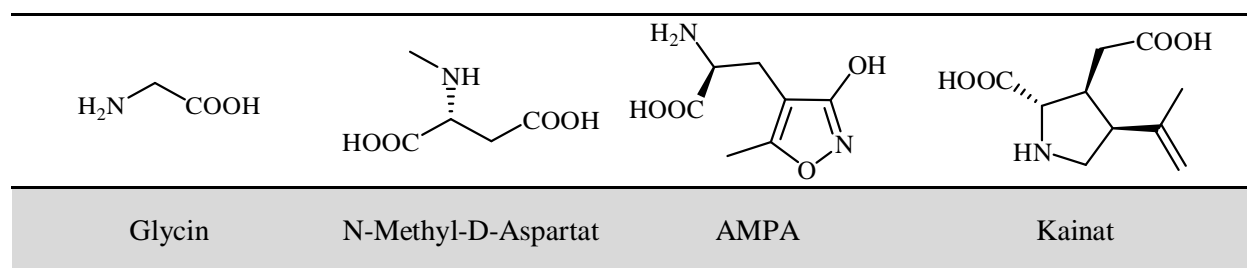


Abb. 20: Übersicht der selektiven Agonisten der jeweiligen Rezeptortypen

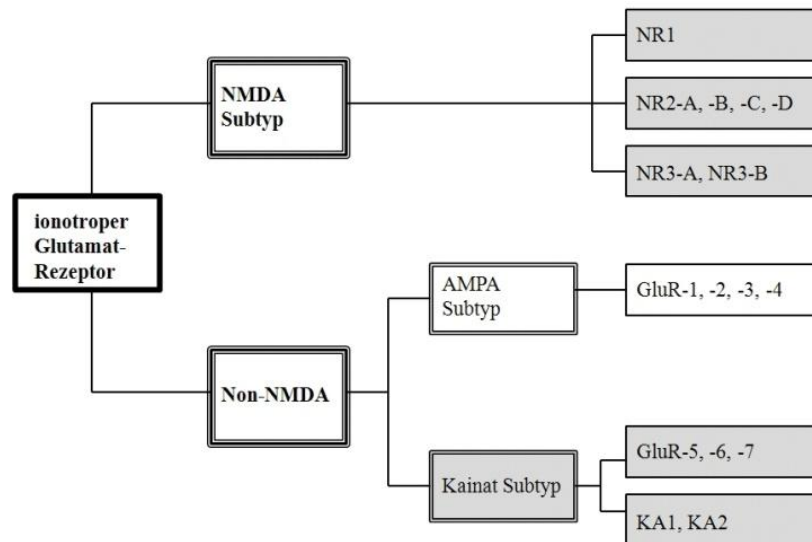


Abb. 21: Übersicht der ionotropen Glutamat-Rezeptoren

1.6 Der NMDA-Rezeptor

1.6.1 Aufbau des NMDA-Rezeptors

Der NMDA-Rezeptor setzt sich meist aus den beiden wichtigsten Untereinheiten, der Glycinbindenden NR1- und der Glutamat-bindenden NR2-Untereinheit, zusammen. Jede Untereinheit besteht aus etwa 920 – 1456 Aminosäuren. Insgesamt gibt es sieben verschiedene Untereinheiten (NR1, NR2A, NR2B, NR2C, NR2D, NR3A, NR3B). Der Aufbau jeder Untereinheit setzt sich aus einem extrazellulären N-Terminus, drei transmembranären Domänen, einer membranären Domäne und einem intrazellulären C-Terminus zusammen. Die Untereinheiten sind modular aus jeweils vier verschiedenen Domänen aufgebaut, die spezifische Rollen beim Aufbau und der Funktion der Rezeptoren erfüllen.

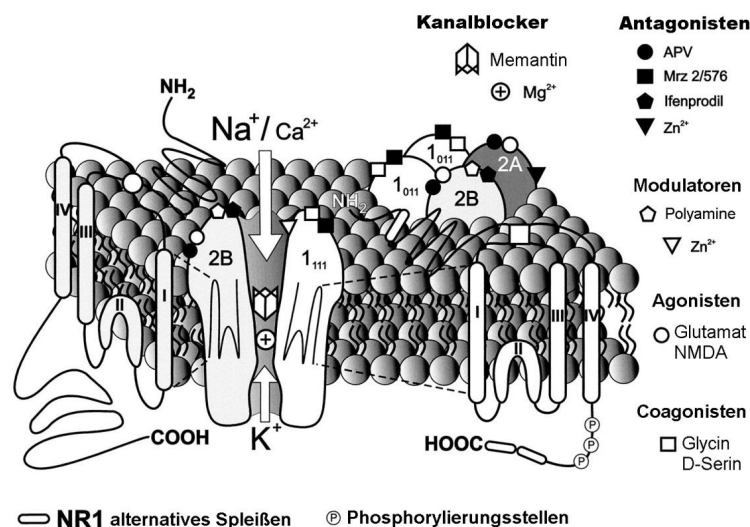


Abb. 22: Der NMDA-Rezeptor in der Übersicht⁴⁰

In seiner tetrameren Zusammensetzung müssen grundsätzlich zwei NR1-Untereinheiten vorliegen, die meist durch zwei NR2-Untereinheiten ergänzt werden.⁴¹ Aber auch zwei NR3- oder je eine NR2- und NR3-Untereinheit können zur Vervollständigung genutzt werden. Von der NR1- und NR2-Untereinheit kommen verschiedene Isoformen vor. So sind von der NR1-Untereinheit acht (NR1 A-H) und von der NR2-Untereinheit vier (NR2 A-D) Isoformen bekannt.⁴² Zudem zeigen die verschiedenen NR2-Untereinheiten ein altersabhängiges Verteilungsmuster in bestimmten Hirnarealen. Die Untereinheiten NR2-A und NR2-B kommen in hoher Dichte im Cortex und Hippocampus vor, während die NR2-C Untereinheit eher im Cerebellum und im Rückenmark vorkommt. Im Hirnstamm und Hypothalamus ist die seltene NR2-D-Untereinheit lokalisiert. Das Vorkommen verschiedener Untereinheiten in bestimmten Arealen ist deshalb von Bedeutung, da die jeweils eingebaute Isoform für die pharmakologischen und biophysikalischen Eigenschaften eine entscheidende Rolle spielt. So wirken sich verschiedene Isoformen der NR2-Untereinheit beispielsweise auf die Agonistenaffinität des Rezeptors aus.⁴³

Kennzeichnend für den NMDA-Rezeptor ist sein Ionenkanal, der im Ruhepotential durch ein Mg^{2+} -Ion blockiert ist. Erst nach einer Vordepolarisation der umgebenen Membran und der gleichzeitigen Anwesenheit der Agonisten Glutamat und Glycin wird diese spannungsabhängige Blockade aufgehoben und der Kanal geöffnet. Im geöffneten Zustand ist der NMDA-Rezeptor für Na^+ , K^+ - und auch im hohen Maße für Ca^{2+} -Ionen durchlässig. Durch das vorherrschende Konzentrationsgefälle der Ionen können K^+ -Ionen aus der Zelle herausströmen, wobei Na^+ - und Ca^{2+} -Ionen in die Zelle einströmen können. Das Besondere ist aber die Permeabilität für Ca^{2+} -Ionen.⁴⁴ Die Hauptfunktion des Rezeptors beruht nicht auf der Erzeugung elektrischer Impulse, welche auch zur Signalweiterleitung beitragen, sondern maßgeblich durch die aktivitätsabhängige Erhöhung der intrazellulären Ca^{2+} -Konzentration und somit der Regulation Ca^{2+} -abhängiger Prozesse sowie der Aktivierung Ca^{2+} -abhängiger Second Messenger-Kaskaden. Die dadurch ausgelösten biochemischen Veränderungen spielen bei Lernprozessen und bei der Gedächtnisbildung eine grundlegende Rolle.⁴⁵

Eine Störung der Regulation des Calciumspiegels kann im Falle einer Überstimulation in neurodegenerativen Krankheitsbildern wie Morbus Parkinson, Morbus Alzheimer, aber auch in akuten Krankheiten, wie Schlaganfall, resultieren.⁴⁶

1.6.2 Bindungsstellen des NMDA-Rezeptors

Die Signalweiterleitung im Nervensystem erfolgt über Nervenbahnen. Erreicht ein Aktionspotential die präsynaptische Endigung erfolgt die Ausschüttung eines Botenstoffs in den synaptischen Spalt. Dort kann der entsprechende Botenstoff an postsynaptische ligandgesteuerte Ionenkanäle binden und diese so aktivieren. Das durch den gebundenen Botenstoff ausgelöste chemische Signal wird in ein elektrisches Signal umgewandelt. Die Permeabilität der Lipidmembran wird geändert und so können sonst nicht durchlässige Ionen die Membran durchdringen. Die daraufhin in die Zelle ein- oder ausströmenden Ionen ändern dabei das über der Membran anliegende Potential, wodurch die Signalweiterleitung ermöglicht wird. Ionenkanäle können aber auch die Ionenkonzentration in der Zelle beeinflussen. Dies ist besonders für Ca^{2+} -Ionen entscheidend. Durch ihre geringe Konzentration innerhalb der Zelle fungieren sie als Botenstoff. Puffersysteme sorgen intrazellulär für eine niedrige Calciumkonzentration.

Der NMDA-Rezeptor wird von einer Vielzahl von endogenen und exogenen Liganden beeinflusst, welche mit diversen Bindungsarealen am Rezeptor wechselwirken. Neben den Bindungsstellen für Glycin auf der NR1-Untereinheit und der Bindungsstelle für Glutamat auf der NR2-Untereinheit gibt es auch eine Bindungsstelle für Polyamine sowie allosterische Bindungsstellen innerhalb des Kanals, wie die MK-801-Bindungsstelle und die Phencyclidin (PCP)-Bindungsstelle. Ferner wird die Aktivität des Rezeptors durch dessen Redoxzustand, eine pH-abhängige Bindungsstelle und durch den

intrazellulären Phosphorylierungsstatus mitbestimmt. Außerdem wirken Bindungsstellen für Zn^{2+} -Ionen⁴⁷ sowie Steroide, die außerhalb der Kanalpore liegen (siehe Abb. 22).

1.6.2.1 Liganden der Strychnin-insensitiven Glycinbindungsstelle

Glycin weist sowohl agonistische als auch antagonistische Effekte auf. Es verstärkt die Agonistenaktion von NMDA und stellt einen endogenen Co-Agonisten für den Neurotransmitter Glutamat dar. Ferner wirkt es auf dessen Bindungsstelle als Modulator. Demzufolge ist es von Interesse, zur Modulation der Glycinaktivität geeignete Antagonisten zu identifizieren, um so in neurochemische Vorgänge einzugreifen.

Spezifische Liganden für diese Bindungsstelle gliedern sich in verschiedene Substanzklassen. So kommen Derivate der Chinoxalindione, den Kynurensäuren, den Indol-2-carbonsäuren⁴⁸, die Tetrahydrchinolin-2-carbonsäuren und die Pyrrol-2-carbonsäuren vor. Diese Substanzen zeichnen sich durch eine sehr gute *in vitro* Aktivität aus. Das Hauptproblem besteht jedoch darin, dass viele Substanzen *in vivo* nicht aktiv sind, da sie kaum oder nicht in der Lage sind, die Blut-Hirn-Schranke zu überwinden, um dort wirken zu können.

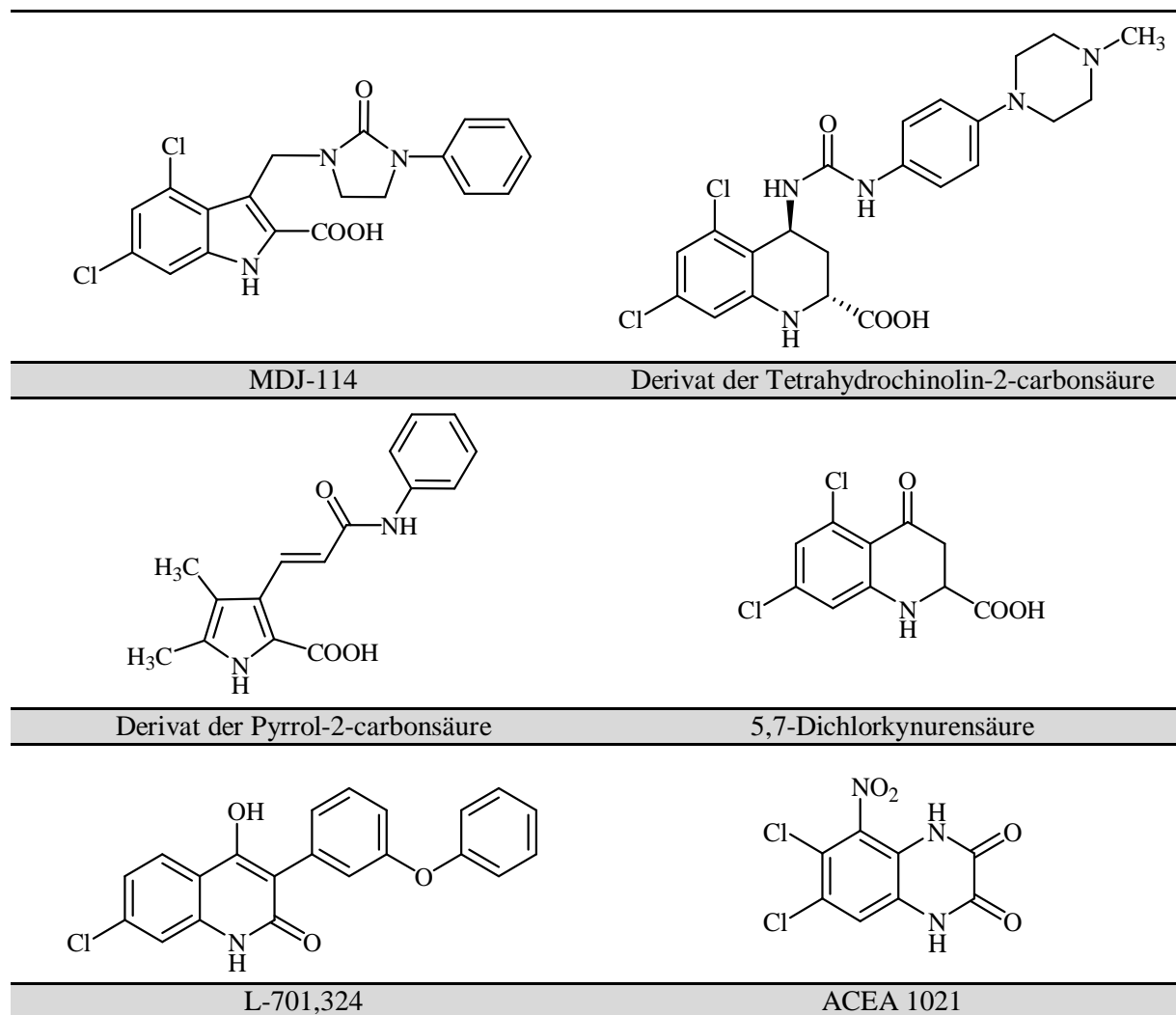


Abb. 23: Übersicht der Liganden der Strychnin-insensitiven Glycinbindungsstelle

Die Kynurensäure ist eine nicht-selektive, schwach aktive exzitatorische antagonistische Aminosäure, die zum einen an der Glycin- und Glutamat-Bindungsstelle bindet, zum anderen aber auch eine Affinität zu anderen Rezeptoren aufweist. Die Einführung einer Chlorgruppe in 5- oder 7- Position führt zu einer deutlichen Steigerung der Affinität, die Selektivität wird dadurch jedoch nicht beeinflusst. Erst die 5,7-dichlorsubstituierten Derivate zeichnen sich durch eine hohe Affinität als auch eine gute Selektivität aus. Weitere Substitutionsmuster stellen interessante Struktur-Wirkungsbeziehungen auf. Antagonisten müssen folgende Bedingungen erfüllen⁴⁹:

- a) größenlimitierende, hydrophobe Bindungsstelle im westlichen Teil des Moleküls (Benzolring)
- b) Coulomb- oder Wasserstoffbrückendonatorfunktion im östlichen Teil (Carboxylat)
- c) Wasserstoffdonorfunktion im südlichen Teil (NH-Gruppe)
- d) Wasserstoffbrückenakzeptorfunktion im nördlichen Teil (Keto-Gruppe)

Dasselbe gilt für die strukturähnlichen Chinoxalin-2,3-dione, Chinoxalinsäuren und die 2-Carboxybenzimidazole, die sich aber durch eine geringe Selektivität auszeichnen. Durch geeignete Substitution in 5- und 7-Position konnte auch hier eine Steigerung der Affinität erzielt werden, jedoch war das Verhältnis der Affinität von NMDA- zu nicht-NMDA-Rezeptor recht mäßig.⁵⁰ Erst durch die Einführung einer Nitrogruppe in 5-Position wurde mit ACEA 1021 eine Verbindung mit ausreichender Selektivität gefunden.⁵¹

Durch Hydrierung des heterozyklischen Ringes gelangt man zu den hochpotenten 2-Carboxytetrahydrochinolinen, welche in 4-Position substituiert sind.⁵²

Ebenso stellen Pyrrol-2-carbonsäuren moderate bis gut affine Verbindungen dar. Struktur-Wirkungsbeziehungen zeigen, dass eine Substitution in 4- und 5-Position im Pyrrol-Ring essentiell für die Affinität ist. Ferner stellte sich heraus, dass die Region im westlichen Teil des Moleküls durchaus durch Halogen- oder Alkylgruppen ersetzt werden kann und zu Affinitäten im niedernanomolaren Bereich führt.⁵³ Untersuchungen, die Eigenschaften der Kynurensäuren mit denen der Chinoxalin-2,3-dione zu verbinden, zeigten, dass die Carbonsäurefunktion nicht notwendigerweise essentiell für die Affinität ist, sondern durch eine 4-Hydroxy-chinolin-2-on-Gruppierung als biosterische Gruppe imitiert werden kann.⁵⁴ Durch Struktur-Wirkungsbeziehungen fand man heraus, dass vor allem die Substitution in 3-Position für die Affinität wichtig ist. So stellt das L-701,324 eine Verbindung mit hoher Affinität und Selektivität zur Glycinbindungsstelle dar.⁵⁵ Die Bioverfügbarkeit, welche mit der Penetration der Blut-Hirn-Schranke zusammenhängt, variiert zwischen und innerhalb der verschiedenen Substanzklassen. So sind Vertreter der Kynurensäure und der 2-Carboxytetrahydrochinolin-Derivate *in vivo* nahezu inaktiv, wobei 3-Phenyl-hydroxychinolin-1*H*-one vielversprechende Derivate darstellen.

Untersuchungen haben gezeigt, dass die 3-substituierten Indol-2-Carbonsäurederivate mit den Erkenntnissen aus den Struktur-Wirkungsbeziehungen ebenso recht selektive und hoch affine Liganden beisteuern. Die pharmakologische Einheit der Kynurensäure ist auch hier ausgeprägt und die Aminosäurestruktur wird auch hier imitiert.⁵⁶ Durch geeignete Substitution konnten Derivate mit sehr guten Affinitäten dargestellt werden.⁵⁷

1.6.2.2 Liganden der Glutamatbindungsstelle

An diese Bindungsstelle der NR2 Untereinheit binden die physiologischen Agonisten L-Aspartat und das potentere L-Glutamat. Die Antagonisten der Glutamatbindungsstelle weisen ein α -Aminosäure-Strukturmerkmal auf und imitieren auf diese Weise ebenfalls die Aminosäurestruktur des Glutamats. Ferner werden zwei Carboxylgruppen benötigt, die durch eine oder mehrere Methylengruppen voneinander separiert sind. Eine Substitution einer der beiden Carboxylgruppen durch Sulfonsäure-

oder Phosphonsäurederivate führt zu Liganden mit antagonistischer Wirkungsweise. Liganden dieser Bindungsstelle zeichnen sich zu einer Ähnlichkeit der Elektronenverteilung des Glutamats aus. Verbindungen wie D-AP5 und andere Konformationsderivate des Glutamats stellen spezifische Antagonisten der Glutamatbindungsstelle dar.⁵⁸ Dabei weisen Derivate mit R-Konfiguration eine wesentlich höhere Potenz als Derivate mit S-Konfiguration auf. Eine zusätzliche Verbesserung der Affinitäten konnte durch Derivate der Dioxocyclobutene erzielt werden.⁵⁹ Durch die Verbrückung der beiden Stickstoffe wird die Ausbildung intramolekularer Wasserstoffbrückenbindungen unterbunden, was eine verbesserte Ausbildung von Wasserstoffbrückenbindungen zum Rezeptor zur Folge hat und so nochmals zu einer Affinitätssteigerung führt (EAA-090).⁶⁰ Allen gemeinsam ist jedoch eine defizitäre Penetration der Blut-Hirn-Schranke. Eine weitere Substanzklasse stellen die Chromanol-Analoga zum CP-101,606 dar. Dieser wurde als hochselektiver Ligand beschrieben.⁶¹ Durch Optimierungsversuche konnte ein Ligand (CP-283,097) mit gesteigerter Affinität und *in vivo*-Aktivität dargestellt werden.⁶²

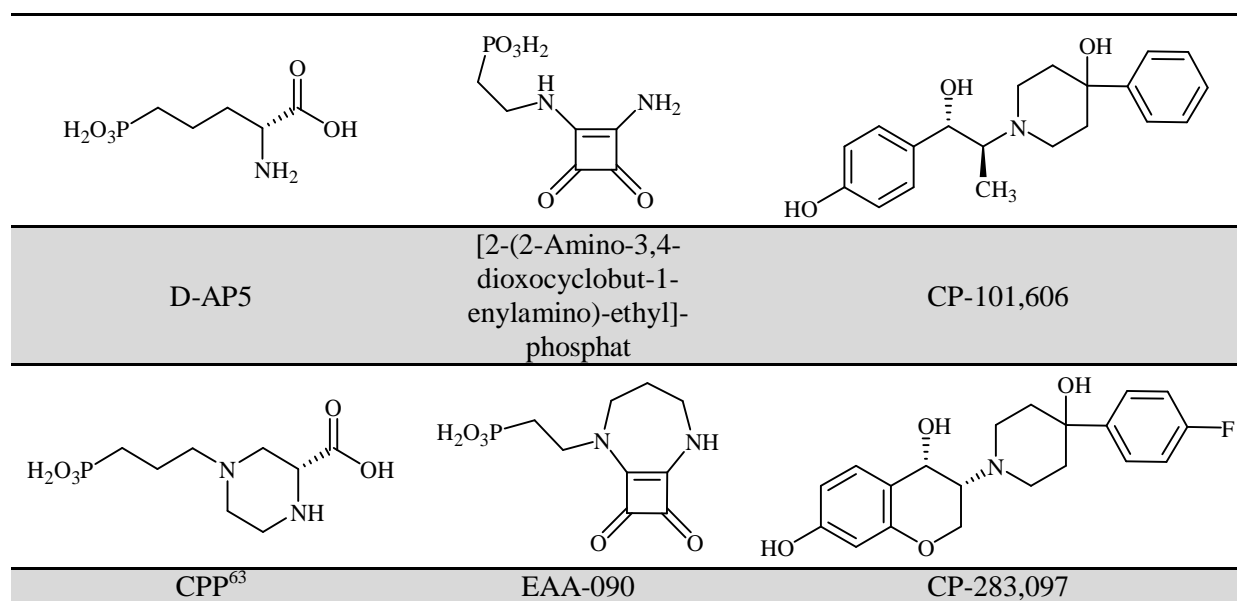


Abb. 24: Übersicht der Liganden der Glutamatbindungsstelle

1.6.2.3 Liganden der Polyaminbindungsstelle

Der NMDA-Rezeptor weist ebenso Bindungsstellen für lipophile und hydrophile Polyamide auf. Bei physiologischem pH-Wert liegen diese protoniert vor und binden als polykationische Verbindungen an der ionischen Bindungsstelle. Sie erhöhen die Öffnungsfrequenz des Ionenkanals und auch die Affinität für MK-801.⁶⁴ Ferner kommen Spermatin und Spermidin in der lebenden Zelle vor und wirken agonistisch. Hingegen verringern synthetische Verbindungen wie 1,10-Decandiamin (N-10-N) und 5-(4-Aminobutyl)-2-thiophenactanamin (N-4-T-8-N) die Öffnungsfrequenz der Kanalpore und blockieren die MK-801-Bindung.

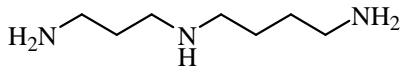
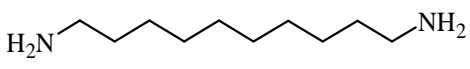
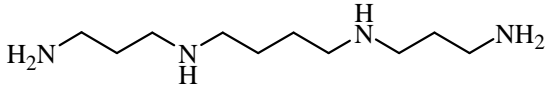
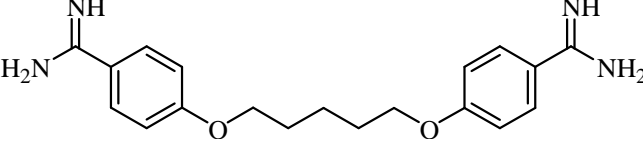
natürliche Polyamine	synthetische Polyamine
	
Spermidin	N-10-N
	
Spermin	N-4-T-8-N

Abb. 25: Übersicht natürlicher und synthetischer Polyamine

Eine ganz andere Struktur weisen die Verbindungen Ifenprodil und Eliprodil auf. Sie haben mit der Polyaminstruktur keine Ähnlichkeit, binden dennoch mit hoher Affinität an die Polyaminbindungsstelle. Vor allem zeichnen sie sich durch den Vorteil aus, dass sie keine neurotoxischen Effekte aufweisen.⁶⁵

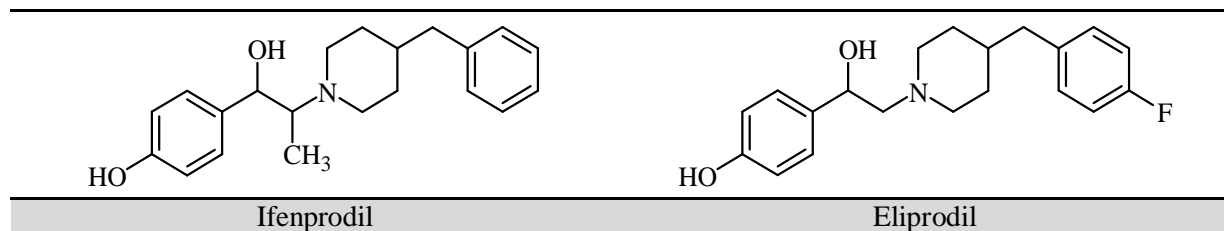


Abb. 26: Alternative Liganden der Polyaminbindungsstelle

1.6.2.4 Liganden des Ionenkanals

Auch im Ionenkanal liegt eine Bindungsstelle vor. Nur bei aktiviertem, geöffnetem Rezeptor können diese Liganden binden. Verbindungen dieser Art werden auch als „Kanalblocker“ bezeichnet und wirken folglich antagonistisch. An diese Bindungsstelle binden das Kurznarkosemittel Ketamin sowie das Muskelrelaxans Memantin, welches bei neurologisch, motorischen Störungen bei Parkinson zum Einsatz kommt. Andere Vertreter der Kanalblocker sind MK-801 (Dizocilpin)⁶⁶, welches sich durch eine hohe Selektivität zum Ionenkanal auszeichnet, und das nicht selektive PCP (Phencyclidin). Allen gemeinsam ist ein basisches Stickstoffatom. Ferner zeichnen sie sich durch eine lipophile Struktur aus, was sich positiv auf eine Passage der Blut-Hirn-Schranke auswirkt, aber gleichzeitig zu einem hohen Maß an unspezifischer Bindung führt. Außerdem wirken einige Vertreter halluzinogen und weisen eine hohe Toxizität auf.

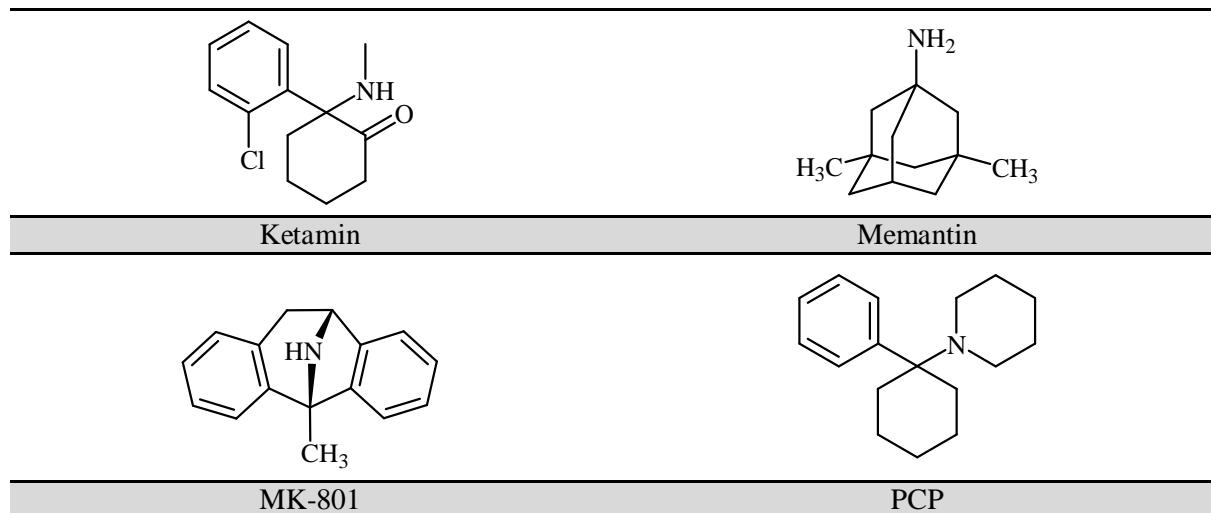


Abb. 27: Übersicht der Liganden des Ionenkanals

1.7 Liganden für die PET

Es wurden bereits einige vielversprechende Verbindungen zur Visualisierung einzelner Bindungsstellen des NMDA-Rezeptors für die Verwendung in der PET untersucht.

Ein beispielhafter Vertreter der Strychnin-insensitiven Bindungsstelle ist das ACEA 1021, welches mit ^{11}C markiert wurde. Diese Verbindung weist keinen Substituenten auf, der mit einem Radionuklid auf einfache Weise markiert werden kann. Deshalb wurde das ^{11}C -Nuklid in einer aufwendigen 5-Stufen-Synthese in das Molekül ausgehend vom $[^{11}\text{C}]\text{CN}$ über das Diethyl-1- $[^{11}\text{C}]$ oxalat eingebaut.⁶⁷ Ebenso wurde ein Tetrahydrochinolin-Derivat mit ^{18}F markiert, welches *in vitro* zunächst gute Ergebnisse zeigte, aber in Autoradiographien und *in vivo* schlechte Eigenschaften aufwies. Ferner zeichnete es sich durch eine geringe Hirnaufnahme aus.⁶⁸ Neben einem ^{11}C -Derivat wurde auch ein ^{18}F -Derivat der MDJ-118-Verbindung dargestellt. Beide Substanzen haben schlechte *in vivo*-Eigenschaften und sind nicht in der Lage die Blut-Hirn-Schranke zu überwinden. Das hohe Maß an Lipophilie ist zudem für die recht schlechten Autoradiographien verantwortlich. Ebenso wurden verschiedene Abkömmlinge des L-703,717 und des GV150526⁶⁹ synthetisiert und ^{11}C -markiert. Durch Coinjektion des Tracers mit Warfarin[®] sollte die Bindung an Albumin unterdrückt und so die Hirnaufnahme erhöht werden.⁷⁰

Auch wurden einige Vertreter der Kanalblocker für die Anwendung in der PET untersucht. ^{18}F -markierte PCP-Derivate wie das 3- $[^{18}\text{F}]$ Fluormethyl-TCP⁷¹, $[^{18}\text{F}]$ Fluomethyl-MK-801⁷² und $[^{18}\text{F}]$ MEM⁷³ wurden synthetisiert. Wegen ihrer recht hohen Lipophilie und dem hohen Maß an unspezifischer Bindung liefern diese Tracer keine hinreichenden pharmakologischen Informationen und sind als Tracer somit nicht geeignet.

Auch wurden Antagonisten für die NR2B-Untereinheit untersucht. Hier zeigt die ^{11}C -markierte Verbindung des (N-[4-(4-Fluorbenzyl)-piperidin-1-yl]-N'-(2-oxo-1,3-dihydrobenzimidazol-5-yl)-oxamid vielversprechende Ergebnisse im Hinblick auf Affinität und Selektivität.⁷⁴ Zudem scheint die Struktur eine Passage der Blut-Hirn-Schranke zu ermöglichen, welches für viele Verbindungen ein schwierig zu erfüllendes Kriterium darstellt. Ebenso gelang die Synthese eines $[^{18}\text{F}]$ Fluormethylbenzamidin-Derivats, welches zu metabolischen Stabilisierung an der α -Methylen-einheit mit zwei Deuteriumatomen versehen wurde.⁷⁵ In Abbildung 28 sind einige dieser Liganden aufgelistet.

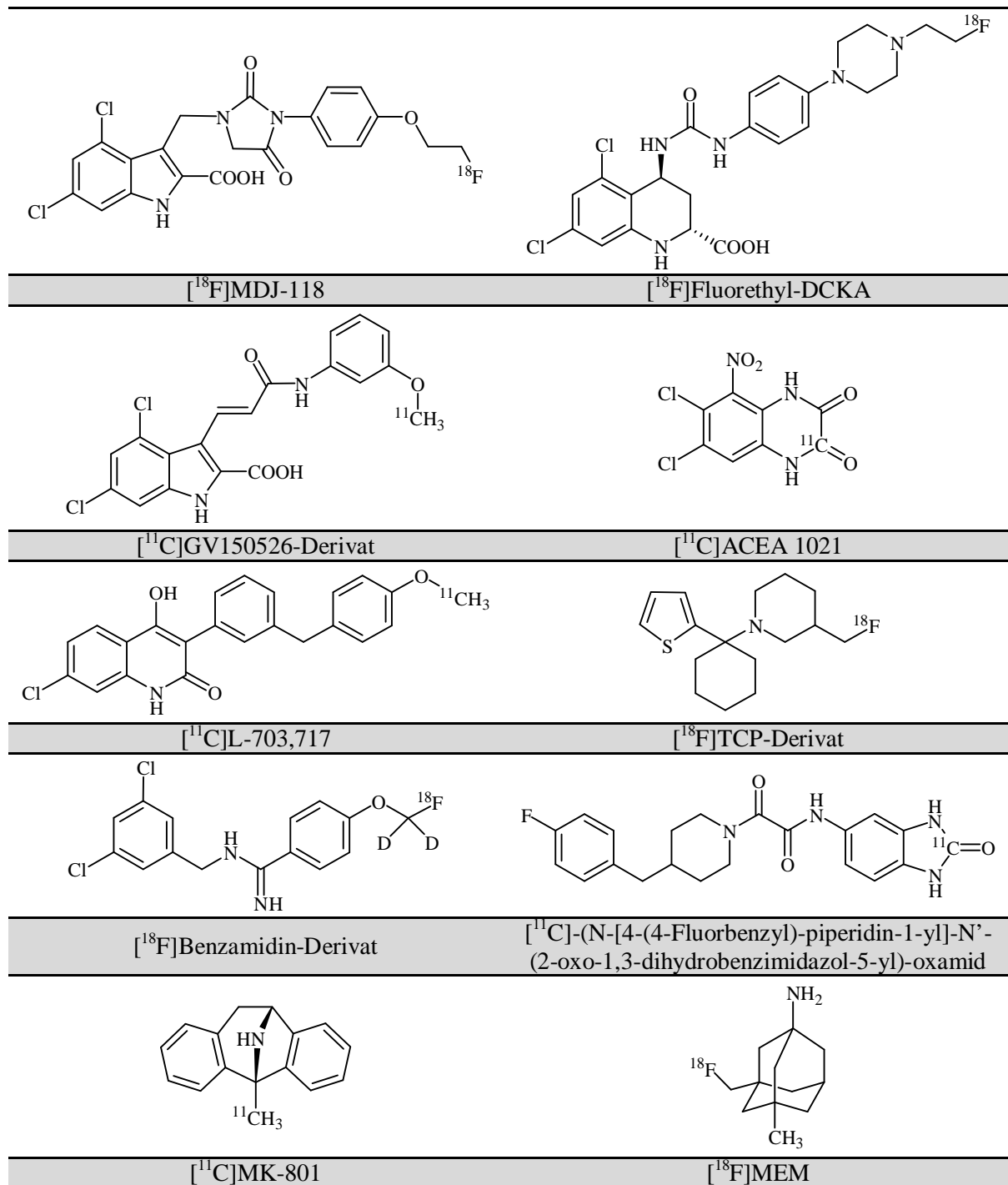


Abb. 28: Übersicht der markierten Liganden für die PET

2. Problemstellung

Das Gehirn ist in der Lage, Erlerntes dauerhaft zu speichern und bei Bedarf wiederzugeben. Auf neurologischer Ebene sind dafür unter anderem glutamatgesteuerte Ionenkanäle verantwortlich. Insbesondere der NMDA-Rezeptor spielt hier eine bedeutende Rolle. Glutamat ist der wichtigste erregende Neurotransmitter im zentralen Nervensystem und reguliert neurochemische Vorgänge, wie die intrazelluläre Ca^{2+} -Konzentration der Zellen. Gerade eine ausgeglichene Funktion der Rezeptoraktivität ist von essentieller Bedeutung. Ein Ungleichgewicht kann zu neurodegenerativen Erkrankungen des zentralen Nervensystems führen. So kommt es bei einer Überaktivierung des Rezeptors zu einem exzessiven Einstrom von Ca^{2+} in die Zellen, was für diese in erhöhter Dosis eine hohe Toxizität darstellt und bis zur Apoptose (Zelltod) führen kann. Zerebrale Ischämien, aber auch Schizophrenie, werden diesem Vorgang zu Grunde gelegt. Auch die Krankheitsbilder Chorea Huntington, Morbus Parkinson und Morbus Alzheimer werden mit einer Dysfunktion der NMDA-Rezeptoraktivität in Verbindung gebracht.

Folglich stellt die Visualisierung des NMDA-Rezeptorstatus mittels PET eine Möglichkeit dar, eine Aussage über die Rezeptoraktivität in bestimmten Hirnarealen zu treffen. Als diagnostisches Verfahren ist die PET hierzu hervorragend geeignet, da beim Einsatz eines geeigneten Tracers *in vivo*, nicht-invasiv ein Abbild der Rezeptoraktivität wiedergegeben werden kann. Dadurch ist es möglich, Krankheitsbilder zu diagnostizieren, eine Aussage über den Status einer Krankheit zu treffen und mögliche therapeutische Ansätze beurteilen zu können. Durch die hohe Sensitivität der PET in der Kombination mit einem exzellenten PET-Tracer ist es ferner möglich, Erkrankungen erheblich früher zu diagnostizieren. Die daraus resultierende frühere Behandlungsmöglichkeit des Patienten kann eine positive Auswirkung auf den Behandlungsverlauf in Aussicht stellen.

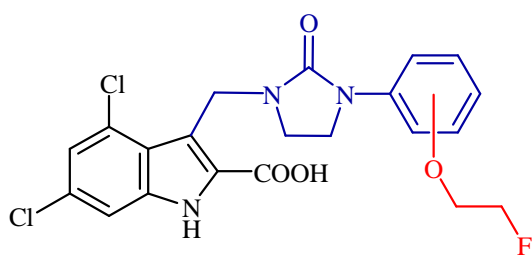
Die niedrige Selektivität und das hohe Maß an unspezifischer Bindung der bislang entwickelten PET-Tracer des NMDA-Rezeptors liefern keine zufriedenstellenden Ergebnisse. Alternativen, einen Antagonisten der Glycinbindungsstelle zu radiomarkieren, führten bisher ebenso zu keinen geeigneten PET-Liganden.

Daher war es das Ziel dieser Arbeit, neue ^{18}F -Tracer zur Visualisierung der Strychnin-insensitiven Glycinbindungsstelle des NMDA-Rezeptors mittels PET zu identifizieren, zu synthetisieren und im *in vivo*-Tierexperiment ihre Eignung zu überprüfen. Hierzu wurden drei verschiedene vielversprechende Leitstrukturen zweier Substanzklassen gewählt. Es handelt sich hierbei um Derivate der 3-substituierten 4,6-Dichlorindol-2-carbonsäure und um Derivate der 4-substituierten 3-Arylchinolin-2-1*H*-one. Diese zeichnen sich *in vitro* durch hervorragende Affinitäten und Selektivitäten zur Glycinbindungsstelle des NMDA-Rezeptors aus. Gerade das GV150526 (4,6-Dichlor-3-(2-phenylcarbamoylevinyl)-1*H*-indol-2-carbonsäure, Gavestinel) weist im Vergleich zu bereits dargestellten Derivaten ein hohes Maß an *in vivo*-Aktivität auf.^{76,77} Außerdem wurde es bereits in Tierexperimenten evaluiert⁷⁸ und in klinischen Studien am Menschen untersucht. Um die Möglichkeit einer Passage der Blut-Hirn-Schranke zu verbessern, wurde das L-701,324 (7-Chlor-3-{3-[4-(2-fluorethoxy)-phenoxy]-phenyl}-4-hydroxy-1*H*-chinolin-2-on) gewählt, welches anstelle der Carboxylgruppe als bioisosterisches Äquivalent eine 4-Hydroxy-chinolin-2-on-Einheit aufweist, welche die Carboxylatfunktion imitiert.

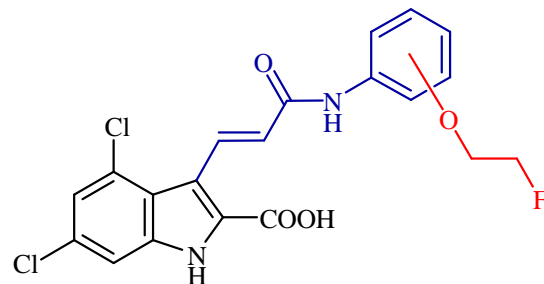
Diese aussichtsreichen Derivate sollten als Grundlage für die ^{18}F -Synthese neuer Tracer dienen. Durch eine Variation der Substitution im terminalen Phenylring mit einer Fluorethoxygruppe sollten Referenzverbindungen für eine spätere ^{18}F -Fluorethylierung dargestellt werden (siehe Abb. 29).

Diese inaktiven Referenzverbindungen sollten in einem Bindungsassay durch Verdrängung des tritiierten Liganden [^3H]MDL-105,519 auf ihre Rezeptoraffinität hin untersucht werden. Ebenso sollten pharmakologische Eigenschaften, wie die Lipophilie zur Abschätzung der Blut-Hirn-Schranken-Permeabilität, bestimmt werden. Von den geeignetsten Derivaten sollten dann die

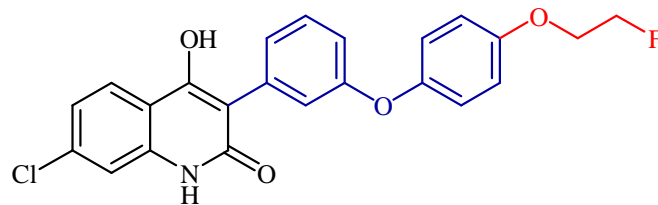
Synthesen der Markierungsvorläufer erfolgen, um diese mittels 2-[¹⁸F]Fluorethyltosylat zu markieren. Nach einer Optimierung der Markierungsreaktion nach Reaktionszeit, Reaktionstemperatur, Markierungsvorläufer- und Basenkonzentration sollte an analytischen und präparativen HPLC-Methoden gearbeitet werden, um eine Aufreinigung sowie Qualitätskontrolle der dargestellten ¹⁸F-markierten Verbindungen sicherzustellen. Ferner sollte nach erfolgreicher Synthese die spezifische Aktivität der resultierenden Verbindungen bestimmt werden. Ebenso wurde angestrebt, durch autoradiographische Aufnahmen eine Eignung des betreffenden Liganden zu verifizieren.



Fluorethoxyderivate von MDJ-114



Fluroethoxyderivate von GV150526



Fluorethoxyderivat von L-701,324

Abb. 29: Vorgesehene Fluorethoxyderivate der verschiedenen Substanzklassen (schwarz: Molekülgrundstruktur, blau: variable Seitenkette, rot: Fluorethoxysubstitutionsmuster)

3. Ergebnisse der organischen Synthesen

Im Rahmen dieser Arbeit wurden auf Grundlage von drei Leitstrukturen aus zwei verschiedenen Substanzklassen Derivate zur Visualisierung der NR1-Untereinheit des NMDA-Rezeptors synthetisiert. Desweiteren wurden Markierungsvorläufer hergestellt und diese in weiteren Reaktionsschritten mit ^{18}F -Fluor radiomarkiert. In anschließenden Experimenten wurden diese markierten Verbindungen *in vitro* und *in vivo* auf ihre Anwendung als mögliche neue PET-Tracer getestet. Abbildung 30 gibt eine Übersicht der verwendeten Leitstrukturen wieder.

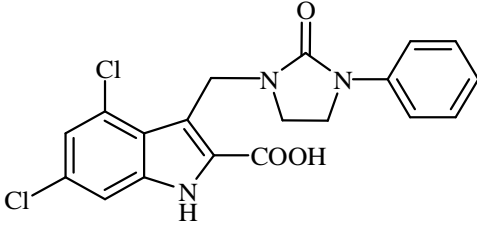
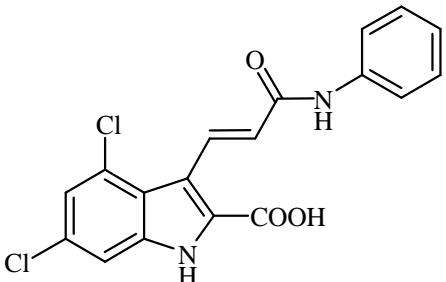
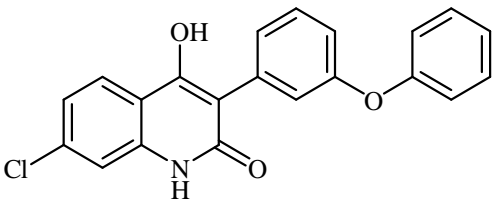
Substanzklasse 1	
	
3-imidazolidin-substituierte Indolcarbonsäure	GV150526
Substanzklasse 2	
	
L-701,324	

Abb. 30: Übersicht der verwendeten Leitstrukturen

Diese Leitstrukturen gliedern sich in die 3-substituierten 4,6-dichlorsubstituierten Indol-2-carbonsäuren (Substanzklasse 1) und in das 4-substituierte 3-Aryl-chinolin-2-1*H*-on (Substanzklasse 2). Diese Verbindungen wurden zunächst hinsichtlich einer möglichen Markierung mit 2- ^{18}F Fluorethyltosylat (^{18}F FETos) funktionalisiert. Um eine Vorabselektion der mit ^{18}F zu markierenden Liganden zu erhalten, wurden erste Experimente hinsichtlich der biologischen Aktivität der Substanzen mit analogen Verbindungen durchgeführt. Folglich wurden zunächst die inaktiven Referenzverbindungen synthetisiert, welche im terminalen Phenylring eine Fluorethoxy-Substitution aufweisen. In der Substanzklasse 1 (siehe Kapitel 3.1.1, Synthesen der 3-imidazolidin-substituierten Indolcarbonsäurederivate) wurden die meta- und para-fluorethylierten Derivate der 3-imidazolidin-substituierten Indolcarbonsäure synthetisiert. Ebenso wurden zur internen Referenz die entsprechenden Derivate ohne Substitution im terminalen Phenylring dargestellt. Ferner wurde von dem 4,6-difluorsubstituierten Derivat eine Fluorethylierung in para-Stellung durchgeführt. In der zweiten Verbindung der Substanzklasse 1 (siehe Kapitel 3.1.2, Synthesen der Derivate des GV150526) wurde eine Fluorethylierung in ortho-, meta- und para-Stellung vorgenommen. Auch hier wurden die unsubstituierten Derivate synthetisiert sowie eine para-Substitution des 4,6-Difluorderivats vorgenommen.

Für die Substanzklasse 2 (siehe Kapitel 3.1.3, Synthesen der Derivate des L-701,324) wurde das para-fluorethylierte Derivat dargestellt, welches sich im synthetischen Aufwand einer Derivatisierung recht aufwendig gestaltete. Ferner zeichnete sich ab, dass sich eine para-Substitution in Hinblick auf die spätere biologische Evaluierung als vielversprechend herausstellen würde.

Von allen synthetisierten Derivaten wurden die inaktiven Referenzverbindungen in Bindungsassays auf ihre Affinität hin untersucht und der log D-Wert als Maß für deren Lipophilie bestimmt. Basierend auf den gewonnenen *in vitro*-Daten wurden dann die Synthesen der Markierungsvorläufer für die am besten geeigneten Derivate begonnen. Die hierzu dargestellten Strukturen weisen alle im terminalen Phenylring eine Hydroxylgruppe auf, um eine ^{18}F -Markierung mit dem Syntheton 2- ^{18}F Fluorethyltosylat zu ermöglichen.

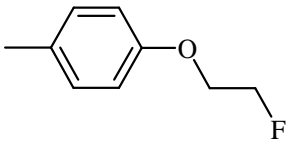
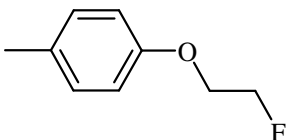
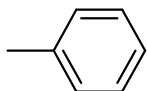
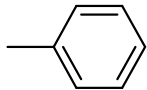
3.1 Synthesen der inaktiven Referenzverbindungen

3.1.1 Synthesen der 3-imidazolidin-substituierten Indolcarbonsäurederivate

Zunächst wurden auf Grundlage der 3-imidazolidin-substituierten 4,6-Dichlorindol-2-carbonsäure verschiedene Fluorethoxyphenylderivate dargestellt. Es wurden die Ethylester und die korrespondierenden Carbonsäuren als Zielverbindungen dargestellt (siehe Tab. 3).

Tab. 3: Übersicht der synthetisierten Ethylester und Carbonsäuren der 3-imidazolidin-substituierten 4,6-Dichlorindol-2-carbonsäurederivate

Name	R ₁	R ₂	R ₃
4,6-Dichlor-3-{3-[3-(2-fluorethoxy)-phenyl]-2-oxo-imidazolidin-1-ylmethyl}-1 <i>H</i> -indol-2-carbonsäureethylester (8)	Cl	Et	
4,6-Dichlor-3-{3-[4-(2-fluorethoxy)-phenyl]-2-oxo-imidazolidin-1-ylmethyl}-1 <i>H</i> -indol-2-carbonsäureethylester (9)	Cl	Et	
4,6-Dichlor-3-{3-[3-(2-fluorethoxy)-phenyl]-2-oxo-imidazolidin-1-ylmethyl}-1 <i>H</i> -indol-2-carbonsäure(10)	Cl	H	
4,6-Dichlor-3-{3-[4-(2-fluorethoxy)-phenyl]-2-oxo-imidazolidin-1-ylmethyl}-1 <i>H</i> -indol-2-carbonsäure (11)	Cl	H	

4,6-Difluor-3-{3-[4-(2-fluorethoxy)-phenyl]-2-oxo-imidazolidin-1-ylmethyl}-1 <i>H</i> -indol-2-carbonsäureethylester (17)	F	Et	
4,6-Difluor-3-{3-[4-(2-fluorethoxy)-phenyl]-2-oxo-imidazolidin-1-ylmethyl}-1 <i>H</i> -indol-2-carbonsäure (18)	F	H	
4,6-Dichlor-3-(2-oxo-3-phenylimidazolidin-1-ylmethyl)-1 <i>H</i> -indol-2-carbonsäureethylester (20)	Cl	Et	
4,6-Dichlor-3-(2-oxo-3-phenylimidazolidin-1-ylmethyl)-1 <i>H</i> -indol-2-carbonsäure (21)	Cl	H	

Die Synthese startete vom 3,5-Dichloranilin, welches in fünf Stufen zum 4,6-Dichlor-3-[(2-hydroxyethylamino)-methyl]-1*H*-indol-2-carbonsäureethylester (**5**) umgesetzt wurde.

Zunächst erfolgte eine Diazotierung des 3,5-Dichloranilins durch Natriumnitrit in saurer Lösung mit anschließender Reduktion zum 3,5-Dichlorphenylhydrazin (**1**) durch Zinn-(II)-chlorid. Im Anschluss wurde das Hydrazin mit Ethylpyruvat zum Hydrazon (**2**) umgesetzt. In dieser Reaktion entstanden das E- sowie das Z-Isomer, was aber für die weitere Synthese nicht weiter von Belang war. In einer sauer katalysierten Indolsynthese nach Fischer wurde ausgehend vom Hydrazon der Indolgrundkörper (**3**) synthetisiert. In der anschließenden Vilsmeier-Synthese wurde das Indol zu Verbindung **4** formyliert. Die Umsetzung des formylierten Indolgrundkörpers mit 2-Aminoethanol und anschließender Reduktion mit Natriumtriacetoxylborhydrid lieferte Verbindung **5**.

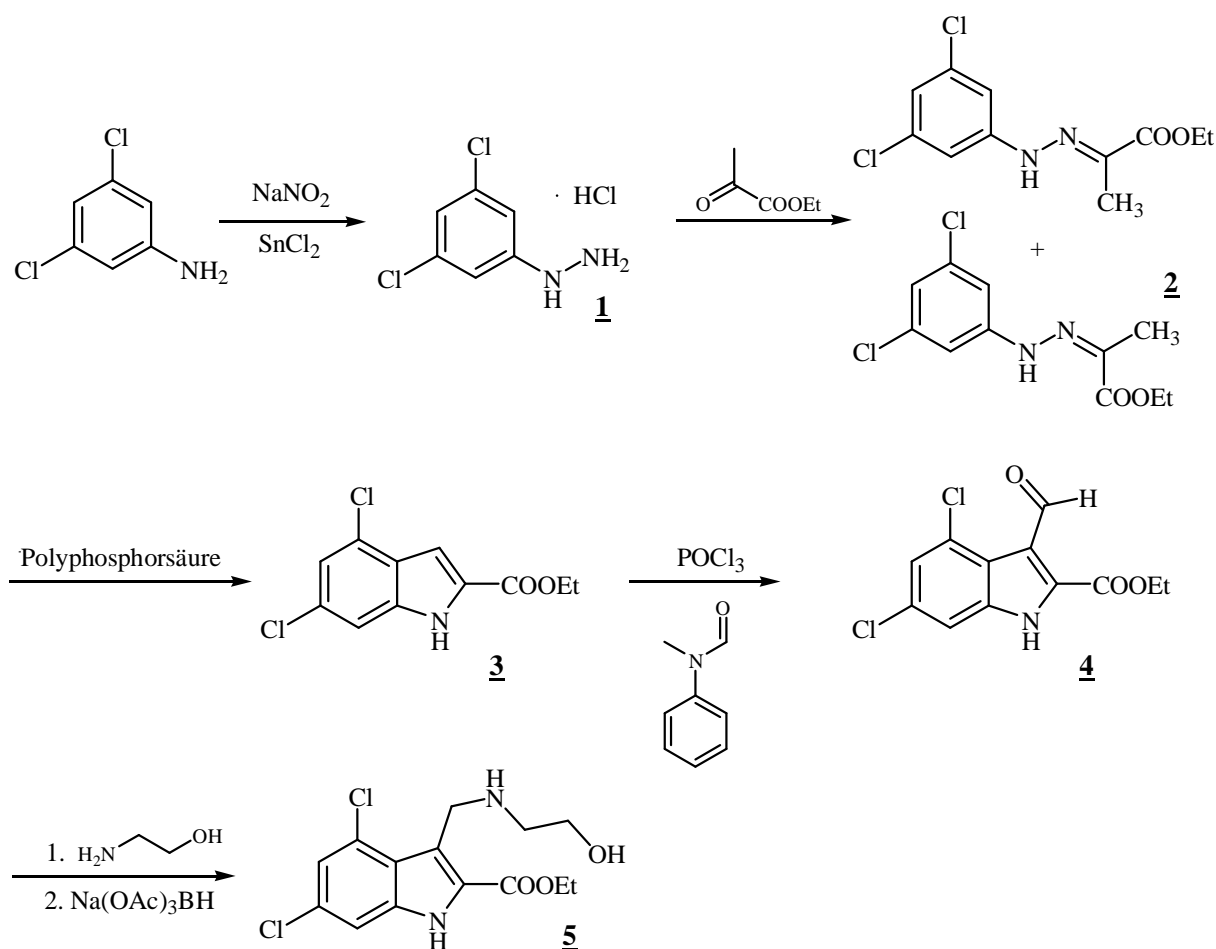


Abb. 31: Syntheschema von Verbindung **5** ausgehend vom 3,5-Dichloranilin

Ausgehend von **5** wurden dann die ortho- und para-substituierten 2-Fluorethoxyanilin-Derivate **10** und **11** dargestellt.

Dabei erfolgte eine Kopplung des 2-Fluorethoxyanilin-Derivate über eine Harnstoffstruktur an den Indolgrundkörper. Der Ringschluss zum Imidazolidin-2-on erfolgte durch Tosylierung der aliphatischen Hydroxylgruppe und anschließender Deprotonierung der Verbindung **6** bzw. **7**. Durch basische Verseifung der Ethylester (**8** bzw. **9**) mit Natronlauge wurden die entsprechenden Carbonsäuren **10** und **11** dargestellt.

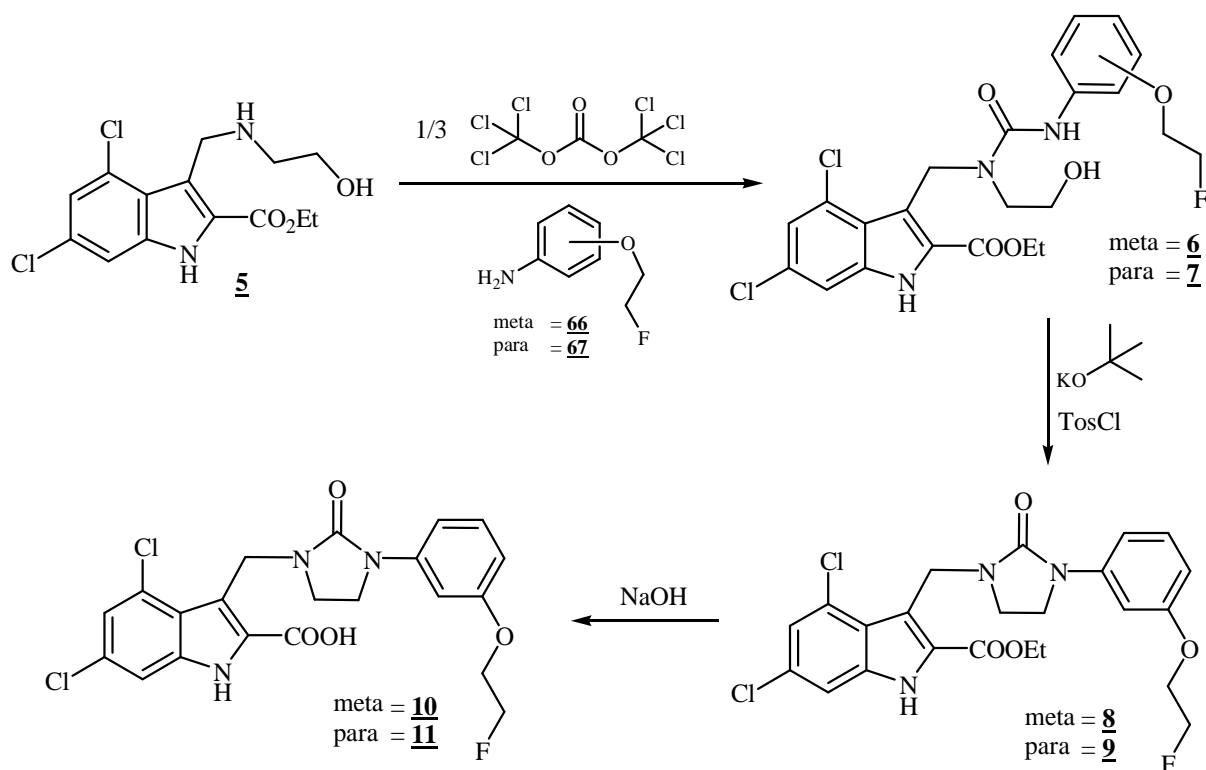


Abb. 32: Syntheseweg der Carbonsäuren

Um sich bei der biologischen Testung auf eine Vergleichssubstanz beziehen zu können, wurde die Synthese der unsubstituierten Liganden (**20** und **21**) durchgeführt. Hier wurde ausgehend von Verbindung **4** ebenfalls eine reduktive Aminierung durchgeführt, die Reaktionslösung jedoch direkt mit Phenylisocyanat als Kopplungskomponente versetzt.

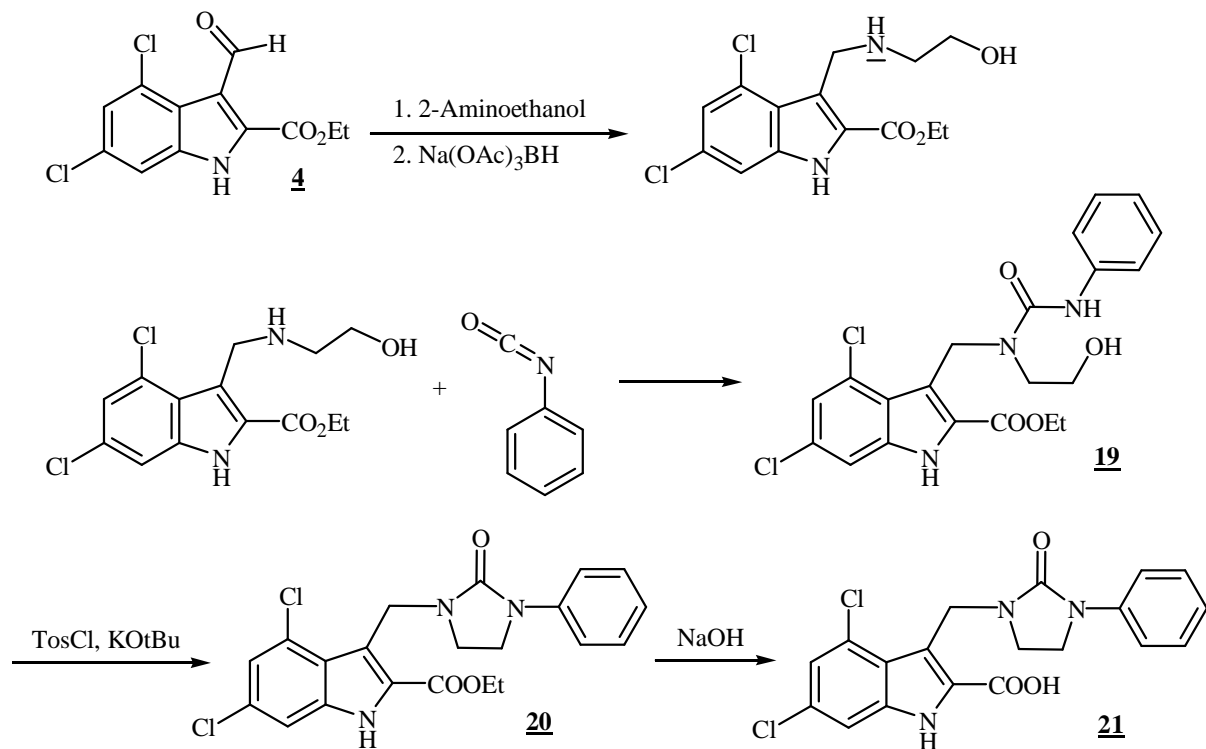


Abb. 33: Syntheseweg der unsubstituierten Vergleichssubstanzen

Ferner wurden die 4,6-Difluorderivate synthetisiert, da man sich hier eine Steigerung der Affinität und eine Verringerung der Lipophilie erhoffte. Dabei startete man von 3,5-Difluorphenylhydrazin Hydrochlorid, welches in analoger Reaktionsweise (siehe Abb. 34) in einer 7-stufigen Synthese in das Zielmolekül **18** überführt wurde.

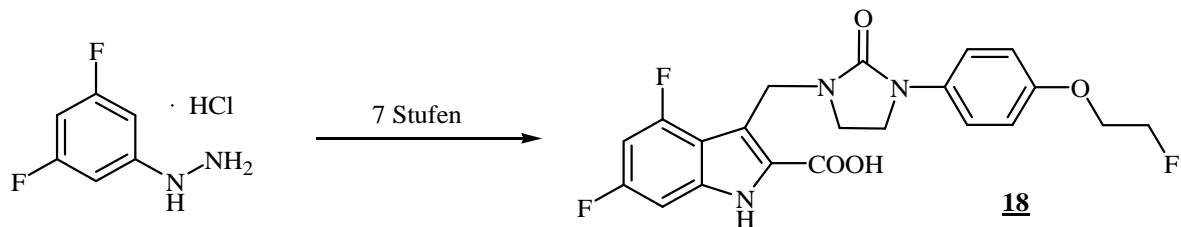


Abb. 34: Synthese des 4,6-Difluor-Derivats

3.1.1.1 Mechanistische Betrachtung

Zur Herstellung von **1** wurde 3,5-Dichloranilin zunächst mit einer Mischung aus Eisessig und konzentrierter Salzsäure unter Einwirkung von Natriumnitrit diazotiert. Durch Reduktion mit Zinn(II)-chlorid Dihydrat wurde das 3,5-Dichlorphenylhydrazin dargestellt, welches durch etherische HCl-Lösung als Hydrochlorid ausgefällt wurde.

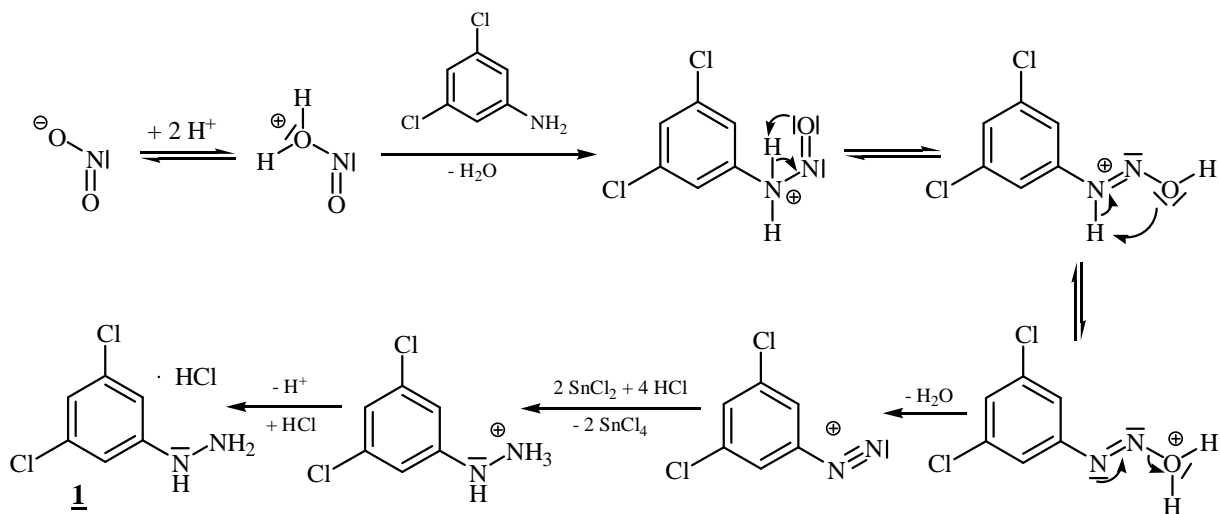


Abb. 35: Synthese des 3,5-Dichlorphenylhydrazins (**1**)

Das erhaltene Hydrazin reagierte mit Ethylpyruvat zum entsprechenden Hydrazone (**2**). Dabei dienen die H^+ -Ionen des Hydrochlorids zur Säurekatalyse. Das Kondensationsprodukt stellt ein unsymmetrisches Keton dar und kommt daher in zwei π -Diastereomeren (E- und Z-Isomer) vor, welche sich voneinander säulenchromatographisch trennen ließen. Für die weitere Synthese wurden beide Isomere eingesetzt.

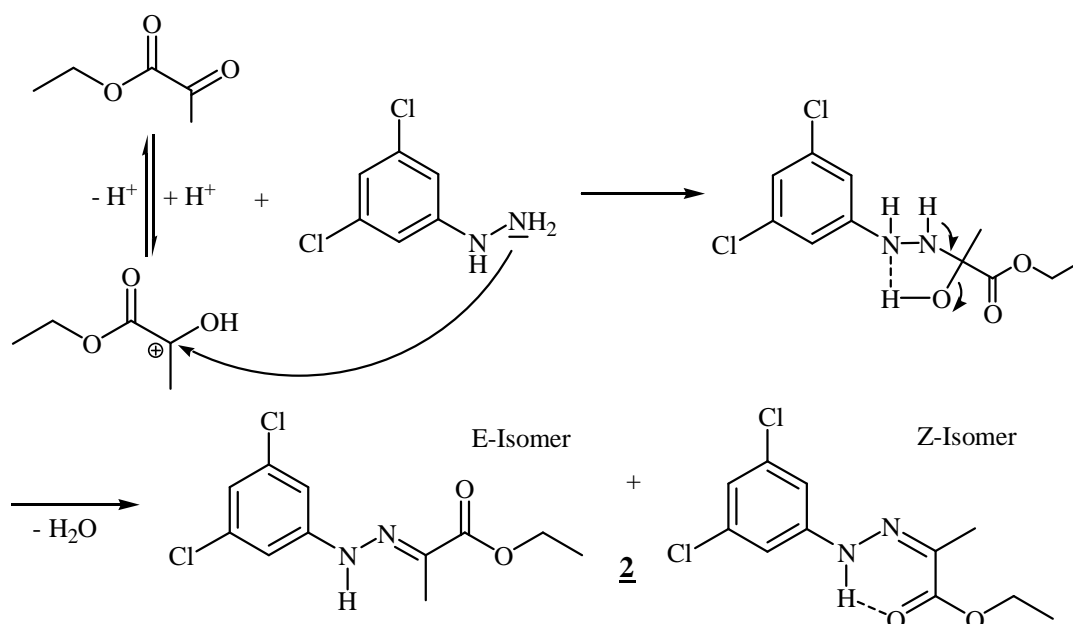
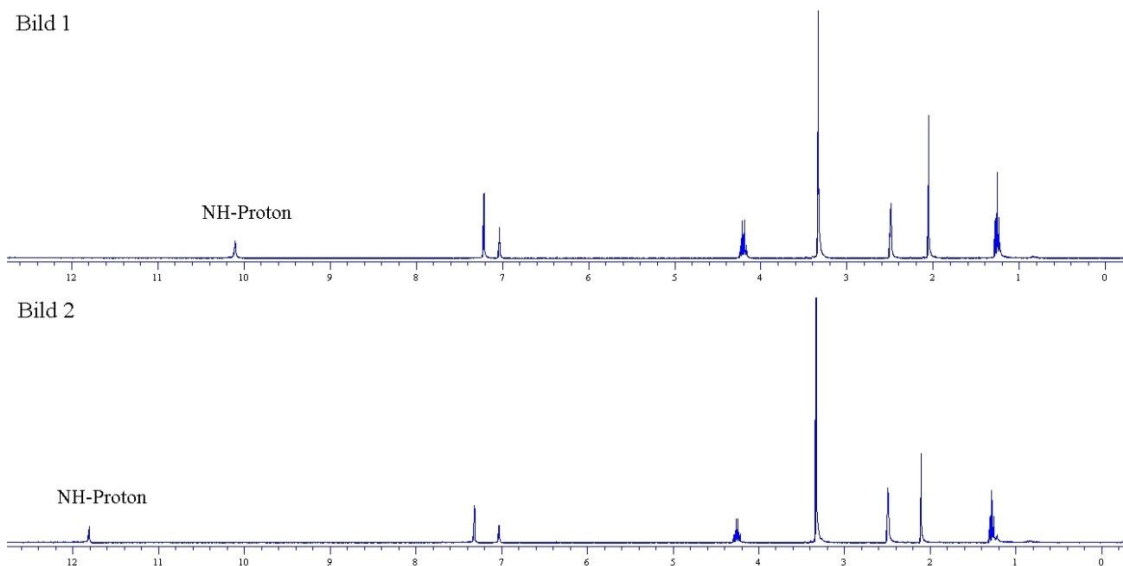


Abb. 36: Synthese des Hydrazons (2)

Nach Cahn-Ingold-Prelog ist eine eindeutige Charakterisierung der Isomere in E- und Z-Isomer möglich. Ferner weisen beide Isomere eine unterschiedliche Verschiebung des NH-Protons auf. Durch die intramolekulare Wasserstoffbrückenbindung des Z-Isomers kommt es im ^1H -Spektrum zu einer Tieffeldverschiebung des Stickstoff-Protons.


 Abb. 37: ^1H -NMR-Spektrum des E-Isomers (Bild 1) und Z-Isomers (Bild 2)

Im nächsten Schritt erfolgte eine protonenkatalysierte Indolsynthese nach Fischer in Polyphosphorsäure. Dabei tautomerisiert das Hydrazone zunächst in das Enamin, welches in einer [3,3]-sigmatropen Umlagerung aus der recht schwachen N-N-Einfachbindung eine im Vergleich starke C-C-Bindung ausbildet. Durch die Rearomatisierung entsteht ein Aminal, welches durch Freisetzung von Ammoniak zum Indol reagiert.

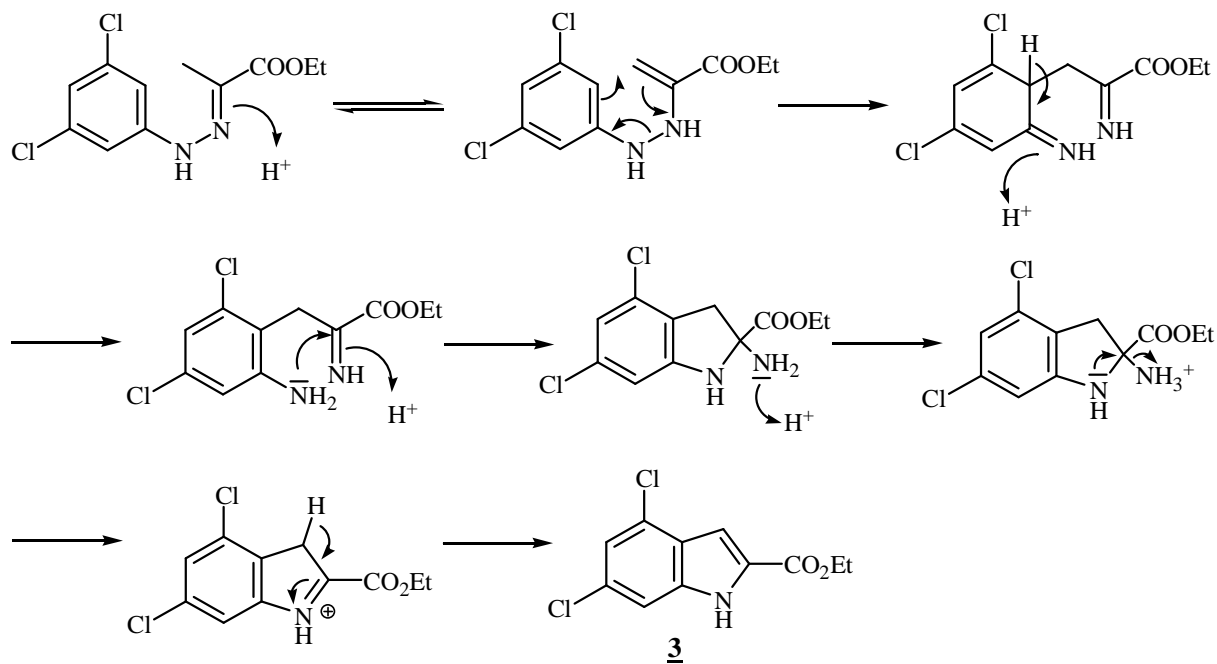


Abb. 38: Mechanismus der sauerkatalysierten Indolsynthese nach Fischer

Im Anschluss erfolgte in der Vilsmeier-Synthese eine Formylierung des Indolgrundkörpers in 3-Position. Dabei entstand aus N-Methylformanilid unter Einwirkung von Phosphorylchlorid zunächst das Chlormethyleniminiumsalz. Dieses Salz reagierte mit dem Indol zum Iminiumsalz. Durch Zugabe von Wasser und unter Abspaltung von Chlorwasserstoff erhielt man das formylierte Produkt.

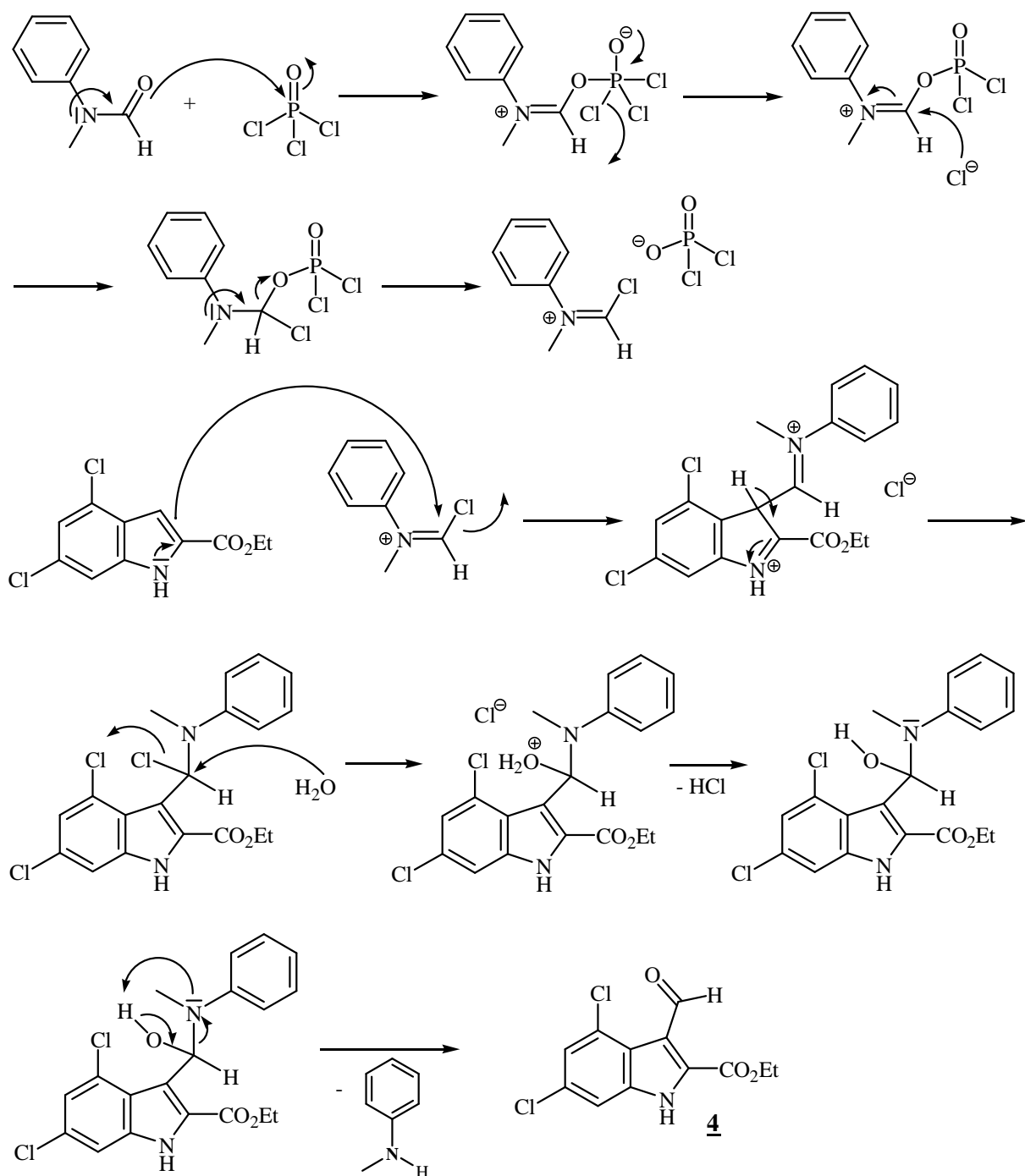


Abb. 39: Übersicht der Vilsmeier-Synthese

Im Anschluss erfolgte eine reduktive Aminierung. Zunächst wurde das formylierte Indol mit 2-Aminoethanol umgesetzt und anschließend das Amid durch Zugabe von Natriumtriacetoxyborhydrid zum sekundären Amin reduziert.

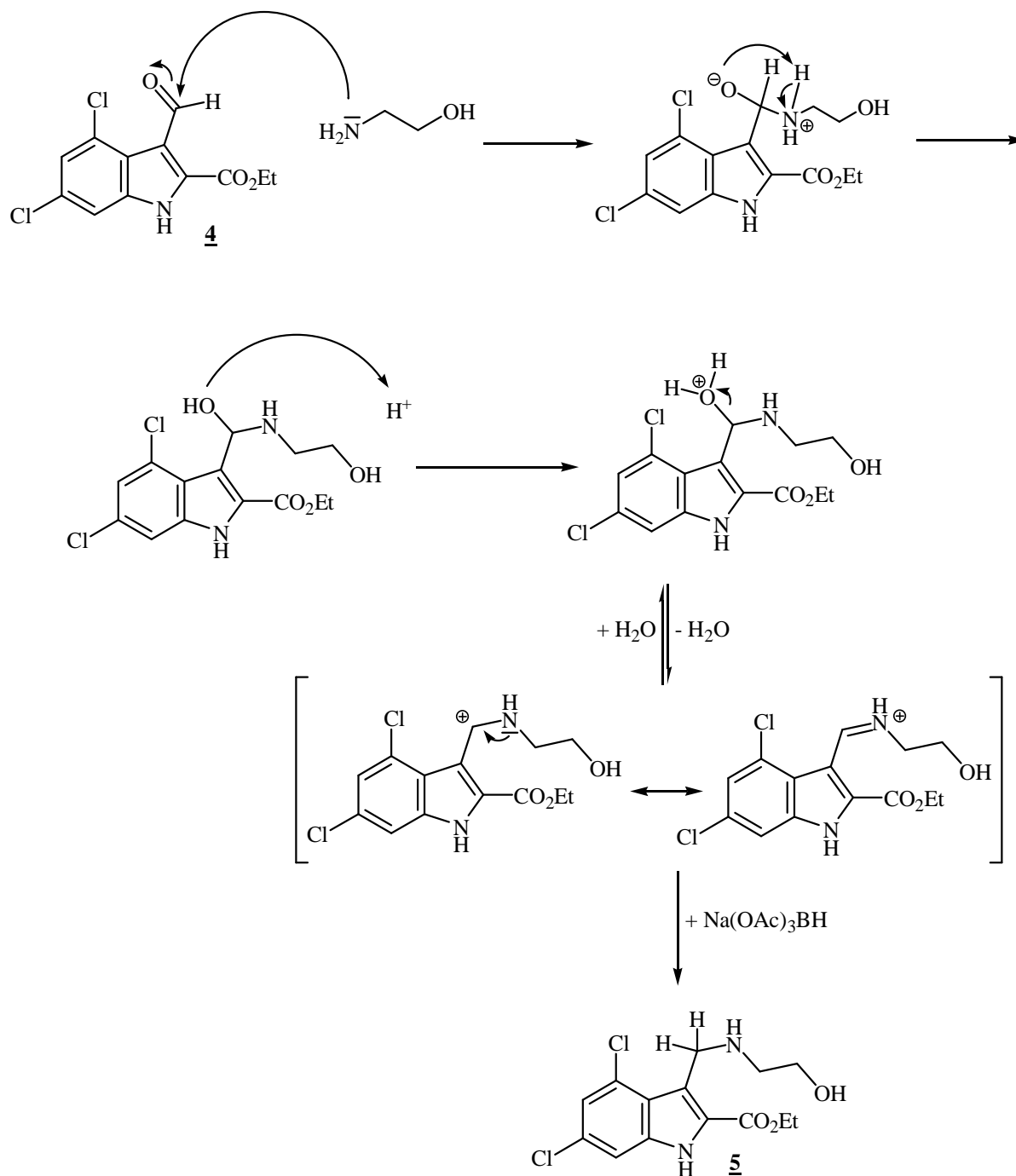


Abb. 40: Reduktive Aminierung

Ausgehend von **5** wurden die ortho- und para-substituierten 2-Fluoroethoxyanilin-Derivate dargestellt. Die Kopplung der 2-Fluoroethoxyanilin-Derivate erfolgte mit bis-Trichlormethylcarbonat (Triphosgen). Dieser kristalline Phosgenersatz zeichnet sich vor allem durch eine einfachere Handhabung aus. Unter Einwirkung von nukleophilen Gruppen reagiert es wie drei Äquivalente Phosgen (siehe Abb. 41).⁷⁹

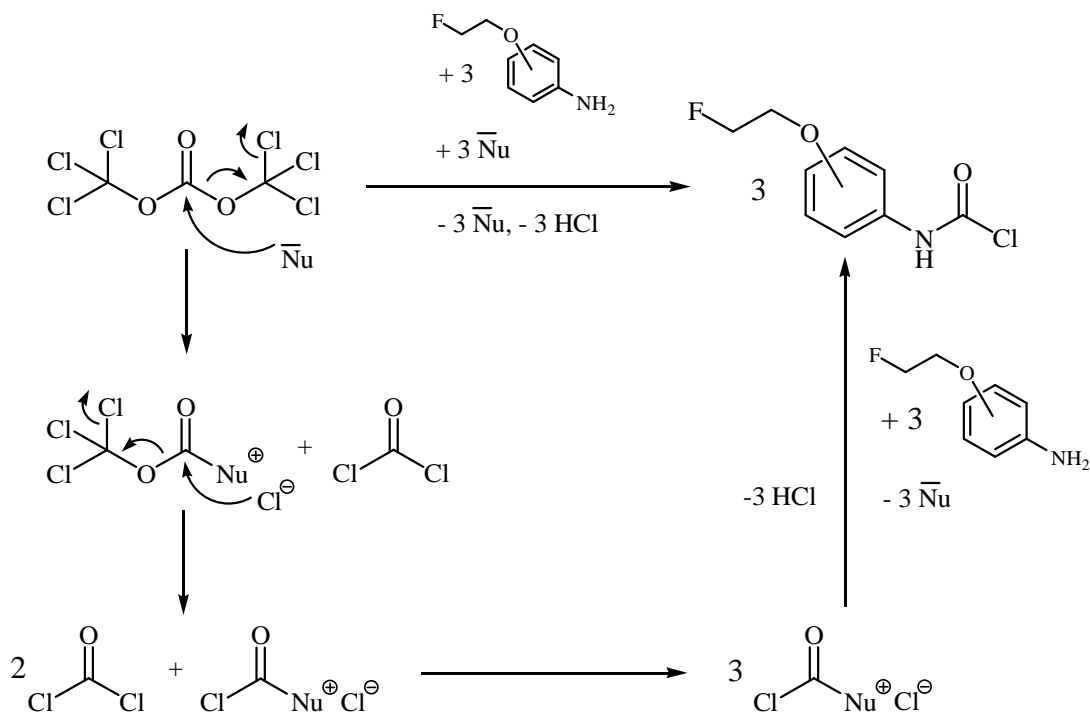


Abb. 41: Reaktionsweise von Triphosgen

Bei dieser Reaktion stellt die Temperaturkontrolle ein wichtiges Kriterium dar, da sich bei höheren Temperaturen ($> 0^\circ\text{C}$) ein Gleichgewicht mit dem sich bildenden Isocyanat einstellt und daraus die hier unerwünschten symmetrischen Harnstoffe entstehen. Bei Reaktionstemperaturen von $< 0^\circ\text{C}$ liegt nahezu ausschließlich das chlorierte Intermediat vor, welches bei Reaktion mit dem Indolgrundkörper zum gewünschten Produkt führt. Dementsprechend wurde das jeweilige 2-Fluoroethoxyanilin-Derivat langsam und gleichmäßig bei 0°C zu einer Lösung aus Triphosgen in Dichlormethan getropft, bevor eine Lösung des Indols in Dichlormethan rasch hinzugegeben wurde. Als nukleophiles Reagenz wurde DIPEA eingesetzt, welches gleichzeitig den bei dieser Reaktion entstehenden Chlorwasserstoff abfing. Durch die Bildung der unsymmetrischen Harnstoffe wurden die Verbindungen **6** und **7** dargestellt.

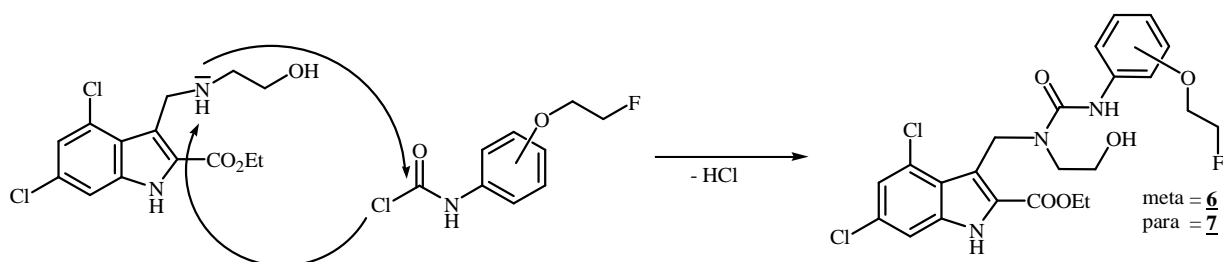


Abb. 42: Synthese der unsymmetrischen Harnstoffe

Die Zyklisierung des Imidazolidinrings erfolgte durch Tosylierung der Hydroxylgruppe, um diese in eine bessere Abgangsgruppe umzuwandeln. Durch Deprotonierung des sekundären Amins mit Kalium-tert.-butoxid wurde der Ringschluss vollzogen.

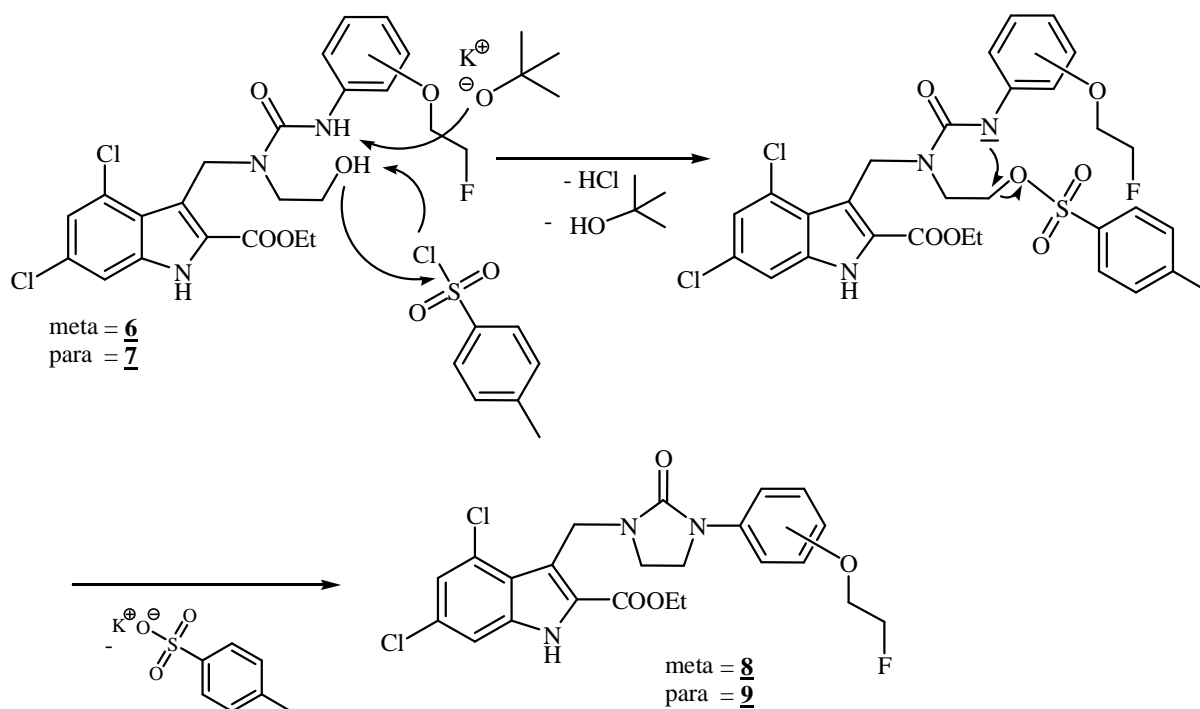


Abb. 43: Zyklisierung des Imidazolidinrings

Die Verseifung der Ethylester erfolgte im Basischen mit Natronlauge. Hierzu wurde der jeweilige Ester in THF gelöst und mit Wasser versetzt. Durch Zugabe von 1 M Natronlauge wurde die Carbonsäure dargestellt.

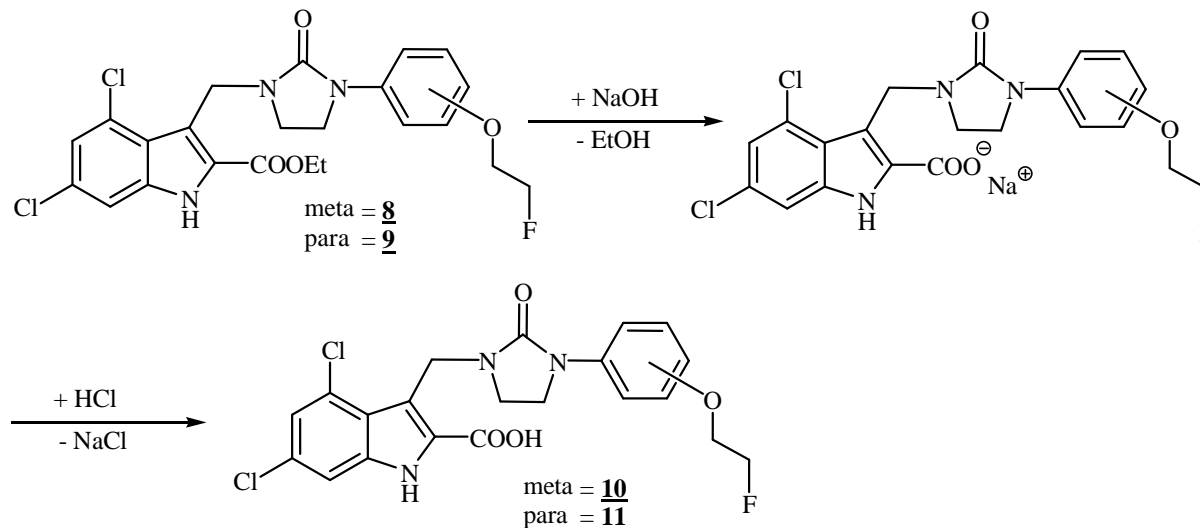
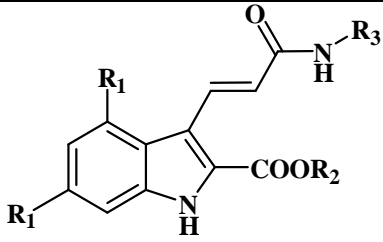
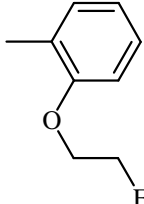
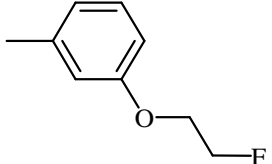
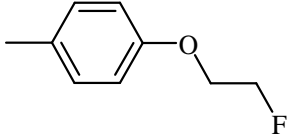
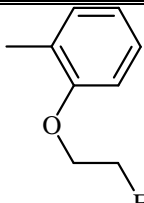
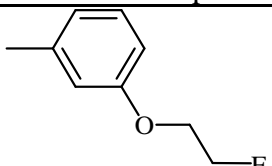
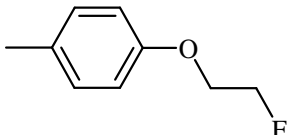
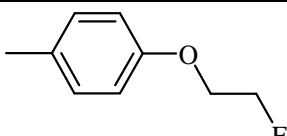
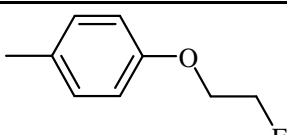


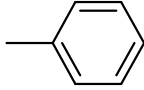
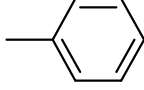
Abb. 44: Synthese der Carbonsäuren durch basische Verseifung

3.1.2 Synthesen der Derivate des GV150526

Ausgehend von Verbindung **4** wurden in einer 3- bzw. 4-stufigen Synthese die Ethylester bzw. die korrespondierenden Carbonsäuren dargestellt (siehe Tab. 4).

Tab. 4: Übersicht der dargestellten Derivate des GV150526

			
Name	R ₁	R ₂	R ₃
4,6-Dichlor-3-{2-[2-(2-fluorethoxy)-phenylcarbamoyl]-vinyl}-1 <i>H</i> -indol-2-carbonsäureethylester (29)	Cl	Et	
4,6-Dichlor-3-{2-[3-(2-fluorethoxy)-phenylcarbamoyl]-vinyl}-1 <i>H</i> -indol-2-carbonsäureethylester (30)	Cl	Et	
4,6-Dichlor-3-{2-[4-(2-fluorethoxy)-phenylcarbamoyl]-vinyl}-1 <i>H</i> -indol-2-carbonsäureethylester (31)	Cl	Et	
4,6-Dichlor-3-{2-[2-(2-fluorethoxy)-phenylcarbamoyl]-vinyl}-1 <i>H</i> -indol-2-carbonsäure (32)	Cl	H	
4,6-Dichlor-3-{2-[3-(2-fluorethoxy)-phenylcarbamoyl]-vinyl}-1 <i>H</i> -indol-2-carbonsäure (33)	Cl	H	
4,6-Dichlor-3-{2-[4-(2-fluorethoxy)-phenylcarbamoyl]-vinyl}-1 <i>H</i> -indol-2-carbonsäure (34)	Cl	H	
4,6-Difluor-3-{2-[4-(2-fluorethoxy)-phenylcarbamoyl]-vinyl}-1 <i>H</i> -indol-2-carbonsäureethylester (37)	F	Et	
4,6-Difluor-3-{2-[4-(2-fluorethoxy)-phenylcarbamoyl]-vinyl}-1 <i>H</i> -indol-2-carbonsäure (38)	F	H	

4,6-Dichlor-3-(2-phenyl-carbamoylvinyl)-1 <i>H</i> -indol-2-carbonsäureethylester (39)	Cl	Et	
4,6-Dichlor-3-(2-phenyl-carbamoylvinyl)-1 <i>H</i> -indol-2-carbonsäure (40)	Cl	H	

Der formylierte Indolgrundkörper (**4**) wurde in einer Wittig-Reaktion zu einem (E)-3-(2-tert.-Butoxycarbonylvinyl)-indol-Derivat (**27**) umgesetzt. In reiner Ameisensäure wurde der tert.-Butylester gespalten (**28**). Die Kopplung der 2-Fluorethoxyanilin-Derivate erfolgte durch Amidierung mit Triphenylphosphin und 2,2'-Dithiodipyridin (DTDP) in DMF (**29** – **31**). Die Ethylester wurden schließlich im Basischen mit Natronlauge zu den Verbindungen **32** – **34** umgesetzt.

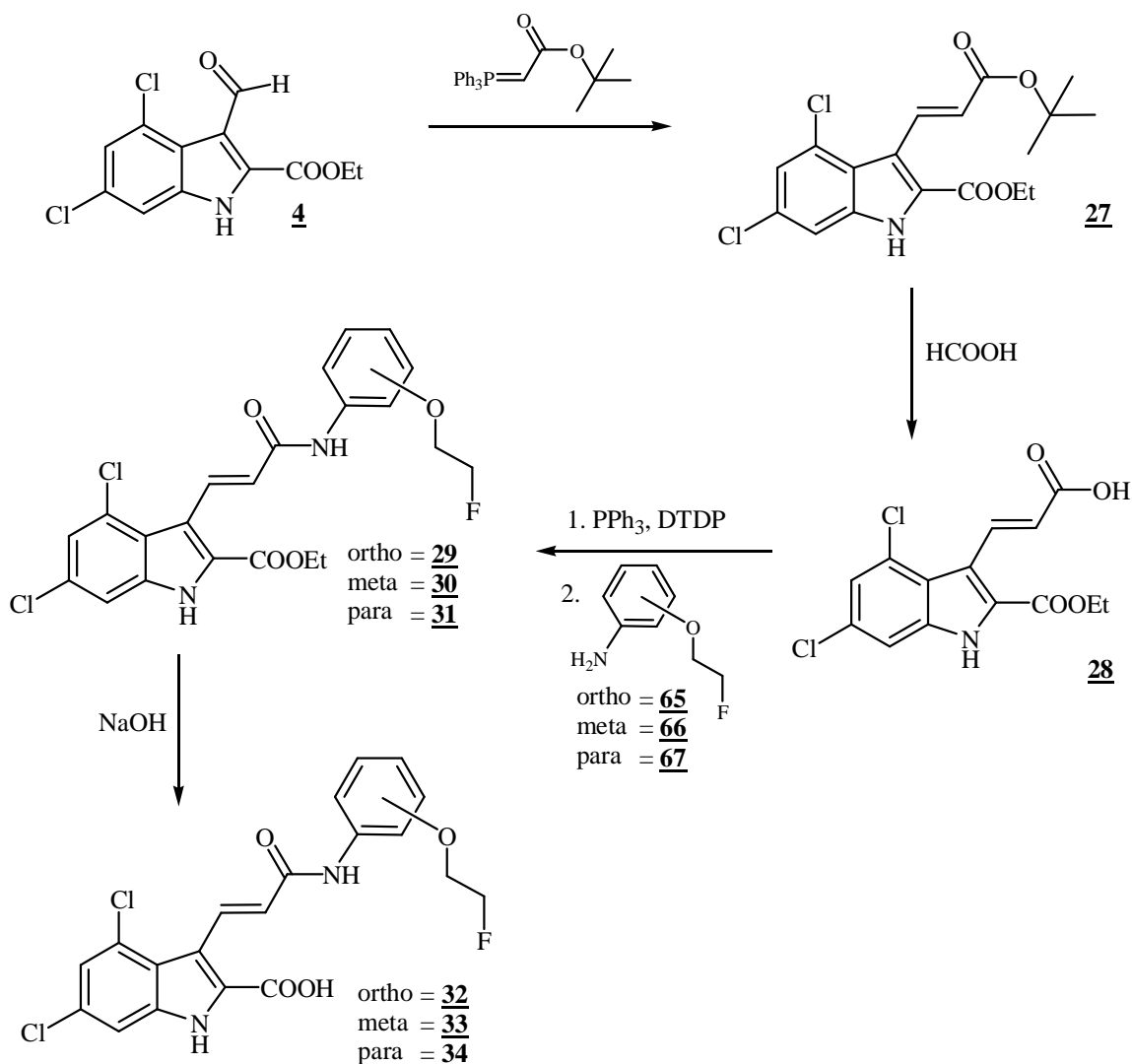


Abb. 45: Übersicht der Synthese der Derivate des GV15026

Ebenso wurden der unsubstituierte Ester sowie die entsprechende Carbonsäure dargestellt. Unter identischen Reaktionsbedingungen wurde Anilin mit Verbindung **28** gekoppelt und der Ethylester mit Natronlauge gespalten.

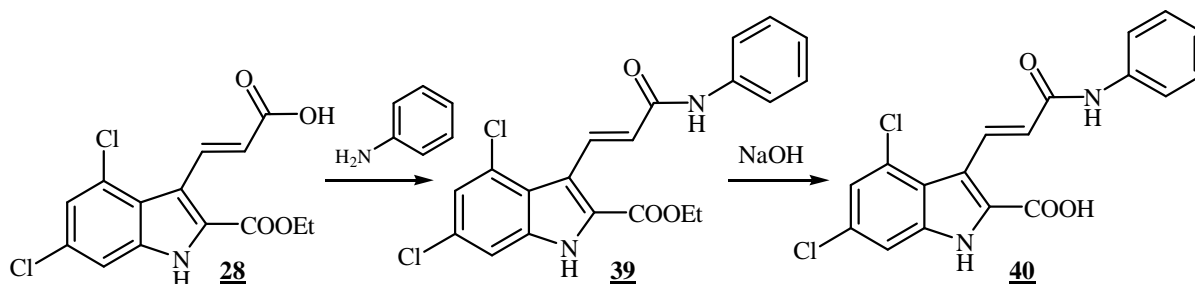


Abb. 46: Synthese der unsubstituierten Derivate

Ferner wurden von dem para-substituierten Derivat die 4,6-Difluorkomponente dargestellt.

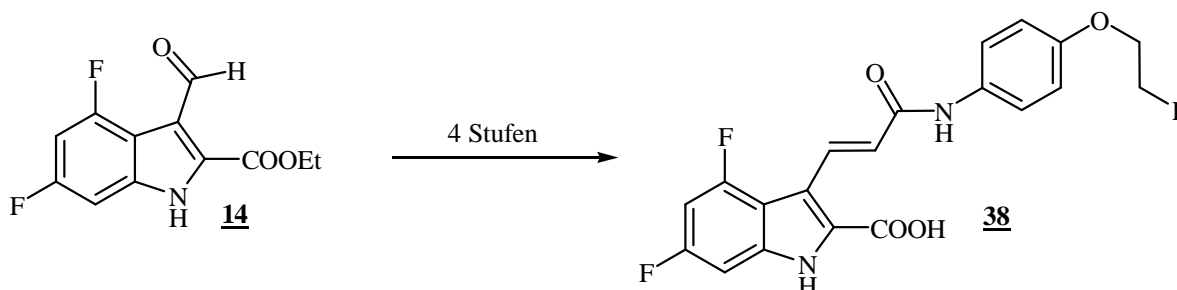


Abb. 47: Synthese der 4,6-Difluorderivate des GV150526

3.1.2.1 Mechanistische Betrachtung

Zunächst wurde aus Triphenylphosphin und Chloressigsäure-tert.-butylester in Benzol das Phosphoniumsalz hergestellt. Dieses ließ sich durch Deprotonierung mit Natriumhydroxid in das Phosphoniumylid überführen, welches zum Phosphoran tautomerisiert.

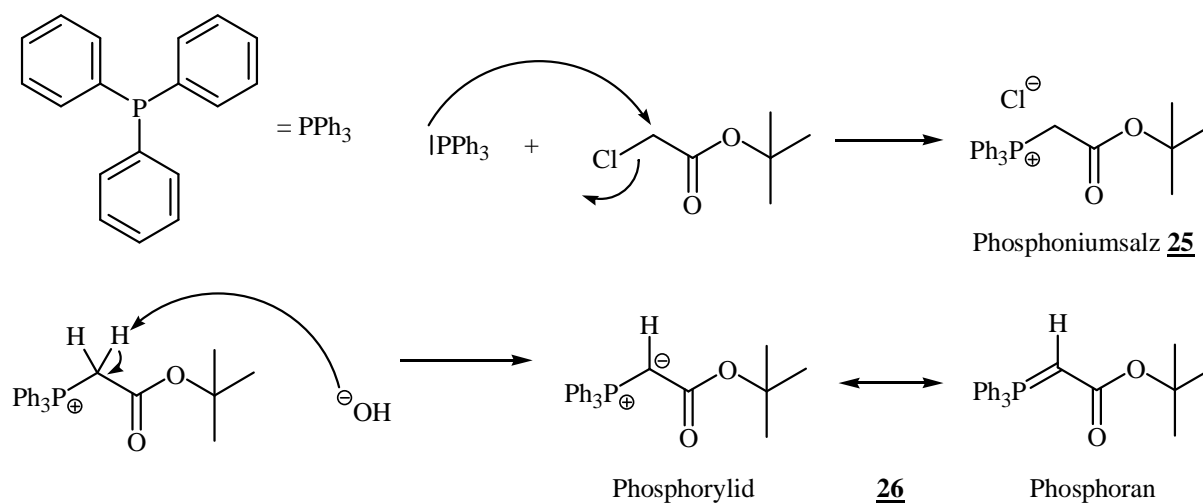


Abb. 48: Herstellung des Wittig-Reagenzes

Im Ylid wird die negative Ladung durch die Carbonsäureestergruppe stabilisiert, was die Wittig-Reaktion unter diesen Voraussetzungen zu einer E-selektiven Reaktion macht. Das Phosphoniumylid reagiert mit der Carbonylgruppe des formylierten Indolgrundkörpers (**4**) in einem viergliedrigen Übergangszustand zum Phosphetan. Dieses liefert unter Abspaltung des Triphenylphosphinoxids das entsprechende E-Isomer.

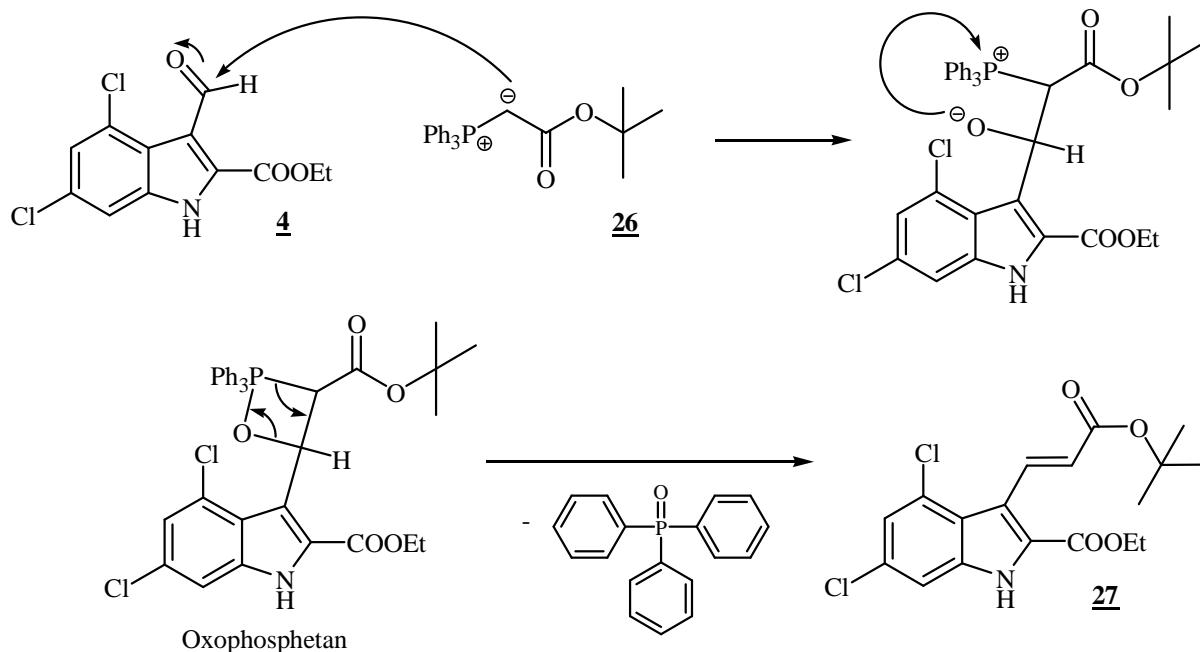


Abb. 49: Mechanismus der Wittig-Reaktion

Bei der Annäherung beider Reaktanden ordnen sich voluminöse Reste so an, dass sie einen recht großen Abstand aufweisen. Bildet sich der viergliedrige Übergangszustand, weisen die Reste eine anti-Stellung auf. Die Bildung des Oxophosphetans ist thermodynamisch kontrolliert und reversibel. Bei der Formierung der Doppelbindung wird folglich das E-Isomer gebildet.

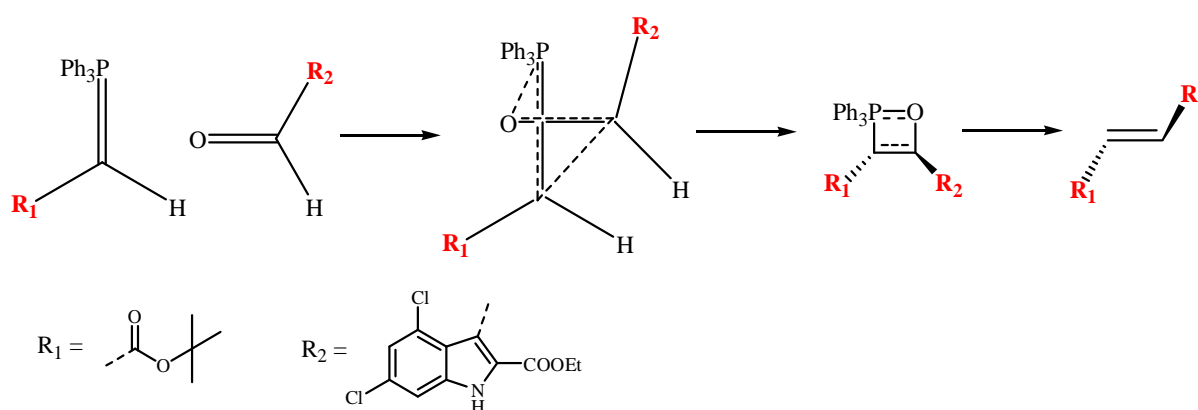


Abb. 50: Mechanismus der E-Isomerenbildung

In der nachfolgenden Reaktion wurde der tert.-Butylester bei Raumtemperatur in reiner Ameisensäure gespalten. Der Indol-2-carbonsäureethylester blieb bei dieser Reaktionsführung erhalten. Die Verwendung von Trifluoressigsäure lieferte ebenfalls das gewünschte Produkt, wurde aber wegen der schwierigen Handhabung nicht weiter eingesetzt. Das entschützte Produkt fiel nach beendeter Reaktion als weißer Feststoff aus und konnte abfiltriert werden.

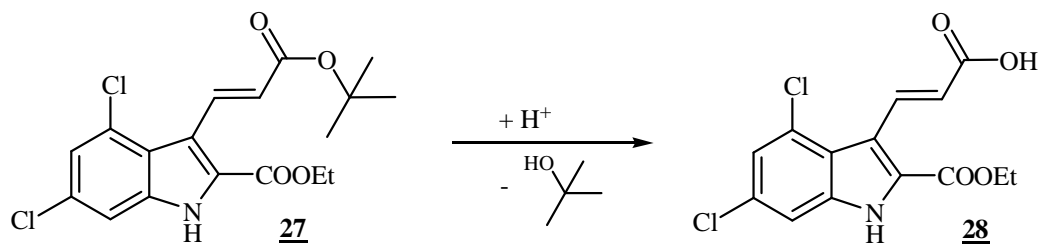


Abb. 51: Spaltung des tert.-Butylesters

Die Kopplung mit den 2-Fluorethoxyanilin-Derivaten erfolgte in DMF unter Verwendung von 2,2'-Dithiodipyridin (DTDP) und Triphenylphosphin. Hierdurch wird die Carbonsäure zunächst in einen Aktivester überführt, um so die Kopplung mit dem Fluorethoxyanilin-Derivat zu begünstigen.

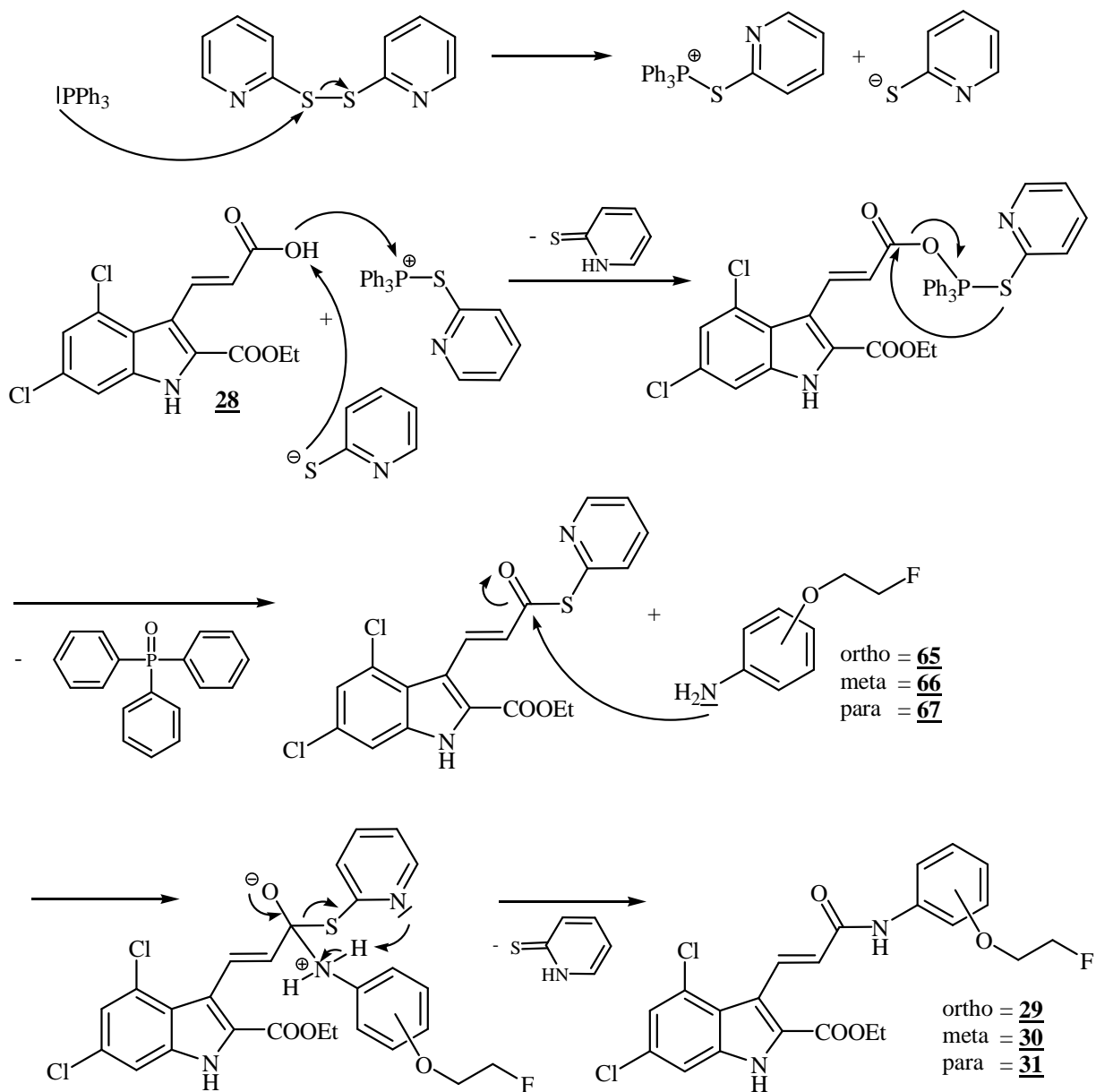


Abb. 52: Mechanismus der Amidierung

Die resultierenden Ethylester der Zielverbindungen wurden in einer THF/Wasser-Mischung gelöst und durch Zugabe von Natronlauge gespalten.

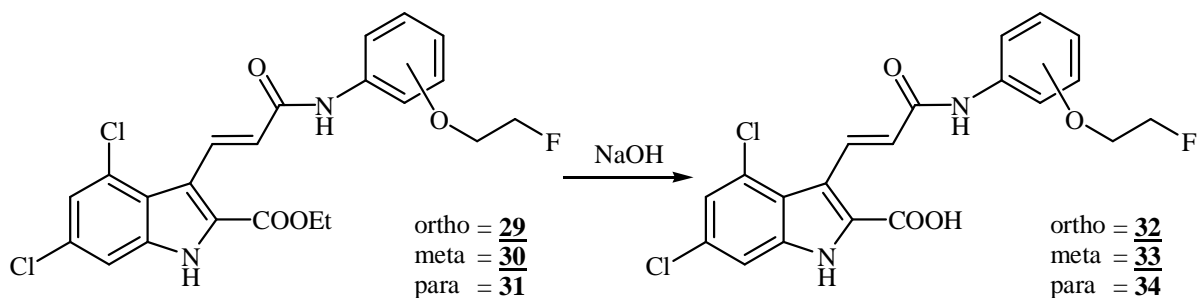


Abb. 53: Verseifung der Ethylester mit Natronlauge

3.1.3 Synthesen der Derivate des L-701,324

Da die Derivate der Substanzklasse 1 gezeigt haben, dass von einer para-Substitution die besten Affinitäten zu erwarten sind, wurde schließlich die para-substituierte Fluorethoxyverbindung des L-701,324 dargestellt (siehe Abb. 54).

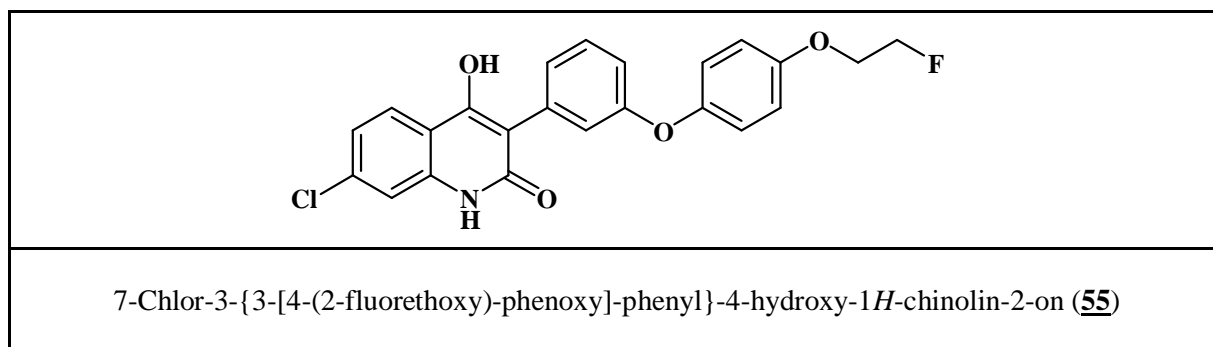


Abb. 54: Fluorethyliertes Derivat des L-701,324

Im Gegensatz zu den unter 3.1.1 und 3.1.2 dargestellten Derivaten ist eine ortho-, meta- und para-Substitution nicht auf einfache Weise gegen Ende der Syntheseroute zu erreichen. Hier muss bereits zu Synthesebeginn die finale Stellung der Fluorethoxygruppe festgelegt werden.

In einer insgesamt 9-stufigen Synthese wurde ausgehend von 3-Hydroxyphenylethylsäure die Säuregruppe als Methylester (47) geschützt. Die darauf folgende Ullmannkopplung des Esters mit 4-Fluornitrobenzol ergab den entsprechenden Diarylether (48). Im Anschluss erfolgte eine Reduzierung der Nitrogruppe zur Aminofunktion (49), die daraufhin phenolisch verkocht wurde (50). Bei dieser harschen Reaktion wurde zugleich der Methylester gespalten, der im Folgenden erneut eingeführt werden musste (51). Daraufhin wurde an der phenolischen Hydroxylgruppe mit 1,2-Bromfluorethan fluorethylt (52). Nach der Spaltung des Methylesters (53) wurde die Säure mit Oxalylchlorid in das Säurechlorid überführt, welches direkt mit 2-Amino-4-chlorbenzoesäuremethylester zum Amid umgesetzt wurde (54). Die anschließende Zyklisierung mit Kalium-bis-(trimethylsilyl)-amid lieferte das finale Produkt (55).

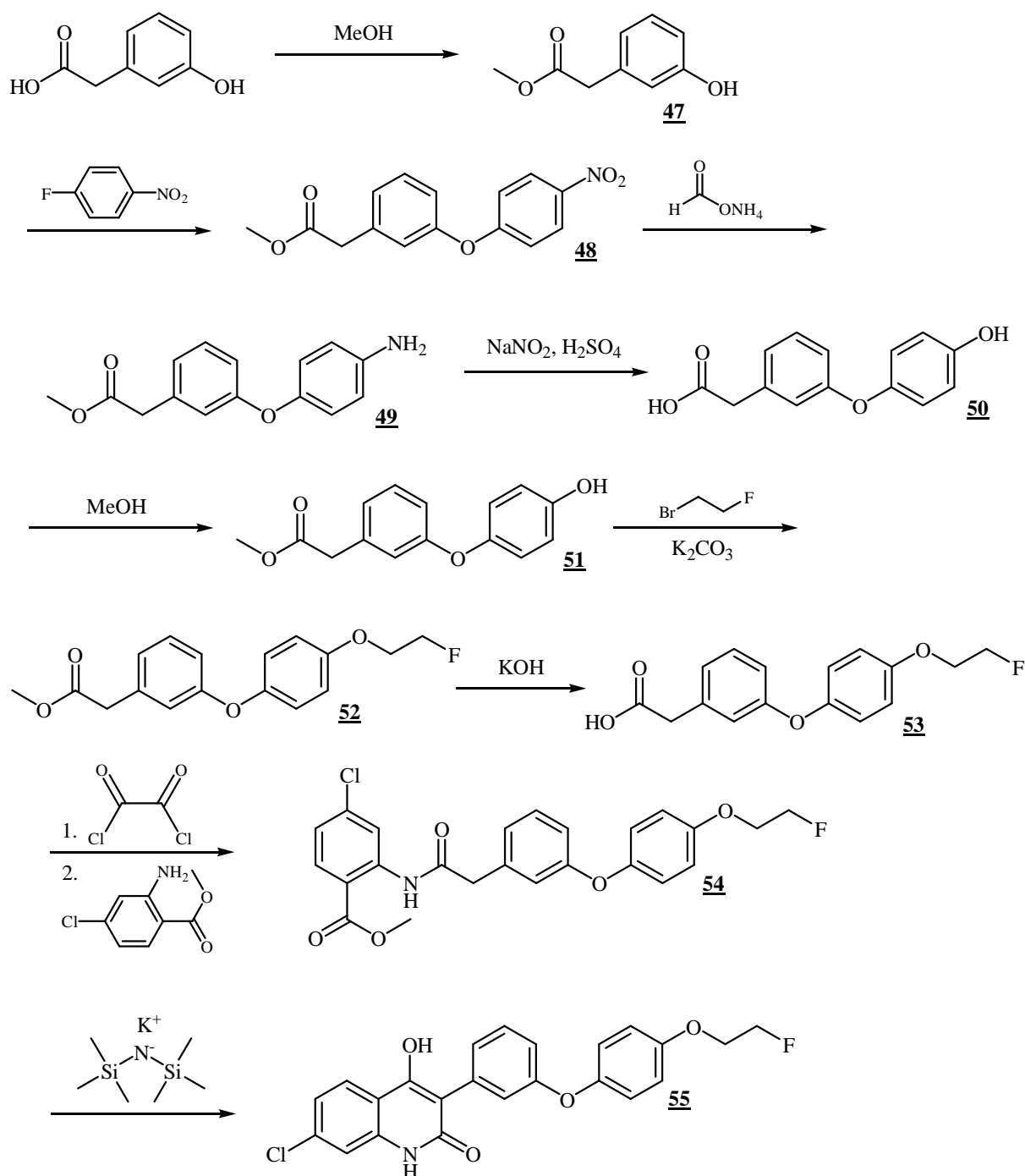


Abb. 55: Syntheschema für das fluorethylierte L-701,324-Derivat

3.1.3.1 Mechanistische Betrachtung

Im ersten Schritt erfolgte eine extractive Veresterung von 3-Hydroxyphenylacetic acid mit Methanol in Dichlormethan unter Verwendung von 4-Toluolsulfonsäure als Katalysator. Der erhaltene Ester wurde im Anschluss in einer Kupfer-katalysierten Ullmann-Reaktion⁸⁰ zum Diarylether umgesetzt. Im Anschluss wurde die Nitrogruppe zur Aminofunktion reduziert. Dies erfolgte in einer mikrowellengestützten Synthese. Dafür wurde die Nitroverbindung in einem Lösungsmittel mit hohem Dipolmoment (hier 2-Propanol) gelöst und mit Palladium auf Aktivkohle sowie dem Wasserstoffdonator Ammoniumformiat versetzt. Nach bereits 3 Minuten Reaktionszeit bildete sich das Amin (**49**). Die so erhaltene Aminogruppe wurde dann mit Natriumnitrit diazotiert und die

Azoverbindung direkt durch Verkochung in Schwefelsäure in die Hydroxylgruppe überführt. Bei diesen harschen Reaktionsbedingungen wurde auch der Methylester gespalten, sodass in nachfolgender Reaktion der Methylester auf klassische Weise mit Methanol unter saurer Katalyse erneut eingeführt werden musste.

Die phenolische Hydroxylgruppe wurde anschließend durch Kaliumcarbonat deprotoniert, durch Zugabe von 1,2-Bromfluorethan fluorethyliert und der Methylester darauf im Basischen gespalten.

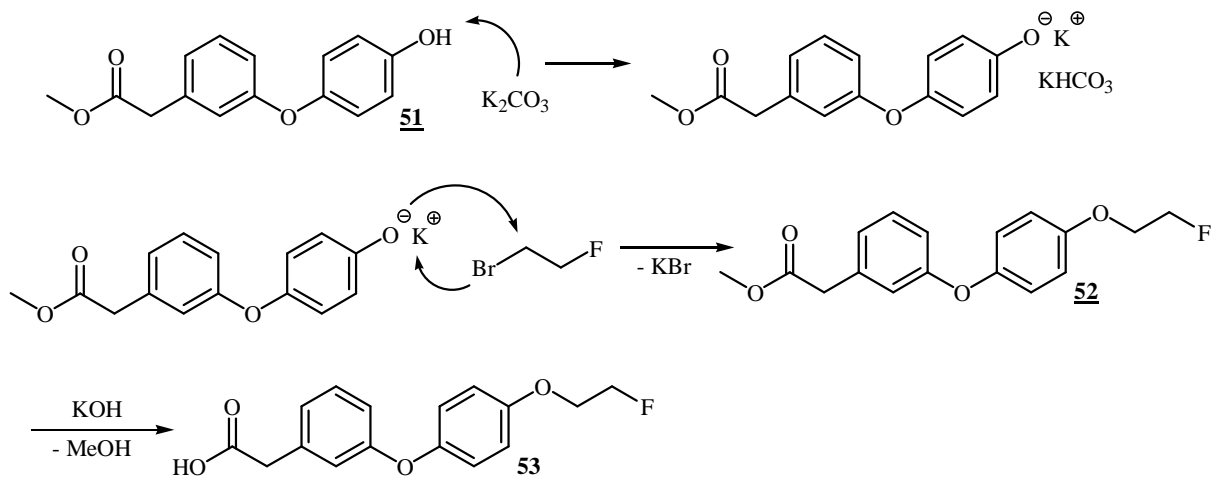
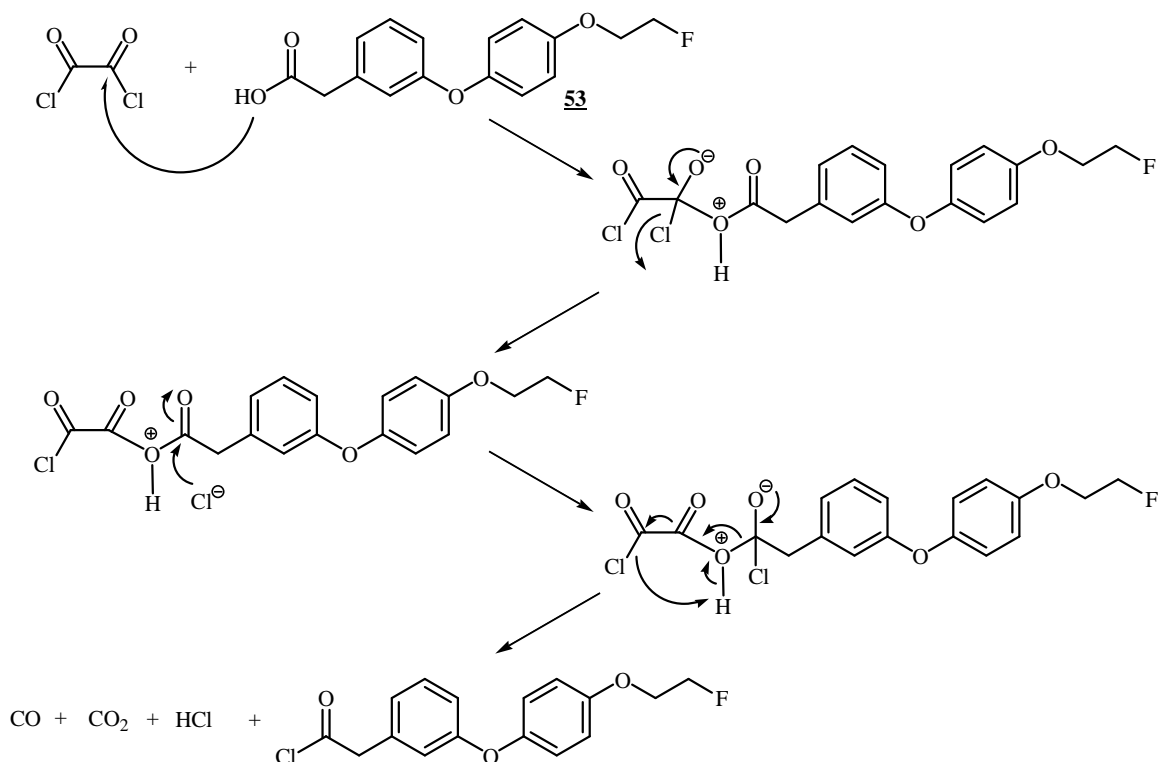


Abb. 56: Mechanismus der Fluroethylierung und anschließender Esterspaltung

In der nachfolgenden Reaktion wurde die Säurefunktion durch Oxalylchlorid zum entsprechenden Säurechlorid umgesetzt. Bei dieser Reaktion wurde dem Oxalylchlorid eine katalytische Menge an DMF zugesetzt, welches die Reaktion katalysiert. Neben dem gewünschten Säurechlorid entstanden als leicht flüchtige Nebenprodukte Kohlenstoffdioxid, Kohlenstoffmonoxid und Chlorwasserstoff. Direkt im Anschluss wurde das Rohprodukt der Säurechloridherstellung mit 2-Amino-4-chlorbenzoesäuremethylester zum Amid umgesetzt.



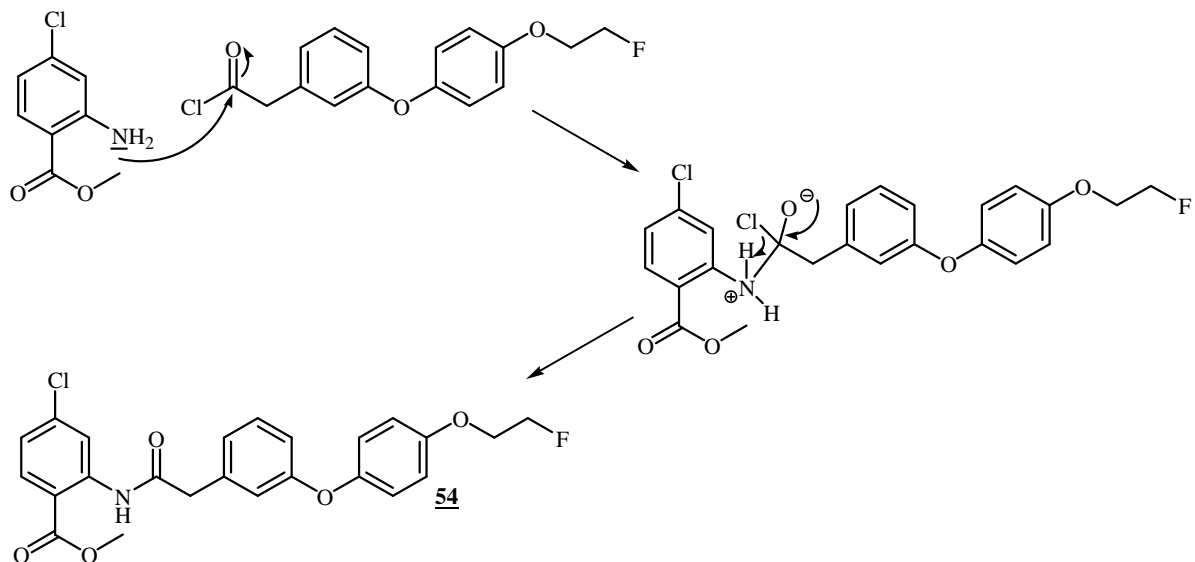
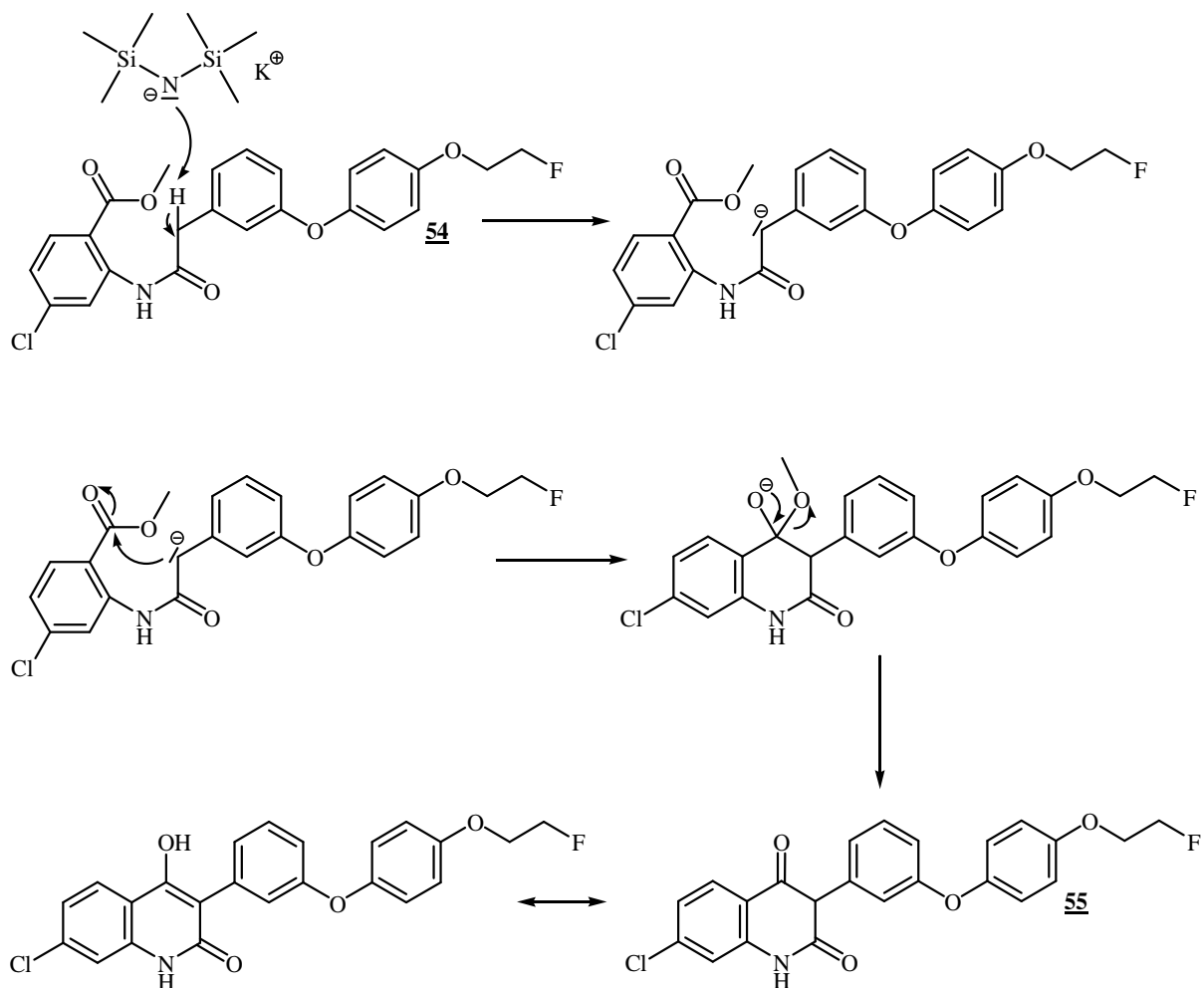


Abb. 57: Säurechloriddarstellung über Oxalylchlorid und anschließender Amidierung

Im finalen Reaktionsschritt wurde das Amid mit Kalium-bis-(trimethylsilyl)-amid zur Zielkomponente umgesetzt. Dabei wurde durch das Kaliumsalz ein CH-azides Proton abstrahiert und so der Ringschluss vollzogen.

Abb. 58: Zyklisierung von **54** zu Verbindung **55**

3.1.4 *Synthesen der Synthesebausteine*

Zur Synthese der entsprechenden Aminophenol-Derivate wurde zunächst ausgehend vom entsprechenden Nitrophenol an der phenolischen Hydroxylgruppe mit 1,2-Bromfluorethan fluorethyliert und im Anschluss die Nitrogruppe zur Aminofunktion hydriert. Zur Reduktion wurden zwei Verfahren eingesetzt. Zum einen wurde das Edukt klassisch mit Palladium auf Aktivkohle unter Einleitung von Wasserstoff innerhalb einer Stunde hydriert, zum anderen wurde die Reaktion in einer Mikrowelle durchgeführt. Dazu wurde das Edukt in 2-Propanol gelöst und mit Palladium auf Aktivkohle sowie Ammoniumformiat versetzt. Nach einer Reaktionszeit von 10 Minuten hatte sich hinreichend Produkt gebildet. Beide Reaktionen verliefen in guten bis sehr guten Ausbeuten von rund 80 % bei der Mikrowellensynthese und etwa 96 % bei der klassischen Synthese.

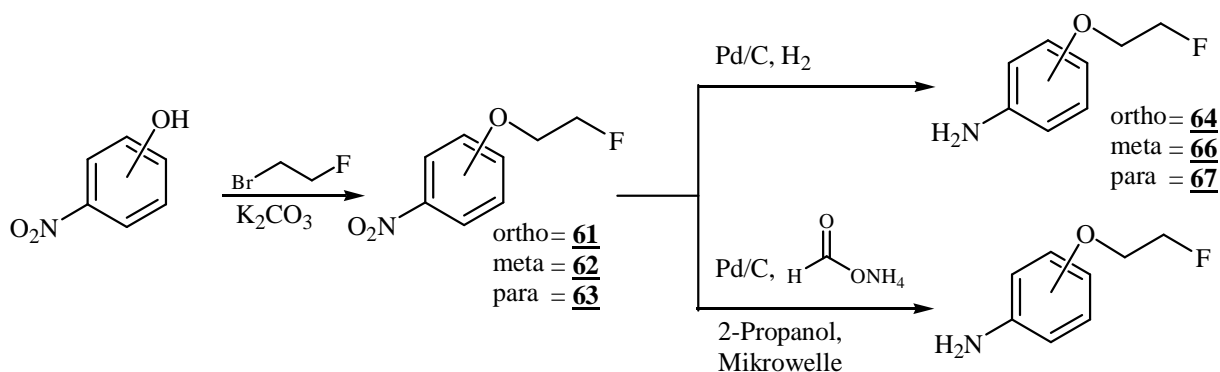


Abb. 59: Synthesewege zur Darstellung der 2-Fluoroethoxyanilin-Derivate

Die meta- und para-(2-Fluoroethoxy)-anilin-Verbindungen (**66** und **67**) wurden als hellbraune, leicht rötliche Feststoffe erhalten. Die ortho-Verbindung wurde durch Reaktion mit etherischer HCl vom flüssigen Amin (**64**) in das Hydrochlorid überführt, welches als hellbrauner Feststoff (**65**) erhalten wurde.

Für den zur Synthese der Markierungsvorläufer benötigten TBDPS-geschützten Baustein (**68**) wurde zunächst die tert.-Butyldiphenylsilyl-Schutzgruppe (TBDPS) selektiv am Sauerstoff des 4-Aminophenols eingeführt. Das resultierende Produkt konnte ohne weiteres in den jeweiligen Kopplungsreaktionen eingesetzt werden. Die Abspaltung der TBDPS-Schutzgruppe erfolgte durch Ammoniumfluorid in absolutiertem Ethanol.

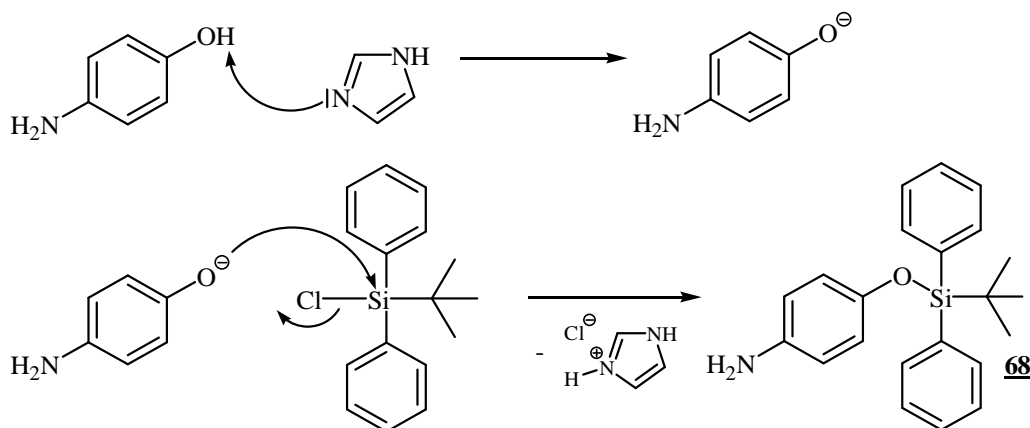


Abb. 60: Synthese des TBDPS-geschützten Aminophenols

3.2 Synthesen der Markierungsvorläufer

Nach hinreichender biologischer Evaluierung der dargestellten ^{19}F -Referenzverbindungen zeichneten sich drei Verbindungen als besonders vielversprechend für weitere *in vivo*-Versuche ab (siehe Kapitel 5, Ergebnisse der Evaluierung). Auf dieser Basis wurden entsprechende Markierungsvorläufer für die [^{18}F]FETos-Radiomarkierung synthetisiert.

3.2.1 Synthese des Markierungsvorläufers MV-11

Ausgehend vom 4,6-Dichlor-3-[(2-hydroxyethylamino)-methyl]-1*H*-indol-2-carbonsäureethylester (**5**) sollte der entsprechende Markierungsvorläufer synthetisiert werden. In einem ersten Experiment wurde 4-Benzyloxyanilin Hydrochlorid in Dichlormethan aufgenommen und zur Freisetzung desamins mit DIPEA versetzt. Dieses wurde dann mittels Triphosgen an den Indolgrundkörper gekoppelt (**22**). Die anschließende Zyklisierung mit Kalium-*tert.*-butoxid und 4-Toluolsulfonsäurechlorid führte zu einem Rohproduktgemisch, aus dem sich das Produkt nicht weiter isolieren ließ.

In einem alternativen Experiment wurde der Indolgrundkörper (**5**) mit dem TBDPS-geschützten Aminophenol (**68**) umgesetzt. Die anschließende Zyklisierung resultierte in einer niedrigen Ausbeute von 26 % und wurde nicht weitergeführt.

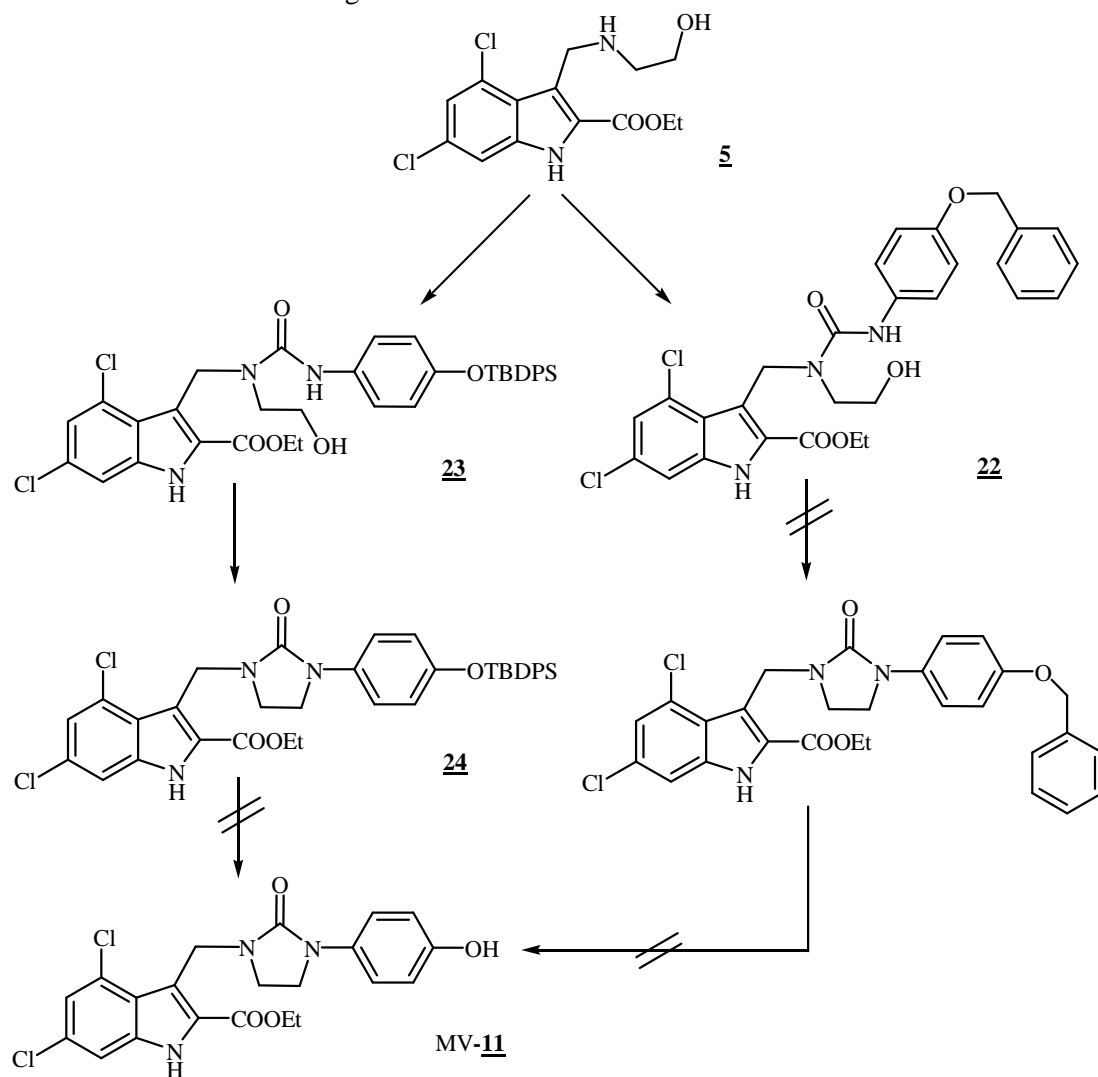


Abb. 61: Übersicht der geplanten Markierungsvorläufersynthese MV-**11**

3.2.2 *Synthese des Markierungsvorläufers MV-34*

Auch hier wurde zunächst der (E)-3-(2-Carboxyvinyl)-4,6-dichlor-1*H*-indol-2-carbonsäureethylester (**28**) mit Benzyloxylanilin Hydrochlorid gekoppelt. Ebenso wurde DIPEA als Hilfsbase eingesetzt, um aus dem Hydrochlorid das Amin freizusetzen (**41**). Im Anschluss sollte die Benzylschutzgruppe abgespalten werden. Eine klassische Umsetzung des geschützten Derivats mit Palladium auf Aktivkohle und Einleitung von Wasserstoff zeigte jedoch keinen Reaktionsumsatz. Analog zur MV-**11**-Markierungsvorläufersynthese (siehe Kapitel 3.2.1, Synthese des Markierungsvorläufers MV-**11**) wurde als Kopplungskomponente das TBDPS-geschützte Aminophenol (**68**) eingesetzt. Nach erfolgreicher Umsetzung wurde die TBDPS-Schutzgruppe mit Ammoniumfluorid in absolutiertem Ethanol abgespalten und der Ethylester (**43**) im Basischen verseift. Das Zielprodukt (**44**) wurde in einer Gesamtausbeute von 58 % erhalten.

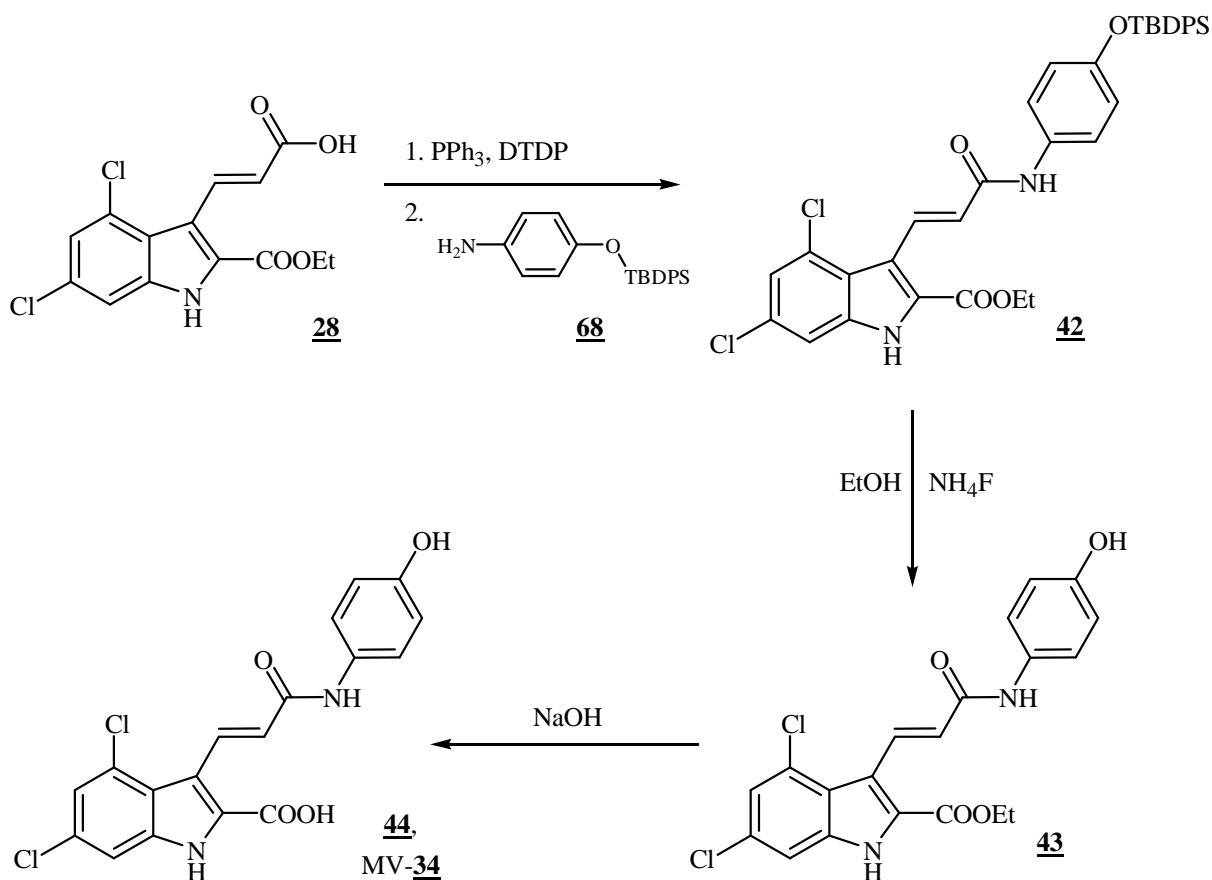


Abb. 62: Übersicht der Synthese des Markierungsvorläufers des GV150526-Derivats

Grundlage der TBDPS-Schutzgruppenabspaltung ist das hohe Bindungsbestreben von Fluor zu Silizium, begründet durch die hohe Bindungsenergie der Si-F-Bindung. Der Mechanismus ist in Abbildung 63 beschrieben.

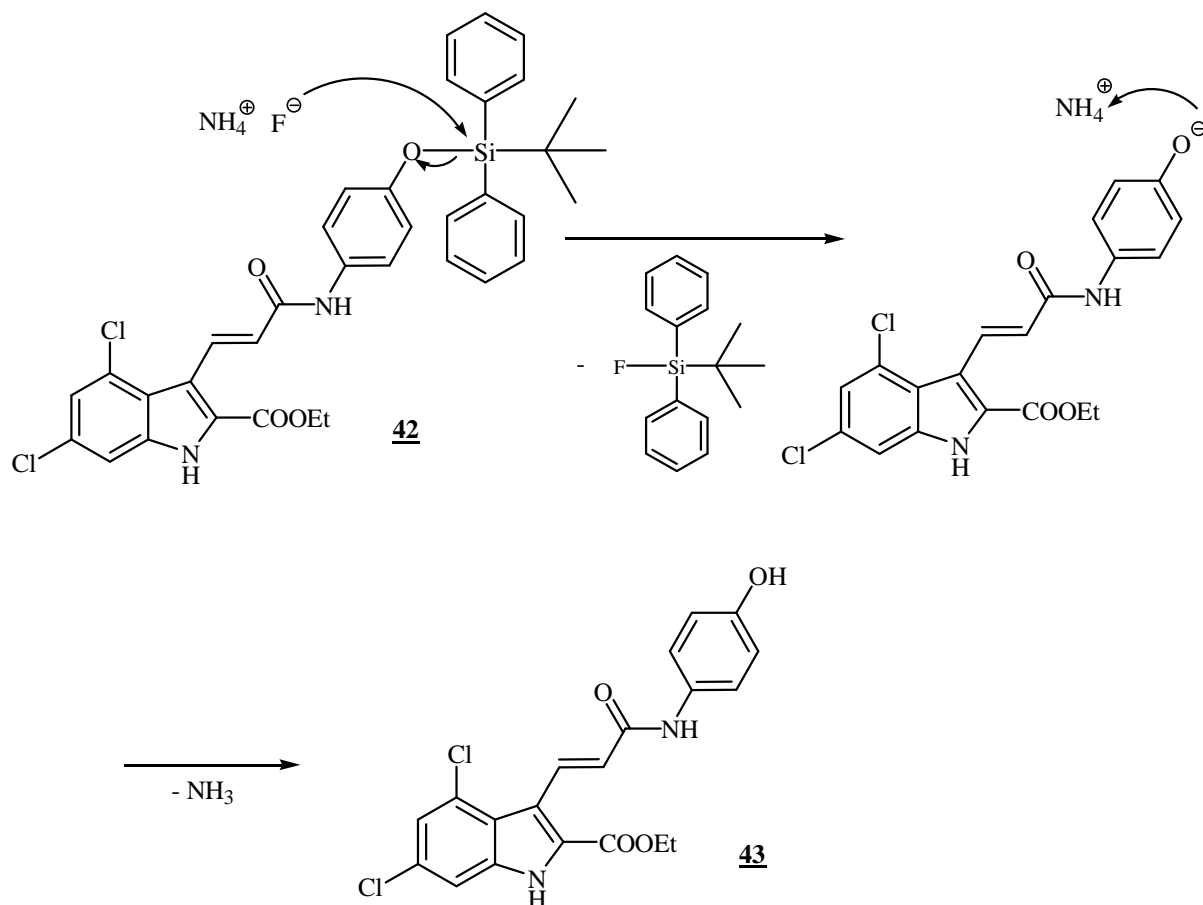


Abb. 63: mechanistische Betrachtung der TBDPS-Schutzgruppenabspaltung

3.2.3 Synthese des Markierungsvorläufers MV-55

Ausgehend von Verbindung **51** wurde die phenolische Hydroxylgruppe mit Benzylbromid geschützt und wie unter Kapitel 3.1.3 angegeben in analoger Reaktionsweise weiter umgesetzt. Im finalen Schritt wurde das Edukt (**59**) in Ethylacetat suspendiert, mit dem Palladium/Aktivkohle-Katalysator versetzt und für zwei Stunden Wasserstoff eingeleitet. Bei dieser Reaktion ist aufgrund der Bildung zweier Nebenprodukte die Reaktionszeit zu beachten. Die massenspektroskopische Analyse zeigt, dass sich bei verlängerter Reaktionszeit auch die Chlor-Substituenten aus dem Aromaten nacheinander abspalten. Nach einer optimierten Reaktionszeit von zwei Stunden war das Edukt vollständig umgesetzt und das Hauptprodukt (**60**, MV-**55**) in ausreichender Menge gebildet, wobei beide Nebenprodukte nur in geringen Mengen entstanden sind. Diese ließen sich säulenchromatographisch abtrennen, sodass der dargestellte Markierungsvorläufer in einer Gesamtausbeute von 61 % erhalten werden konnte.

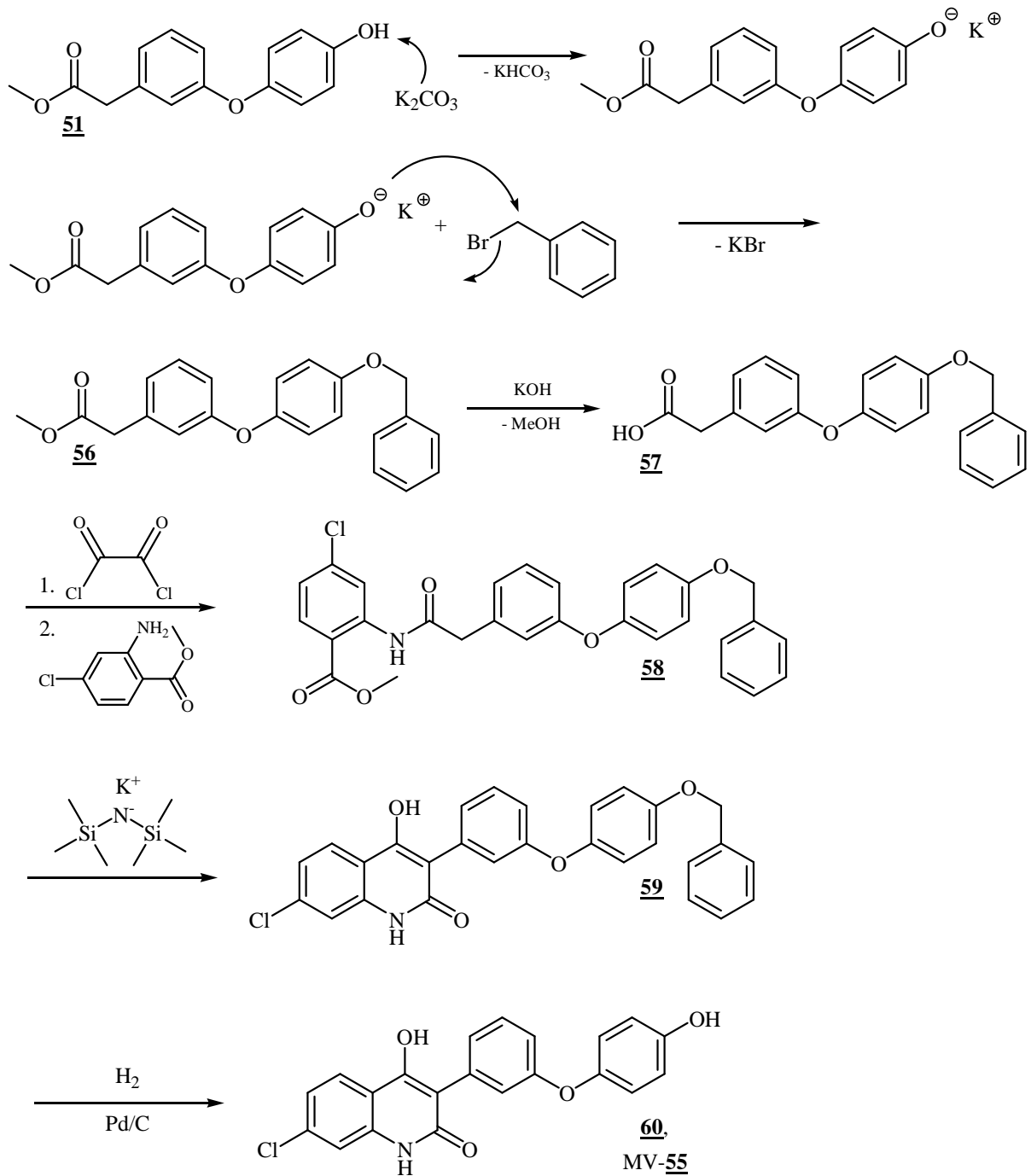


Abb. 64: Syntheseweg zum Markierungsvorläufer des L-701,324-Derivats

4. Ergebnisse der Radiosynthesen

4.1 Reaktionskinetische Aspekte

Da es bei der radioaktiven Synthese zwischen dem eingesetzten Edukt und dem erhaltenen Produkt zu extremen Konzentrationsunterschieden kommt, muss man zum besseren Verständnis einige kernchemische kinetische Aspekte betrachten.

Bei den Radiosynthesen mit dem Markierungssyntheton 2-[¹⁸F]Fluorethyltosylat wurden etwa 50 MBq ¹⁸F-Aktivität verwendet. Über die allgemeine Formel des Zerfalls des Radionuklids (Abb. 65) kann man die korrespondierende Stoffmenge berechnen.

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

A = Aktivität, N = Teilchenzahl, λ = Zerfallskonstante, t_{1/2} = Halbwertszeit

Abb. 65: Gleichung des radioaktiven Zerfalls

Theoretisch entsprechen demnach 50 MBq 2-[¹⁸F]Fluorethyltosylat einer Stoffmenge von 8×10^{-11} mol. Die Menge an eingesetztem Markierungsvorläufer betrage etwa 5×10^{-6} mol. Hieraus wird eine etwa 100.000-fach höhere Konzentration an Markierungsvorläufer gegenüber dem ¹⁸F-Syntheton deutlich. Aufgrund der gewählten Reaktionsbedingungen handelt es sich bei der vorgenommenen Radiomarkierung um eine bimolekulare Reaktion zweiter Ordnung.

$$-\frac{d[A]}{dt} = k \cdot [MV] \cdot [A]$$

$$\text{mit } -d[A] = d[P]$$

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

*[A] = Konzentration des Markierungsedukts, [MV] = Konzentration des Markierungsvorläufers,
k = Reaktionskonstante, [P] = Konzentration des Radioprodukts*

Abb. 66: Geschwindigkeitsgesetz einer nca-Radiosynthese 2. Ordnung

Ferner gilt, dass die Abnahme der Konzentration des Markierungssynthetons gleich der Bildung des radioaktiv markierten Produkts entspricht. Da der Markierungsvorläufer im Verhältnis zum Markierungssyntheton und dem Radioprodukt in großem Überschuss vorliegt, kann dessen Konzentration während der Reaktion als konstant angesehen werden. Daher lässt sich die Konzentration des Markierungsvorläufers in die Reaktionskonstante miteinbeziehen. Daraus ergibt sich für die Aktivität zu Zeitpunkt t eine Gleichung, die verdeutlicht, dass es sich bei nca-Reaktionen um einen Reaktionstyp pseudo-erster Ordnung handelt (siehe Abb. 67).

).

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

$$[A_t] = [A_0] \cdot e^{-k' \cdot t}, \text{ mit } [A_t] = [A_0] - [P]$$

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

Abb. 67: Produktbildungsgleichung

Wird nun die radiochemische Ausbeute gegen die Zeit aufgetragen, erhält man eine Kurve, deren Steigung bei gleichbleibender Markierungsvorläuferkonzentration lediglich von der Reaktivität des Markierungssynthons abhängt, was sich in der Konstante k widerspiegelt.

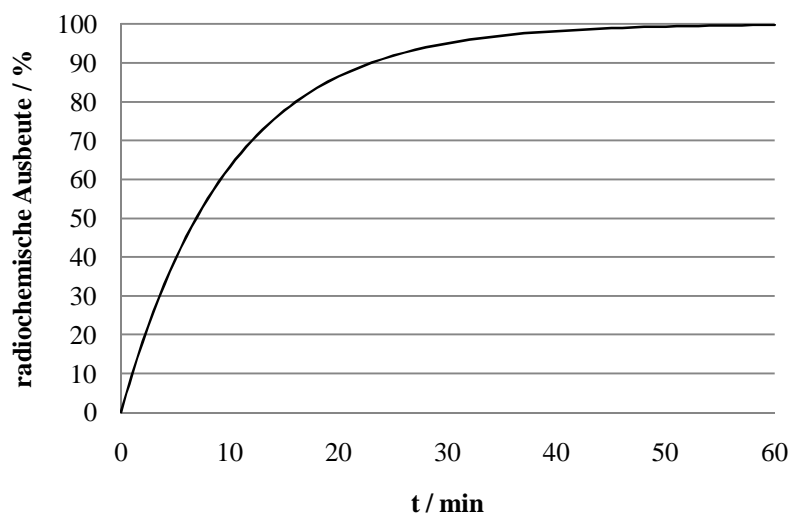


Abb. 68: Schematische Darstellung des Reaktionsverlaufs einer nca-Markierung

4.1.1 Synthese von 4,6-Dichlor-3-{2-[4-(2-[¹⁸F]fluorethoxy)-phenylcarbamoyl]-vinyl}-1H-indol-2-carbonsäure ([¹⁸F]**34**)

4,6-Dichlor-3-{2-[4-(2-[¹⁸F]fluorethoxy)-phenylcarbamoyl]-vinyl}-1H-indol-2-carbonsäure ([¹⁸F]**34**) lässt sich prinzipiell auf zwei Arten darstellen. Zum einen ist eine direkte Markierung der Carbonsäure bei den entsprechend gewählten Reaktionsbedingungen an der phenolischen Hydroxylgruppe möglich, zum anderen kann analog der korrespondierende Ethylester markiert werden, der allerdings im Anschluss an die Markierungsreaktion verseift werden muss (siehe Abb. 69).

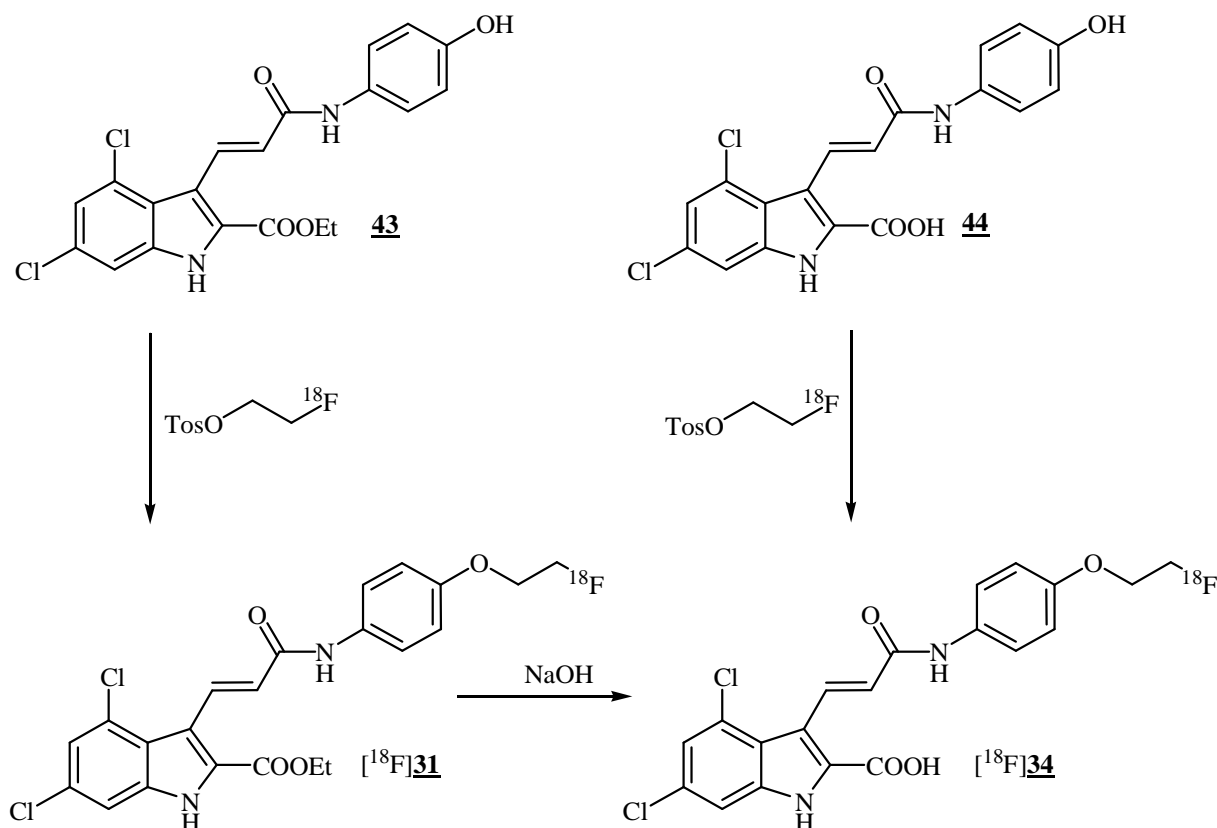


Abb. 69: Synthesewege zur Herstellung der ^{18}F -markierten Zielmoleküls

Da die Markierung des Ethylesters mit anschließender Verseifung den deutlich höheren Zeitaufwand aufweist, sollte die direkte ^{18}F -Markierung des Carbonsäurederivats zum gewünschten Produkt führen (**[^{18}F]**34**).**

4.1.1.1 Aufnahme der Markierungskinetik

Aufgrund der schlechten Löslichkeit des Markierungsvorläufers in den meisten Lösungsmitteln, konnte nur das dipolar aprotische Lösungsmittel DMSO verwendet werden. Hier ließ sich der Markierungsvorläufer in ausreichender Konzentration lösen.

Eine Optimierung der Markierungsvorläuferkonzentration wurde nicht angestrebt, da sich hier schon zu Beginn der Experimente eine Einwaage von 2 mg als ideal herausstellte. Ebenso erwies sich die Verwendung von 5 N NaOH als Base aussichtsreich. Bei Erhöhung der Markierungsvorläufer-einwaage erwies sich die im Anschluss zwingend notwendige semipräparative HPLC-Aufreinigung als schwierig durchführbar, da eine Isolierung des ^{18}F -markierten Produkts in ausreichender chemischer Reinheit nicht mehr gewährleistet werden konnte. Gerade bei Verwendung von DMSO kann es zum „Tailing“ des Hauptpeaks kommen. Bei zu geringer Markierungsvorläufereinwaage konnte das [^{18}F]FETos nicht ausreichend umgesetzt werden. Die Synthese der (E)-4,6-Dichlor-3-{2-[4-(2-[^{18}F]fluorethoxy)-phenylcarbamoyl]-vinyl}-1H-indol-2-carbonsäure (**[^{18}F]**34**) durch Umsetzung der 4,6-Dichlor-3-[2-(4-hydroxyphenylcarbamoyl)-vinyl]-1H-indol-2-carbonsäure (**44**, **MV-34**) mit [^{18}F]FETos wurde in Abhängigkeit von der Reaktionstemperatur untersucht.**

Hierzu wurden 2 mg des Markierungsvorläufers in 600 μL DMSO gelöst und in das Reaktionsgefäß überführt, in dem 1,9 Äquivalente (1,94 μL) 5 N NaOH vorgelegt wurden. Die Reaktionslösung wurde 1 Minute bei entsprechender Temperatur (100 $^{\circ}\text{C}$ bzw. 140 $^{\circ}\text{C}$) vortemperierte, bevor die Zugabe von [^{18}F]FETos in 400 μL DMSO erfolgte. Nach 1, 3, 5, 7, 10, 15 und 20 Minuten Reaktionszeit bei

entsprechender Temperatur wurden jeweils 2 μL der Reaktionslösung auf eine Dünnschichtchromatographieplatte aufgetragen, entwickelt (Petrolether/Ethylacetat, 1/2 + 3 % Ameisensäure) und ausgewertet.

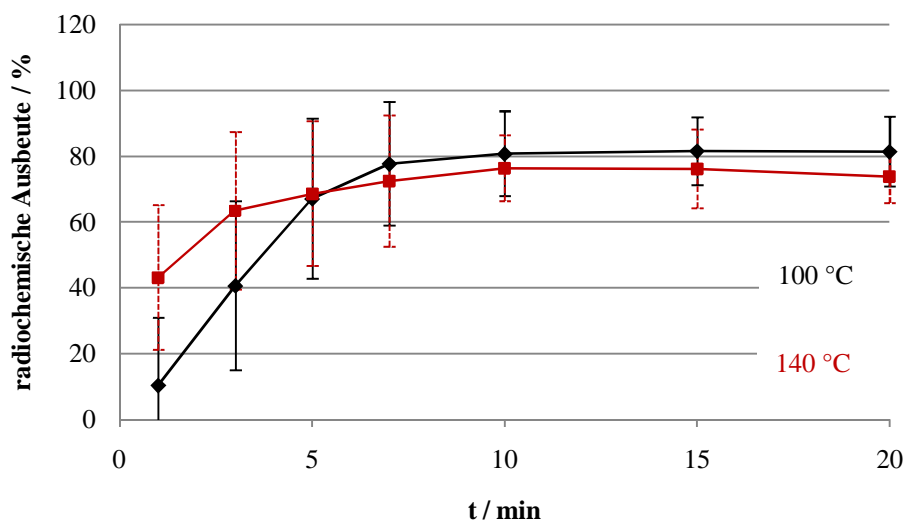


Abb. 70: Ausbeute der ^{18}F -Fluorethylierung in Abhängigkeit von der Reaktionstemperatur bei konstantem Basenzusatz und Markierungsvorläufereinwaage sowie DMSO als Lösungsmittel

Abbildung 70 lässt erkennen, dass eine optimale radiochemische Ausbeute von 82 % bei optimierten Reaktionsparametern von 100 °C Reaktionstemperatur bei einer Markierungsvorläufereinwaage von 2 mg und einem Basenzusatz von 1,94 μL 5 N NaOH in 1 mL DMSO nach 15 Minuten erreicht werden konnte. Zusätzlich entstand im Zuge der Reaktion im untergeordneten Maßstab ein Nebenprodukt, welches nicht weiter identifiziert wurde.

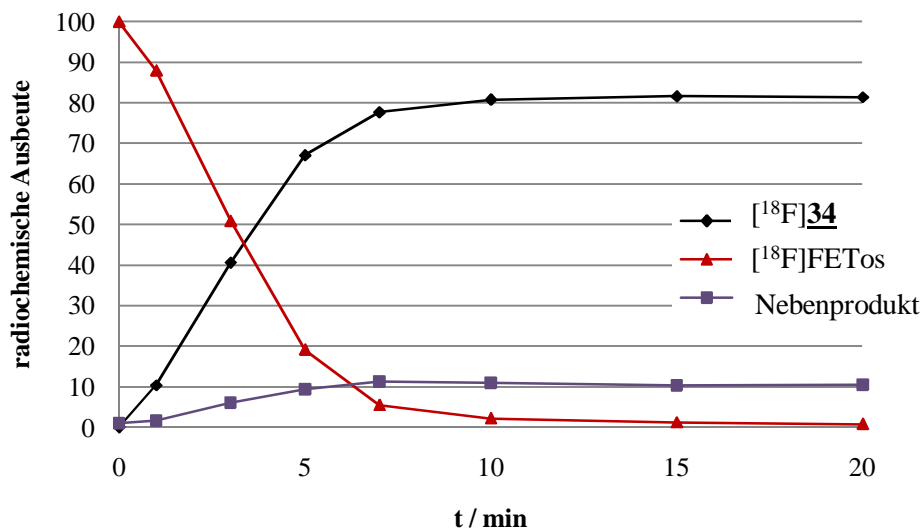


Abb. 71: Exemplarisches Beispiel einer Bildungskinetik von [^{18}F]34 und des Nebenproduktes unter Abnahme des [^{18}F]FETos-Synthons

4.1.1.2 Abtrennung und Qualitätskontrolle

In analoger Reaktionsführung wurden für Abtrennungsversuche Startaktivitäten im Bereich von 70 – 300 MBq verwendet. Zur semipräparativen Aufreinigung wurde als stationäre Phase eine LiChrospher

100 RP-18 Säule (EC-5 μ , 10 \times 250 mm, CS-Chromatographie GmbH) verwendet. Als mobile Phase wurde ein Lösungsmittelsystem von Acetonitril und NaOAc-Puffer (0,25 M + 5 mL/L Essigsäure) im Verhältnis 60/40 mit einer Flussrate von 4,0 mL/min gewählt. Dieses entwickelte semipräparative HPLC-System gewährleistete eine geeignete Separation des Hauptprodukts [^{18}F]**34** von weiteren Nebenprodukten und führte zu einer hohen radiochemischen und chemischen Produktqualität.

Für die semipräparative HPLC-Aufreinigung wurde die gesamte Reaktionslösung nach 15 Minuten Reaktionszeit zunächst mit 1 mL Wasser verdünnt und auf Raumtemperatur abgekühlt. Anschließend wurde die Lösung in das für das [^{18}F]**34** optimierte semipräparative HPLC-System I (siehe Kapitel 6.1.3, HPLC) injiziert. Die entsprechende Produktfraktion wurde bei 12,1 Minuten gesammelt.

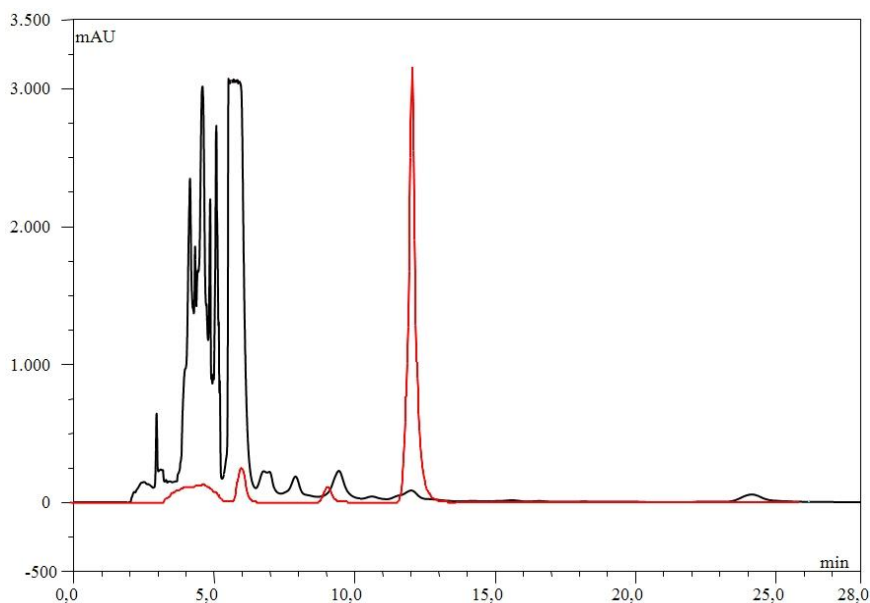


Abb. 72: Chromatogramm der semipräparativen HPLC-Aufreinigung von [^{18}F]**34** (UV-Signal: schwarz, Aktivitätssignal: rot)

Um die Elutionskraft des Acetonitrils herabzusetzen, wurde die Produktfraktion mit der vierfachen Menge an Wasser verdünnt und auf einer zuvor mit Acetonitril und Wasser konditionierten strata-X Kartusche fixiert. Diese wurde anschließend mit 10 mL Wasser gewaschen, um Rückstände vom HPLC-Laufmittel zu entfernen. Durch Elution mit 2 mL Ethanol wurde das Produkt in einen 5 mL-Rundkolben überführt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und das Produkt durch Zugabe von 1 mL isotonischer Kochsalzlösung in eine injektionsfertige Lösung überführt. Die durchschnittliche Syntheszeit betrug 66 Minuten mit radiochemischen Ausbeuten im Bereich von 25 – 60 % bei einer spezifischen Aktivität im Bereich von 2,48 – 3,22 GBq/ μmol .

Tab. 5: Übersicht der erhaltenen Ausbeute nach HPLC-Abtrennung von [^{18}F]**34**

Messung	Mittelwert (n = 9) der radiochemischen Ausbeute / %	Standardabweichung / %
Ausbeute	39	15

Zur Ermittlung der Ausbeuten wurde die tatsächlich eingesetzte Menge an [^{18}F]FETos, die zur Reaktionslösung gegeben wurde, mit dem eluierten ^{18}F -markierten Produkt ins Verhältnis gesetzt. Die Verteilung der Aktivität auf die einzelnen Syntheseschritte ist in Tabelle 6 wiedergegeben. Die durchschnittliche Wiederfindungsrate betrug 87 %.

Tab. 6: Aufstellung der Wiederfindungsrate von [¹⁸F]**34**

Messung	Zeit / min	Aktivität / MBq	Aktivität / MBq (zerfallskorrigiert)	Wiederfindungsrate / %
[¹⁸ F]FETos in Spritze (0,5 mL)	0	149,90	149,90	100,0
[¹⁸ F]FETos-Spritze leer	8	18,49	19,45	13,0 ± 2,1
Reaktionslösung in Reaktionsgefäß	21	117,20	133,82*	—
Reaktionsgefäß leer	22	2,08	2,39	1,6 ± 1,2
HPLC-Injektionslösung in Spritze (2,0 mL)	23	108,90	125,92*	—
HPLC-Spritze leer	24	1,66	1,94	1,3 ± 0,6
HPLC-Vorlauf	29	16,71	20,07	13,4 ± 6,3
HPLC-Produktfraktion ([¹⁸ F] 34)	37	70,13	88,59*	—
HPLC-Rest	49	0,67	0,91	0,6 ± 4,8
Durchbruch bei Kartuschenfixierung (25 mL)	55	2,21	3,12	2,1 ± 2,2
fixiertes Produkt auf Kartusche	56	58,86	83,83*	—
fixiertes Produkt auf Kartusche nach waschen	56	56,21	80,05*	—
H ₂ O-Waschfraktion (10 mL)	56	0,87	1,24	0,8 ± 0,3
eluiertes Produkt in Ethanol (2 mL)	61	53,89	79,21	52,8 ± 14,0
Rest auf Kartusche	62	5,45	8,06	5,4 ± 1,6
Wiederfindungsrate				87 ± 34

*Werte für Wiederfindungsrate nicht genutzt

4.1.1.3 Bestimmung der spezifischen Aktivität

Um die spezifische Aktivität zu bestimmen, wurde eine Eichgerade erstellt. Hierfür wurden Verdünnungsreihen der inaktiven Referenzverbindung (**34**) hergestellt, indem 0,74 mg (1,69 nmol) in 1 mL DMSO gelöst und diese Stammlösung im Verhältnis 1/10 weiterverdünnt wurde. Aliquots dieser Lösungen wurden in das analytische HPLC-System II (siehe Kapitel 6.1.3, HPLC) injiziert und die entsprechenden Peakflächen der UV-Absorption integriert. Dabei wurde eine Dreifachbestimmung des jeweils injizierten Aliquots durchgeführt. Als stationäre Phase kam eine LiChospher 100 RP-18 Säule (EC-5 μ, 4,0 × 250 mm, CS-Chromatographie GmbH) zum Einsatz. Als mobile Phase wurde Acetonitril mit NaOAc-Puffer (0,25 M + 5 mL/L Essigsäure) im Verhältnis 60/40 bei einer Flussrate

von 1 mL/min verwendet. Durch Auftragung der Stoffmenge gegen die korrespondierende Peakfläche wurde durch lineare Regression eine Kalibrationsgerade erstellt, welche eine Bestimmung der spezifischen Aktivität in GBq/ μ mol erlaubt.

Tab. 7: Werte zur Aufnahme der Kalibrationsgeraden

injizierte Stoffmenge / nmol	Fläche der UV-Absorption / mAU
0,0169	28,69 \pm 2,59
0,0338	59,83 \pm 12,28
0,169	144,19 \pm 12,77
0,338	283,16 \pm 9,17
1,69	898,23 \pm 21,64
3,38	1783,46 \pm 59,88

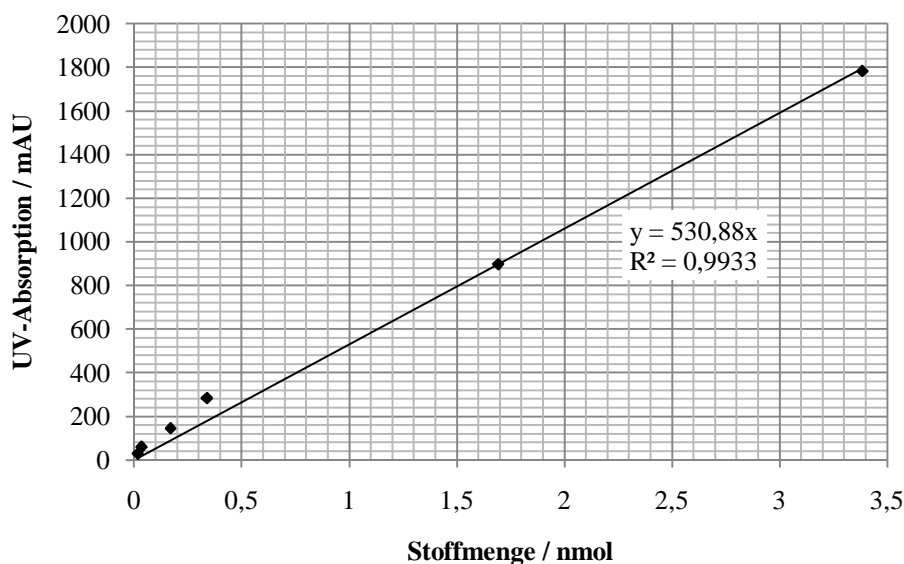


Abb. 73: Regressionsgerade zur Bestimmung der spezifischen Aktivität

Zunächst wurde die Aktivität von 1 mL Produktlösung bestimmt. Im Anschluss wurden davon 20 μ L in das analytische HPLC-System injiziert und die Produktfläche unter dem UV-Peak integriert. Mit Hilfe der Kalibrationsgeraden ließ sich die korrespondierende Stoffmenge berechnen. Durch Multiplikation mit dem Faktor 50 erhielt man die Stoffmenge in 1 mL Lösung.

4.1.1.4 Darstellung von [18 F]31 und Umsetzung zu [18 F]34

Ebenso wurde der Ethylester, (E)-4,6-Dichlor-3-[2-(4-hydroxyphenylcarbamoyl)-vinyl]-1*H*-indol-2-carbonsäureethylester (**43**), mit [18 F]FETos zum 18 F-fluorethylierten Produkt ([18 F]31) umgesetzt. Abbildung 74 zeigt die Markierungskinetik. Bei geeigneten Reaktionsbedingungen ist es möglich, die Ethylesterverbindung im Basischen zu markieren, ohne dass dieser gespalten wird.

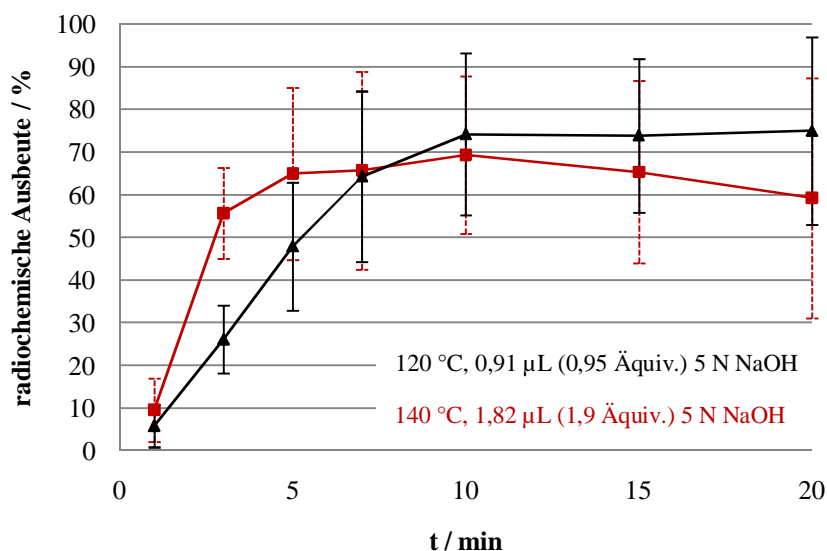


Abb. 74: Markierungskinetik von $[^{18}\text{F}]\mathbf{31}$ in Abhängigkeit der Reaktionszeit, Temperatur und Basenkonzentration bei konstanter Markierungsvorläufereinwaage sowie DMSO als Lösungsmittel

Zur Entwicklung der Dünnschichtchromatogramme wurde ein Lösungsmittelgemisch von Petrolether/Ethylacetat im Verhältnis 1/2 unter Zusatz von 3 % Ameisensäure verwendet. Die Markierungskinetik zeigt, dass eine optimale radiochemische Ausbeute von 75 % schon bei einer Reaktionszeit von 10 Minuten bei 120 °C erreicht werden kann.

In einem weiteren Experiment wurde der Ethylester unter diesen Voraussetzungen markiert und nach beendeter Reaktionszeit mit 1 mL Wasser verdünnt und auf Raumtemperatur abgekühlt. Anschließend wurde die Reaktionslösung in das semipräparative HPLC-System I (siehe Kapitel 6.1.3, HPLC) injiziert. Zur semipräparativen Aufreinigung wurde als stationäre Phase eine LiChrospher 100 RP-18 Säule (EC-5 µ, 10 × 250 mm, CS-Chromatographie GmbH) verwendet. Als mobile Phase wurde ein Lösungsmittelsystem von Acetonitril und Wasser im Verhältnis 50/50 mit einer Flussrate von 6,0 mL/min gewählt. Der Radiopeak wurde bei einer Retentionszeit von 40,4 Minuten abgetrennt.

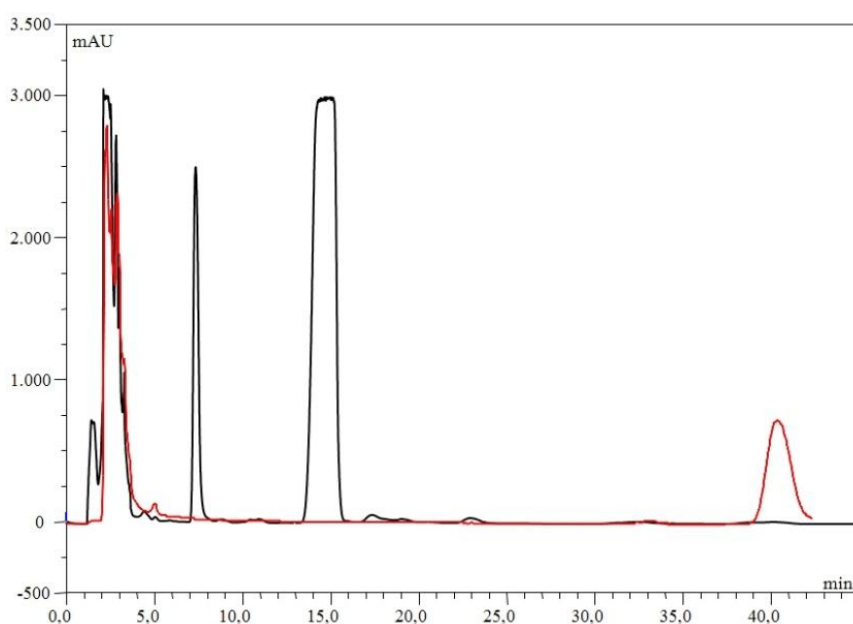


Abb. 75: Chromatogramm der semipräparativen HPLC-Aufreinigung von $[^{18}\text{F}]\mathbf{31}$ (UV-Signal: schwarz, Aktivitätssignal: rot)

Die Produktfraktion wurde mit der vierfachen Menge an Wasser verdünnt, auf einer zuvor mit Acetonitril und Wasser konditionierten strata-X Kartusche fixiert, mit 10 mL Wasser gewaschen und mit 1,1 mL DMSO in ein Reaktionsgefäß eluiert. Anschließend wurde die Lösung auf 120 °C erhitzt, mit 100 µL 5 N NaOH versetzt und für 1 Minute gerührt. Im Anschluss wurde die Reaktion durch Zugabe von 1 mL Wasser beendet und auf Raumtemperatur abgekühlt. Die Reaktionslösung wurde in das semipräparative HPLC-System injiziert (Bedingungen wie unter 4.1.1.2) und der Produktpeak gesammelt. Nach Kartuschenfixierung, Waschschrift und Elution ließ sich das markierte [¹⁸F]**34** erhalten. Aufgrund der zeitaufwendigen Synthese und der zweifachen HPLC-Aufreinigung konnte das Produkt erst nach 167 Minuten Syntheszeit in einer radiochemischen Ausbeute von 7 % erhalten werden. Aus diesen Gründen ist dieses Syntheseverfahren zur Herstellung von [¹⁸F]**34** nicht praktikabel.

4.1.2 Darstellung von 7-Chlor-3-{3-[4-(2-[¹⁸F]fluorethoxy)-phenoxy]-phenyl}-4-hydroxy-1H-chinolin-2-on ([¹⁸F]**55**)

7-Chlor-3-{3-[4-(2-[¹⁸F]fluorethoxy)-phenoxy]-phenyl}-4-hydroxy-1H-chinolin-2-on ([¹⁸F]**55**) wurde durch die Reaktion von [¹⁸F]FETos mit dem Markierungsvorläufer 7-Chlor-4-hydroxy-3-[3-(4-hydroxyphenoxy)-phenyl]-1H-chinolin-2-on (**60**, MV-**55**) dargestellt.

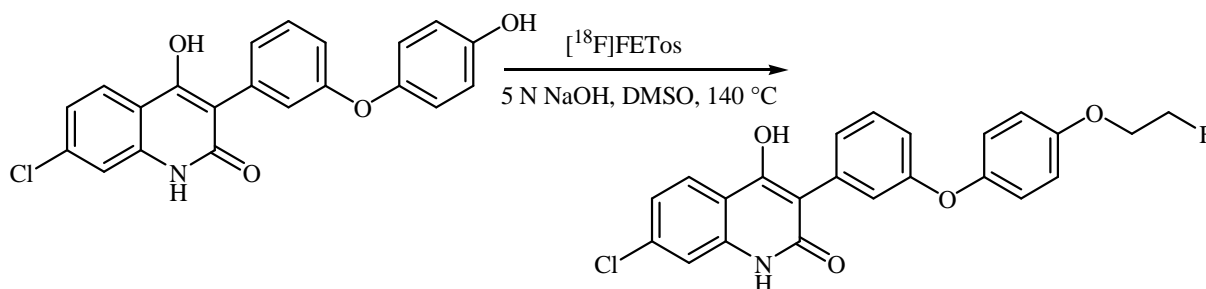


Abb. 76: Synthese von [¹⁸F]**55**

4.1.2.1 Aufnahme der Markierungskinetik

Ebenso wurden für diese ¹⁸F-Fluorethylierung Reaktionskinetiken aufgenommen und Variationen in Reaktionstemperatur, Markierungsvorläuferkonzentration und Reaktionszeit vorgenommen.

Zuerst erfolgte eine Optimierung der Reaktionstemperatur. Dazu wurden 3 mg Markierungsvorläufer in 600 µL DMSO gelöst und in das Reaktionsgefäß überführt, in dem 1,9 Äquivalente (3 µL) 5 N NaOH vorgelegt wurden. Die Reaktionslösung wurde 1 Minute bei entsprechender Temperatur vortemperiert, bevor die Zugabe des [¹⁸F]FETos in 400 µL DMSO erfolgte. Nach 1, 3, 5, 7, 10, 15 und 20 Minuten Reaktionszeit bei entsprechender Temperatur wurden jeweils 2 µL der Reaktionslösung auf eine Dünnschichtchromatographieplatte aufgetragen, entwickelt (CH₂Cl₂/Ethylacetat, 9/1 + 3 % Ameisensäure) und ausgewertet.

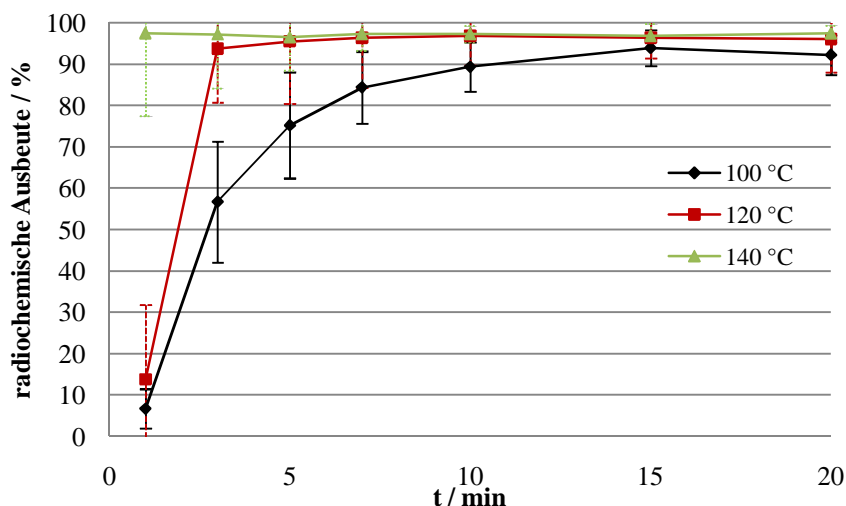


Abb. 77: Ausbeute der ^{18}F -Fluorethylierung von $[\text{}^{18}\text{F}]\mathbf{55}$ in Abhängigkeit von der Reaktionstemperatur bei konstantem Basenzusatz und Markierungsvorläufereinwaage sowie DMSO als Lösungsmittel

Abbildung 77 lässt erkennen, dass eine optimale radiochemische Ausbeute von rund 98 % bei 140 °C Reaktionstemperatur bei einer Markierungsvorläufereinwaage von 3 mg und einem Basenzusatz von 3 μL 5 N NaOH in 1 mL DMSO nach bereits 1 Minute erreicht werden konnte.

Im Anschluss wurde eine Variation der Markierungsvorläufereinwaage vorgenommen.

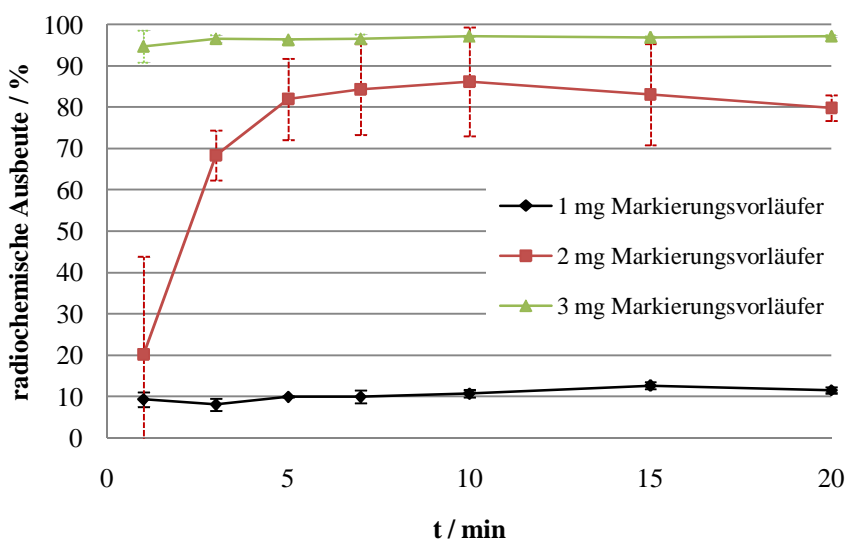


Abb. 78: Ausbeute der ^{18}F -Fluorethylierung von $[\text{}^{18}\text{F}]\mathbf{55}$ in Abhängigkeit der Markierungsvorläufereinwaage bei konstantem Basenzusatz und Temperatur sowie DMSO als Lösungsmittel

Hier zeigte sich, dass bei 3 mg Markierungsvorläufereinwaage bereits eine Ausbeute von > 95 % erreicht werden kann. Allerdings ist die Verwendung von 3 mg Markierungsvorläufer bei einer späteren semipräparativen HPLC-Aufreinigung problematisch, weshalb für folgende Radiosynthesen eine Einwaage von 2 mg verwendet wurde. Hier wurde nach 10 Minuten bereits eine radiochemische Ausbeute von > 85 % erreicht. Abbildung 79 zeigt den Reaktionsumsatz der Radiosynthese unter diesen Bedingungen.

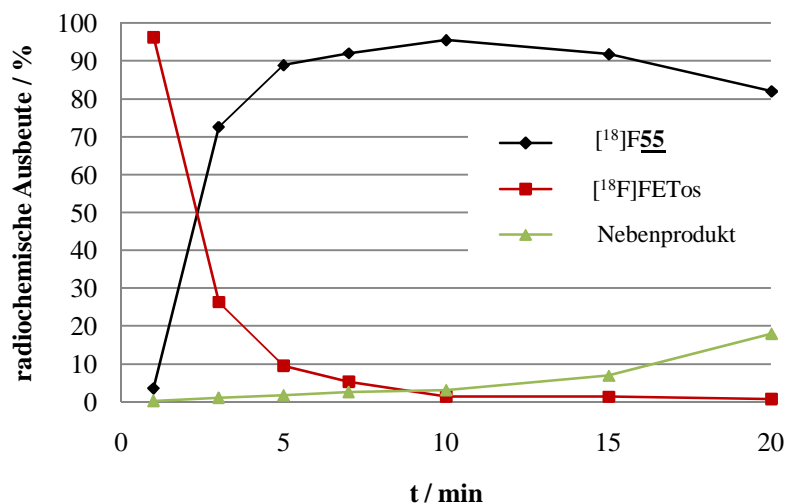


Abb. 79: Exemplarische Bildungskinetik des [¹⁸F]55 und des Nebenproduktes unter Abnahme des [¹⁸F]FETos-Synthons

4.1.2.2 Abtrennung und Qualitätskontrolle

In analoger Reaktionsführung wurden für Abtrennungsversuche Startaktivitäten im Bereich von 80 – 170 MBq verwendet. Zur semipräparativen Aufreinigung wurde als stationäre Phase eine Luna PFP-Säule (100A, 5 μ, 10 × 250 mm, Phenomenex) verwendet. Als mobile Phase wurde ein Lösungsmittelsystem von Acetonitril und NaOAc-Puffer (0,25 M + 5 mL/L Essigsäure) im Verhältnis 60/40 mit einer Flussrate von 4,5 mL/min gewählt. Dieses entwickelte semipräparative HPLC-System gewährleistete eine geeignete Separation des Hauptprodukts [¹⁸F]55 von weiteren Nebenprodukten.

Für die semipräparative HPLC-Aufreinigung wurde die gesamte Reaktionslösung nach 10 Minuten Reaktionszeit bei 140 °C zunächst mit 1 mL Wasser verdünnt und auf Raumtemperatur abgekühlt. Anschließend wurde die Lösung in das für das [¹⁸F]55 optimierte semipräparative HPLC-System I (siehe Kapitel 6.1.3, HPLC) injiziert. Die entsprechende Produktfraktion wurde bei 30,0 Minuten gesammelt.

Um die Elutionskraft des Acetonitrils herabzusetzen, wurde die Produktfraktion mit der vierfachen Menge an Wasser verdünnt und auf einer zuvor mit Acetonitril und Wasser konditionierten strata-X Kartusche fixiert. Diese wurde anschließend mit 10 mL Wasser gewaschen, um Rückstände vom HPLC-Laufmittel zu entfernen. Durch Elution mit 2 mL Ethanol wurde das Produkt in einen 5 mL-Rundkolben überführt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und das Produkt durch Zugabe von 1 mL isotonischer Kochsalzlösung in eine injektionsfertige Lösung überführt. Die durchschnittliche Syntheszeit betrug 78 Minuten mit radiochemischen Ausbeuten bis zu 86 %.

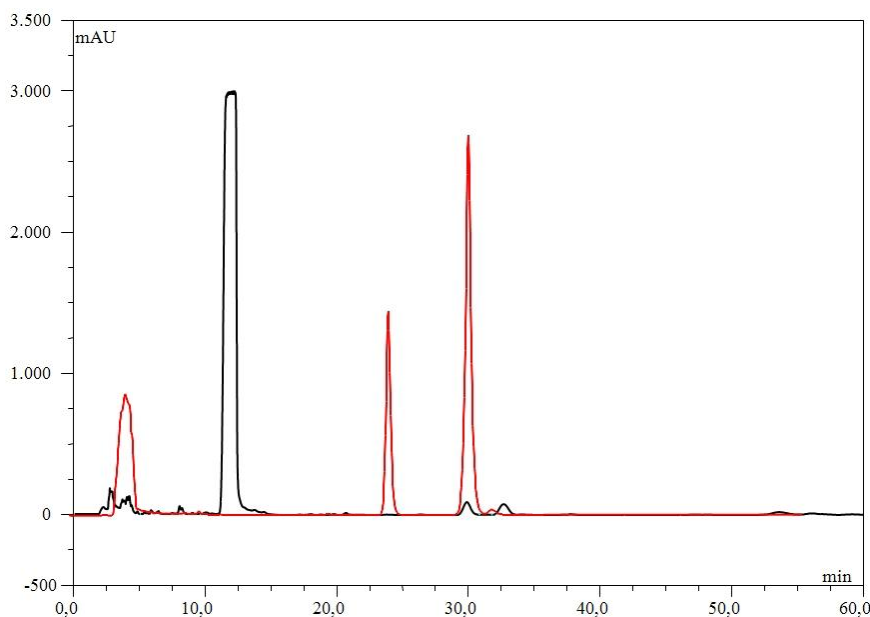


Abb. 80: Chromatogramm der semipräparativen HPLC-Aufreinigung von $[^{18}\text{F}]\mathbf{55}$ (UV-Signal: schwarz, Aktivitätssignal: rot)

Tab. 8: Übersicht der erhaltenen Ausbeute nach HPLC-Abtrennung von $[^{18}\text{F}]\mathbf{55}$

Messung	Mittelwert (n = 9) der radiochemischen Ausbeute / %	Standardabweichung / %
Ausbeute	48	28

Zur Ermittlung der Ausbeuten wurde die tatsächlich eingesetzte Menge an $[^{18}\text{F}]\text{FETos}$, die zur Reaktionslösung gegeben wurde, mit dem eluierten ^{18}F -markierten Produkt ins Verhältnis gesetzt. Die Verteilung der Aktivität auf die einzelnen Syntheseschritte ist in Tabelle 9 wiedergegeben. Die durchschnittliche Wiederfindungsrate betrug 87 %.

Tab. 9: Aufstellung der Wiederfindungsrate von $[^{18}\text{F}]\mathbf{55}$

Messung	Zeit / min	Aktivität / MBq	Aktivität / MBq (zerfallskorrigiert)	Wiederfindungsrate / %
$[^{18}\text{F}]\text{FETos}$ in Spritze (0,5 mL)	0	83,32	83,32	100,0
$[^{18}\text{F}]\text{FETos}$ -Spritze leer	2	8,65	8,76	10,5 ± 4,6
Reaktionslösung in Reaktionsgefäß	4	2,50	2,56*	—
Reaktionsgefäß leer	7	0,77	0,80	1,0 ± 1,0
HPLC-Injektionslösung in Spritze (2,0 mL)	8	67,39	70,88*	—
HPLC-Spritze leer	10	1,79	1,91	2,3 ± 0,7

HPLC-Vorlauf	34	5,90	7,31	18,0 ± 20,6
HPLC-Produktfraktion ([¹⁸ F]55)	34	50,85	63,03*	—
HPLC-Rest	34	0,33	0,41	0,5 ± 0,1
Durchbruch bei Kartuschenfixierung (25 mL)	53	0,92	1,29	1,5 ± 3,7
fixiertes Produkt auf Kartusche	53	42,41	59,27*	—
fixiertes Produkt auf Kartusche nach waschen	57	41,2	59,05*	—
H ₂ O-Waschfraktion (10 mL)	58	0,06	0,08	0,1 ± 0,5
eluiertes Produkt in Ethanol (1 mL)	63	39,91	59,41	71,3 ± 23,8
Rest auf Kartusche	63	0,88	1,31	1,6 ± 1,6
Wiederfindungsrate				87 ± 10

*Werte für Wiederfindungsrate nicht genutzt

5. Ergebnisse der Evaluierung

5.1 Bestimmung der Lipophilie

5.1.1 Bestimmung der Lipophilie der Referenzverbindungen

Die Blut-Hirn-Schranke stellt eine physiologische Barriere zwischen der Blutbahn und dem zentralen Nervensystem dar. Hauptfunktion ist, das zentrale Nervensystem vor toxischen Stoffen und Krankheitserregern zu schützen, damit diese nicht in das Gehirn gelangen können. Dabei erfolgt die Aufnahme notwendiger Substanzen durch Transportsysteme oder durch passive Diffusion durch die Blut-Hirn-Schranke. So ist diese für polare Substanzen nicht permeabel, wobei lipophile Substanzen bis zu einer gewissen Größe hindurch diffundieren können. Bei zu hoher Lipophilie ist es möglich, dass Substanzen in der Membran festgehalten oder an Plasmaproteine gebunden werden.

Die Lipophilie stellt einen Richtwert dar, welcher eine erste Aussage darüber erlaubt, ob ein Molekül in der Lage ist, die Blut-Hirn-Schranke zu überwinden. Die experimentelle Bestimmung der Lipophilie erfolgt über den Logarithmus des Verteilungskoeffizienten D bei einem physiologischen pH-Wert von 7,4 der Verbindung in einem n-Octanol/Wasser-System.

$$\log D = \frac{c_{\text{Octanol}}}{c_{\text{Wasser}}}$$

$$D = \text{Verteilungskoeffizient bei pH 7,4,}$$

$$c_{\text{Octanol}} = \text{Konzentration des Liganden in der Octanolphase,}$$

$$c_{\text{Wasser}} = \text{Konzentration des Liganden in der Wasserphase}$$

Abb. 81: Gleichung zur Ermittlung des log D-Wertes

So sollten Substanzen mit einem log D-Wert von 2 bis 3 in der Lage sein, die Blut-Hirn-Schranke zu überwinden. Der log D-Wert kann über verschiedene Methoden bestimmt werden und wurde im Rahmen dieser Arbeit über die HPLC-Methode ermittelt.

Werden verschiedene Substanzen mit unterschiedlicher Lipophilie über eine RP-HPLC-Säule eluiert, weisen sie unterschiedliche Retentionszeiten auf. Dabei eluieren hydrophile vor lipophilen Substanzen. Der Verteilungskoeffizient D für die jeweilige Substanz lässt sich durch die Bestimmung des Kapazitätsfaktors k ermitteln.

$$k = \frac{t_R - t_0}{t_0} \quad \text{mit } t_R = \text{Retentionszeit und } t_0 = \text{Totzeit}$$

Abb. 82: Gleichung zur Ermittlung des Kapazitätsfaktors

Als stationäre Phase wurde eine LiChrospher 100 RP-18 HPLC-Säule (EC-5 μ , 4,0 \times 250 mm, CS-Chromatographie GmbH) verwendet. Als mobile Phase wurde ein Methanol/Sörensenpuffer im Verhältnis 75/25 bei einer Flussrate von 1 mL/min gewählt (Sörensen-Puffer: 910 mg KH_2PO_4 , 2,047 mg $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 2 \text{H}_2\text{O}$ in 1000 mL H_2O).

Zunächst wurde die Totzeit der Säule bestimmt, indem eine Substanz, welche nicht mit der stationären Phase wechselwirkt, injiziert wurde. Anschließend wurden in einer Dreifachbestimmung Substanzen mit bekanntem log D-Wert in das HPLC-System III (siehe Kapitel 6.1.3, HPLC) injiziert und deren

Retentionszeit bestimmt. Durch die graphische Auftragung der log D-Werte gegen die korrespondierenden log k-Werte ergibt sich bei linearer Regression eine Kalibrationsgerade.

Tab. 10: Verwendete Eichsubstanzen zur Erstellung der Kalibrationsgeraden

Eichsubstanz	log D-Wert	t _R / min	k	log k
(+)-Natrium-L-ascorbat	-1,67	1,57	—	—
Anilin	1,10	2,55	0,6254	-0,2038 ± 0,0008
Phenol	1,46	2,62	0,6672	-0,1757 ± 0,0034
Benzaldehyd	1,48	3,01	0,9172	-0,0375 ± 0,0001
Anisol	2,11	4,22	1,6872	0,2272 ± 0,0008
Toluol	2,69	6,04	2,8447	0,4540 ± 0,0143
p-Bromanisol	3,05	6,63	3,2201	0,5079 ± 0,024

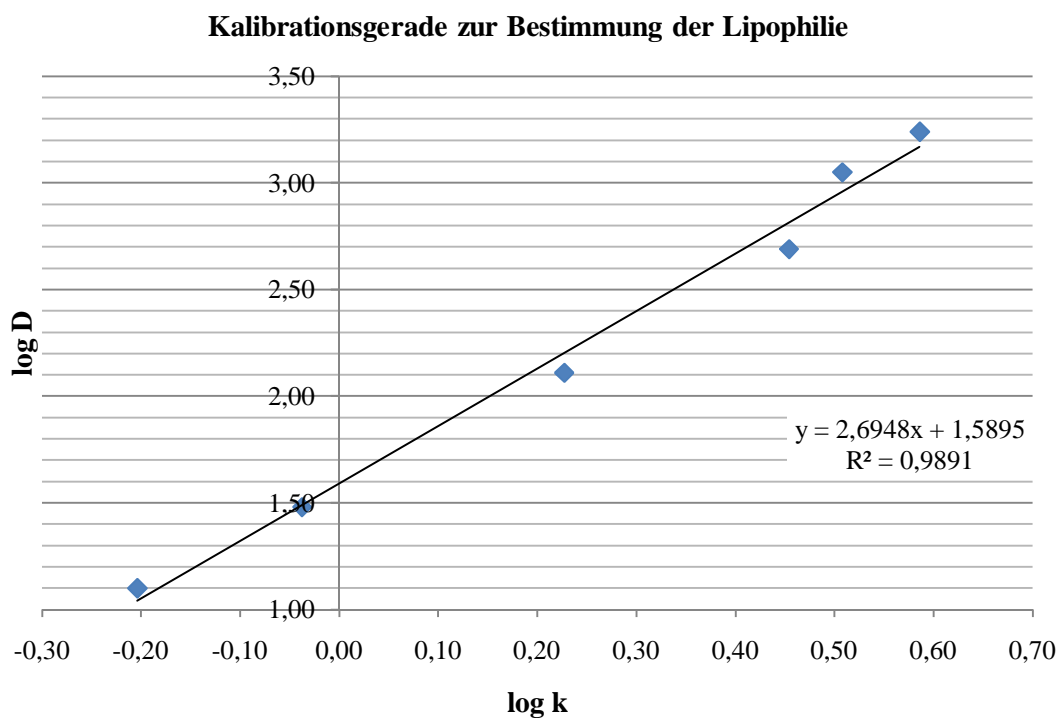
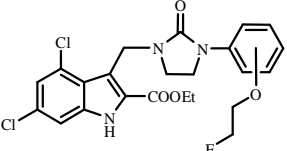
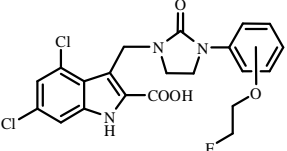
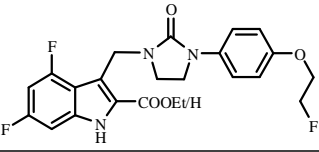
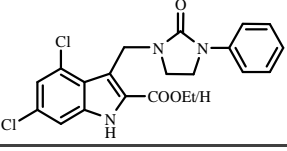
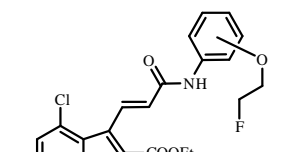
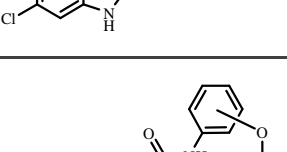
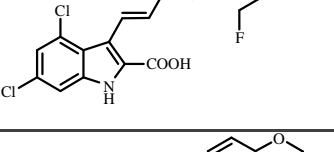
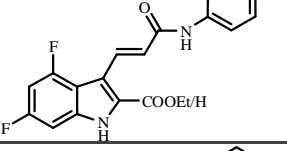
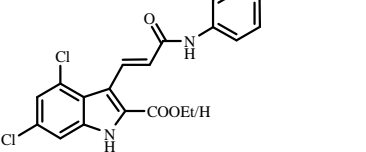


Abb. 83: Lineare Regression zur Ermittlung der Kalibrationsgeraden

Im Anschluss wurden die jeweils zu untersuchenden inaktiven Referenzverbindungen in das HPLC-System injiziert und aus deren Retentionszeit der log k-Wert berechnet. Aus diesem konnte mit Hilfe der Geradengleichung der Kalibrationsgeraden der entsprechende log D-Wert errechnet werden. Hier wurde ebenfalls eine Dreifachbestimmung der jeweils untersuchten Substanz durchgeführt. Die Standardabweichung der ermittelten log D-Werte beträgt maximal ± 0,05.

Tab. 11: Übersicht der log D-Werte

Struktur	Testsubstanz	t _R / min	k	log k	log D
	8 (meta)	13,01	7,28	0,86	3,91 ± 0,00*
	9 (para)	10,58	5,73	0,76	3,63 ± 0,00*
	10 (meta)	2,40	0,53	-0,28	0,84 ± 0,02
	11 (para)	2,19	0,49	-0,40	0,50 ± 0,01*
	17 (Ester)	6,00	2,82	0,45	2,80 ± 0,01*
	18 (Säure)	1,88	0,20	-0,71	-0,32 ± 0,01
	20 (Ester)	16,24	9,34	0,97	4,20 ± 0,01*
	21 (Säure)	2,68	0,70	-0,15	1,18 ± 0,01
	29 (ortho)	13,21	7,41	0,87	3,93 ± 0,01*
	30 (meta)	10,82	5,89	0,77	3,67 ± 0,01*
	31 (para)	9,03	4,75	0,68	3,41 ± 0,05
	32 (ortho)	2,35	0,49	-0,31	0,76 ± 0,01
	33 (meta)	2,32	0,48	-0,32	0,72 ± 0,01
	34 (para)	2,06	0,31	-0,51	0,23 ± 0,03
	37 (Ester)	5,70	2,63	0,42	2,72 ± 0,01*
	38 (Säure)	1,85	0,18	-0,75	-0,42 ± 0,01*
	39 (Ester)	11,43	6,28	0,80	3,74 ± 0,01
	40 (Säure)	2,24	0,42	-0,37	0,59 ± 0,04
	55	1,90	0,21	-0,68	-0,25 ± 0,01

* Fehler < 0,01

Wie zu erwarten weisen die Ethylester Werte von 2,72 bis 4,20 auf. Die Carbonsäuren liegen hier wesentlich darunter im Bereich von -0,42 bis 1,18. Deutlich zeigt sich, dass die 4,6-difluorierten

Derivate einen besonders niedrigen log D-Wert für die Ethylester als auch für die Carbonsäuren aufweisen. Vor allem die Carbonsäuren scheinen aufgrund dessen nicht die Möglichkeit zu haben, die Blut-Hirn-Schranke zu passieren. Trotz des teilweisen niedrigen log D-Wertes wurde die Evaluierung fortgesetzt.

5.1.2 Bestimmung der Lipophilie über die Rückextraktion der ^{18}F -markierten Verbindung

In dieser Methode wurde lediglich die Lipophilie der Verbindung [^{18}F]34 bestimmt. Hierzu wurden etwa 10 MBq des aufgereinigten, ^{18}F -markierten Produkts ([^{18}F]34) in PBS-Puffer aufgenommen. 700 μL der PBS-Phase wurden mit derselben Menge an n-Octanol versetzt und diese Mischung auf einem Rüttler für 2 Minuten geschüttelt. Im Anschluss wurde die Mischung für 1 Minute bei 12.000 Umdrehungen zentrifugiert, um die Phasen zu trennen. 400 μL der Octanolphase wurden abgetrennt und aufbewahrt. Anschließend wurden insgesamt 400 μL Mischphase verworfen sowie 400 μL der PBS-Phase entnommen und aufbewahrt. Die Aktivität der n-Octanol- und PBS-Phase wurde mit einem Aktivimeter bestimmt und zerfallskorrigiert (Aktivimetermethode). Anschließend wurde die PBS-Phase mit PBS-Puffer auf 700 μL aufgefüllt und erneut mit 700 μL n-Octanol rückextrahiert. Auf diese Weise wurde dreimal der Rückextraktionsvorgang durchgeführt.

Ferner wurden von der jeweiligen Octanol- und PBS-Phase 3 μL abgenommen, auf eine DC-Platte aufgetragen und an der Instant Imager Auswerteeinheit ausgemessen (Countermethode). Aus den erhaltenen Werten wurde der log D-Wert berechnet.

Tab. 12: Übersicht der ermittelten log D-Werte der Verbindung [^{18}F]34 über die Aktivimetermethode

$A_{\text{n-Octanol}} / \text{MBq}$	$A_{\text{PBS}} / \text{MBq}$	log D	Mittelwert log D
10,23	0,65	1,23	1,19 ± 0,09
5,96	0,35	1,24	
3,22	0,26	1,08	

Tab. 13: Übersicht der ermittelten log D-Werte der Verbindung [^{18}F]34 über die Countermethode

counts _{n-Octanol}	counts _{PBS}	log D	Mittelwert log D
195.710	2.432	1,91	1,90 ± 0,03
83.232	1.111	1,87	
42.845	510	1,92	

Die deutliche Differenz der Ergebnisse der beiden unterschiedlichen Messmethoden ist auf die große Fehlerabweichung des Aktivimeters bei Messungen im niedrigen Aktivitätsbereich zurückzuführen. Daher ist die Messung über die DC-Methode bei kleineren Aktivitätsmengen als die Genauere anzusehen. Beide Methoden liegen jedoch im Ergebnis deutlich höher als der in der HPLC-Methode ermittelte Wert.

5.2 Bestimmung der *in vitro*-Affinitäten

Die Affinitätsstudien wurden in Kooperation mit dem Institut für Pharmazie der Johannes Gutenberg-Universität Mainz in Zusammenarbeit mit Frau Carina Edinger durchgeführt. Hierzu wurde nach einer in der Literatur beschriebenen Vorschrift der IC_{50} -Wert durch die Verdrängung des Radioliganden [^3H]MDL-105,519 an präparierten Schweinehirnmembranen durch die jeweilige Testsubstanz bestimmt.⁵⁷ Aus den IC_{50} -Werten wurde nach der Gleichung von Cheng und Prusoff⁸¹ der

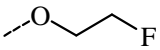
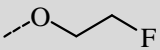
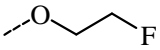
entsprechende K_i -Wert errechnet ($[^3\text{H}]\text{MDL-105,519}$: $K_d = 3,73 \pm 0,43 \text{ nM}$, $c = 2 \text{ nM}$). Für die synthetisierten inaktiven Referenzverbindungen ergaben sich im Zuge der *in vitro*-Testung die in Tabellen 14 – 16 aufgelisteten Affinitäten.

Tab. 14: Affinitäten der 3-imidazolidin-substituierten Indolcarbonsäure-Derivate

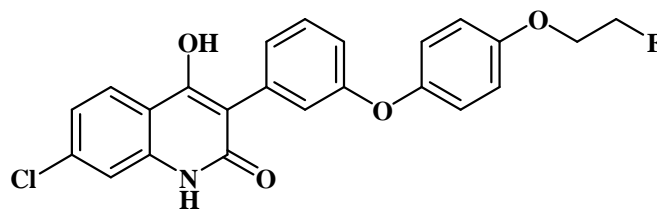
Bezeichnung	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	IC ₅₀ / μM	K _i / μM
<u>8</u>	Cl	Et		H	28 ± 4	16 ± 3
<u>9</u>	Cl	Et	H		15 ± 1	10 ± 1
<u>10</u>	Cl	H		H	7,4 ± 0,3	4,7 ± 0,2
<u>11</u>	Cl	H	H		1,4 ± 0,1	0,9 ± 0,1
<u>17</u>	F	Et	H		27 ± 0,7	17,4 ± 0,8
<u>18</u>	F	H	H		3,0 ± 0,2	1,9 ± 0,1
<u>20</u>	Cl	Et	H	H	108 ± 4	68 ± 3
<u>21</u>	Cl	H	H	H	0,17 ± 0,07	0,08 ± 0,05

Tab. 15: Affinitäten der GV150526-Derivate

Bezeichnung	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	IC ₅₀ / μM	K _i / μM
<u>29</u>	Cl	Et		H	H	258 ± 56	168 ± 37
<u>30</u>	Cl	Et	H		H	239 ± 53	156 ± 34
<u>31</u>	Cl	Et	H	H		401 ± 36	261 ± 23
<u>32</u>	Cl	H		H	H	1,4 ± 0,5	0,9 ± 0,3
<u>33</u>	Cl	H	H		H	0,60 ± 0,06	0,39 ± 0,04

34	Cl	H	H	H		0,20 ± 0,25	0,13 ± 0,16
37	F	Et	H	H		4,5 ± 1,0	2,9 ± 0,7
38	F	H	H	H		0,42 ± 0,04	0,29 ± 0,03
39	Cl	Et	H	H	H	48 ± 9	32 ± 6
40	Cl	H	H	H	H	0,02 ± 0,01	0,013 ± 0,006

Tab. 16: Affinität des L-701,324-Derivats



Bezeichnung	IC ₅₀ / μM	K _i / μM
55	78 ± 37	51 ± 24

Die Affinitätswerte verdeutlichen die Tatsache, dass eine Carboxylfunktion in 2-Stellung für die NR1-Rezeptoraffinität wichtig ist. Beim Vergleich der Ethylester mit den Carbonsäuren der 3-imidazolidin-substituierten Indolderivate unterscheiden sich die Affinitäten um den Faktor 10. Ebenso verhält es sich mit den 4,6-difluorsubstituierten Derivaten. Drastischer wird die Affinitätsveränderung bei Betrachtung des unsubstituierten Moleküls. Hier weist die Carbonsäure einen um den Faktor 600 besseren Wert auf.

Bei den Derivaten des GV150526 wirkt sich der Übergang von Ethylester zur Carbonsäure mit einem Faktor von 200 – 2000 noch drastischer aus. Bei Betrachtung der unsubstituierten Derivate ist der Trend noch ausgeprägter. Hier beträgt der Faktor 2000.

Das synthetisierte Derivat des L-701,324 weist von den Zielstrukturen die schlechteste Affinität auf. Da hier die alternativen Substitutionsmuster in ortho- und meta-Stellung nicht untersucht wurden, ist es nicht auszuschließen, ob eine alternative Substitution womöglich zu einem besseren Affinitätswert geführt hätte. Ferner ist es möglich, dass die 4-Hydroxy-chinolin-2-on-Gruppierung nicht in idealer Weise dazu geeignet ist, die Carboxylgruppe zu ersetzen.

Von den insgesamt 15 getesteten fluorethylierten Substanzen stellt das para-fluorethylierte Derivat des Gavestins (**34**) aufgrund der niedrigsten Affinität die beste Komponente dar, von der deshalb zusätzlich autoradiographische Aufnahmen angefertigt wurden.

5.3 Autoradiographie

Die Autoradiographien des markierten Liganden [¹⁸F]**34** wurden in Kooperation mit der Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie der Universitätsmedizin Mainz in Zusammenarbeit mit Frau Vanessa Bockhart durchgeführt.

Es wurden 14 μm dicke transversale und sagittale Gehirnschnitte von etwa 8 Wochen alten, männlichen Ratten verwendet. In zwei verschiedenen Experimenten wurde zunächst eine 15 nM bzw. 400 nM Lösung des Radioliganden in einem Puffersystem (50 mM TRIS/HCl-Puffer, 120 mM NaCl)

hergestellt. Die Hirnschnitte wurden mit 300 μL dieser Lösung versetzt, eine Stunde bei Raumtemperatur inkubiert und im Anschluss zweimal für drei bzw. fünf Minuten gewaschen. Die unspezifische Bindung wurde mittels Verdrängung mit 200 μM Glycin bestimmt. Parallel wurde versucht, die NMDA-Rezeptoren mit 500 μM Mg^{2+} und 100 μM Glutamat zu aktivieren, um gegebenenfalls eine verbesserte Radioliganden-Bindung zu erreichen. Gemäß der Theorie sollte eine Anlagerung an die Co-Agonisten-Bindungsstelle der NR1-Untereinheit verstärkt stattfinden, wenn zuvor die Bindung des Agonisten Glutamat an der NR2-Untereinheit stattgefunden hat. Dies konnte bestätigt werden. Aufgrund des signifikanten Unterschieds der Signalstärke wurden in folgenden Experimenten die Hirnschnitte stets mit Mg^{2+} und Glutamat aktiviert. Tabelle 17 gibt eine Übersicht der Parameter wieder.

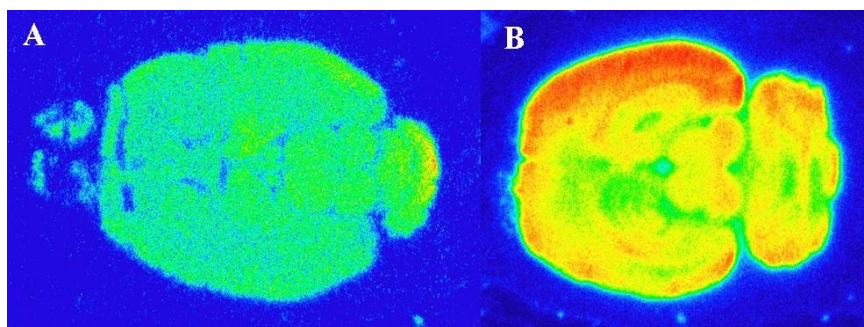


Abb. 84: Vergleich eines nicht-aktivierten Hirnschnitts (A) und eines aktivierten Hirnschnitts (B)

Tab. 17: Übersicht der Autoradiographieparameter

Konzentration [^{18}F]34 / nM	Waschzeit / min	Triton X (0,01 %)	Verdrängung 200 μM Glycin
15	3	ja	ja
		ja	nein
		nein	ja
		nein	nein
	5	ja	ja
		nein	nein
400	3	ja	ja
		ja	nein
		nein	ja
		nein	nein
	5	ja	ja
		ja	nein
		nein	ja
		nein	nein

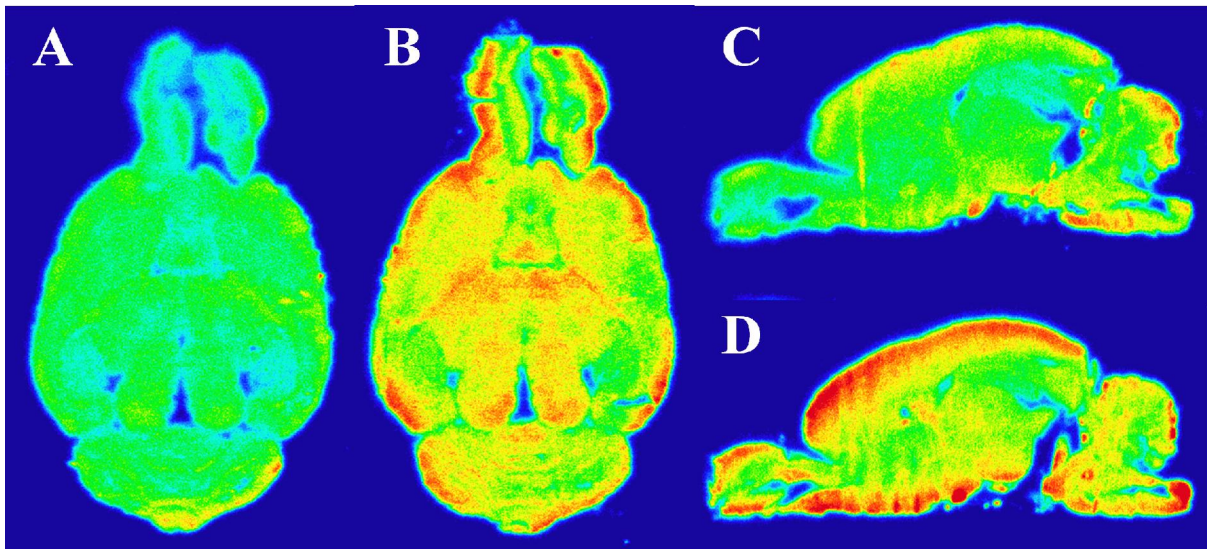


Abb. 85: Autoradiographische Hirnschnitte mit A: unspezifische Bindung (Transversalschnitt), B: absolute Bindung (Transversalschnitt), C: unspezifische Bindung (Saggitalschnitt), D: absolute Bindung (Saggitalschnitt)

Die autoradiographischen Aufnahmen lassen erkennen, dass es im Cortex zu einer erwarteten Bindung des Radioliganden kommt. Allerdings ist keine verstärkte Anreicherung in anderen NR1-reichen Gehirnregionen, wie im Hippocampus, festzustellen. Darüber hinaus ist in Bereichen mit niedriger NMDA-Rezeptordichte, beispielsweise in den Thalamuskernen, eine verstärkte Anreicherung des Radioliganden zu beobachten. Bei jedem Experiment wurde eine Eichgerade mit 6 Konzentrationen der Radioliganden erstellt, um das gemessene Signal in fmol/mm^2 zu konvertieren. Aus den erhaltenen Daten lässt sich das Verhältnis von unspezifischer zu spezifischer Bindung errechnen. Als unspezifisches Areal wurde der Hippocampus und als spezifischer Bereich der Thalamus gewählt (siehe Abb. 86).

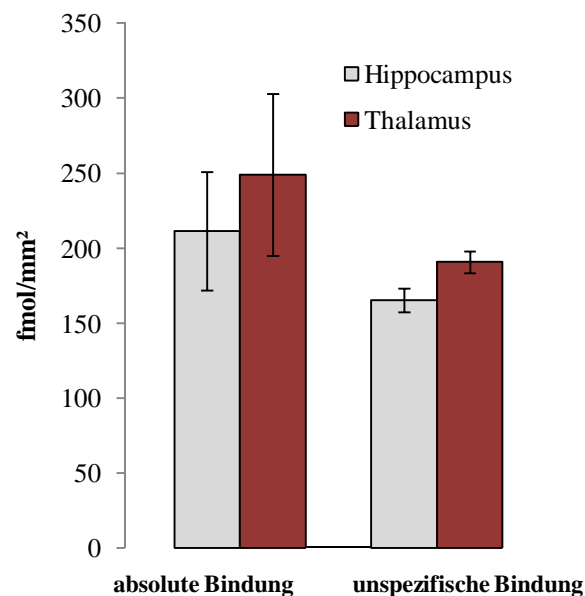


Abb. 86: Vergleich der spezifischen und unspezifischen Bindung

Das hohe Maß an unspezifischer Bindung lässt sich möglicherweise zum einen durch den lipophilen Rest der Indol-2-carbonsäure erklären und ist zum anderen auf eventuelle Cross-Affinitäten zu anderen Rezeptorsystemen zurückzuführen. Abbildung 87 zeigt den Vergleich der durchgeführten Autoradiographien mit den erhaltenen Autoradiographien der NR1-Untereinheit aus der Literatur.^{82,83}

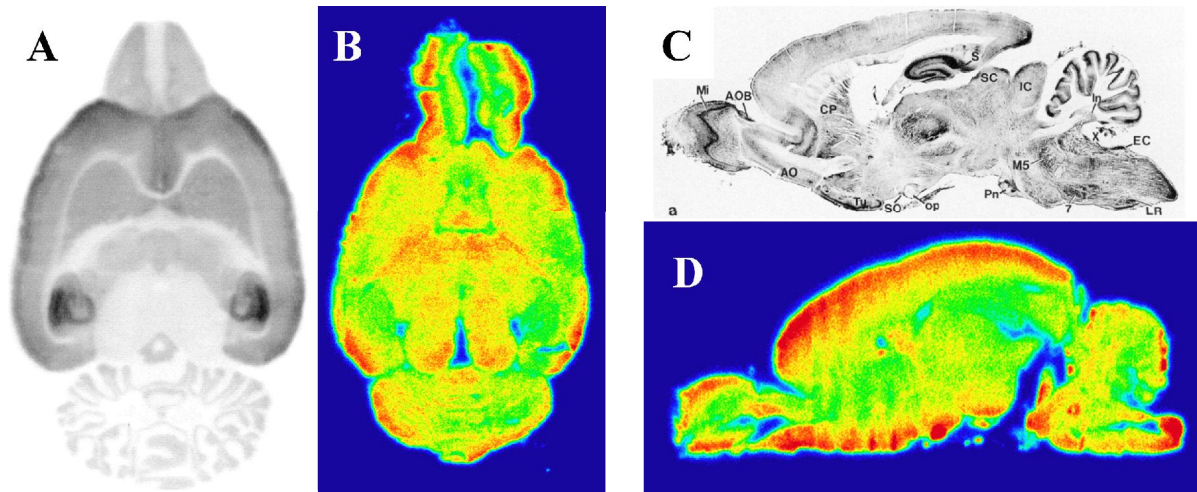


Abb. 87: Vergleich der erhaltenen Autoradiographien (B, D) mit denen aus der Literatur (A⁸², C⁸³)

5.4 PET-Experimente

Mit den Radioliganden [¹⁸F]**34** und [¹⁸F]**55** wurden PET-Experimente mit Spargue-Dawley-Ratten durchgeführt und der entsprechende Tracer unter Isofluran-Narkose i. v. appliziert. Es wurden jeweils dynamische Scans über einen Zeitraum von 60 Minuten durchgeführt.

Die Startaktivitäten zur Synthese des Liganden [¹⁸F]**34** lagen bei 3 – 4 GBq. Im PET-Experiment wurden 29 MBq des Tracers [¹⁸F]**34** in 600 µL isotonischer Kochsalzlösung einer 290 g schweren weiblichen Ratte injiziert. Die Auswertung der Zeitaktivitätskurven belegt, dass keine spezifische Aufnahme des Tracers im Hirn zu verzeichnen ist (siehe Abb. 88). Lediglich unspezifisch ist ein geringfügig höherer Uptake messbar sowie eine erhöhte Aktivität in den Venen (Sinus). Diese Ergebnisse sprechen dafür, dass der Ligand keine ausreichende Möglichkeit besitzt, die Blut-Hirn-Schranke zu überwinden.

Zur Radiosynthese des Liganden [¹⁸F]**55** wurden Startaktivitäten im Bereich von 1 – 6 GBq verwendet. In einem ersten Experiment des Liganden [¹⁸F]**55** wurden 33 MBq des Tracers in 350 µL isotonischer Kochsalzlösung einer 250 g schweren männlichen Ratte injiziert. Aber auch hier ließ sich keine spezifische Hirnaufnahme messen. Da die Vermutung nahe lag, dass der Ligand an das Serum im Blut bindet, sollte in einem zweiten Experiment durch die Coinjektion des Tracers mit dem Natriumsalz des Warfarins die Bindung an das Serum abgesättigt werden, sodass ein höherer Anteil an ungebundenem Tracer zur Verfügung stehen sollte. Hierzu wurden 20 mg/mL des Warfarin-Natriumsalzes bei pH 7,4 in PBS-Puffer gelöst und hiervon 150 µL mit 150 µL der Tracers mit 23 MBq Aktivität einer 405 g schweren Ratte injiziert. Trotz dieses Vorgehens konnte keine signifikante Erhöhung der Traceraufnahme im Hirn gemessen werden. Schlussfolgernd können beide Radioliganden wegen einer unzureichenden Penetration der Blut-Hirn-Schranke nicht als PET-Tracer genutzt werden.

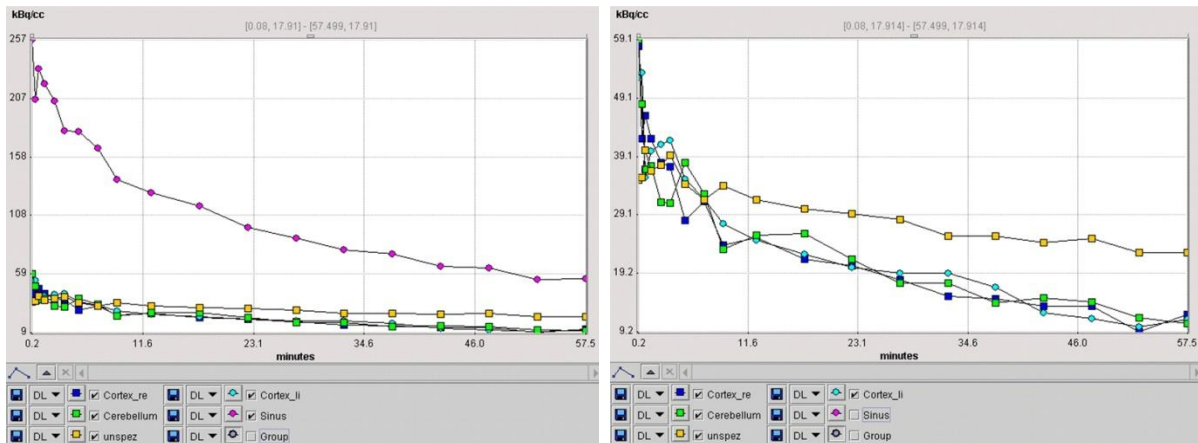


Abb. 88: Zeitaktivitätskurven für $[^{18}\text{F}]\mathbf{34}$ mit Sinus (links) und ohne Sinus (rechts)

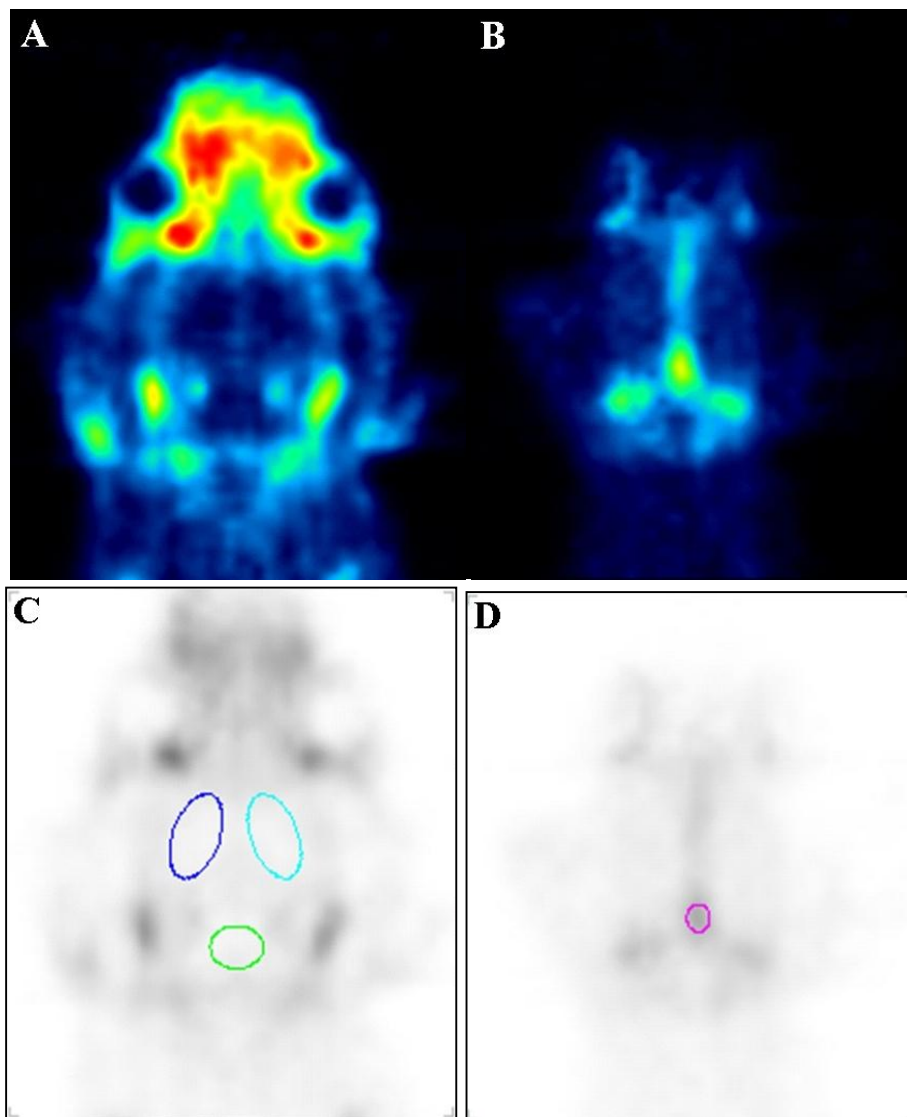


Abb. 89: Transversalaufnahmen der Aktivitätsverteilung von $[^{18}\text{F}]\mathbf{34}$ in verschiedenen Hirnregionen im PET-Experiment; PET-Aufnahmen (A und B) und die korrespondierenden Auswertegraphiken (C und D), dunkelblau (Cortex rechts), hellblau (Cortex links), grün (Cerebellum), violett (Sinus)

5.5 *Ex vivo*-Studie

Da die synthetisierten Liganden offenbar nicht die Blut-Hirn-Schranke überwinden können, wurde in einer *ex vivo*-Studie die Eignung von Ethylestern zur Penetration der Blut-Hirn-Schranke untersucht. Dazu wurde der 4,6-Dichlor-3-{2-[4-(2-fluorethoxy)-phenylcarbamoyl]-vinyl}-1*H*-indol-2-carbonsäureethylester (**31**) sowie die korrespondierende Carbonsäure (**34**) als Modellverbindungen genutzt. Jeweils drei wild-type- und Pgp-knockout-Mäusen wurde die entsprechende Verbindung i. v. appliziert. Hierzu wurde eine Lösung von Verbindung **31** bzw. **34** in DMSO (10 mg/mL) hergestellt und davon eine Dosis von 10 mg/kg Körpergewicht in 500 μ L isotonischer Kochsalzlösung appliziert. Nach 30 Minuten wurden die Tiere dekapitiert, das Gehirn entnommen und homogenisiert. Zur Analyse wurde das Hirnhomogenat bei 12.000 Umdrehungen für 10 Minuten zentrifugiert und 20 μ L des Überstands in das analytische HPLC-System II (Säule: LiChrospher 100 RP-18, EC-5 μ , 4,0 \times 250 mm, CS-Chromatographie; Laufmittel: Acetonitril/Puffer 60/40, Puffer: 0,25 M NaOAc-Puffer + 5 mL/L Essigsäure, Flussrate: 1 mL/min) injiziert.

Prinzipiell ermöglicht das HPLC-UV-Chromatogramm eine Identifizierung der zuvor applizierten Verbindungen. Im Falle, dass ein Ester die Blut-Hirn-Schranke überwindet, muss dieser aus dem injizierten Hirnhomogenat-Lösung detektiert werden können. Anhand der Retentionszeiten und der Höhe der UV-Peaks lassen sich ferner Rückschlüsse ziehen, ob und in welchem Maße ein Ester zur Carbonsäure gespalten wurde. Auf diese Weise ist es möglich, geeignete Ester als Prodrugs zu identifizieren.

Erste Ergebnisse legen jedoch die Vermutung nahe, dass die Carbonsäure und der Ethylester sowohl bei wild-type- als auch bei Pgp-knockout-Mäusen nicht die Blut-Hirn-Schranke überwinden können. Für kein Mausmodell konnte ein entsprechender UV-Peak detektiert werden. Eine Analyse des Plasmas kam aufgrund technischer Voraussetzungen noch nicht zur Durchführung.

6. Experimentalteil

6.1 Verwendete Methoden

6.1.1 Verwendete Chemikalien

Die verwendeten Chemikalien wurden von den Firmen ABCR, Acros Organics, Alfa Aesar, Aldrich, Fisher Scientific, Fluka, Lancaster, Merck und Riedel-de Haën bezogen. Für den Großteil der Synthesen wurden getrocknete Lösungsmittel in Septenflaschen über Molsieb gelagert der Firma Fluka verwendet (Acetonitril, Benzol, Diethylether, Dioxan, 1,2-Dichlorethan, Dichlormethan, DMF und THF). Die Lösungsmittel zur Extraktion/Umkristallisation wie Aceton, Chloroform, Dichlormethan, Diethylether, Ethylacetat, Isopropanol, Methanol und Petrolether wurden von der Firma Fisher Scientific bezogen. Dabei wurden die Lösungsmittel Chloroform, Dichlormethan, Ethylacetat und Petrolether vor Gebrauch destilliert. Die verwendeten HPLC-Lösungsmittel Acetonitril, Methanol, 2-Propanol und THF wurden von der Firma Fisher Scientific bezogen. Für die NMR-Spektroskopie wurden deuterierte Lösungsmittel (CDCl₃, DMSO-d₆) der Firmen Deutero und Sigma-Aldrich verwendet. Für die Festphasenabtrennung wurden strata-X Kartuschen (200 mg) der Firma Phenomenex verwendet.

Die Synthesen wurden unter Argonatmosphäre durchgeführt und die Produkte im Vakuum getrocknet.

<i>Chemikalie</i>	<i>Reinheit</i>	<i>Lieferant</i>
2-Amino-4-chlor-benzoesäuremethylester	≥ 98 %	Fluka
2-Aminoethanol	≥ 99,0 %	Fluka
4-Aminophenol	zur Synthese	Merck
Ammoniumformiat	≥ 99,0 %	Fluka
Ammoniumfluorid	> 98 %	Aldrich
Anilin	≥ 99,5 %	Fluka
Anisol	zur Synthese	Merck
Benzaldehyd	zur Synthese	Merck
Benzylbromid	> 98 %	Fluka
4-Benzyloxyanilin Hydrochlorid	98 %	Acros Organics
bis-Trichlormethylcarbonat	zur Synthese	Merck
4-Bromanisol	zur Synthese	Merck
1,2-Bromfluorethan	> 99 %	ABCR
Celite 545 (Korngröße 0,02 – 0,1 mm)		Merck
Chloressigsäure-tert.-butylester	97 %	Acros Organics
Cyclohexan	p. a.	Riedel-de Haën
3,5-Dichloranilin	98 %	Aldrich
3,5-Difluorphenylhydrazin Hydrochlorid	98 %	ABCR
Diisopropylethylamin	99,5+ %	Acros Organics
Dimethylaminopyridin	≥ 99 %	Aldrich
di-Natriumhydrogenphosphat Dihydrat	p. a.	Fluka
2,2'-Dithiodipyridin	98 %	Acros Organics
di-tert.-Butylpyrocarbonat	97 %	Acros Organics
Eisessig	p. a.	Merck
Ethanol, 2 % MEK		Acros Organics

etherische HCl-Lsg. (2 M)		Aldrich
Ethylpyruvat	zur Synthese	Merck
2-Fluorethanol	95 %	Lancaster
4-Fluornitrobenzol	97 %	ABCR
3-Hydroxyphenylelessigsäure	zur Synthese	Merck
Imidazol	zur Synthese	Merck
4-Iodanisol	zur Synthese	Merck
isoton. NaCl-Lösung, 0,9 %		Braun
Kaliumcarbonat, wasserfrei		Fisher Scientific
Kalium-di-hydrogenphosphat	p. a.	Merck
Kaliumhydroxid	c. p.	Acros Organics
Kalium-tert.-butoxid	≥ 97,0 %	Fluka
Kalium-bis-(trimethylsilyl)-amid	≥ 95,0 %	Fluka
Kupfer-(II)-oxid	p. a.	Merck
Magnesiumsulfat	p. a.	Merck
Natriumacetat Trihydrat	p. a.	Merck
(+)-Natrium-L-ascorbat	≥ 98 %	Aldrich
Natriumnitrit	p. a.	Merck
Natriumsulfat, wasserfrei	99 %	Acros Organics
Natriumhydrogencarbonat		Fisher Scientific
Natriumhydroxid	98,5 %	Acros Organics
Natriumtriacetoxyborhydrid	techn., ≥ 90 %	Fluka
2-Nitrophenol	99 %	Acros Organics
3-Nitrophenol	98+ %	Alfa Aesar
4-Nitrophenol	zur Synthese	Merck
N-Methylformanilid	zur Synthese	Merck
Oxalylchlorid	98 %	Fluka
Palladium/Kohlenstoff (10 %)	≥ 96,0 %	Fluka
Phenol	≥ 99,5 %	Fluka
Phenylisocyanat	zur Synthese	Merck
Phosphorylchlorid	zur Synthese	Merck
Polyphosphorsäure	zur Synthese	Merck
Pyridin, wasserfrei	99,8 %	Aldrich
Salzsäure, konz.	36 %	Fisher Scientific
Schwefelsäure, konz.	98 %	Merck
tert.-Butyldiphenylsilylchlorid	98 %	Aldrich
4-Toluolsulfonsäurechlorid	zur Synthese	Merck
4-Toluolsulfonsäure Monohydrat	puriss.	Fluka
Triethylamin		BASF
Trifluoressigsäure		Solvay GmbH
Triphenylphosphin		Fisher Scientific
Warfarin	≥ 98 %	Fluka
Zinn-(II)-chlorid Dihydrat	p. a.	Merck

6.1.2 Chromatographiemethoden

Für die Reaktionskontrolle wurden Dünnschichtchromatographieplatten (Kieselgel 60 F₂₅₄) der Firma Merck sowie der Firma Macherey-Nagel mit den jeweils angegebenen Laufmittelgemischen verwendet. Dabei wurde die Laufmittelzusammensetzung in Volumenverhältnissen (v/v) hergestellt. Die Detektion der Substanzen erfolgte mit UV-Licht der Wellenlänge $\lambda = 254 \text{ nm}$.

Säulenchromatographische Aufreinigungen wurden mit Silicagel (0,060-0,200 mm, 60 Å) der Firma Acros Organics unter Normaldruck mit den jeweils angegebenen Laufmittelgemischen durchgeführt.

Für die Analyse und Auswertung der Radiodünnschichtchromatogramme wurde ein Instant Imager der Firma Canberra Packard sowie ein Radioaktivitätsdünnschichtchromatograph (Rita Star 09/07) der Firma Raytest verwendet.

6.1.3 HPLC

Zur Analyse und Abtrennung kamen verschiedene HPLC-Systeme zum Einsatz.

- I) HPLC-System der Firma Dionex, P680 HPLC-Pumpe, UV-Detektor UVD 170U, Entgaser DEGASYS DG-1210, Aktivitätsdetektor Gabi Star 11/02 der Firma Raytest
- II) HPLC-System der Firma Sykam, Solvent Delivery System S 1121, S 5111 Injector Valve Bracket, UV Detektor K-2501 der Firma Knauer, Aktivitätsdetektor FlowStar LB 513 der Firma Berthold
- III) HPLC-System der Firma Dionex, P680 HPLC-Pumpe, UV-Detektor UVD 170U

6.1.4 NMR-Spektroskopie

Die ¹H-Spektren (300 MHz) und die ¹³C-Spektren (75.5 MHz) wurden an einem Bruker AC-300-Spektrometer gemessen. Das jeweilige NMR-Lösungsmittel wurde als Standard verwendet.

6.1.5 Massenspektroskopie

Die FD-Massenspektren wurden mit einem MAT 95-Massenspektrometer der Firma Finnigan gemessen.

6.1.6 Aktivimeter und PET-Scanner

Zur Aktivitätsmengenbestimmung wurde ein Aktivimeter (Isomed 2000) der Firma MED verwendet. Für die PET-Aufnahmen wurde ein μ PET-Scanner der Firma Siemens (Focus 120) verwendet.

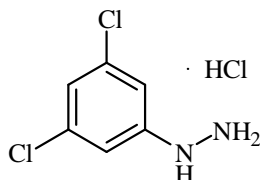
6.1.7 Diverse Geräte

Synthesen in der Mikrowelle wurden in einer Discover single-mode Mikrowellenkavität der Firma CEM durchgeführt. Die Temperaturregulierung erfolgte durch einen Infrarotsensor, die Druckregulierung durch eine Piezo-Druckzelle. Für die Zentrifugierung wurde eine Heraeus sepatech Biofuge 28 RS verwendet. Ferner wurde ein HLC BioTech BT 03 verwendet. Zur Auswertung der Autoradiographien wurde ein Fujifilm FLA-7000 verwendet. Zur Reaktivierung der Filme (Fujifilm, BAS IP SR 2040 E) wurde ein IP Eraser 3 der Firma Fujifilm verwendet.

6.2 Synthese von imidazolidin-2-on-substituierten Indolcarbonsäurederivaten

6.2.1 Synthese der Dichlorderivate

6.2.1.1 3,5-Dichlorphenylhydrazin Hydrochlorid (1)



Ansatz:

3,5-Dichloranilin	10,0 g	61,7 mmol
NaNO ₂	4,26 g	61,7 mmol
Zinn-(II)-chlorid Dihydrat	41,75 g	185 mmol

3,5-Dichloranilin (10,0 g, 61,7 mmol) wurde mit Eisessig (200 mL) versetzt und vorsichtig auf 0 °C gekühlt. Anschließend wurde mit dem Zutropfen von konz. HCl (40 mL) begonnen. Nach dem Abkühlen des Gemisches auf -5 °C wurde eine vorgekühlte Lösung aus Natriumnitrit (4,26 g, 61,7 mmol) in Wasser (30,8 mL) zugetropft. Anschließend wurde eine Lösung aus Zinn-(II)-chlorid Dihydrat (41,75 g, 185 mmol) in konz. HCl (40 mL) hergestellt. Das Gemisch wurde auf unter -15 °C abgekühlt, innerhalb von 2 h der gekühlte Diazoniumchlorid-Ansatz hinzugegeben und die Reaktion über Nacht im Eisbad gerührt. Anschließend wurde bis zum Erreichen einer basischen Reaktion 4 M NaOH hinzugegeben und die wässrige Phase mit Diethylether extrahiert. Die organische Phase wurde über Magnesiumsulfat getrocknet, abfiltriert und eingengt. Durch Zugabe von 2 M etherischer Salzsäure wurde das Hydrochlorid ausgefällt und abfiltriert.

Ausbeute:

6,0 g (28,1 mmol, 46 % d. Th.)

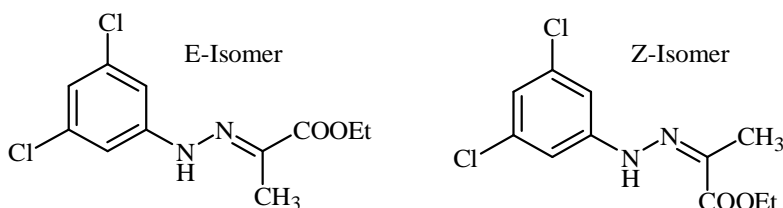
Charakterisierung:

Summenformel: C₆H₇Cl₃N₂ Molekulargewicht: 213,49 g/mol
weißer Feststoff

¹H-NMR (DMSO-d₆, 300 MHz):

δ (ppm) = 10.48 (bs, 3 H), 8.87 (bs, 1 H), 7.08 (d, 1 H, J = 1.5 Hz), 7.00 (d, 2 H, J = 1.5 Hz), 3.51 (s, 3 H)

6.2.1.2 2-[(E/Z)-2-(3,5-Dichlorphenyl)-hydrazone]-propionsäureethylester (2)



Ansatz:

1	1,02 g	4,78 mmol
Ethylpyruvat	0,55 g	4,78 mmol

Zu einer Lösung aus **1** (1,02 g, 4,78 mmol) in Ethanol (7 mL) wurde eine Lösung aus Ethylpyruvat (0,55 mL, 4,78 mmol) in Ethanol (1,5 mL) getropft und anschließend für 5 h bei RT gerührt. Die Reaktionslösung wurde bis zur Trockne eingengt, säulenchromatographisch (Petrolether/Ethylacetat, 10/1) aufgereinigt und so das E- vom Z-Isomer getrennt.

Ausbeute:

E-Isomer:	200 mg (0,73 mmol, 15 % d. Th.)
Z-Isomer:	994 mg (3,61 mmol, 76 % d. Th.)

Charakterisierung:

Summenformel: C₁₁H₁₂Cl₂N₂O₂ Molekulargewicht: 275,13 g/mol

E-Isomer: weißer Feststoff, Z-Isomer: gelber Feststoff

R_f: E-Isomer: 0,25 (Petrolether/Ethylacetat, 10/1), Z-Isomer: 0,72 (Petrolether/Ethylacetat, 10/1)

¹H-NMR (DMSO-d₆, 300 MHz):

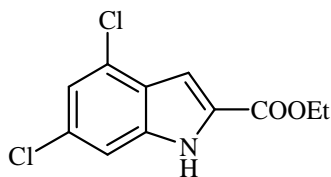
E-Isomer

δ (ppm) = 10.10 (s, 1 H), 7.21 (d, 2 H, J = 1.5 Hz), 7.03 (d, 1 H, J = 1.5 Hz), 4.20 (q, 2 H, J = 6.9 Hz), 2.05 (s, 3 H), 1.25 (t, 3 H, J = 6.9 Hz)

Z-Isomer

δ (ppm) = 11.80 (s, 1 H), 7.31 (s, 2 H), 7.02 (d, 1 H, J = 1.5 Hz), 4.24 (q, 2 H, J = 6.9 Hz), 2.10 (s, 3 H), 1.28 (t, 3 H, J = 6.9 Hz)

6.2.1.3 4,6-Dichlorindol-2-carbonsäureethylester (3)



Ansatz:

<u>2</u>	7,98 g	29,0 mmol
Polyphosphorsäure	25 mL	

In einem Becherglas wurde Polyphosphorsäure (25 mL) auf 70 °C erwärmt. Das pulverisierte Hydrazon 2 (7,98 g, 29,0 mmol) wurde portionsweise eingerührt und anschließend für 10 min auf 120 °C – 130 °C erhitzt. Nach vorsichtiger Hydrolyse mit Eiswasser (100 mL) wurde die Mischung mit Ethylacetat (50 mL) versetzt, sodass sich der Niederschlag löste und die Phasen wurden separiert. Unter Kühlung wurde die wässrige Phase mit NaOH-Plätzchen neutralisiert und mit Ethylacetat (3 × 75 mL) extrahiert. Die organische Phase wurde mit Wasser neutral gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet, abfiltriert und das Lösungsmittel bis zur beginnenden Fällung im Vakuum entfernt. Die Kristalle wurden nach Aufbewahrung im Kühlschrank über Nacht abgetrennt und die Mutterlauge erschöpfend kristallisiert.

Ausbeute:

6,62 g (25,6 mmol, 92 % d. Th.)

Charakterisierung:

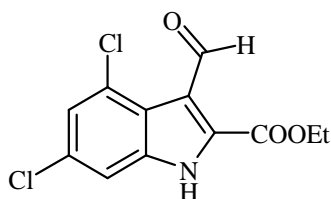
Summenformel: C₁₁H₉Cl₂NO₂ Molekulargewicht: 258,10 g/mol
 hellbrauner Feststoff

R_f: 0,87 (Petrolether/Ethylacetat, 3/1)

¹H-NMR (DMSO-d₆, 300 MHz):

δ (ppm) = 12.41 (s, 1 H), 7.43 (t, 1 H, J = 1.5 Hz), 7.26 (t, 1 H, J = 1.5 Hz), 7.10 (t, 1 H, J = 1.5 Hz), 4.35 (q, 2 H, J = 6.9 Hz), 1.33 (t, 3 H, J = 6.9 Hz)

6.2.1.4 4,6-Dichlor-3-formylindol-2-carbonsäureethylester (4)



Ansatz:

3	6,62 g	25,6 mmol
Phosphoroxchlorid	6,62 g	43,2 mmol
N-Methylformanilid	6,10 g	45,0 mmol
Natriumacetat Trihydrat	29,7 g	0,22 mol

Eine Lösung von N-Methylformanilid (6,10 g, 45,0 mmol) und Phosphoroxchlorid (6,62 g, 43,2 mmol) wurde unter Argonatmosphäre für 15 min gerührt. Anschließend wurden 1,2-Dichlorethan (60 mL) und **3** (6,62 g, 25,6 mmol) hinzugegeben und die Suspension bei 100 °C für 6 h unter Rückfluss erhitzt. Die Reaktionslösung wurde in eine Lösung aus Natriumacetat Trihydrat (29,7 g, 0,22 mol) in Wasser (300 mL) gegeben und der resultierende Feststoff wurde abfiltriert.

Ausbeute:

3,82 g (13,3 mmol, 52 % d. Th.)

Charakterisierung:

Summenformel: C₁₂H₉Cl₂NO₃ Molekulargewicht: 286,11 g/mol
hellbrauner Feststoff

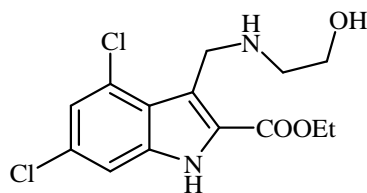
R_f: 0,32 (Petrolether/Ethylacetat, 3/1)

¹H-NMR (DMSO-d₆, 300 MHz):

δ (ppm) = 13.14 (s, 1 H), 10.60 (s, 1 H), 7.54 (d, 1 H, J = 1.2 Hz), 7.40 (d, 1 H, J = 1.2 Hz), 4.43 (q, 2 H, J = 6.9 Hz), 1.37 (t, 3 H, J = 6.9 Hz)

MS (FD) m/z (% rel. Int.): 284.8 (100.0) [M⁺]

6.2.1.5 4,6-Dichlor-3-[(2-hydroxyethylamino)-methyl]-1H-indol-2-carbonsäureethylester (5)



Ansatz:

4	3,004 g	10,5 mmol
2-Aminoethanol	641 mg	10,5 mmol
Natriumtriacetoxyborhydrid	2,543 g	12,0 mmol

Unter Argon wurde 2-Aminoethanol (641 mg, 10,5 mmol) in trockenem Dichlormethan (10 mL) gelöst und eine Suspension von **4** (3,004 g, 10,5 mmol) in zwei Portionen à 30 mL Dichlormethan zugegeben. Nach zweistündigem Rühren wurde Natriumtriacetoxyborhydrid (2,543 g, 12,0 mmol) zugegeben und über Nacht bei RT gerührt. Die Reaktion wurde mit gesättigter NaHCO₃ (50 mL) beendet, der resultierende Feststoff abfiltriert und aus Ethanol umkristallisiert.

Ausbeute:

1,98 g (6,0 mmol, 57 % d. Th.)

Charakterisierung:

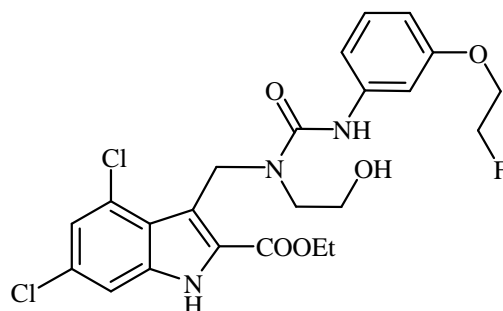
Summenformel: C₁₄H₁₆Cl₂N₂O₃ Molekulargewicht: 331,19 g/mol
weißer Feststoff

¹H-NMR (DMSO-d₆, 300 MHz):

δ (ppm) = 7.41 (d, 1 H, *J* = 1.5 Hz), 7.14 (d, 1 H, *J* = 1.5 Hz), 7.26 (s, 1 H), 4.34 (q, 2 H, *J* = 6.9 Hz), 4.30 (s, 2 H), 3.40 (t, 2 H, *J* = 5.7 Hz), 2.54 (t, 2 H, *J* = 5.7 Hz), 1.34 (t, 3 H, *J* = 6.9 Hz)

Masse FD *m/z* (% rel. Int.): 329.9 (100.0) [M⁺]

6.2.1.6 4,6-Dichlor-3-[3-[3-(2-fluorethoxy)-phenyl]-1-(2-hydroxyethylamino)-ureidomethyl]-1H-indol-2-carbonsäureethylester (6)



Ansatz:

bis-Trichlormethylcarbonat	110 mg	0,37 mmol
66	155 mg	1,1 mmol
DIPEA	2 × 187 µL	2 × 1,1 mmol
5	331 mg	1,0 mmol

Bis-Trichlormethylcarbonat (110 mg, 0,37 mmol) wurde in Dichlormethan (4 mL) gelöst und auf 0 °C gekühlt. Zu dieser Lösung wurde innerhalb 30 min eine Lösung aus **66** (155 mg, 1,1 mmol) und DIPEA (187 µL, 1,1 mmol) in Dichlormethan (4 mL) hinzugegeben. Nach beendeter Zugabe wurde 30 min bei 0 °C gerührt und anschließend eine Lösung aus **5** (331 mg, 1,0 mmol) und DIPEA (187 µL, 1,1 mmol) in Dichlormethan (5 mL) hinzugegeben. Die Reaktion wurde bei RT für 1 h fortgesetzt. Anschließend wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand in Ethylacetat (50 mL) aufgenommen und nacheinander mit 5 %-iger HCl (10 mL), gesättigter NaHCO₃ (15 mL) und Wasser (15 mL) gewaschen. Im Anschluss wurde die organische Phase über Natriumsulfat getrocknet, abfiltriert, im Vakuum eingedunstet und das Rohprodukt säulenchromatographisch (100 % Ethylacetat) aufgereinigt.

Ausbeute:

370 mg (0,72 mmol, 72 % d. Th.)

Charakterisierung:

Summenformel: C₂₃H₂₄Cl₂FN₃O₅
weißer Feststoff

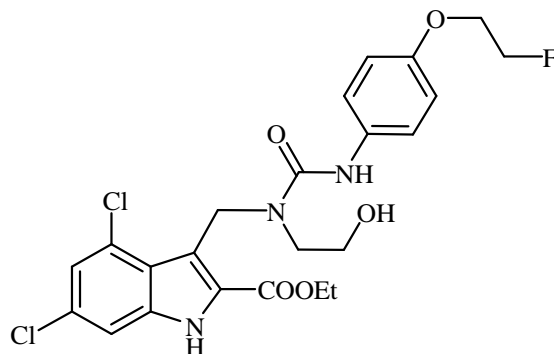
Molekulargewicht: 512,36 g/mol

R_f: 0,83 (100 % Ethylacetat)

¹H-NMR (DMSO-d₆, 300 MHz):

δ (ppm) = 12.34 (s, 1 H), 8.98 (s, 1 H), 7.46 (d, 1 H, J = 1.8 Hz), 7.22 (d, 1 H, J = 1.8 Hz), 7.16 (s, 1 H), 7.13 (t, 1 H, J = 8.1 Hz), 6.93 (d, 1 H, J = 8.1 Hz), 6.52 (dd, 1 H, J = 2.1 Hz, J = 8.1 Hz), 5.14 (s, 3 H), 4.80 (t, 1 H, J = 3.9 Hz), 4.64 (t, 1 H, J = 3.9 Hz), 4.38 (q, 2 H, J = 7.2 Hz), 4.21 (t, 1 H, J = 3.9 Hz), 4.11 (t, 1 H, J = 3.9 Hz), 3.21 (t, 2 H, J = 4.8 Hz), 3.07 (t, 2 H, J = 4.8 Hz), 1.34 (t, 3 H, J = 7.2 Hz)

MS (FD) m/z (% rel. Int.): 511.3 (100.0) [M⁺]

6.2.1.7 4,6-Dichlor-3-[3-[4-(2-fluorethoxy)-phenyl]-1-(2-hydroxyethylamino)-ureidomethyl]-1H-indol-2-carbonsäureethylester (7)

Ansatz:

bis-Trichlormethylcarbonat	110 mg	0,37 mmol
67	155 mg	1,1 mmol
DIPEA	2 × 187 µL	2 × 1,1 mmol
5	331 mg	1,0 mmol

Bis-Trichlormethylcarbonat (110 mg, 0,37 mmol) wurde in Dichlormethan (4 mL) gelöst und auf 0 °C gekühlt. Zu dieser Lösung wurde innerhalb 30 min eine Lösung aus **67** (155 mg, 1,1 mmol) und DIPEA (187 µL, 1,1 mmol) in Dichlormethan (4 mL) hinzugegeben. Nach beendeter Zugabe wurde 30 min bei 0 °C gerührt und anschließend eine Lösung aus **5** (331 mg, 1,0 mmol) und DIPEA (187 µL, 1,1 mmol) in Dichlormethan (5 mL) hinzugegeben. Die Reaktion wurde bei RT für 1 h fortgesetzt. Im Anschluss wurde das Lösungsmittel im Vakuum eingeengt, der resultierende Feststoff abfiltriert und mit wenig Ethylacetat gewaschen.

Ausbeute:

306 mg (0,6 mmol, 60 % d. Th.)

Charakterisierung:

Summenformel: C₂₃H₂₄Cl₂FN₃O₅
weißer Feststoff

Molekulargewicht: 512,36 g/mol

R_f: 0,75 (100 % Ethylacetat)

¹H-NMR (DMSO-d₆, 300 MHz):

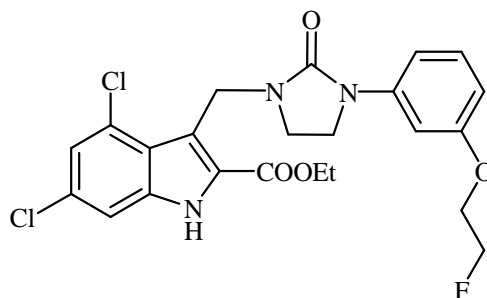
δ (ppm) = 12.33 (bs, 1 H), 8.74 (s, 1H), 7.46 (d, 1 H, *J* = 1.5 Hz), 7.30 (d, 2 H, *J* = 9.0 Hz), 7.22 (d, 1 H, *J* = 1.5 Hz), 6.86 (d, 2 H, *J* = 9.0 Hz), 5.14 (s, 2 H), 4.79 (t, 1 H, *J* = 3.9 Hz), 4.63 (t, 1 H, *J* = 3.9 Hz), 4.38 (q, 2 H, *J* = 6.9 Hz), 4.21 (t, 1 H, *J* = 3.9 Hz), 4.11 (t, 1 H, *J* = 3.9 Hz), 3.18 (t, 2 H, *J* = 5.4 Hz), 3.08 (t, 2 H, *J* = 5.4 Hz), 1.34 (t, 3 H, *J* = 6.9 Hz)

¹³C-NMR (DMSO-d₆, 75.5 MHz):

δ (ppm) = 161.34, 156.41, 153.13, 138.07, 134.45, 128.95, 127.41, 123.11, 121.14, 120.84, 116.70, 116.96, 114.53, 111.79, 83.49, 81.26, 67.48, 67.22, 46.90, 14.25

MS (FD) *m/z* (% rel. Int.): 510.8 (100.0) [M⁺]

6.2.1.8 4,6-Dichlor-3-{3-[3-(2-fluorethoxy)-phenyl]-2-oxo-imidazolidin-1-ylmethyl}-1*H*-indol-2-carbonsäureethylester (8)



Ansatz:

6	370 mg	0,72 mmol
Kalium-tert.-butoxid	195 mg	1,73 mmol
4-Toluolsulfonylchlorid	165 mg	0,87 mmol

6 (370 mg, 0,72 mmol) wurde zusammen mit Kalium-tert.-butoxid (195 mg, 1,73 mmol) in THF (11 mL) gelöst und im Eisbad auf 0 °C gekühlt. Eine Lösung aus 4-Toluolsulfonylchlorid (165 mg, 0,87 mmol) in THF (3 mL) wurde tropfenweise innerhalb 30 min zu der Lösung hinzugegeben und anschließend für 10 min im Eisbad gerührt. Im Anschluss wurde Wasser (11 mL) hinzugegeben und das THF im Vakuum entfernt. Die wässrige Phase wurde mit Ethylacetat (3 × 25 mL) extrahiert. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet, abfiltriert, im Vakuum eingeeengt und das Rohprodukt säulenchromatographisch (Petrolether/Ethylacetat, 1/1) aufgereinigt.

Ausbeute:

120 mg (0,24 mmol, 33 % d. Th.)

Charakterisierung:

Summenformel: C₂₃H₂₂Cl₂FN₃O₄

Molekulargewicht: 494,34 g/mol

weißer Feststoff

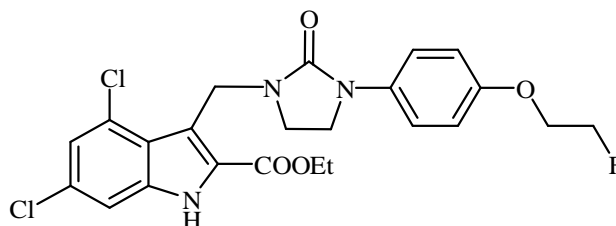
R_f: 0,58 (Petrolether/Ethylacetat, 1/1)

¹H-NMR (DMSO-d₆, 300 MHz):

δ (ppm) = 12.37 (s, 1 H), 7.46 (d, 1 H, *J* = 1.8 Hz), 7.27 (t, 1 H, *J* = 1.2 Hz), 7.23 – 7.18 (m, 2 H), 7.10 (d, 1 H, *J* = 8.1 Hz), 6.60 (dd, 1 H, *J* = 2.1 Hz, *J* = 8.1 Hz), 5.04 (s, 2 H), 4.80 (t, 1 H, *J* = 3.9 Hz), 4.65 (t, 1 H, *J* = 3.9 Hz), 4.39 (q, 2 H, *J* = 6.9 Hz), 4.24 (t, 1 H, *J* = 3.9 Hz), 4.14 (t, 1 H, *J* = 3.9 Hz), 3.65 (t, 2 H, *J* = 7.8 Hz), 3.15 (t, 2 H, *J* = 7.8 Hz), 1.35 (t, 3 H, *J* = 6.9 Hz)

MS (FD) m/z (% rel. Int.): 493.3 (100.0) [M⁺]

6.2.1.9 4,6-Dichlor-3-{3-[4-(2-fluorethoxy)-phenyl]-2-oxo-imidazolidin-1-ylmethyl}-1*H*-indol-2-carbonsäureethylester (9)



Ansatz:

7	292 mg	0,57 mmol
Kalium-tert.-butoxid	154 mg	1,37 mmol
4-Toluolsulfonylchlorid	130 mg	0,68 mmol

7 (292 mg, 0,57 mmol) wurde zusammen mit Kalium-tert.-butoxid (154 mg, 1,37 mmol) in THF (10 mL) gelöst und im Eisbad auf 0 °C gekühlt. Eine Lösung aus 4-Toluolsulfonylchlorid (130 mg, 0,68 mmol) in THF (2 mL) wurde tropfenweise innerhalb 30 min zu der Lösung hinzugegeben und anschließend für 10 min im Eisbad gerührt. Im Anschluss wurde Wasser (11 mL) hinzugegeben und das THF im Vakuum entfernt. Die wässrige Phase wurde mit Ethylacetat (3 × 25 mL) extrahiert. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet, abfiltriert, im Vakuum eingengt und das Rohprodukt säulenchromatographisch (Petrolether/Ethylacetat, 1/1) aufgereinigt.

Ausbeute:

141 mg (0,29 mmol, 51 % d. Th.)

Charakterisierung:

Summenformel: C₂₃H₂₂Cl₂FN₃O₄

Molekulargewicht: 494,34 g/mol

weißer Feststoff

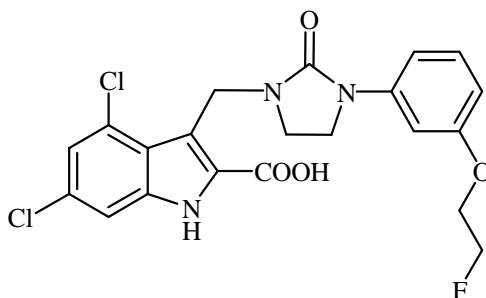
R_f: 0,60 (Petrolether/Ethylacetat, 1/1)

¹H-NMR (DMSO-d₆, 300 MHz):

δ (ppm) = 12.36 (s, 1 H), 7.48 (d, 1 H, *J* = 1.8 Hz), 7.46 (d, 2 H, *J* = 8.4 Hz), 7.21 (d, 1 H, *J* = 1.8 Hz), 6.93 (d, 2 H, *J* = 8.4 Hz), 5.03 (s, 2 H), 4.79 (t, 1 H, *J* = 3.9 Hz), 4.63 (t, 1 H, *J* = 3.9 Hz), 4.39 (q, 2 H, *J* = 6.9 Hz), 4.23 (t, 1 H, *J* = 3.9 Hz), 4.13 (t, 1 H, *J* = 3.9 Hz), 3.62 (t, 2 H, *J* = 8.4 Hz), 3.08 (t, 2 H, *J* = 8.4 Hz), 1.35 (t, 3 H, *J* = 6.9 Hz)

MS (FD) *m/z* (% rel. Int.): 493.2 (100.0) [M⁺]

6.2.1.10 4,6-Dichlor-3-{3-[3-(2-fluorethoxy)-phenyl]-2-oxo-imidazolidin-1-ylmethyl}-1*H*-indol-2-carbonsäure (10)



Ansatz:

8	88 mg	0,18 mmol
NaOH-Lsg., 2 M	200 µL	0,4 mmol

8 (88 mg, 0,18 mmol) wurde in THF (10 mL) gelöst, mit Wasser (5 mL) und 2 M NaOH (200 µL) versetzt. Die Reaktion wurde über Nacht bei RT gerührt. Im Anschluss wurde das THF im Vakuum entfernt und das Produkt mit 1 M HCl (400 µL) ausgefällt, abfiltriert und mit Wasser gewaschen.

Ausbeute:

69 mg (0,15 mmol, 83 % d. Th.)

Charakterisierung:

Summenformel: C₂₁H₁₈Cl₂FN₃O₄

Molekulargewicht: 466,29 g/mol

weißer Feststoff

R_f: 0,37 (Petrolether/Ethylacetat, 1/1 + 3 % Ameisensäure)

¹H-NMR (DMSO-d₆, 300 MHz):

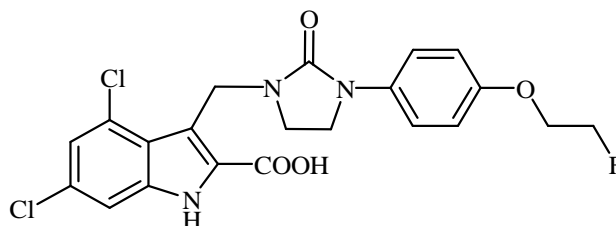
δ (ppm) = 12.23 (s, 1 H), 7.44 (s, 1 H), 7.28 (s, 1 H), 7.20 (t, 1 H, *J* = 5.4 Hz), 7.17 (s, 1 H), 7.09 (d, 1 H, *J* = 5.4 Hz), 6.59 (d, 1 H, *J* = 8.1 Hz), 5.08 (s, 2 H), 4.81 (t, 1 H, *J* = 3.9 Hz), 4.65 (t, 1 H, *J* = 3.9 Hz), 4.25 (t, 1 H, *J* = 3.9 Hz), 4.15 (t, 1 H, *J* = 3.9 Hz), 3.65 (t, 2 H, *J* = 7.5 Hz), 3.15 (t, 2 H, *J* = 7.5 Hz)

¹³C-NMR (DMSO-d₆, 75.5 MHz):

δ (ppm) = 162.08, 158.55, 156.65, 142.21, 137.24, 129.88, 129.57, 128.69, 127.35, 122.90, 120.95, 114.35, 111.36, 109.62, 107.46, 103.75, 83.38, 81.16, 67.05, 42.10, 37.16

MS (FD) *m/z* (% rel. Int.): 465.0 (100.0) [M⁺]

6.2.1.11 4,6-Dichlor-3-{3-[4-(2-fluorethoxy)-phenyl]-2-oxo-imidazolidin-1-ylmethyl}-1*H*-indol-2-carbonsäure (11)



Ansatz:

9	120 mg	0,24 mmol
NaOH-Lsg., 2 M	250 μ L	0,5 mmol

9 (120 mg, 0,24 mmol) wurde in THF (14 mL) gelöst, mit Wasser (7 mL) und 2 M NaOH (250 μ L) versetzt. Die Reaktion wurde über Nacht bei RT gerührt und im Anschluss bei 40 °C für 6 h gerührt. Das THF wurde im Vakuum entfernt und das Produkt mit 1 M HCl (500 μ L) ausgefällt, abfiltriert und mit Wasser gewaschen.

Ausbeute:

104 mg (0,22 mmol, 92 % d. Th.)

Charakterisierung:

Summenformel: C₂₁H₁₈Cl₂FN₃O₄

Molekulargewicht: 466,29 g/mol

hellgelber Feststoff

R_f: 0,60 (Petrolether/Ethylacetat, 1/2 + 3 % Ameisensäure)

¹H-NMR (DMSO-d₆, 300 MHz):

δ (ppm) = 12.26 (s, 1 H), 7.46 – 7.43 (m, 3 H), 7.16 (d, 1 H, *J* = 1.5 Hz), 6.91 (d, 2 H, *J* = 8.7 Hz), 5.03 (s, 2 H), 4.79 (t, 1 H, *J* = 3.9 Hz), 4.63 (t, 1 H, *J* = 3.9 Hz), 4.21 (t, 1 H, *J* = 3.9 Hz), 4.11 (t, 1 H, *J* = 3.9 Hz), 3.60 (t, 2 H, *J* = 8.1 Hz), 3.12 (t, 2 H, *J* = 8.1 Hz)

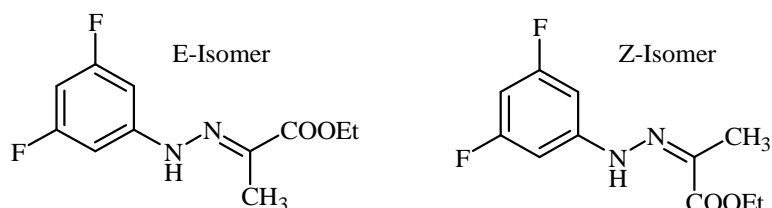
¹³C-NMR (DMSO-d₆, 75.5 MHz):

δ (ppm) = 162.58, 157.01, 153.26, 137.37, 134.71, 128.97, 127.49, 122.85, 121.07, 118.67, 115.19, 114.71, 111.37, 83.42, 81.23, 67.48, 67.24, 59.85, 42.37, 37.27

MS (FD) *m/z* (% rel. Int.): 465.0 (100.0) [M⁺]

6.2.2 Synthese der Difluorderivate

6.2.2.1 2-[(E/Z)-2-(3,5-Difluorphenyl)-hydrazono]-propionsäureethylester (12)



Ansatz:

3,5-Difluorphenylhydrazin Hydrochlorid	5,0 g	27,7 mmol
Ethylpyruvat	3,215 g	27,7 mmol
Triethylamin	2,802 g	27,7 mmol

Zu einer Lösung aus 3,5-Difluorphenylhydrazin Hydrochlorid (5,0 g, 27,7 mmol) in Ethanol (40 mL) wurde eine Lösung aus Triethylamin (2,802 g, 27,7 mmol) in Ethanol (5 mL) getropft und anschließend eine Lösung aus Ethylpyruvat (3,215 g, 27,7 mmol) in Ethanol (10 mL) zugetropft, für 6 h unter Rückfluss erhitzt und im Anschluss über Nacht bei RT gerührt. Die Reaktionslösung wurde im Vakuum bis zur Trockne eingengt, in Ethylacetat (200 mL) aufgenommen und mit Wasser (3 × 50 mL) gewaschen. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet, abfiltriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch (Petrolether/Ethylacetat, 10/1) aufgereinigt.

Ausbeute:

E-Isomer:	4,365 g (18,02 mmol, 65 % d. Th.)
Z-Isomer:	2,277 g (9,40 mmol, 34 % d. Th.)

Charakterisierung:

Summenformel: C₁₁H₁₂Cl₂N₂O₂ Molekulargewicht: 242,22 g/mol

E-Isomer: hellgelber Feststoff, Z-Isomer: oranger Feststoff

R_f: E-Isomer: 0,15 (Petrolether/Ethylacetat, 10/1), Z-Isomer: 0,68 (Petrolether/Ethylacetat, 10/1)

¹H-NMR (DMSO-d₆, 300 MHz):

E-Isomer

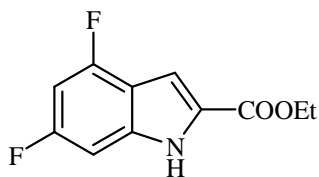
10.14 (s, 1 H), 6.85 (dd, 1 H, *J* = 2.1 Hz, *J* = 9.9 Hz), 6.65 (tt, 1 H, *J* = 2.1 Hz, *J* = 9.9 Hz), 4.19 (q, 2 H, *J* = 7.2 Hz), 2.05 (s, 3 H), 1.25 (t, 3 H, *J* = 7.2 Hz)

Z-Isomer

11.86 (s, 1 H), 6.96 (dd, 2 H, *J* = 2.1 Hz, *J* = 9.9 Hz), 6.65 (tt, 1 H, *J* = 2.1 Hz, *J* = 9.9 Hz), 4.24 (q, 2 H, *J* = 7.2 Hz), 2.09 (s, 3 H), 1.28 (t, 3 H, *J* = 7.2 Hz)

MS (FD) *m/z* (% rel. Int.): 242.0 (100.0) [M⁺], 484.1 (43.3) [2 M⁺]

6.2.2.2 4,6-Difluorindol-2-carbonsäureethylester (13)



Ansatz:

12	3,859 g	15,9 mmol
Polyphosphorsäure	25 mL	

In einem Becherglas wurde Polyphosphorsäure (25 mL) auf 70 °C erwärmt. Das pulverisierte Hydrazon (3,859 g, 15,9 mmol) wurde portionsweise eingerührt und anschließend 10 min auf 120 °C – 130 °C erhitzt. Nach vorsichtiger Hydrolyse mit Eiswasser (50 mL) wurde die Mischung mit Ethylacetat (10 mL) versetzt und die Ethylacetatphase abgetrennt. Die wässrige Phase wurde unter Eiskühlung mit NaOH-Plätzchen neutralisiert und anschließend mit Ethylacetat (3 × 50 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit Wasser (50 mL) gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und abfiltriert. Bis zur beginnenden Fällung wurde die organische Phase im Vakuum eingengt und die erhaltenen Kristalle abfiltriert.

Ausbeute:

3,177 g (14,1 mmol, 89 % d. Th.)

Charakterisierung:

Summenformel: C₁₁H₉F₂NO₂ Molekulargewicht: 225,19 g/mol
 hellbraune Kristalle

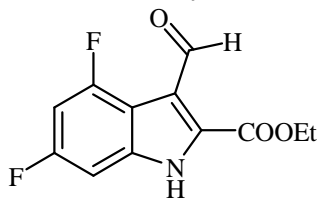
R_f: 0,67 (Petrolether/Ethylacetat, 4/1)

¹H-NMR (DMSO-d₆, 300 MHz):

12.32 (s, 1 H), 7.15 (d, 1 H, *J* = 1.8 Hz), 7.04 (dd, 1 H, *J* = 1.8 Hz, *J* = 9.9 Hz), 6.92 (dt, 1 H, *J* = 1.8 Hz, *J* = 9.9 Hz), 4.33 (q, 2 H, *J* = 6.9 Hz), 1.32 (t, 3 H, *J* = 6.9 Hz)

MS (FD) m/z (% rel. Int.): 225.0 (100.0) [M⁺]

6.2.2.3 4,6-Difluor-3-formylindol-2-carbonsäureethylester (14)



Ansatz:

13	2,88 g	12,8 mmol
N-Methylformanilid	3,038 g	22,5 mmol
Phosphoroxchlorid	3,309 g	21,6 mmol
Natriumacetat Trihydrat	35,0 g	257 mmol

Eine Lösung aus N-Methylformanilid (3,038 g, 22,5 mmol) und Phosphoroxchlorid (3,309 g, 21,6 mmol) wurde unter Argonatmosphäre für 15 min gerührt. 1,2-Dichlorethan (30 mL) und **13** (2,88 g, 12,8 mmol) wurden hinzugegeben und die Suspension bei 110 °C für 6 h unter Rückfluss erhitzt. Die Reaktionslösung wurde in eine Lösung aus Natriumacetat Trihydrat (35,0 g, 257 mmol) in Eiswasser (75 g) gegeben und der resultierende Feststoff abfiltriert.

Ausbeute:

2,399 g (9,5 mmol, 74 % d. Th.)

Charakterisierung:

Summenformel: C₁₂H₉F₂NO₃ Molekulargewicht: 253,20 g/mol
 hellbrauner Feststoff

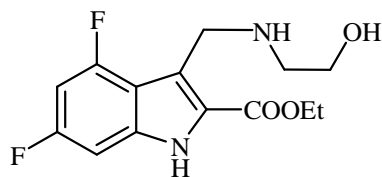
R_f: 0,40 (Petrolether/Ethylacetat, 2/1)

¹H-NMR (DMSO-d₆, 300 MHz):

10.53 (d, 1 H, *J* = 5.1 Hz), 7.12 (dd, 1 H, *J* = 2.1 Hz, *J* = 9.6 Hz), 7.06 (dt, 1 H, *J* = 2.1 Hz, *J* = 9.6 Hz), 4.42 (q, 2 H, *J* = 7.2 Hz), 1.37 (t, 3 H, *J* = 7.2 Hz)

MS (FD) *m/z* (% rel. Int.): 252.8 (100.0) [M⁺], 505.8 (3.4) [2 M⁺]

6.2.2.4 4,6-Difluor-3-[(2-hydroxyethylamino)-methyl]-1H-indol-2-carbonsäureethylester (15)



Ansatz:

14	1,213 g	4,8 mmol
2-Aminoethanol	293 mg	4,8 mmol
Natriumtriacetoxymborhydrid	1,159 g	5,5 mmol

2-Aminoethanol (293 mg, 4,8 mmol) wurde in Dichlormethan (5 mL) gelöst. Anschließend wurde eine Suspension von **14** (1,213 g, 4,8 mmol) in Dichlormethan (30 mL) innerhalb von 15 min hinzuge tropft und für 2 h bei RT gerührt. Im Anschluss wurde Natriumtriacetoxymborhydrid (1,159 g, 5,5 mmol) hinzugegeben und die Reaktionsmischung über Nacht bei RT gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von gesättigter NaHCO₃ (15 mL) beendet, der resultierende Feststoff abfiltriert und mit Wasser gewaschen. Das Rohprodukt wurde aus Ethanol umkristallisiert.

Ausbeute:

879 mg (2,95 mmol, 62 % d. Th.)

Charakterisierung:

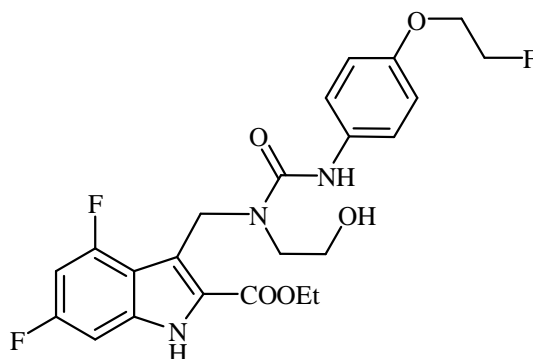
Summenformel: C₁₄H₁₆F₂N₂O₃ Molekulargewicht: 298,29 g/mol
weißer Feststoff

R_f: 0,58 (Petrolether/Ethylacetat, 1/5)

¹H-NMR (DMSO-d₆, 300 MHz):

12.04 (s, 1 H), 7.02 (dd, 1 H, *J* = 1.8 Hz, *J* = 9.9 Hz), 6.88 (dt, 1 H, *J* = 1.8 Hz, *J* = 9.9 Hz), 4.34 (q, 2 H, *J* = 6.9 Hz), 4.13 (s, 2 H), 3.40 (t, 2 H, *J* = 5.7 Hz), 2.52 (t, 2 H, *J* = 5.7 Hz), 1.35 (t, 3 H, *J* = 6.9 Hz)

6.2.2.5 4,6-Difluor-3-[3-[4-(2-fluorethoxy)-phenyl]-1-(2-hydroxyethyl)-ureidomethyl]-1*H*-indol-2-carbonsäureethylester (**16**)



Ansatz:

15	298 mg	1,0 mmol
67	186 mg	1,2 mmol
bis-Trichlormethylcarbonat	110 mg	0,37 mmol
DIPEA	2 × 187 µL	2 × 1,1 mmol

Bis-Trichlormethylcarbonat (110 mg, 0,37 mmol) wurde in Dichlormethan (4 mL) gelöst und auf -10 °C gekühlt. Eine Lösung aus **67** (186 mg, 1,2 mmol) und DIPEA (187 µL, 1,1 mmol) in Dichlormethan (4 mL) wurde innerhalb 30 min bei < 0 °C zugetropft. Nach beendeter Zugabe wurde die Reaktionslösung 30 min bei 0 °C gerührt, eine Lösung aus **15** (298 mg, 1,0 mmol) und DIPEA (187 µL, 1,1 mmol) in Dichlormethan (4 mL) hinzugegeben und für 1 h bei RT gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch (Petrolether/Ethylacetat, 1/4) aufgereinigt.

Ausbeute:

155 mg (0,32 mmol, 32 % d. Th.)

Charakterisierung:

Summenformel: C₂₃H₂₄Cl₂F₃N₃O₅
weißer Feststoff

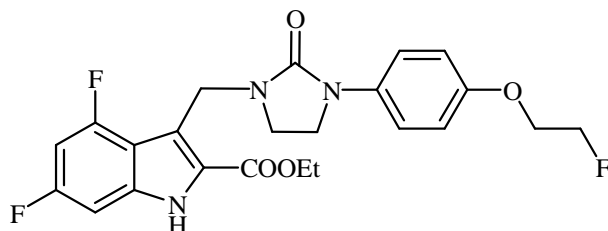
Molekulargewicht: 479,45 g/mol

R_f: 0,53 (Petrolether/Ethylacetat, 1/4)

¹H-NMR (DMSO-d₆, 300 MHz):

12.17 (s, 1 H), 8.64 (s, 1 H), 7.32 (d, 2 H, *J* = 8.7 Hz), 7.04 (d, 1 H, *J* = 9.6 Hz), 6.94 (t, 1 H, *J* = 9.6 Hz), 6.86 (d, 2 H, *J* = 8.7 Hz), 5.06 (s, 2 H), 5.04 (s, 1 H), 4.79 (t, 1 H, *J* = 3.6 Hz), 4.63 (t, 1 H, *J* = 3.6 Hz), 4.36 (q, 2 H, *J* = 6.9 Hz), 4.22 (t, 1 H, *J* = 3.6 Hz), 4.12 (t, 1 H, *J* = 3.6 Hz), 3.22 (s, 4 H), 1.34 (t, 3 H, *J* = 6.9 Hz)

6.2.2.6 4,6-Difluor-3-{3-[4-(2-fluorethoxy)-phenyl]-2-oxo-imidazolidin-1-ylmethyl}-1*H*-indol-2-carbonsäureethylester (17)



Ansatz:

16	126 mg	0,26 mmol
4-Toluolsulfonylchlorid	58 mg	0,31 mmol
Kalium-tert.butoxid	72 mg	0,62 mmol

16 (126 mg, 0,26 mmol) wurde zusammen mit Kalium-tert.-butoxid (72 mg, 0,62 mmol) in THF (4 mL) gelöst und auf 0 °C gekühlt. Im Anschluss wurde eine Lösung aus 4-Toluolsulfonylchlorid (58 mg, 0,31 mmol) in THF (1 mL) tropfenweise innerhalb 25 min hinzugegeben und für 10 min gerührt. Im Anschluss wurde Wasser (5 mL) hinzugegeben und das THF im Vakuum entfernt. Der resultierende Feststoff wurde mit Ethylacetat (4 × 15 mL) extrahiert. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet, abfiltriert, im Vakuum eingeengt und säulenchromatographisch (Petrolether/Ethylacetat, 1/1) aufgereinigt.

Ausbeute:

84 mg (0,18 mmol, 69 % d. Th.)

Charakterisierung:

Summenformel: C₂₃H₂₂F₃N₃O₄ Molekulargewicht: 461,43 g/mol
weißer Feststoff

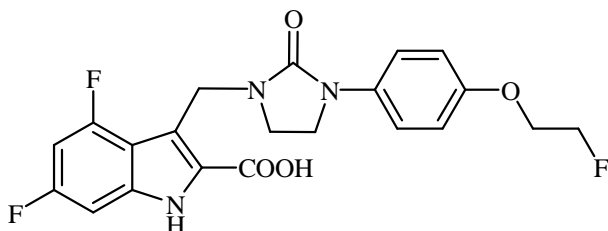
R_f: 0,48 (Petrolether/Ethylacetat, 1/1)

¹H-NMR (DMSO-d₆, 300 MHz):

12.23 (s, 1 H), 7.65 (d, 2 H, *J* = 9.0 Hz), 7.04 (dd, 1 H, *J* = 2.1 Hz, *J* = 9.0 Hz), 6.93 (d, 2 H, *J* = 9.0 Hz), 6.90 (dt, 1 H, *J* = 2.1 Hz, *J* = 9.0 Hz), 4.87 (s, 2 H), 4.79 (t, 1 H, *J* = 3.6 Hz), 6.63 (t, 1 H, *J* = 3.6 Hz), 4.37 (q, 2 H, *J* = 6.9 Hz), 4.23 (t, 1 H, *J* = 3.6 Hz), 4.13 (t, 1 H, *J* = 3.6 Hz), 3.64 (t, 2 H, *J* = 7.8 Hz), 3.18 (t, 2 H, *J* = 7.8 Hz), 1.34 (t, 3 H, *J* = 6.9 Hz)

MS (FD) *m/z* (% rel. Int.): 461.2 (100.0) [M⁺], 922.4 (2.0) [2 M⁺]

6.2.2.7 4,6-Difluor-3-{3-[4-(2-fluorethoxy)-phenyl]-2-oxo-imidazolidin-1-ylmethyl}-1*H*-indol-2-carbonsäure (18)



Ansatz:

17	60 mg	0,13 mmol
NaOH-Lsg., 2 M	250 μ L	0,5 mmol

17 (60 mg, 0,13 mmol) wurde in einer Mischung aus THF und Wasser (15 mL, 2/1) gelöst, mit 2 M NaOH (250 μ L) versetzt und über Nacht gerührt. Im Anschluss wurde Wasser (2 mL) hinzugegeben und das THF im Vakuum entfernt. Das Produkt wurde mit 1 M HCl (500 μ L) ausgefällt, abfiltriert und mit Wasser gewaschen.

Ausbeute:

39 mg (0,09 mmol, 69 % d. Th.)

Charakterisierung:

Summenformel: C₂₁H₁₈F₃N₃O₄ Molekulargewicht: 433,38 g/mol
 hellgelber Feststoff

R_f: 0,45 (Petrolether/Ethylacetat, 1/1 + 3 % Ameisensäure)

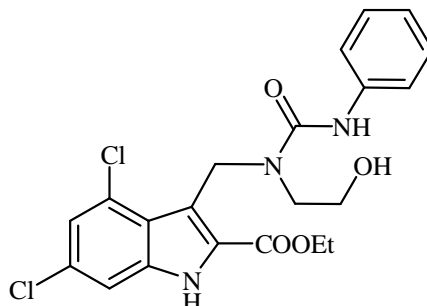
¹H-NMR (DMSO-d₆, 300 MHz):

12.24 (s, 1 H), 7.63 (d, 2 H, *J* = 8.7 Hz), 7.04 (dd, 1 H, *J* = 2.1 Hz, *J* = 8.7 Hz), 6.91 (d, 2 H, *J* = 8.7 Hz), 6.92 (dt, 1 H, *J* = 2.1 Hz, *J* = 8.7 Hz), 4.89 (s, 2 H), 4.79 (t, 1 H, *J* = 3.6 Hz), 6.64 (t, 1 H, *J* = 3.6 Hz), 4.25 (t, 1 H, *J* = 3.6 Hz), 4.16 (t, 1 H, *J* = 3.6 Hz), 3.66 (t, 2 H, *J* = 7.8 Hz), 3.19 (t, 2 H, *J* = 7.8 Hz)

MS (FD) *m/z* (% rel. Int.): 433.1 (100.0) [M⁺], 867.1 (1.6) [2 M⁺]

6.2.3 Synthese der Modellverbindungen (unsubstituierte Derivate)

6.2.3.1 4,6-Dichlor-3-[1-(2-hydroxyethyl)-3-phenylureidomethyl]-1H-indol-2-carbonsäure-ethylester (19)



Ansatz:

5	1,144 g	4,0 mmol
2-Aminoethanol	244 mg	4,0 mmol
Natriumtriacetoxyborhydrid	969 mg	4,6 mmol
Phenylisocyanat	476 mg	4,0 mmol

2-Aminoethanol (244 mg, 4,0 mmol) wurde in Dichlormethan (4 mL) gelöst. Eine Suspension aus **5** (1,144 g, 4,0 mmol) in Dichlormethan (20 mL) wurde tropfenweise hinzugegeben und nach beendeter Zugabe für 2 h bei RT gerührt. Im Anschluss wurde Natriumtriacetoxyborhydrid (969 mg, 4,6 mmol) hinzugegeben und über Nacht bei RT gerührt. Anschließend wurde eine Lösung aus Phenylisocyanat (476 mg, 4,0 mmol) in Dichlormethan (5 mL) hinzugegeben und die Mischung für 3 h bei RT gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch (Petrolether/Ethylacetat, 1/1) aufgereinigt.

Ausbeute:

836 mg (1,86 mmol, 47 % d. Th.)

Charakterisierung:

Summenformel: C₂₁H₂₁Cl₂N₃O₄ Molekulargewicht: 450,32 g/mol
weiße Kristalle

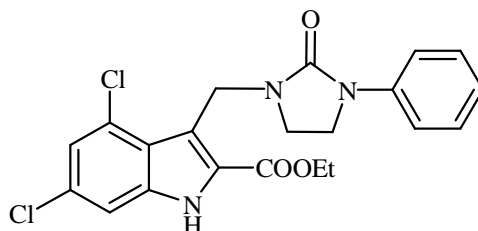
R_f: 0,42 (Petrolether/Ethylacetat, 1/1)

¹H-NMR (DMSO-d₆, 300 MHz):

δ (ppm) = 12.34 (s, 1 H), 8.96 (s, 1 H), 7.47 (d, 1 H, J = 1.2 Hz), 7.39 (d, 2 H, J = 7.5 Hz), 7.26 – 7.20 (m, 3 H), 6.91 (t, 1 H, J = 7.5 Hz), 5.16 (s, 3 H), 4.38 (q, 2 H, J = 7.2 Hz), 3.22 (t, 2 H, J = 5.1 Hz), 3.08 (t, 2 H, J = 5.1 Hz), 1.34 (t, 3 H, J = 7.2 Hz)

MS (FD) m/z (% rel. Int.): 224.7 (2.2) [M²⁺], 449.1 (100.0) [M⁺], 898.3 (1.2) [2 M⁺]

6.2.3.2 4,6-Dichlor-3-(2-oxo-3-phenylimidazolidin-1-ylmethyl)-1H-indol-2-carbonsäureethylester (20)



Ansatz:

19	400 mg	0,89 mmol
Kalium-tert.-butoxid	239 mg	2,13 mmol
4-Toluolsulfonsäurechlorid	228 mg	1,07 mmol

19 (400 mg, 0,89 mmol) und Kalium-tert.-butoxid (239 mg, 2,13 mmol) wurden in THF (5 mL) gelöst und im Eisbad auf 0 °C gekühlt. Eine Lösung aus 4-Toluolsulfonsäurechlorid (228 mg, 1,07 mmol) in THF (1,25 mL) wurde innerhalb 30 min zugetropft und die Reaktion für 10 min bei 0 °C gerührt. Im Anschluss wurde Wasser (10 mL) hinzugegeben und das THF im Vakuum entfernt. Die wässrige Phase wurde mit Ethylacetat (3 × 15 mL) extrahiert und die organische Phase mit Wasser (15 mL) gewaschen. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet, abfiltriert, im Vakuum eingedunstet und das Rohprodukt säulenchromatographisch (Petrolether/Ethylacetat, 1/1) aufgereinigt.

Ausbeute:

229 mg (0,53 mmol, 60 % d. Th.)

Charakterisierung:

Summenformel: C₂₁H₁₉Cl₂N₃O₃ Molekulargewicht: 432,30 g/mol
gelbe Kristalle

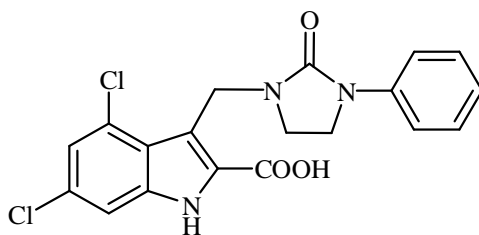
R_f: 0,82 (Petrolether/Ethylacetat, 1/1)

¹H-NMR (DMSO-d₆, 300 MHz):

δ (ppm) = 12.37 (s, 1 H), 7.55 (d, 2 H, J = 7.8 Hz), 7.47 (s, 1 H), 7.30 (t, 2 H, J = 7.8 Hz), 7.22 (s, 1 H), 6.98 (t, 1 H, J = 7.8 Hz), 5.05 (s, 2 H), 4.39 (q, 2 H, J = 7.2 Hz), 3.66 (t, 2 H, J = 7.8 Hz), 3.16 (t, 2 H, J = 7.8 Hz), 1.36 (t, 3 H, J = 7.2 Hz)

MS (FD) m/z (% rel. Int.): 431.2 (100.0) [M⁺-H], 864.3 (2.9) [2 M⁺]

6.2.3.3 4,6-Dichlor-3-(2-oxo-3-phenylimidazolidin-1-ylmethyl)-1H-indol-2-carbonsäure (21)



Ansatz:

20	120 mg	0,28 mmol
NaOH-Lsg., 2 M	2,2 mL	4,4 mmol

20 (120 mg, 0,28 mmol) wurde in einer Mischung aus THF und Wasser (21 mL, 2/1) gelöst, mit 2 M NaOH (2,2 mL) versetzt und über Nacht bei RT gerührt. Im Anschluss wurde die Reaktionslösung erneut mit 2 M NaOH (200 µL) versetzt und für 6 h auf 40 °C erwärmt. Im Anschluss wurde Wasser (5 mL) hinzugegeben und das THF im Vakuum entfernt. Durch Zugabe von 1 M HCl (2 mL) wurde das Produkt ausgefällt. Die resultierenden Kristalle wurden abfiltriert und mit Wasser gewaschen.

Ausbeute:

98 mg (0,24 mmol, 86 % d. Th.)

Charakterisierung:

Summenformel: C₁₉H₁₅Cl₂N₃O₃ Molekulargewicht: 404,25 g/mol
weißer Feststoff

R_f: 0,60 (Petrolether/Ethylacetat, 1/1 + 3 % Ameisensäure)

¹H-NMR (DMSO-d₆, 300 MHz):

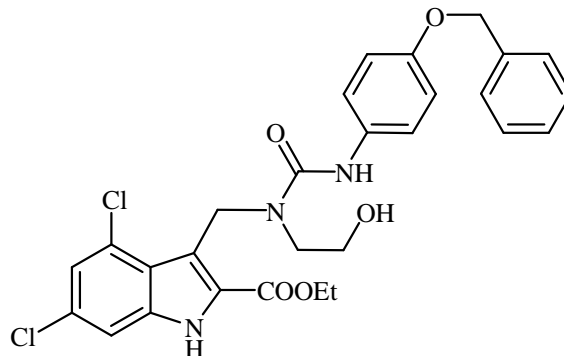
δ (ppm) = 12.52 (s, 1 H), 7.55 (d, 2 H, *J* = 7.8 Hz), 7.44 (d, 1 H, *J* = 2.1 Hz), 7.29 (t, 2 H, *J* = 7.8 Hz), 7.17 (d, 1 H, *J* = 2.1 Hz), 6.97 (t, 1 H, *J* = 7.8 Hz), 5.07 (s, 2 H), 3.66 (t, 2 H, *J* = 7.8 Hz), 3.15 (t, 2 H, *J* = 7.8 Hz)

¹³C-NMR (DMSO-d₆, 75.5 MHz):

δ (ppm) = 162.71, 156.74, 140.95, 137.30, 129.57, 128.78, 128.68, 127.41, 122.91, 121.65, 121.00, 116.96, 114.65, 111.37, 42.02, 40.53, 37.19

MS (FD) *m/z* (% rel. Int.): 201.6 (1.7) [M²⁺], 403.0 (100.0) [M⁺]

6.2.4 Synthesen des Markierungsvorläufers

 6.2.4.1 3-[3-(4-Benzyloxyphenyl)-1-(2-hydroxyethyl)-ureidomethyl]-4,6-dichlor-1H-indol-2-carbonsäureethylester (22)

Ansatz:

bis-Trichlormethylcarbonat	110 mg	0,37 mmol
4-Benzyloxyanilin Hydrochlorid	258 mg	1,1 mmol
DIPEA	3 × 187 µL	3 × 1,1 mmol
<u>5</u>	331 mg	1,0 mmol

Bis-Trichlormethylcarbonat (110 mg, 0,37 mmol) wurde in Dichlormethan (4 mL) gelöst und auf 0 °C gekühlt. Zu dieser Lösung wurde innerhalb 30 min eine Lösung aus 4-Benzyloxyanilin Hydrochlorid (258 mg, 1,1 mmol) und DIPEA (374 µL, 2,2 mmol) in Dichlormethan (4 mL) hinzugegeben. Nach beendeter Zugabe wurde 30 min bei 0 °C gerührt und anschließend eine Lösung aus 5 (331 mg, 1,0 mmol) und DIPEA (187 µL, 1,1 mmol) in Dichlormethan (5 mL) hinzugegeben. Die Reaktion wurde bei RT für 1 h fortgesetzt. Der in der Kälte auskristallisierte Feststoff wurde abfiltriert und mit kaltem Dichlormethan und Wasser gewaschen.

Ausbeute:

414 mg (0,74 mmol, 74 % d. Th.)

Charakterisierung:

Summenformel: C₂₈H₂₇Cl₂N₃O₅ Molekulargewicht: 556,44 g/mol
weißer Feststoff

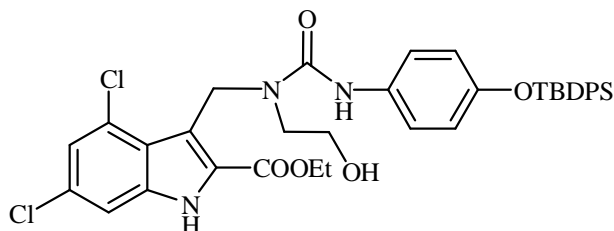
R_f: 0,37 (Petrolether/Ethylacetat, 2/3)

¹H-NMR (DMSO-d₆, 300 MHz):

δ (ppm) = 12.34 (s, 1 H), 8.73 (s, 1 H), 7.47 (d, 1 H, *J* = 1.2 Hz), 7.44 – 7.28 (m, 7 H), 7.23 (d, 1 H, *J* = 1.2 Hz), 6.90 (d, 2 H, *J* = 8.7 Hz), 5.14 (s, 2 H), 5.04 (s, 3 H), 4.38 (q, 2 H, *J* = 7.2 Hz), 3.18 (t, 2 H, *J* = 4.8 Hz), 3.08 (t, 2 H, *J* = 4.8 Hz), 1.34 (t, 3 H, *J* = 7.2 Hz)

MS (FD) *m/z* (% rel. Int.): 554.6 (100.0) [M⁺]

6.2.4.2 3-[3-[4-(tert.-Butyldiphenylsilyloxy)-phenyl]-1-(2-hydroxyethyl)-ureidomethyl]-4,6-dichlor-1*H*-indol-2-carbonsäureethylester (**23**)



Ansatz:

bis-Trichlormethylcarbonat	110 mg	0,37 mmol
5	311 mg	1,0 mmol
68	382 mg	1,1 mmol
DIPEA	2 x 187 μ L	(2 x 1,1 mmol)

Bis-Trichlormethylcarbonat (110 mg, 0,37 mmol) wurde in Dichlormethan (4 mL) gelöst und auf 0 °C gekühlt. Zu dieser Lösung wurde innerhalb 30 min eine Lösung aus **68** (382 mg, 1,1 mmol) und DIPEA (187 μ L, 1,1 mmol) in Dichlormethan (4 mL) hinzugegeben. Nach beendeter Zugabe wurde 30 min bei 0 °C gerührt und anschließend eine Lösung aus **5** (331 mg, 1,0 mmol) und DIPEA (187 μ L, 1,1 mmol) in Dichlormethan (5 mL) hinzugegeben. Die Reaktion wurde bei RT für 1 h fortgesetzt. Im Anschluss wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch (Petrolether/Ethylacetat, 2/3) aufgereinigt.

Ausbeute:

472 mg (0,67 mmol, 67 % d. Th.)

Charakterisierung:

Summenformel: C₃₇H₃₉Cl₂N₃O₅Si
weißer Feststoff

Molekulargewicht: 704,71 g/mol

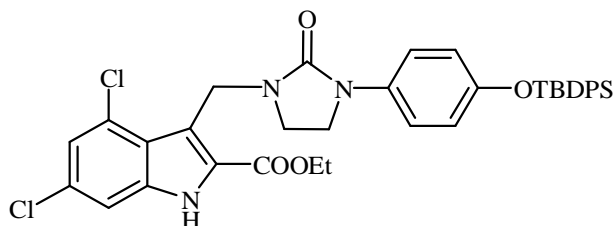
R_f: 0,75 (Petrolether/Ethylacetat, 2/3)

¹H-NMR (DMSO-d₆, 300 MHz):

δ (ppm) = 12.32 (s, 1 H), 8.68 (s, 1 H), 7.67 (dd, 4 H, $J = 1.5$ Hz, $J = 5.4$ Hz), 7.48 – 7.41 (m, 7 H), 7.21 (d, 1 H, $J = 1.5$ Hz), 7.12 (d, 2 H, $J = 9.0$ Hz), 6.62 (d, 2 H, $J = 9.0$ Hz), 5.10 (s, 2 H), 5.01 (t, 1 H, $J = 4.2$ Hz), 4.36 (q, 2 H, $J = 7.2$ Hz), 3.33 (s, 4 H), 3.14 (t, 2 H, $J = 4.8$ Hz), 3.05 (t, 2 H, $J = 4.8$ Hz), 1.32 (t, 3 H, $J = 7.2$ Hz), 1.03 (s, 9 H)

MS (FD) m/z (% rel. Int.): 703.1 (100.0) [M⁺]

6.2.4.3 3-{3-[4-(tert.-Butyldiphenylsilyloxy)-phenyl]-2-oxo-imidazolidin-1-ylmethyl}-4,6-dichlor-1*H*-indol-2-carbonsäureethylester (24)



Ansatz:

23	411 mg	0,58 mmol
Kalium-tert.-butoxid	156 mg	1,39 mmol
4-Toluolsulfonsäurechlorid	133 mg	0,70 mmol

23 (411 mg, 0,58 mmol) wurde in THF (5 mL) gelöst und im Eisbad auf 0 °C gekühlt. Anschließend wurde eine Lösung aus Kalium-tert.-butoxid (156 mg, 1,39 mmol) in THF (4 mL) hinzugegeben. Im Anschluss wurde innerhalb 30 min eine Lösung aus 4-Toluolsulfonsäurechlorid (133 mg, 0,70 mmol) in THF (3 mL) hinzugegeben und anschließend für 10 min bei 0 °C gerührt. Im Anschluss wurde Wasser (8 mL) hinzugegeben und das THF im Vakuum entfernt. Die wässrige Phase mit Ethylacetat (3 × 25 mL) extrahiert. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet, abfiltriert, im Vakuum eingengt und das Rohprodukt säulenchromatographisch (Petrolether/Ethylacetat, 1/1) aufgereinigt.

Ausbeute:

105 mg (0,15 mmol, 26 % d.Th.)

Charakterisierung:

Summenformel: C₃₇H₃₇Cl₂N₃O₄
weißer Feststoff

Molekulargewicht: 686,70 g/mol

R_f: 0,53 (Petrolether/Ethylacetat, 2/1)

¹H-NMR (DMSO-d₆, 300 MHz):

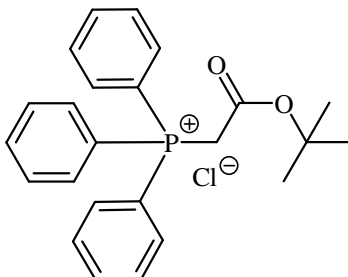
δ (ppm) = 12.30 (s, 1 H), 7.67 (dd, 4 H, *J* = 1.5 Hz, *J* = 5.4 Hz), 7.45 – 7.40 (m, 7 H), 7.22 (d, 1 H, *J* = 1.5 Hz), 7.14 (d, 2 H, *J* = 9.0 Hz), 6.64 (d, 2 H, *J* = 9.0 Hz), 5.10 (s, 2 H), 5.01 (t, 1 H, *J* = 4.2 Hz), 4.36 (q, 2 H, *J* = 7.2 Hz), 3.33 (s, 4 H), 3.74 (t, 2 H, *J* = 4.8 Hz), 3.06 (t, 2 H, *J* = 4.8 Hz), 1.32 (t, 3 H, *J* = 7.2 Hz), 1.03 (s, 9 H)

MS (FD) *m/z* (% rel. Int.): 684.9 (100.0 %) [M⁺]

6.3 Synthese der Derivate des GV150526

6.3.1 Synthese der Dichlorderivate

6.3.1.1 tert.-Butoxycarbonylmethyltriphenylphosphoniumchlorid (25)



Ansatz:

Triphenylphosphin	4,72 g	18 mmol
Chloressigsäure-tert.-butylester	2,49 g	16 mmol

Triphenylphosphin (4,72 g, 18 mmol) und Chloressigsäure-tert.-butylester (2,49 g, 16 mmol) wurden in Benzol (20 mL) gelöst und unter Rückfluss für 48 h erhitzt. Der entstandene Feststoff wurde abfiltriert und mit kaltem Benzol gewaschen. Das Filtrat wurde weitere 48 h unter Rückfluss erhitzt und der entstandene Feststoff auf demselben Weg aufgearbeitet. Das Produkt wurde für die weitere Synthese direkt eingesetzt.

Ausbeute:

6,07 g (14,7 mmol, 92 % d. Th.)

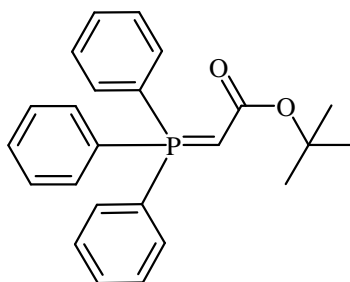
Charakterisierung:

Summenformel: $C_{24}H_{26}ClO_2P$ Molekulargewicht: 412,89 g/mol
weißer Feststoff

1H -NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz):

δ (ppm) = 7.92 – 7.73 (m, 15 H), 5.30 (d, 2 H, $J = 15.0$ Hz), 3.35 (s, 2 H), 1.14 (s, 9 H)

6.3.1.2 (Triphenyl- λ^5 -phosphanyliden)-essigsäure-tert.-butylester (26)



Ansatz:

25	6,07 g	14,7 mmol
NaOH	0,6 g	15,0 mmol

25 (6,07 g, 14,7 mmol) wurde in Wasser (90 mL) gelöst und auf 4 °C gekühlt. Hierzu wurde unter starkem Rühren eine Lösung aus NaOH (0,6 g, 15,0 mmol) in Wasser (20 mL) hinzugegeben. Der entstandene Feststoff wurde abfiltriert und mit kaltem Wasser gewaschen.

Ausbeute:

5,36 g (14,2 mmol, 97 % d. Th.)

Charakterisierung:

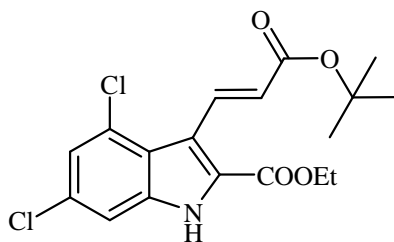
Summenformel: C₂₄H₂₅O₂P Molekulargewicht: 376,43 g/mol

weißer Feststoff

¹H-NMR (CDCl₃, 300 MHz):

δ (ppm) = 7.65 – 7.40 (m, 15 H), 2.65 (s, 1 H), 1.19 (s, 9 H)

6.3.1.3 (E)-3-(2-tert.-Butoxycarbonylvinyl)-4,6-dichlor-1H-indol-2-carbonsäureethylester (27)



Ansatz:

26	5,2 g	15,0 mmol
4	3,3 g	11,6 mmol

26 (5,2 g, 15,0 mmol) und **4** (3,3 g, 11,6 mmol) wurden in einer Mischung aus Dioxan (30 mL) und Acetonitril (30 mL) gelöst und für 7 h auf 70 °C erhitzt. Im Anschluss wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch (Cyclohexan/Ethylacetat, 1/1) aufgereinigt.

Ausbeute:

3,76 g (9,8 mmol, 84 % d. Th.)

Charakterisierung:

Summenformel: C₁₈H₁₉Cl₂NO₄ Molekulargewicht: 384,25 g/mol

hellgelber Feststoff

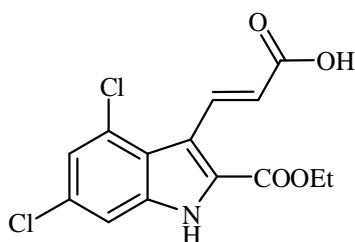
R_f: 0,77 (Cyclohexan/Ethylacetat, 1/1)

¹H-NMR (DMSO-d₆, 300 MHz):

12.62 (s, 1 H), 8.26 (d, 1 H, *J* = 16.2 Hz), 7.48 (s, 1 H), 7.29 (s, 1 H), 6.46 (d, 1 H, *J* = 16.2 Hz), 4.36 (q, 2 H, *J* = 6.9 Hz), 1.48 (s, 9 H), 1.35 (t, 3 H, *J* = 6.9 Hz)

MS (FD) *m/z* (% rel. Int.): 382.8 (100.0) [M⁺], 767.6 (0.7) [2 M⁺]

6.3.1.4 (E)-3-(2-Carboxyvinyl)-4,6-dichlor-1H-indol-2-carbonsäureethylester (28)



Ansatz:

27	250 mg	0,65 mmol
Ameisensäure	30 mL	

27 (250 mg, 0,65 mmol) wurde in Ameisensäure (30 mL) suspendiert und 1 h bei RT gerührt. Anschließend wurde die Ameisensäure im Vakuum eingengt, der Feststoff abfiltriert und mit Wasser gewaschen.

Ausbeute:

166 mg (0,51 mmol, 79 % d. Th.)

Charakterisierung:

Summenformel: C₁₄H₁₁Cl₂NO₄

Molekulargewicht: 328,15 g/mol

hellgelber Feststoff

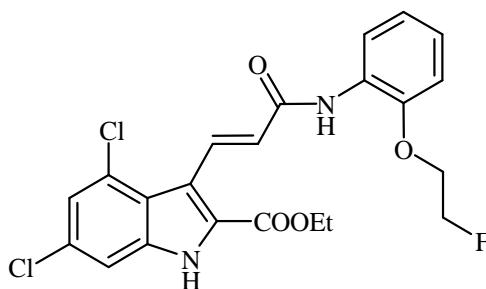
R_f: 0,60 (Cyclohexan/Ethylacetat, 1/1 + 3 % Ameisensäure)

¹H-NMR (DMSO-d₆, 300 MHz):

12.63 (s, 1 H), 12.38 (s, 1 H), 8.26 (d, 1 H, *J* = 16.2 Hz), 7.49 (s, 1 H), 7.30 (s, 1 H), 6.43 (d, 1 H, *J* = 16.2 Hz), 4.36 (q, 2 H, *J* = 6.9 Hz), 1.34 (t, 3 H, *J* = 6.9 Hz)

MS (FD) *m/z* (% rel. Int.): 326.8 (100.0) [M⁺]

6.3.1.5 (E)-4,6-Dichlor-3-{2-[2-(2-fluorethoxy)-phenylcarbamoyl]-vinyl}-1H-indol-2-carbonsäure-ethylester (29)



Ansatz:

28	280 mg	0,85 mmol
2,2'-Dithiodipyridin	267 mg	1,2 mmol
Triphenylphosphin	317 mg	1,2 mmol
65	230 mg	1,2 mmol
DIPEA	204 μ L	1,2 mmol

28 (280 mg, 0,85 mmol) wurde in DMF (18 mL) gelöst und portionsweise mit 2,2'-Dithiodipyridin (267 mg, 1,2 mmol) und Triphenylphosphin (317 mg, 1,2 mmol) innerhalb 45 min versetzt. Nach beendeter Zugabe wurde die Lösung für 2 h bei RT gerührt, mit einer Lösung aus **65** (230 mg, 1,2 mmol) und DIPEA (204 μ L, 1,2 mmol) in DMF (2 mL) versetzt und für 15 h auf 80 °C erhitzt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt, der Rückstand mit Diethylether (20 mL) versetzt und für 10 min im Ultraschallbad behandelt. Der Feststoff wurde abfiltriert und erneut mit Diethylether versetzt. Dieses Verfahren wurde dreimal wiederholt.

Ausbeute:

264 mg (0,57 mmol, 67 % d. Th.)

Charakterisierung:

Summenformel: C₂₂H₁₉Cl₂FN₂O₄

Molekulargewicht: 465,30 g/mol

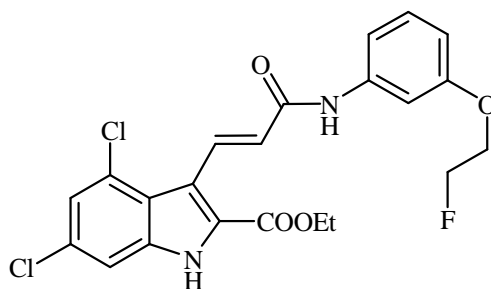
hellgelber Feststoff

R_f: 0,57 (Cyclohexan/Ethylacetat, 1/1 + 3 % Ameisensäure)

¹H-NMR (DMSO-d₆, 300 MHz):

δ (ppm) = 12.59 (s, 1 H), 9.23 (s, 1 H), 8.17 (d, 1 H, J = 15.6 Hz), 8.09 (d, 1 H, J = 7.5 Hz), 7.50 (s, 1 H), 7.31 (s, 1 H), 7.08 (d, 2 H, 4.2 Hz), 6.97 (q, 1 H, J = 4.2 Hz), 6.92 (d, 1 H, J = 15.6 Hz), 4.86 (t, 1 H, J = 3.6 Hz), 4.71 (t, 1 H, J = 3.6 Hz), 4.37 (q, 2 H, J = 6.9 Hz), 4.36 (t, 1 H, J = 3.6 Hz), 4.25 (t, 1 H, J = 3.6 Hz), 1.34 (t, 3 H, J = 6.9 Hz)

6.3.1.6 (E)-4,6-Dichlor-3-{2-[3-(2-fluorethoxy)-phenyl]carbamoyl}-vinyl}-1*H*-indol-2-carbonsäure-ethylester (**30**)



Ansatz:

28	280 mg	0,85 mmol
2,2'-Dithiodipyridin	267 mg	1,2 mmol
Triphenylphosphin	317 mg	1,2 mmol
66	186 mg	1,2 mmol

28 (280 mg, 0,85 mmol) wurde in DMF (18 mL) gelöst und portionsweise mit 2,2'-Dithiodipyridin (267 mg, 1,2 mmol) und Triphenylphosphin (317 mg, 1,2 mmol) innerhalb 45 min versetzt. Nach beendeter Zugabe wurde die Lösung für 2 h bei RT gerührt, mit einer Lösung aus **66** (186 mg, 1,2 mmol) in DMF (2 mL) versetzt und für 15 h auf 80 °C erhitzt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt, das Rohprodukt in Ethylacetat (70 mL) aufgenommen und mit Wasser (3 x 20 mL) gewaschen. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet, abfiltriert und im Vakuum entfernt. Der resultierende Feststoff wurde aus Ethylacetat umkristallisiert.

Ausbeute:

291 mg (0,63 mmol, 74 % d. Th.)

Charakterisierung:

Summenformel: C₂₂H₁₉Cl₂FN₂O₄

Molekulargewicht: 465,30 g/mol

weißer Feststoff

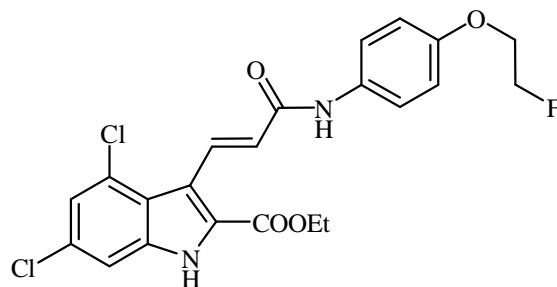
R_f: 0,75 (Petrolether/Ethylacetat, 1/2)

¹H-NMR (DMSO-d₆, 300 MHz):

δ (ppm) = 12.60 (s, 1 H), 10.21 (s, 1 H), 8.26 (d, 1 H, *J* = 15.6 Hz), 7.50 (s, 2 H), 7.32 (s, 1 H), 7.23 (d, 2 H, *J* = 4.8 Hz), 6.77 (d, 1 H, 15.6 Hz), 6.67 (q, 1 H, *J* = 4.8 Hz), 4.82 (t, 1 H, *J* = 3.6 Hz), 4.66 (t, 1 H, *J* = 3.6 Hz), 4.38 (q, 2 H, *J* = 6.9 Hz), 4.25 (t, 1 H, *J* = 3.6 Hz), 4.15 (t, 1 H, *J* = 3.6 Hz), 1.35 (t, 3 H, *J* = 6.9 Hz)

MS (FD) *m/z* (% rel. Int.): 464.4 (100.0) [M⁺]

6.3.1.7 (E)-4,6-Dichlor-3-{2-[4-(2-fluorethoxy)-phenylcarbamoyl]-vinyl}-1*H*-indol-2-carbonsäure-ethylester (31)



Ansatz:

28	280 mg	0,85 mmol
2,2'-Dithiodipyridin	267 mg	1,2 mmol
Triphenylphosphin	317 mg	1,2 mmol
67	186 mg	1,2 mmol

28 (280 mg, 0,85 mmol) wurde in DMF (18 mL) gelöst und portionsweise mit 2,2'-Dithiodipyridin (267 mg, 1,2 mmol) und Triphenylphosphin (317 mg, 1,2 mmol) innerhalb 45 min versetzt. Nach beendeter Zugabe wurde die Lösung für 2 h bei RT gerührt, mit einer Lösung aus **67** (186 mg, 1,2 mmol) in DMF (2 mL) versetzt und für 15 h auf 80 °C erhitzt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt, das Rohprodukt in Ethylacetat (70 mL) aufgenommen und mit Wasser (3 x 20 mL) gewaschen. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet, abfiltriert und im Vakuum entfernt. Der resultierende Feststoff wurde aus Ethylacetat umkristallisiert.

Ausbeute:

273 mg (0,59 mmol, 69 % d. Th.)

Charakterisierung:

Summenformel: C₂₂H₁₉Cl₂FN₂O₄

Molekulargewicht: 465,30 g/mol

weißer Feststoff

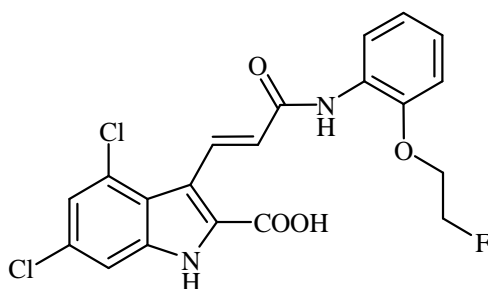
R_f: 0,55 (Cyclohexan/Ethylacetat, 1/1 + 3 % Ameisensäure)

¹H-NMR (DMSO-d₆, 300 MHz):

δ (ppm) = 12.58 (s, 1 H), 10.10 (s, 1 H), 8.22 (d, 1 H, *J* = 15.6 Hz), 7.64 (d, 2 H, *J* = 9.0 Hz), 7.50 (s, 1 H), 7.31 (s, 1 H), 6.93 (d, 2 H, 9.0 Hz), 6.62 (d, 2 H, *J* = 9.0 Hz), 6.74 (d, 1 H, *J* = 15.6 Hz), 4.80 (t, 1 H, *J* = 3.6 Hz), 4.64 (t, 1 H, *J* = 3.6 Hz), 4.38 (q, 2 H, *J* = 6.9 Hz), 4.24 (t, 1 H, *J* = 3.6 Hz), 4.14 (t, 1 H, *J* = 3.6 Hz), 1.35 (t, 3 H, *J* = 6.9 Hz)

MS (FD) *m/z* (% rel. Int.): 232.0 (1.4) [M²⁺], 464.3 (100.0) [M⁺]

6.3.1.8 (E)-4,6-Dichlor-3-{2-[2-(2-fluorethoxy)-phenyl]carbamoyl]-vinyl}-1H-indol-2-carbonsäure (32)



Ansatz:

29	115 mg	0,25 mmol
NaOH-Lsg., 10 %-ig	1 mL	

29 (115 mg, 0,25 mmol) wurde in THF (8 mL) gelöst und mit Wasser (4 mL) versetzt. Im Anschluss wurde 10 %-ige NaOH (1 mL) hinzugegeben bei 50 °C für 12 h gerührt. Anschließend wurde das THF im Vakuum entfernt und die wässrige Phase mit 1 M HCl-Lösung bis pH 6 angesäuert. Der resultierende Feststoff wurde abfiltriert und mit Wasser gewaschen.

Ausbeute:

83 mg (0,19 mmol, 76 % d. Th.)

Charakterisierung:

Summenformel: C₂₂H₁₉Cl₂FN₂O₄

Molekulargewicht: 437,25 g/mol

hellgelber Feststoff

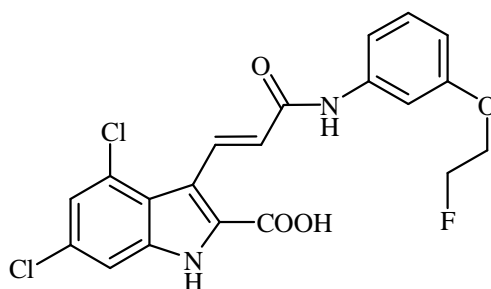
R_f: 0,37 (Cyclohexan/Ethylacetat, 1/1 + 3 % Ameisensäure)

¹H-NMR (DMSO-d₆, 300 MHz):

12.07 (bs, 1 H), 8.88 (s, 1 H), 8.51 (d, 1 H, *J* = 15.6 Hz), 8.14 (d, 1 H, *J* = 7.8 Hz), 7.44 (s, 1 H), 7.16 (t, 2 H, *J* = 7.8 Hz), 7.05 (m, 2 H), 6.96 (m, 2 H), 4.87 (t, 1 H, *J* = 3.6 Hz), 4.71 (t, 1 H, *J* = 3.6 Hz), 4.35 (t, 1 H, *J* = 3.6 Hz), 4.25 (t, 1 H, *J* = 3.6 Hz)

MS (FD) *m/z* (% rel. Int.): 218.0 (0.53) [M²⁺], 436.3 (100.0) [M⁺]

6.3.1.9 (E)-4,6-Dichlor-3-{2-[3-(2-fluorethoxy)-phenylcarbamoyl]-vinyl}-1H-indol-2-carbonsäure (33)



Ansatz:

30	281 mg	0,6 mmol
NaOH-Lsg., 2 M	0,65 mL	

30 (281 mg, 0,6 mmol) wurde in THF (32 mL) gelöst und mit Wasser (16 mL) versetzt. Im Anschluss wurde die Lösung mit 2 M NaOH (0,65 mL) versetzt und bei 50 °C für 12 h gerührt. Anschließend wurde das THF im Vakuum entfernt und die wässrige Phase mit 1 M HCl bis pH 6 angesäuert. Der resultierende Feststoff wurde abfiltriert und mit Wasser gewaschen.

Ausbeute:

227 mg (0,52 mmol, 87 % d. Th.)

Charakterisierung:

Summenformel: C₂₂H₁₉Cl₂FN₂O₄

Molekulargewicht: 437,25 g/mol

weißer Feststoff

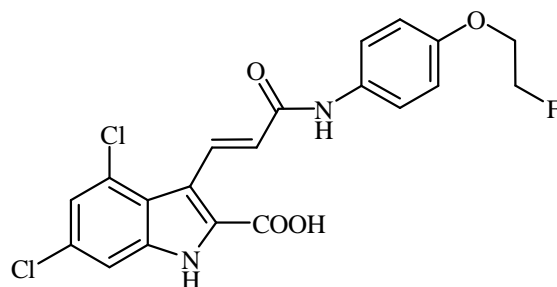
R_f: 0,62 (Petrolether/Ethylacetat, 1/2 + 3 % Ameisensäure)

¹H-NMR (DMSO-d₆, 300 MHz):

12.50 (bs, 1 H), 10.18 (s, 1 H), 8.32 (d, 1 H, *J* = 15.0 Hz), 7.49 (d, 2 H, *J* = 6.9 Hz), 7.29 (s, 1 H), 7.22 (d, 2 H, *J* = 6.9 Hz), 6.82 (d, 1 H, *J* = 15.0 Hz), 6.65 (m, 1 H), 4.82 (t, 1 H, *J* = 3.6 Hz), 4.66 (t, 1 H, *J* = 3.6), 4.25 (t, 1 H, *J* = 3.6 Hz), 4.15 (t, 1 H, *J* = 3.6 Hz)

MS (FD) *m/z* (% rel. Int.): 436.3 (100.0) [M⁺]

6.3.1.10 (E)-4,6-Dichlor-3-{2-[4-(2-fluorethoxy)-phenylcarbamoyl]-vinyl}-1H-indol-2-carbonsäure (**34**)



Ansatz:

31	273 mg	0,59 mmol
NaOH	47 mg	1,17 mmol

Zu **31** (273 mg, 0,59 mmol) wurde eine Lösung aus NaOH (47 mg, 1,17 mmol) in 2-Propanol (50 mL) gegeben. Die Suspension wurde für 18 h bei 50 °C erwärmt. Anschließend wurde die 2-Propanolphase mit 1 M HCl bis pH 6 angesäuert. Der resultierende Feststoff wurde abfiltriert und mit Wasser gewaschen.

Ausbeute:

220 mg (0,50 mmol, 85 % d. Th.)

Charakterisierung:

Summenformel: C₂₂H₁₉Cl₂FN₂O₄
weißer Feststoff

Molekulargewicht: 437,25 g/mol

R_f: 0,80 (Petrolether/Ethylacetat, 1/2 + 3 % Ameisensäure)

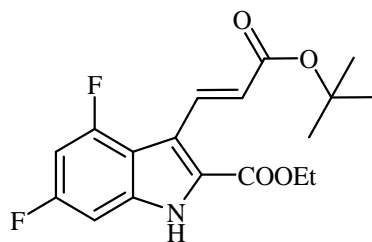
¹H-NMR (DMSO-d₆, 300 MHz):

δ (ppm) = 13.30 (s, 1 H), 12.17 (s, 1 H), 9.92 (s, 1 H), 7.42 (d, 2 H, J = 9.6 Hz), 7.40 (s, 1 H), 7.24 (d, 1 H, J = 12.0 Hz), 7.12 (s, 1 H), 6.84 (d, 2 H, J = 9.6 Hz), 6.30 (d, 1 H, J = 12.0 Hz), 4.77 (t, 1 H, J = 3.6 Hz), 4.61 (t, 1 H, J = 3.6 Hz), 4.19 (t, 1 H, J = 3.6 Hz), 4.09 (t, 1 H, J = 3.6 Hz)

MS (FD) m/z (% rel. Int.): 232.0 (1.4) [M²⁺], 464.3 (100.0) [M⁺]

6.3.2 Synthese der Difluorderivate

6.3.2.1 (E)-3-(2-tert.-Butoxycarbonylvinyl)-4,6-difluor-1H-indol-2-carbonsäureethylester (35)



Ansatz:

26	3,32 g	6,16 mmol
14	1,20 g	4,74 mmol

26 (3,32 g, 6,16 mmol) und **14** (1,20 g, 4,74 mmol) wurden in einer Mischung von Dioxan (12 mL) und Acetonitril (12 mL) gelöst, für 7 h auf 70 °C erhitzt und über Nacht bei RT gerührt. Im Anschluss wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch (Petrolether/Ethylacetat, 2/1) aufgereinigt.

Ausbeute:

1,48 g (4,2 mmol, 89 % d. Th.)

Charakterisierung:

Summenformel: C₁₈H₁₉F₂NO₄
weißer Feststoff

Molekulargewicht: 351,34 g/mol

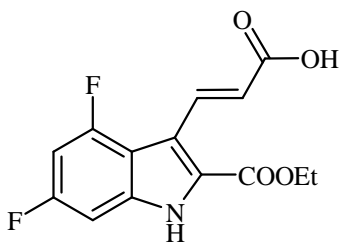
R_f: 0,78 (Petrolether/Ethylacetat, 2/1)

¹H-NMR (DMSO-d₆, 300 MHz):

12.65 (s, 1 H), 8.40 (d, 1 H, *J* = 16.5 Hz), 7.07 (m, 2 H), 6.46 (d, 1 H, *J* = 16.5 Hz), 4.39 (q, 2 H, *J* = 6.9 Hz), 1.48 (s, 9 H), 1.38 (t, 3 H, *J* = 6.9 Hz)

MS (FD) *m/z* (% rel. Int.): 351.1 (100.0) [M⁺], 702.2 (2.0) [2 M⁺]

6.3.2.2 (E)-3-(2-Carboxyvinyl)-4,6-difluor-1H-indol-2-carbonsäureethylester (36)



Ansatz:

35 1,12 g 3,19 mmol
 Ameisensäure 100 mL

35 (1,12 g, 3,19 mmol) wurde in Ameisensäure (100 mL) suspendiert und 1 h bei RT gerührt. Im Anschluss wurde die Ameisensäure im Vakuum eingengt, der Feststoff abfiltriert und mit Ameisensäure und Wasser gewaschen.

Ausbeute:

774 mg (2,62 mmol, 82 % d. Th.)

Charakterisierung:

Summenformel: C₁₄H₁₁F₂NO₄ Molekulargewicht: 295,24 g/mol
 weißer Feststoff

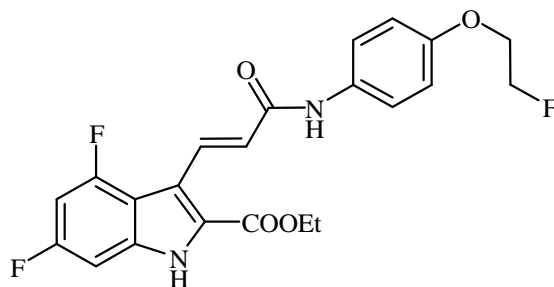
R_f: 0,42 (Cyclohexan/Ethylacetat, 1/1 + 3 % Ameisensäure)

¹H-NMR (DMSO-d₆, 300 MHz):

12.64 (s, 1 H), 12.36 (bs, 1 H), 8.45 (d, 1 H, *J* = 15.6 Hz), 7.13 – 7.01 (m, 2 H), 6.50 (d, 1 H, *J* = 15.6 Hz), 4.39 (q, 2 H, *J* = 7.2 Hz), 1.37 (t, 3 H, *J* = 7.2 Hz)

MS (FD) *m/z* (% rel. Int.): 295.0 (100.0) [M⁺]

6.3.2.3 (E)-4,6-Difluor-3-{2-[4-(2-fluorethoxy)-phenylcarbamoyl]-vinyl}-1*H*-indol-2-carbonsäure-ethylester (37)



Ansatz:

36	295 mg	1,0 mmol
Triphenylphosphin	370 mg	1,4 mmol
2,2'-Dithiodipyridin	311 mg	1,4 mmol
67	219 mg	1,4 mmol

36 (295 mg, 1,0 mmol) wurde in DMF (18 mL) gelöst und innerhalb von 45 min portionsweise mit Triphenylphosphin (370 mg, 1,4 mmol) und 2,2'-Dithiodipyridin (311 mg, 1,4 mmol) versetzt. Nach beendeter Zugabe wurde die Reaktionslösung für 2 h bei RT gerührt, mit einer Lösung aus **67** (219 mg, 1,4 mmol) in DMF (2 mL) versetzt und über Nacht auf 80 °C erhitzt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und der resultierende Feststoff aus Ethylacetat umkristallisiert.

Ausbeute:

365 mg (0,84 mmol, 84 % d. Th.)

Charakterisierung:

Summenformel: C₂₂H₁₉F₃N₂O₄ Molekulargewicht: 432,39 g/mol
 hellgelber Feststoff

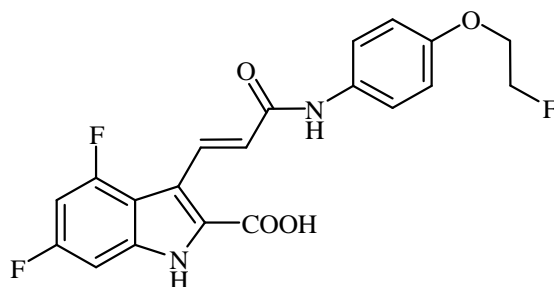
R_f: 0,83 (Petrolether/Ethylacetat, 1/4)

¹H-NMR (DMSO-d₆, 300 MHz):

12.56 (s, 1 H), 10.13 (s, 1 H), 8.42 (d, 1 H, *J* = 15.9 Hz), 7.65 (d, 2 H, *J* = 9.3 Hz), 7.14 – 7.04 (m, 2 H), 6.94 (d, 2 H, *J* = 9.3 Hz), 6.87 (s, 1 H), 4.81 (t, 1 H, *J* = 3.6 Hz), 4.65 (t, 1 H, *J* = 3.6 Hz), 4.40 (q, 2 H, *J* = 7.2 Hz), 4.25 (t, 1 H, *J* = 3.6 Hz), 4.15 (t, 1 H, *J* = 3.6 Hz), 1.38 (t, 3 H, *J* = 7.2 Hz)

MS (FD) *m/z* (% rel. Int.): 216.2 (1.1) [M²⁺], 432.2 (100.0) [M⁺]

6.3.2.4 (E)-4,6-Difluor-3-{2-[4-(2-fluorethoxy)-phenylcarbamoyl]-vinyl}-1*H*-indol-2-carbonsäure (38)



Ansatz:

37	124 mg	0,29 mmol
NaOH-Lsg., 2 M	1 mL	2 mmol

37 (124 mg, 0,29 mmol) wurde in THF (14 mL) gelöst und mit Wasser (7 mL) versetzt. Nach Zugabe von 2 M NaOH (1 mL) wurde die Lösung über Nacht bei RT gerührt. Im Anschluss wurde die Reaktion für 4 h bei 40 °C fortgesetzt. Das THF wurde im Vakuum entfernt und das Produkt durch Zugabe 1 M HCl (2 mL) ausgefällt. Der resultierende Feststoff wurde abfiltriert, mit Wasser gewaschen und umkristallisiert (Petrolether/Ethylacetat, 1/1).

Ausbeute:

104 mg (0,26 mmol, 90 % d. Th.)

Charakterisierung:

Summenformel: C₂₀H₁₅F₃N₂O₄ Molekulargewicht: 404,34 g/mol
 hellgelber Feststoff

R_f: 0,63 (Petrolether/Ethylacetat, 1/1)

¹H-NMR (DMSO-d₆, 300 MHz):

13.75 (bs, 1 H), 12.51 (s, 1 H), 10.12 (s, 1 H), 8.47 (d, 1 H, *J* = 15.3 Hz), 7.65 (d, 2 H, *J* = 8.7 Hz), 7.10 – 6.84 (m, 5 H), 6.87 (s, 1 H), 4.80 (t, 1 H, *J* = 3.6 Hz), 4.65 (t, 1 H, *J* = 3.6 Hz), 4.25 (t, 1 H, *J* = 3.6 Hz), 4.15 (t, 1 H, *J* = 3.6 Hz)

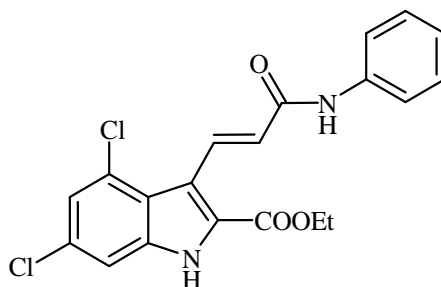
¹³C-NMR (DMSO-d₆, 75.5 MHz):

δ (ppm) = 163.94, 162.40, 162.14, 154.12, 138.44, 133.25, 131.47, 128.67, 124.79, 120.75, 115.80, 114.70, 110.80, 97.62, 95.39, 83.43, 81.23, 67.42

MS (FD) *m/z* (% rel. Int.): 404.2 (100.0) [M⁺]

6.3.3 Synthese der Modellverbindungen

6.3.3.1 (E)-4,6-Dichlor-3-(2-phenylcarbamoylvinyl)-1H-indol-2-carbonsäureethylester (39)



Ansatz:

28	280 mg	0,85 mmol
Triphenylphosphin	317 mg	1,2 mmol
2,2'-Dithiodipyridin	267 mg	1,2 mmol
Anilin	112 mg	1,2 mmol

28 (280 mg, 0,85 mmol) wurde in DMF (14 mL) gelöst und innerhalb von 45 min portionsweise mit Triphenylphosphin (317 mg, 1,2 mmol) und 2,2'-Dithiodipyridin (267 mg, 1,2 mmol) versetzt. Nach beendeter Zugabe wurde die Reaktionslösung für weitere 2 h gerührt. Im Anschluss wurde eine Lösung aus Anilin (112 mg, 1,2 mmol) in DMF (2 mL) zu der Reaktionslösung gegeben und über Nacht auf 80 °C erhitzt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und der resultierende Feststoff aus Ethylacetat umkristallisiert.

Ausbeute:

273 mg (0,68 mmol, 80 % d. Th.)

Charakterisierung:

Summenformel: C₂₀H₁₆Cl₂N₂O₃

Molekulargewicht: 403,26 g/mol

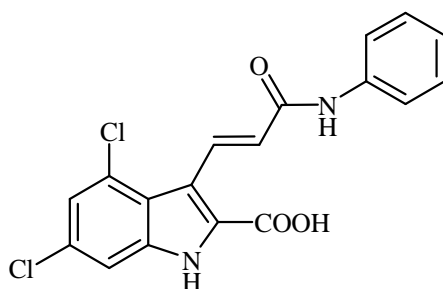
weißer Feststoff

R_f: 0,32 (Petrolether/Ethylacetat, 2/1)

¹H-NMR (DMSO-d₆, 300 MHz):

δ (ppm) = 12.60 (s, 1 H), 10.20 (s, 1 H), 8.25 (d, 1 H, *J* = 15.6 Hz), 7.72 (d, 2 H, *J* = 7.8 Hz), 7.51 (d, 1 H, *J* = 2.1 Hz), 7.31 (t, 2 H, *J* = 7.8 Hz), 7.10 (d, 1 H, *J* = 2.1 Hz), 7.05 (t, 1 H, *J* = 7.8 Hz), 6.78 (d, 1 H, *J* = 15.6 Hz), 4.38 (q, 2 H, *J* = 6.9 Hz), 1.35 (t, 3 H, *J* = 6.9 Hz)

6.3.3.2 (E)-4,6-Dichlor-3-(2-phenylcarbamoylvinyl)-1H-indol-2-carbonsäure (40)



Ansatz:

39	127 mg	0,32 mmol
NaOH-Lsg., 2 M	190 μ L	0,38 mmol

39 (127 mg, 0,32 mmol) wurde in einer Mischung aus THF und Wasser (36 mL, 2/1) gelöst und mit 2 M NaOH (190 μ L) versetzt. Nach 24 h wurde dieselbe Menge an 2 M NaOH hinzugegeben und die Reaktion bei 50 °C für weitere 24 h fortgesetzt. Im Anschluss wurde das THF im Vakuum entfernt und die wässrige Phase mit 1 M HCl bis pH 6 angesäuert. Der resultierende Feststoff wurde abfiltriert und mit Wasser gewaschen.

Ausbeute:

102 mg (0,27 mmol, 84 % d. Th.)

Charakterisierung:

Summenformel: C₁₈H₁₂Cl₂N₂O₃
weißer Feststoff

Molekulargewicht: 375,21 g/mol

R_f: 0,62 (Petrolether/Ethylacetat, 1/2 + 3 % Ameisensäure)

¹H-NMR (DMSO-d₆, 300 MHz):

δ (ppm) = 13.75 (s, 1 H), 12.55 (s, 1 H), 10.20 (s, 1 H), 8.27 (d, 1 H, J = 15.9 Hz), 7.72 (d, 2 H, J = 7.8 Hz), 7.48 (d, 1 H, J = 1.5 Hz), 7.31 (t, 2 H, J = 7.8 Hz), 7.30 (d, 1 H, J = 1.5 Hz), 7.04 (t, 1 H, J = 7.8 Hz), 6.79 (d, 1 H, J = 15.9 Hz)

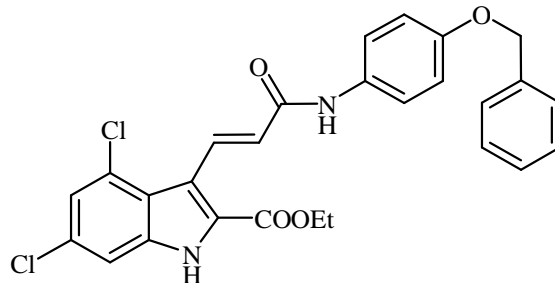
¹³C-NMR (DMSO-d₆, 75.5 MHz):

δ (ppm) = 163.82, 162.14, 139.53, 137.45, 131.35, 129.24, 128.85, 128.10, 127.98, 127.29, 123.34, 122.22, 121.80, 119.32, 116.72, 111.72

MS (FD) m/z (% rel. Int.): 373.6 (100.0) [M⁺]

6.3.4 Synthese der Markierungsvorläufer

6.3.4.1 (E)-3-[2-(4-Benzyloxyphenylcarbamoyl)-vinyl]-4,6-dichlor-1H-indol-2-carbonsäure-ethylester (41)



Ansatz:

28	328 mg	1,0 mmol
Triphenylphosphin	370 mg	1,4 mmol
2,2'-Dithiodipyridin	311 mg	1,4 mmol
4-Benzyloxyanilin Hydrochlorid	333 mg	1,4 mmol
DIPEA	246 µL	1,4 mmol

28 (328 mg, 1,0 mmol) wurde in DMF (18 mL) gelöst und innerhalb von 1 h portionsweise mit Triphenylphosphin (370 mg, 1,4 mmol) und 2,2'-Dithiodipyridin (311 mg, 1,4 mmol) versetzt. Nach beendeter Zugabe wurde die Reaktionslösung für 2 h bei RT gerührt, mit einer Lösung aus 4-Benzyloxyanilin Hydrochlorid (333 mg, 1,4 mmol) und DIPEA (264 µL, 1,4 mmol) in DMF (2 mL) versetzt über Nacht auf 80 °C erhitzt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch (100 % Ethylacetat) aufgereinigt.

Ausbeute:

56 mg (0,11 mmol, 11 % d. Th.)

Charakterisierung:

Summenformel: C₂₇H₂₂Cl₂N₂O₄
weißer Feststoff

Molekulargewicht: 509,38 g/mol

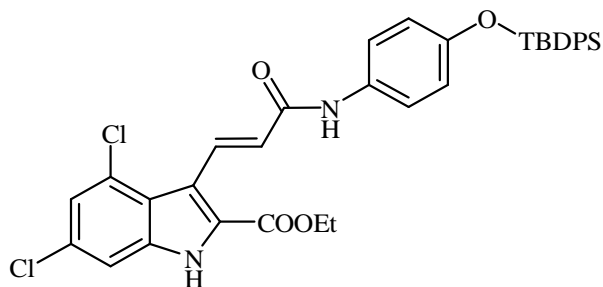
R_f: 0,79 (100 % Ethylacetat)

¹H-NMR (DMSO-d₆, 300 MHz):

δ (ppm) = 12.57 (s, 1 H), 10.08 (s, 1 H), 8.21 (d, 1 H, J = 15.6 Hz), 7.63 (d, 2 H, J = 9.0 Hz), 7.50 (d, 1 H, J = 1.2 Hz), 7.45 – 7.30 (m, 6 H), 6.98 (d, 2 H, J = 9.0 Hz), 6.74 (d, 1 H, J = 15.6 Hz), 5.06 (s, 2 H), 4.37 (q, 2 H, J = 6.9 Hz), 1.34 (t, 3 H, J = 6.9 Hz)

MS (FD) m/z (% rel. Int.): 508.0 (100.0) [M⁺]

6.3.4.2 (E)-3-{2-[4-(tert.-Butyldiphenylsilyloxy)-phenylcarbamoyl]-vinyl}-4,6-dichlor-1*H*-indol-2-carbonsäureethylester (42)



Ansatz:

28	328 mg	1,0 mmol
Triphenylphosphin	370 mg	1,4 mmol
2,2'-Dithiodipyridin	311 mg	1,4 mmol
68	490 mg	1,4 mmol
DIPEA	246 μ L	1,4 mmol

28 (328 mg, 1,0 mmol) wurde in DMF (18 mL) gelöst und portionsweise mit Triphenylphosphin (370 mg, 1,4 mmol) und 2,2'-Dithiodipyridin (311 mg, 1,4 mmol) innerhalb 45 min versetzt. Nach beendeter Zugabe wurde die Lösung für 2 h bei RT gerührt, mit einer Lösung aus **68** (490 mg, 1,4 mmol) und DIPEA (246 μ L, 1,4 mmol) in DMF (2 mL) versetzt und für 20 h auf 80 °C erhitzt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch (100 % Ethylacetat) aufgereinigt.

Ausbeute:

534 mg (0,81 mmol, 81 % d. Th.)

Charakterisierung:

Summenformel: C₃₆H₃₄Cl₂N₂O₄Si
gelber Feststoff

Molekulargewicht: 657,66 g/mol

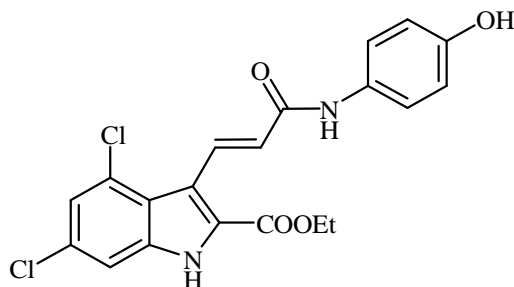
R_f: 0,46 (Petrolether/Ethylacetat, 1/2)

¹H-NMR (DMSO-d₆, 300 MHz):

δ (ppm) = 12.57 (s, 1 H), 10.04 (s, 1 H), 8.19 (d, 1 H, J = 15.6 Hz), 7.68 – 7.65 (m, 4 H), 7.50 – 7.41 (m, 9 H), 7.23 (d, 1 H, J = 1.8 Hz), 6.70 (d, 1 H, J = 15.6 Hz), 6.70 (d, 2 H, J = 8.7 Hz), 4.36 (q, 2 H, J = 7.2 Hz), 1.33 (t, 3 H, J = 7.2 Hz), 1.03 (s, 9 H)

MS (FD) m/z (% rel. Int.): 659.7 (100.0) [M⁺]

6.3.4.3 (E)-4,6-Dichlor-3-[2-(4-hydroxyphenylcarbamoyl)-vinyl]-1H-indol-2-carbonsäureethylester (43)



Ansatz:

42	234 mg	0,36 mmol
Ammoniumfluorid	33 mg	0,89 mmol

42 (234 mg, 0,36 mmol) wurde in absolutem Ethanol (10 mL) suspendiert und auf 100 °C erhitzt. Im Anschluss wurde eine Lösung aus Ammoniumfluorid (33 mg, 0,89 mmol) in absolutem Ethanol (5 mL) hinzugegeben und unter Rückfluss für 1 h erhitzt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und Wasser (20 mL) sowie Ethylacetat (40 mL) hinzugegeben. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase mit Ethylacetat (2 × 20 mL) extrahiert. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet, abfiltriert und im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wurde aus Ethylacetat umkristallisiert.

Ausbeute:

126 mg (0,30 mmol, 83 % d. Th.)

Charakterisierung:

Summenformel: C₂₀H₁₆Cl₂N₂O₄

Molekulargewicht: 419,26 g/mol

weißer Feststoff

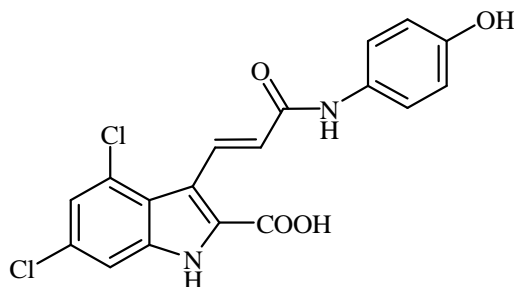
R_f: 0,70 (Petrolether/Ethylacetat, 1/2)

¹H-NMR (DMSO-d₆, 300 MHz):

δ (ppm) = 12.56 (s, 1 H), 9.96 (s, 1 H), 9.21 (s, 1 H), 8.19 (d, 1 H, *J* = 15.9 Hz), 7.52 – 7.49 (m, 3 H), 7.30 (d, 1 H, *J* = 0.9 Hz), 6.74 – 6.70 (m, 3 H), 4.38 (q, 2 H, *J* = 6.9 Hz), 1.35 (t, 3 H, *J* = 6.9 Hz)

MS (FD) *m/z* (% rel. Int.): 208.9 (3.6) [M²⁺], 417.9 (100.0) [M⁺]

6.3.4.4 (E)-4,6-Dichlor-3-[2-(4-hydroxyphenylcarbamoyl)-vinyl]-1H-indol-2-carbonsäure (44)



Ansatz:

43	63 mg	0,15 mmol
NaOH-Lsg., 2 M	400 μ L	0,8 mmol

43 (63 mg, 0,15 mmol) wurde in einer Mischung aus THF und Wasser (25 mL, 2/1) gelöst und mit 2 M NaOH (400 μ L) versetzt. Die Reaktionslösung wurde für 72 h bei RT gerührt. Im Anschluss wurde das THF im Vakuum entfernt, der resultierende Feststoff abfiltriert und mit Wasser gewaschen.

Ausbeute:

52 mg (0,13 mmol, 87 % d. Th.)

Charakterisierung:

Summenformel: C₁₈H₁₂Cl₂N₂O₄

Molekulargewicht: 391,20 g/mol

gelber Feststoff

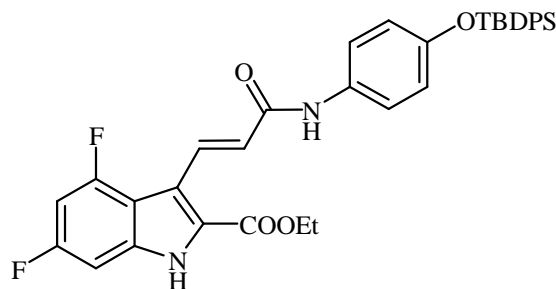
R_f: 0,42 (Petrolether/Ethylacetat, 1/2 + 3 % Ameisensäure)

¹H-NMR (DMSO-d₆, 300 MHz):

δ (ppm) = 13.73 (bs, 1 H), 12.52 (s, 1 H), 9.96 (s, 1 H), 9.21 (s, 1 H), 8.20 (d, 1 H, J = 15.9 Hz), 7.52 – 7.48 (m, 3 H), 7.29 (d, 1 H, J = 1.5 Hz), 6.75 – 6.69 (m, 3 H)

MS (FD) m/z (% rel. Int.): 389.9 (100.0) [M⁺]

6.3.4.5 (E)-3-{2-[4-(tert.-Butyldiphenylsilyloxy)-phenylcarbamoyl]-vinyl}-4,6-difluor-1H-indol-2-carbonsäureethylester (45)



Ansatz:

36	295 mg	1,0 mmol
Triphenylphosphin	370 mg	1,4 mmol
2,2'-Dithiodipyridin	311 mg	1,4 mmol
68	490 mg	1,4 mmol

36 (295 mg, 1,0 mmol) wurde in DMF (18 mL) gelöst und portionsweise mit Triphenylphosphin (370 mg, 1,4 mmol) und 2,2'-Dithiodipyridin (311 mg, 1,4 mmol) innerhalb 70 min versetzt. Nach beendeter Zugabe wurde die Lösung für 2 h bei RT gerührt, mit einer Lösung aus **68** (490 mg, 1,4 mmol) in DMF (2 mL) versetzt und über Nacht bei 80 °C erhitzt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch (Petrolether/Ethylacetat, 1/4) aufgereinigt.

Ausbeute:

566 mg (0,91 mmol, 91 % d. Th.)

Charakterisierung:

Summenformel: C₃₆H₃₄F₂N₂O₄Si
gelber Feststoff

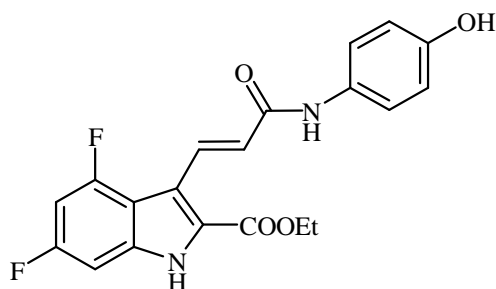
Molekulargewicht: 624,75 g/mol

R_f: 0,88 (Petrolether/Ethylacetat, 1/4)

¹H-NMR (DMSO-d₆, 300 MHz):

δ (ppm) = 12.56 (s, 1 H), 10.07 (s, 1 H), 8.38 (d, 1 H, J = 15.9 Hz), 7.68 – 7.66 (m, 5 H), 7.49 – 7.41 (m, 9 H), 7.13 – 7.03 (m, 2 H), 6.85 (d, 1 H, J = 15.9 Hz), 6.70 (d, 2 H, J = 8.4 Hz), 4.39 (q, 2 H, J = 6.9 Hz), 1.36 (t, 3 H, J = 6.9 Hz), 1.03 (s, 9 H)

6.3.4.6 (E)-4,6-Difluor-3-[2-(4-hydroxyphenylcarbamoyl)-vinyl]-1H-indol-2-carbonsäureethylester (46)



Ansatz:

45	495 mg	0,79 mmol
Ammoniumfluorid	73 mg	2,0 mmol

45 (495 mg, 0,79 mmol) wurde in absolutem Ethanol (25 mL) suspendiert und auf 100 °C erhitzt. Im Anschluss wurde Ammoniumfluorid (73 mg, 2,0 mmol) hinzugegeben die Reaktionslösung für 1 h unter Rückfluss erhitzt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und Wasser (20 mL) sowie Ethylacetat (20 mL) hinzugegeben. Die organische Phase wurde abgetrennt und im Vakuum entfernt. Der resultierende Feststoff wurde aus Ethylacetat umkristallisiert.

Ausbeute:

240 mg (0,62 mmol, 78 % d. Th.)

Charakterisierung:

Summenformel: C₂₀H₁₆F₂N₂O₄

Molekulargewicht: 386,35 g/mol

hellgelber Feststoff

R_f: 0,67 (Petrolether/Ethylacetat, 1/4)

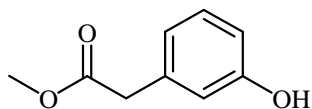
¹H-NMR (DMSO-d₆, 300 MHz):

δ (ppm) = 12.56 (s, 1 H), 10.07 (s, 1 H), 8.38 (d, 1 H, *J* = 15.9 Hz), 7.52 – 7.30 (m, 4 H), 6.85 (d, 1 H, *J* = 15.9 Hz), 6.70 (d, 2 H, *J* = 8.4 Hz), 4.39 (q, 2 H, *J* = 6.9 Hz), 1.36 (t, 3 H, *J* = 6.9 Hz)

6.4 Synthese der Derivate des L-701,324

6.4.1 Synthesen der inaktiven Referenzverbindung

6.4.1.1 3-Hydroxyphenylelessigsäuremethylester (47)



Ansatz:

3-Hydroxyphenylelessigsäure	3,043 g	20 mmol
Methanol	1,92 g	60 mmol
4-Toluolsulfonsäure Monohydrat	0,3 g	1,7 mmol

3-Hydroxyphenylelessigsäure (3,043 g, 20 mmol) wurde zusammen mit 4-Toluolsulfonsäure Monohydrat (0,3 g, 1,7 mmol) in 1,2-Dichlorethan (6 mL) gelöst und mit Methanol (1,92 g, 60 mmol) versetzt. Die Reaktionslösung wurde über Nacht unter Rückfluss erhitzt. Im Anschluss wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch (Petrolether/Ethylacetat, 1/1) aufgereinigt.

Ausbeute:

2,64 g (15,9 mmol, 80 % d. Th.)

Charakterisierung:

Summenformel: C₉H₁₀O₃

Molekulargewicht: 166,17 g/mol

farbloses Öl

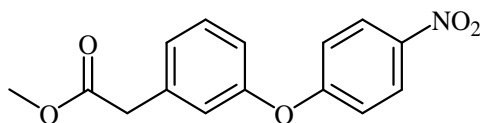
R_f: 0,76 (Petrolether/Ethylacetat, 1/1)

¹H-NMR (CDCl₃, 300 MHz):

δ (ppm) = 7.16 (t, 1 H, J = 7.8 Hz), 6.80 (d, 1 H, J = 7.8 Hz), 6.75 – 6.70 (m, 2 H), 3.69 (s, 3 H), 3.57 (s, 2 H)

MS (FD) m/z (% rel. Int.): 166.2 (3.4) [M⁺], 332.2 (100.0) [2 M⁺]

6.4.1.2 [3-(4-Nitrophenoxy)-phenyl]-essigsäuremethylester (48)



Ansatz:

47	6,65 g	40 mmol
4-Fluornitrobenzol	7,06 g	50 mmol
Kaliumcarbonat	16,6 g	120 mmol
Kupfer-(II)-oxid	12,7 g	160 mmol

47 (6,65 g, 40 mmol) wurde zusammen mit 4-Fluornitrophenol (7,06 g, 50 mmol) und Kaliumcarbonat (16,6 g, 120 mmol) in Pyridin (54 mL) gelöst und bei 100 °C für 2 h unter Rückfluss erhitzt. Im Anschluss wurde Kupfer-(II)-oxid (12,7 g, 160 mmol) hinzugegeben und die Reaktion bei 120 °C über Nacht unter Rückfluss erhitzt. Anschließend wurde die Reaktionslösung über Celite abfiltriert und mit Ethylacetat (250 mL) versetzt. Das Filtrat wurde mit 1 M NaHSO₄ (3 × 150 mL) gewaschen. Die organische Phase wurde im Vakuum entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch (Petrolether/Ethylacetat, 2/1) aufgereinigt.

Ausbeute:

4,38 g (15,2 mmol, 38 % d. Th.)

Charakterisierung:

Summenformel: C₁₅H₁₃NO₅

Molekulargewicht: 287,27 g/mol

gelbes Öl

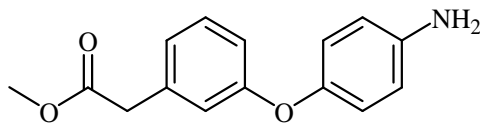
R_f: 0,76 (Petrolether/Ethylacetat, 2/1)

¹H-NMR (CDCl₃, 300 MHz):

δ (ppm) = 8.18 (td, 2 H, *J* = 2.7 Hz, *J* = 9.0 Hz), 7.36 (t, 1 H, *J* = 7.8 Hz), 7.14 (d, 1 H, *J* = 7.8 Hz), 7.01 – 6.97 (m, 4 H), 3.68 (s, 3 H), 3.63 (s, 2 H)

MS (FD) m/z (% rel. Int.): 287.1 (100.0) [M⁺]

6.4.1.3 [3-(4-Aminophenoxy)-phenyl]-essigsäuremethylester (49)



Ansatz:

48	3,03 g	10,6 mmol
Ammoniumformiat	5,32 g	84,4 mmol
Palladium auf Aktivkohle (10 % Pd)	0,3 g	

48 (3,03 g, 10,6 mmol) wurde in 2-Propanol (60 mL) im Ultraschallbad gelöst und mit Ammoniumformiat (5,32 g, 84,4 mmol) sowie Palladium auf Aktivkohle (0,3 g, 10 Gew.-%) versetzt. In der Mikrowelle wurde die Reaktionsmischung unter Rückfluss reagieren gelassen (75 W, 80 °C, 3 min Aufheizzeit, 10 min Reaktionszeit). Die Reaktionsmischung wurde über Celite abfiltriert, mit gesättigter Na₂CO₃ (30 mL) versetzt und mit Ethylacetat (3 × 25 mL) extrahiert. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet, im Vakuum entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch (Petrolether/Ethylacetat, 1/2) aufgereinigt.

Ausbeute:

1,94 g (7,5 mmol, 72 % d. Th.)

Charakterisierung:

Summenformel: C₁₅H₁₅NO₃
hellbraunes Öl

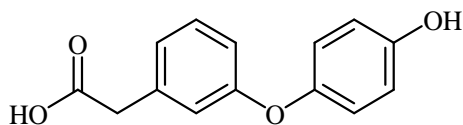
Molekulargewicht: 257,28 g/mol

R_f: 0,64 (Petrolether/Ethylacetat, 1/2)

¹H-NMR (DMSO-d₆, 300 MHz):

δ (ppm) = 7.21 (t, 1 H, J = 7.8 Hz), 6.87 (d, 1 H, J = 7.8 Hz), 6.76 – 6.70 (m, 4 H), 6.58 (d, 2 H, J = 8.7 Hz), 4.98 (s, 2 H), 3.61 (s, 2 H), 3.58 (s, 3 H)

6.4.1.4 [3-(4-Hydroxyphenoxy)-phenyl]-essigsäure (50)



Ansatz:

49	2,535 g	9,85 mmol
Natriumnitrit	818 mg	11,8 mmol
Harnstoff	120 mg	2 mmol

Im Eisbad wurde eine Emulsion von **49** (2,535 g, 9,85 mmol) in Wasser (12,3 mL) mit konzentrierter Schwefelsäure (6 mL) versetzt. Anschließend wurde bei 0 °C innerhalb von 30 min eine Lösung aus Natriumnitrit (818 mg, 11,8 mmol) in Wasser (1,2 mL) hinzugegeben und für 1,5 h fortgesetzt. Um überschüssiges Natriumnitrit zu vernichten wurde eine Lösung aus Harnstoff (120 mg, 2 mmol) in Wasser (600 µL) hinzugegeben und für 30 min gerührt. Im Anschluss wurde die Reaktionslösung mit Wasser (65 mL) und konzentrierte Schwefelsäure (33 mL) versetzt, die Mischung für 3 h unter Rückfluss erhitzt und über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Der erhaltene Feststoff wurde abfiltriert.

Ausbeute:

2,1 g (8,6 mmol, 87 % d. Th.)

Charakterisierung:

Summenformel: C₁₄H₁₂O₄

Molekulargewicht: 244,24 g/mol

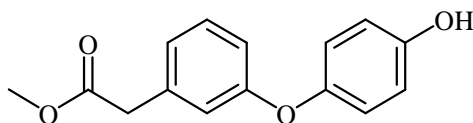
hellbrauner Feststoff

¹H-NMR (DMSO-d₆, 300 MHz):

δ (ppm) = 12.25 (bs, 1 H), 9.34 (s, 1 H), 7.23 (t, 1 H, J = 7.8 Hz), 6.92 – 6.85 (m, 3 H), 6.79 – 6.72 (m, 4 H), 3.51 (s, 2 H)

MS (FD) m/z (% rel. Int.): 244.0 (100.0) [M⁺], 488.0 (1.3) [2 M⁺]

6.4.1.5 [3-(4-Hydroxyphenoxy)-phenyl]-essigsäuremethylester (51)



Ansatz:

50	271 mg	1,11 mmol
MeOH	5 mL	

50 (271 mg, 1,11 mmol) wurde in MeOH (5 mL) gelöst, mit zwei Tropfen konz. Schwefelsäure versetzt und bei 80 °C für 3 h unter Rückfluss erhitzt. Im Anschluss wurde das Methanol im Vakuum entfernt und der Rückstand in Ethylacetat (15 mL) aufgenommen. Die organische Phase wurde mit gesättigter NaCO₃ (10 mL) und Wasser (10 mL) gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, abfiltriert und im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch (Petrolether/Ethylacetat, 2/1) aufgereinigt.

Ausbeute:

234 mg (0,91 mmol, 82 % d. Th.)

Charakterisierung:

Summenformel: C₁₅H₁₄O₄
 hellbrauner Feststoff

Molekulargewicht: 258,27 g/mol

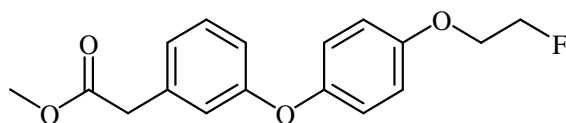
R_f: 0,50 (Petrolether/Ethylacetat, 2/1)

¹H-NMR (CDCl₃, 300 MHz):

δ (ppm) = 7.22 (t, 1 H, J = 7.2 Hz), 6.94 – 6.85 (m, 4 H), 6.82 – 6.76 (m, 3 H), 4.97 (s, 1 H), 3.68 (s, 3 H), 3.57 (s, 2 H)

MS (FD) m/z (% rel. Int.): 258.2 (100.0) [M⁺], 516.4 (1.2) [2 M⁺]

6.4.1.6 {3-[4-(2-Fluorethoxy)-phenoxy]-phenyl}-essigsäuremethylester (52)



Ansatz:

51	447 mg	1,73 mmol
1,2-Bromfluorethan	242 mg	1,90 mmol
Kaliumcarbonat	263 mg	1,90 mmol

51 (447 mg, 1,73 mmol) wurde in Aceton (10 mL) gelöst und mit Kaliumcarbonat (263 mg, 1,90 mmol) versetzt. Nach 10 min wurde 1,2-Bromfluorethan (242 mg, 1,90 mmol) hinzugegeben und die Reaktionsmischung für 24 h unter Rückfluss erhitzt. Im Anschluss wurde das Kaliumcarbonat abfiltriert und das Aceton im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde in gesättigter NaHCO₃ (10 mL) aufgenommen und mit Ethylacetat (3 × 15 mL) extrahiert. Die organische Phase wurde mit Wasser (10 mL) gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, abfiltriert und im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch (Petrolether/Ethylacetat, 2/1) aufgereinigt.

Ausbeute:

485 mg (1,59 mmol, 92 % d. Th.)

Charakterisierung:

Summenformel: C₁₇H₁₇FO₄
 farbloses Öl

Molekulargewicht: 304,31 g/mol

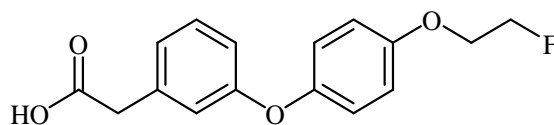
R_f: 0,75 (Petrolether/Ethylacetat, 2/1)

¹H-NMR (CDCl₃, 300 MHz):

δ (ppm) = 7.24 (t, 1 H, J = 4.2 Hz), 6.98 – 6.81 (m, 7 H), 4.82 (t, 1 H, J = 4.2 Hz), 4.66 (t, 1 H, J = 4.2 Hz), 4.23 (t, 1 H, J = 4.2 Hz), 4.14 (t, 1 H, J = 4.2 Hz), 3.67 (s, 3 H), 3.56 (s, 2 H)

MS (FD) m/z (% rel. Int.): 304.2 (100.0) [M⁺], 608.3 (3.8) [2 M⁺]

6.4.1.7 {3-[4-(2-Fluorethoxy)-phenoxy]-phenyl}-essigsäure (53)



Ansatz:

52	470 mg	1,54 mmol
KOH-Lsg., 1 M	1,8 mL	1,80 mmol

52 (470 mg, 1,54 mmol) wurde in THF (5 mL) gelöst und tropfenweise mit 1 M KOH (1,8 mL) versetzt. Nach 24 h wurde Wasser (5 mL) hinzugegeben und das THF im Vakuum entfernt. Die wässrige Phase wurde mit 1 M HCl bis pH 2 angesäuert, der resultierende Feststoff abfiltriert und mit Wasser gewaschen.

Ausbeute:

335 mg (1,15 mmol, 75 % d. Th.)

Charakterisierung:

Summenformel: C₁₆H₁₅FO₄

Molekulargewicht: 290,29 g/mol

farblose Kristalle

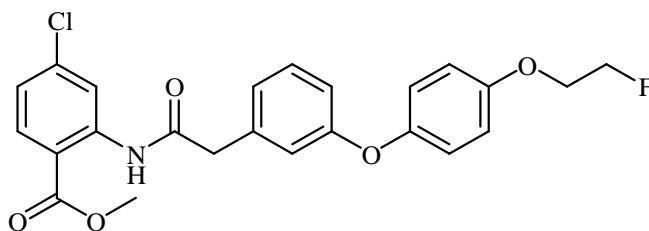
R_f: 0,56 (Petrolether/Ethylacetat, 2/1 + 3 % Ameisensäure)

¹H-NMR (CDCl₃, 300 MHz):

δ (ppm) = 7.24 (t, 1 H, *J* = 7.8 Hz), 6.98 – 6.82 (m, 7 H), 4.82 (t, 1 H, *J* = 3.9 Hz), 4.66 (t, 1 H, *J* = 3.9 Hz), 4.23 (t, 1 H, *J* = 3.9 Hz), 4.14 (t, 1 H, *J* = 3.9 Hz), 3.59 (s, 2 H)

MS (FD) *m/z* (% rel. Int.): 290.2 (100.0) [M⁺]

6.4.1.8 4-Chlor-2-(2-(3-[4-(2-fluorethoxy)-phenoxy]-phenyl)-acetylamino)-benzoesäuremethylester (54)



Ansatz:

53	328 mg	1,13 mmol
Oxalylchlorid	125 μ L	1,34 mmol
2-Amino-4-chlor-benzoesäuremethylester	209 mg	1,13 mmol
Triethylamin	168 μ L	1,20 mmol

Eine Lösung aus **53** (328 mg, 1,13 mmol) in Dichlormethan (3 mL) wurde auf 0 °C gekühlt und mit Oxalylchlorid (125 μ L, 1,34 mmol) sowie zwei Tropfen DMF versetzt. Die Reaktionslösung wurde für 50 min bei RT gerührt. Anschließend wurde das Dichlormethan im Vakuum entfernt und der ölige Rückstand in THF (3 mL) gelöst. 2-Amino-4-chlor-benzoesäuremethylester (209 mg, 1,13 mmol) wurde in THF (7 mL) gelöst und auf 60 °C erwärmt und mit der THF-Lösung aus der ersten Reaktion versetzt. Im Anschluss wurde Triethylamin (168 μ L, 1,20 mmol) hinzugegeben, die Reaktion für 5 h bei 80 °C erhitzt und über Nacht bei RT gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und der Rückstand in Dichlormethan (20 mL) aufgenommen. Die organische Phase wurde mit Wasser (3 \times 10 mL) gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, abfiltriert und säulenchromatographisch (Petrolether/Ethylacetat, 9/2) aufgereinigt.

Ausbeute:

367 mg (0,80 mmol, 71 % d. Th.)

Charakterisierung:

Summenformel: C₂₄H₂₁ClFNO₅

Molekulargewicht: 457,88 g/mol

farbloses Öl

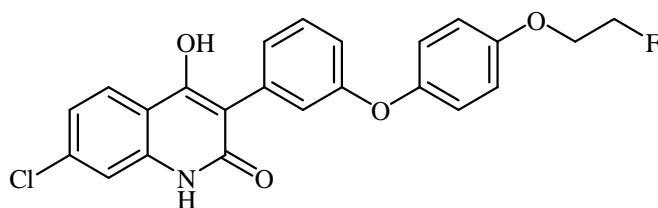
R_f: 0,32 (Petrolether/Ethylacetat, 4/1)

¹H-NMR (CDCl₃, 300 MHz):

δ (ppm) = 11.07 (s, 1 H), 8.80 (s, 1 H), 7.90 (d, 1 H, J = 8.7 Hz), 7.28 (t, 1 H, J = 7.8 Hz), 7.04 – 6.94 (m, 5 H), 6.89 – 6.86 (m, 3 H), 4.81 (t, 1 H, J = 4.2 Hz), 4.66 (t, 1 H, J = 3.9 Hz), 4.23 (t, 1 H, J = 3.9 Hz), 4.13 (t, 1 H, J = 3.9 Hz), 3.85 (s, 3 H), 3.69 (s, 2 H)

MS (FD) m/z (% rel. Int.): 228.8 (2.9) [M²⁺], 457.2 (100.0) [M⁺], 914.3 (0.9) [2 M⁺]

6.4.1.9 7-Chlor-3-{3-[4-(2-fluorethoxy)-phenoxy]-phenyl}-4-hydroxy-1*H*-chinolin-2-on (55)



Ansatz:

54	317 mg	0,69 mmol
Kalium-bis-(trimethylsilyl)-amid	344 mg	1,72 mmol

54 (317 mg, 0,69 mmol) wurde in THF (3 mL) gelöst und auf 0 °C gekühlt. Anschließend wurde eine Lösung aus Kalium-bis-(trimethylsilyl)-amid (344 mg, 1,72 mmol) in THF (1,8 mL) tropfenweise hinzugegeben und 1,5 h bei 0 °C gerührt. Im Anschluss wurde unter starkem Rühren eine Mischung aus 6 M HCl (3,6 mL) und Eis (3,6 g) hinzugegeben. Der resultierende Feststoff wurde abfiltriert und mit kaltem Wasser gewaschen.

Ausbeute:

286 mg (0,67 mmol, 97 % d. Th.)

Charakterisierung:

Summenformel: C₂₃H₁₇ClFNO₄

Molekulargewicht: 425,84 g/mol

weißer Feststoff

R_f: 0,55 (CH₂Cl₂/Ethylacetat, 9/1 + 3 % Ameisensäure)

¹H-NMR (DMSO-d₆, 300 MHz):

δ (ppm) = 11.55 (s, 1 H), 10.37 (bs, 1 H), 7.91 (d, 1 H, *J* = 8.4 Hz), 7.36 (t, 1 H, *J* = 7.8 Hz), 7.30 (d, 1 H, *J* = 2.1 Hz), 7.20 (dd, 1 H, *J* = 2.1 Hz, *J* = 8.4 Hz), 7.09 – 6.97 (m, 5 H), 6.92 – 6.86 (m, 2 H), 4.80 (t, 1 H, *J* = 3.9 Hz), 4.64 (t, 1 H, *J* = 3.9 Hz), 4.25 (t, 1 H, *J* = 3.9 Hz), 4.15 (t, 1 H, *J* = 3.9 Hz)

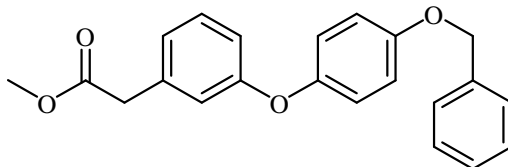
¹³C-NMR (DMSO-d₆, 75.5 MHz):

δ (ppm) = 162.53, 157.44, 157.19, 154.48, 150.01, 139.07, 135.14, 129.25, 125.80, 125.40, 121.39, 120.66, 120.34, 116.37, 115.85, 114.32, 112.38, 83.40, 81.19, 67.65, 67.41

MS (FD) *m/z* (% rel. Int.): 425.3 (100.0) [M⁺]

6.4.2 Synthesen des Markierungsvorläufers

6.4.2.1 [3-(4-Benzyloxyphenoxy)-phenyl]-essigsäuremethylester (56)



Ansatz:

51	1,3 g	5,03 mmol
Benzylbromid	1,03 g	6,04 mmol
Kaliumcarbonat	765 mg	5,54 mmol

51 (1,3 g, 5,03 mmol) wurde in Aceton (20 mL) gelöst, mit Kaliumcarbonat (765 mg, 5,54 mmol) versetzt und 15 min auf 65 °C erhitzt. Anschließend wurde eine Lösung aus Benzylbromid (1,03 g, 6,04 mmol) in Aceton (5 mL) hinzugegeben und über Nacht bei 65 °C gerührt. Im Anschluss wurde das Aceton im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde in Wasser (30 mL) aufgenommen und mit Ethylacetat (3 × 50 mL) extrahiert. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet, abfiltriert, im Vakuum entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch (Petrolether/Ethylacetat, 2/1) aufgereinigt.

Ausbeute:

1,72 g (4,94 mmol, 98 % d. Th.)

Charakterisierung:

Summenformel: C₂₂H₂₀O₄

Molekulargewicht: 348,39 g/mol

hellgelbe Kristalle

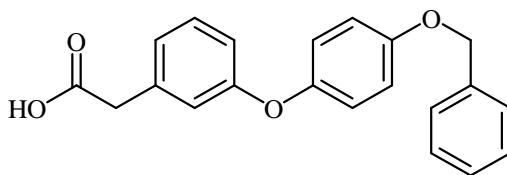
R_f: 0,78 (Petrolether/Ethylacetat, 2/1)

¹H-NMR (CDCl₃, 300 MHz):

δ (ppm) = 7.44 – 7.30 (m, 5 H), 7.24 (t, 1 H, J = 3.6 Hz), 6.98 – 6.93 (m, 5 H), 6.86 – 6.81 (m, 2 H), 5.03 (s, 2 H), 3.67 (s, 3 H), 3.57 (s, 2 H)

MS (FD) m/z (% rel. Int.): 348.0 (100.0) [M⁺]

6.4.2.2 [3-(4-Benzyloxyphenoxy)-phenyl]-essigsäure (57)



Ansatz:

56	1,68 g	4,82 mmol
NaOH-Lsg., 2 M	5 mL	10 mmol

56 (1,68 g, 4,82 mmol) wurde in einer Mischung aus THF und Wasser (2/1, 45 mL) suspendiert und unter starkem Rühren tropfenweise mit 2 M NaOH (5 mL) versetzt. Nach 1 h wurde das THF im Vakuum entfernt, die resultierenden Kristalle in Wasser aufgeschlämmt und abfiltriert. Anschließend wurden diese erneut in Wasser aufgeschlämmt und mit 2 M HCl (4 mL) bis pH 6 angesäuert. Im Anschluss wurde Ethylacetat (50 mL) hinzugegeben und die Phasen getrennt. Die wässrige Phase wurde mit Ethylacetat (2 × 25 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet, abfiltriert und im Vakuum entfernt.

Ausbeute:

1,57 g (4,7 mmol, 98 % d. Th.)

Charakterisierung:

Summenformel: C₂₁H₁₈O₄

Molekulargewicht: 334,37 g/mol

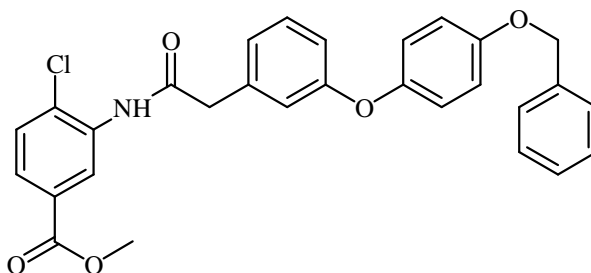
farblose Kristalle

R_f: 0,36 (Petrolether/ Ethylacetat, 3/1 + 3 % Ameisensäure)

¹H-NMR (CDCl₃, 300 MHz):

δ (ppm) = 7.45 – 7.32 (m, 5 H), 7.23 (t, 1 H, J = 7.8 Hz), 6.95 – 6.93 (m, 5 H), 6.87 – 6.81 (m, 2 H), 5.03 (s, 2 H), 3.59 (s, 2 H)

MS (FD) m/z (% rel. Int.): 334.2 (100.0) [M⁺], 668.4 (0.2) [2 M⁺]

6.4.2.3 2-[2-[3-(4-Benzyloxyphenoxy)-phenyl]-acetyl-amino]-4-chlor-benzoensäuremethylester (58)

Ansatz:

57	775 mg	2,32 mmol
Oxalylchlorid	275 μ L	3,20 mmol
2-Amino-4-chlor-benzoensäuremethylester	430 mg	2,32 mmol
Triethylamin	343 μ L	2,47 mmol

57 (775 mg, 2,32 mmol) wurde in Dichlormethan (12 mL) gelöst, auf 0 °C gekühlt und mit Oxalylchlorid (275 μ L, 3,20 mmol) sowie 2 Tropfen DMF versetzt. Die Reaktionslösung wurde für 1 h bei RT gerührt. Anschließend wurde das Dichlormethan im Vakuum entfernt und der ölige Rückstand in THF (8 mL) gelöst. 2-Amino-4-chlor-benzoensäuremethylester (430 mg, 2,32 mmol) wurde in THF (8 mL) gelöst, auf 70 °C erwärmt und mit der THF-Lösung aus der ersten Reaktion versetzt. Im Anschluss wurde Triethylamin (343 μ L, 2,47 mmol) hinzugegeben, die Reaktion für 5 h bei 70 °C erhitzt und über Nacht bei RT gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und der Rückstand in Wasser (25 mL) und Ethylacetat (25 mL) aufgenommen. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase mit Ethylacetat (2 \times 25 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet, im Vakuum entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch (Petrolether/Ethylacetat, 4/1) aufgereinigt.

Ausbeute:

825 mg (1,64 mmol, 71 % d. Th.)

Charakterisierung:

Summenformel: C₂₉H₂₄ClNO₅

Molekulargewicht: 501,96 g/mol

hellgelbes Öl

R_f: 0,51 (Petrolether/ Ethylacetat, 4/1)

¹H-NMR (DMSO-d₆, 300 MHz):

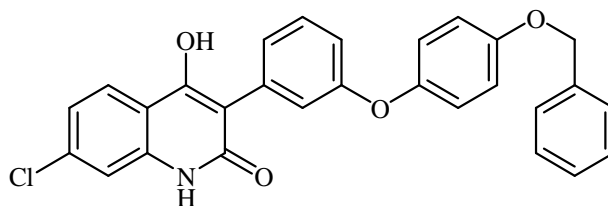
δ (ppm) = 10.71 (s, 1 H), 8.41 (d, 1 H, J = 2.1 Hz), 7.89 (d, 1 H, J = 8.4 Hz), 7.45 – 7.29 (m, 6 H), 7.23 (dd, 1 H, J = 2.1 Hz, J = 8.4 Hz), 7.06 – 6.96 (m, 6 H), 6.83 (dd, 1 H, J = 2.1 Hz, J = 8.4 Hz), 5.06 (s, 2 H), 3.78 (s, 3 H), 3.74 (s, 2 H)

¹³C-NMR (DMSO-d₆, 75.5 MHz):

δ (ppm) = 169.75, 166.83, 158.16, 154.84, 149.65, 140.85, 138.57, 137.16, 136.67, 132.43, 130.11, 128.54, 127.95, 127.83, 123.95, 123.26, 120.75, 120.21, 118.64, 116.15, 116.08, 69.72, 52.65, 44.01

MS (FD) m/z (% rel. Int.): 501.3 (100.0) [M⁺], 1002.6 (1.8) [2 M⁺]

6.4.2.4 3-[3-(4-Benzyloxyphenoxy)-phenyl]-7-chlor-4-hydroxy-1H-chinolin-2-on (59)



Ansatz:

58	815 mg	1,62 mmol
Kalium-bis-(trimethylsilyl)-amid	807 mg	4,05 mmol

58 (815 mg, 1,62 mmol) wurde in THF (7 mL) gelöst und auf 0 °C gekühlt. Anschließend wurde eine Lösung aus Kalium-bis-(trimethylsilyl)-amid (807 mg, 4,05 mmol) in THF (4 mL) tropfenweise innerhalb 30 min hinzugegeben und 1,5 h bei 0 °C gerührt. Im Anschluss wurde unter starkem Rühren eine Mischung aus 6 M HCl (9 mL) und Eis (9 g) hinzugegeben. Der resultierende Feststoff wurde abfiltriert und mit kaltem Wasser gewaschen.

Ausbeute:

740 mg (1,58 mmol, 98 % d. Th.)

Charakterisierung:

Summenformel: C₂₈H₂₀ClNO₄

Molekulargewicht: 469,92 g/mol

weißer Feststoff

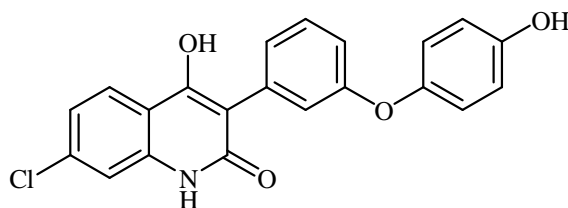
R_f: 0,42 (Petrolether/Ethylacetat, 2/1 + 3 % Ameisensäure)

¹H-NMR (DMSO-d₆, 300 MHz):

δ (ppm) = 11.56 (s, 1 H), 10.37 (s, 1 H), 7.91 (d, 1 H, *J* = 8.7 Hz), 7.45 – 7.19 (m, 7 H), 7.20 (dd, 1 H, *J* = 1.5 Hz, *J* = 8.7 Hz), 7.08 – 7.01 (m, 5 H), 6.91 – 6.86 (m, 2 H), 5.06 (s, 2 H)

MS (FD) *m/z* (% rel. Int.): 469.3 (100.0) [M⁺]

6.4.2.5 7-Chlor-4-hydroxy-3-[3-(4-hydroxyphenoxy)-phenyl]-1H-chinolin-2-on (60)



Ansatz:

59	100 mg	0,21 mmol
Palladium auf Aktivkohle (10 % Pd)	20 mg	

59 (100 mg, 0,21 mmol) wurde in Ethylacetat (100 mL) suspendiert und mit Palladium auf Aktivkohle (5 mg, 20 Gew.-%) versetzt. Durch die Reaktionsmischung wurde für 2 h ein Wasserstoffstrom durchgeleitet. Im Anschluss wurde die Reaktionsmischung über Celite abfiltriert, das Lösungsmittel im Vakuum weitgehend entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch (100 % Ethylacetat) aufgereinigt.

Ausbeute:

72 mg (0,19 mmol, 91 % d. Th.)

Charakterisierung:

Summenformel: C₂₁H₁₄ClNO₄

Molekulargewicht: 379,79 g/mol

weißer Feststoff

R_f: 0,80 (100 % Ethylacetat)

¹H-NMR (DMSO-d₆, 300 MHz):

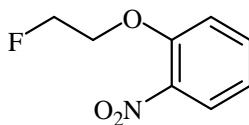
δ (ppm) = 11.55 (s, 1 H), 10.34 (bs, 1 H), 9.31 (s, 1 H), 7.90 (d, 1 H, *J* = 8.7 Hz), 7.33 (t, 1 H, *J* = 7.5 Hz), 7.29 (d, 1 H, *J* = 1.8 Hz), 7.20 (dd, 1 H, *J* = 1.8 Hz, *J* = 8.7 Hz), 7.02 (d, 1 H, *J* = 1.8 Hz, *J* = 7.5 Hz), 6.91 (d, 2 H, *J* = 8.7 Hz), 6.87 (s, 1 H), 6.83 (dd, 1 H, *J* = 1.8 Hz, *J* = 7,5 Hz), 6.76 (d, 2 H, *J* = 8.7 Hz)

MS (FD) *m/z* (% rel. Int.): 189.5 (0.8) [M²⁺], 379.1 (100.0) [M⁺]

6.5 Synthese der Synthesebausteine

6.5.1 Synthese der Nitrobenzol-Derivate

6.5.1.1 2-(2-Fluorethoxy)-nitrophenol (61)



Ansatz:

2-Nitrophenol	5,56 g	40 mmol
1,2-Bromfluorethan	5,59 g	44 mmol
Kaliumcarbonat	6,08 g	44 mmol

2-Nitrophenol (5,56 g, 40 mmol) wurde unter Argonatmosphäre in getrocknetem Aceton (50 mL) gelöst und mit Kaliumcarbonat (6,08 g, 44 mmol) versetzt. Nach Erhitzen der Reaktionsmischung auf 70 °C wurde 1,2-Bromfluorethan (5,59 g, 44 mmol) hinzugegeben und für 24 h unter Rückfluss erhitzt. Im Anschluss wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand in Wasser (50 mL) aufgenommen. Die wässrige Phase wurde mit Ethylacetat (3 × 50 mL) extrahiert. Die organische Phase wurde mit 2 M NaOH (2 × 25 mL) gewaschen und anschließend mit Wasser (2 × 50 mL) neutral gewaschen. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet, abfiltriert und im Vakuum entfernt.

Ausbeute:

3,05 g (16,5 mmol, 41 % d. Th.)

Charakterisierung:

Summenformel: C₈H₈FNO₃
 hellgelbe Nadeln

Molekulargewicht: 185,15 g/mol

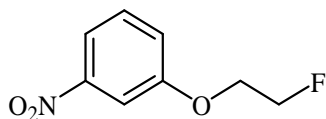
R_f: 0,65 (Petrolether/Ethylacetat, 1/1)

¹H-NMR (CDCl₃, 300 MHz):

δ (ppm) = 8.82 (dd, 1 H, *J* = 1.8 Hz, *J* = 8.1 Hz), 7.52 (dt, 1 H, *J* = 1.8 Hz, *J* = 8.1 Hz), 7.10 – 7.03 (m, 2 H), 4.85 (t, 1 H, *J* = 4.2 Hz), 4.69 (t, 1 H, *J* = 4.2 Hz), 4.39 (t, 1 H, *J* = 4.2 Hz), 4.30 (t, 1 H, *J* = 4.2 Hz)

MS (FD) *m/z* (% rel. Int.): 184.9 (100.0) [M⁺], 369.8 (1.6) [2 M⁺]

6.5.1.2 3-(2-Fluorethoxy)-nitrophenol (62)



Ansatz:

3-Nitrophenol	4,76 g	34,2 mmol
1,2-Bromfluorethan	4,79 g	37,7 mmol
Kaliumcarbonat	5,21 g	37,7 mmol

3-Nitrophenol (4,76 g, 34,2 mmol) wurde in getrocknetem Aceton (45 mL) gelöst und mit Kaliumcarbonat (5,21 g, 37,7 mmol) versetzt. Nach Erhitzen der Reaktionsmischung auf 70 °C wurde 1,2-Bromfluorethan (4,79 g, 37,7 mmol) hinzugegeben und für 24 h unter Rückfluss erhitzt. Im Anschluss wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand in Wasser (50 mL) aufgenommen. Die wässrige Phase wurde mit Ethylacetat (3 × 50 mL) extrahiert. Die organische Phase wurde mit 2 M NaOH (2 × 25 mL) gewaschen und anschließend mit Wasser (2 × 50 mL) neutral gewaschen. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet, abfiltriert und im Vakuum entfernt.

Ausbeute:

5,89 g (31,8 mmol, 93 % d. Th.)

Charakterisierung:

Summenformel: C₈H₈FNO₃

Molekulargewicht: 185,15 g/mol

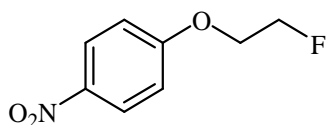
hellgelber Feststoff

R_f: 0,81 (Petrolether/Ethylacetat, 1/1)

¹H-NMR (DMSO-d₆, 300 MHz):

δ (ppm) = 7.83 (dd, 1 H, *J* = 2.7 Hz, *J* = 8.1 Hz), 7.74 (t, 1 H, *J* = 2.4 Hz), 7.58 (t, 1 H, *J* = 8.4 Hz), 7.45 (dd, 1 H, *J* = 2.7 Hz, *J* = 8.1 Hz), 4.84 (t, 1 H, *J* = 3.9 Hz), 4.68 (t, 1 H, *J* = 3.9 Hz), 4.43 (t, 1 H, *J* = 3.9 Hz), 4.33 (t, 1 H, *J* = 3.9 Hz)

6.5.1.3 4-(2-Fluorethoxy)-nitrophenol (63)



Ansatz:

4-Nitrophenol	5,56 g	40 mmol
1,2-Bromfluorethan	5,59 g	44 mmol
Kaliumcarbonat	6,08 g	44 mmol

4-Nitrophenol (5,56 g, 40 mmol) wurde in getrocknetem Aceton (50 mL) gelöst und mit Kaliumcarbonat (6,08 g, 44 mmol) versetzt. Nach Erhitzen der Reaktionsmischung auf 70 °C wurde 1,2-Bromfluorethan (5,59 g, 44 mmol) hinzugegeben und für 24 h unter Rückfluss erhitzt. Im Anschluss wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand in Wasser (50 mL) aufgenommen. Die wässrige Phase wurde mit Ethylacetat (3 × 50 mL) extrahiert. Die organische Phase wurde mit 2 M NaOH (2 × 25 mL) gewaschen und anschließend mit Wasser (2 × 50 mL) neutral gewaschen. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet, abfiltriert und im Vakuum entfernt.

Ausbeute:

4,04 g (21,8 mmol, 55 % d. Th.)

Charakterisierung:

Summenformel: C₈H₈FNO₃

Molekulargewicht: 185,15 g/mol

hellgelbe Kristalle

R_f: 0,53 (Petrolether/Ethylacetat, 2/1)

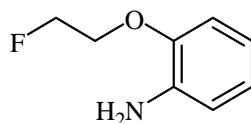
¹H-NMR (DMSO-d₆, 300 MHz):

δ (ppm) = 8.19 (td, 2 H, J = 2.7 Hz, J = 9.6 Hz), 6.97 (td, 2 H, J = 2.7 Hz, J = 9.6 Hz), 4.86 (t, 1 H, J = 4.2 Hz), 4.70 (t, 1 H, J = 4.2 Hz), 4.34 (t, 1 H, J = 4.2 Hz), 4.25 (t, 1 H, J = 4.2 Hz)

MS (FD) m/z (% rel. Int.): 185.0 (100.0) [M⁺]

6.5.2 Synthese der Anilin-Derivate

6.5.2.1 2-(2-Fluorethoxy)-anilin (64)



Ansatz:

61	1,52 g	8,22 mmol
Palladium auf Aktivkohle (10 % Pd)	150 mg	

Im Ultraschallbad wurde **61** (1,52 g, 8,22 mmol) in Methanol (50 mL) gelöst und mit Palladium auf Aktivkohle (150 mg, 10 Gew.-%) versetzt. Anschließend wurde in das Reaktionsgemisch für 1,5 h H₂-Gas eingeleitet. Im Anschluss wurde das Reaktionsgemisch über Celite abfiltriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt.

Ausbeute:

1,23 g (7,9 mmol, 97 % d. Th.)

Charakterisierung:

Summenformel: C₈H₁₀FNO

Molekulargewicht: 155,17 g/mol

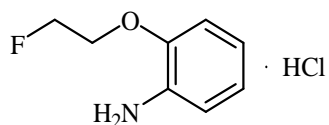
braunes Öl

R_f: 0,80 (Petrolether/Ethylacetat, 1/1)

¹H-NMR (DMSO-d₆, 300 MHz):

δ (ppm) = 7.79 (d, 1 H, *J* = 8.1 Hz), 6.72 (m, 2 H), 6.49 (dt, 1 H, *J* = 2.1 Hz, *J* = 7.5 Hz), 4.81 (t, 1 H, *J* = 3.9 Hz), 4.68 (s, 2 H), 4.65 (t, 1 H, *J* = 3.9 Hz), 4.21 (t, 1 H, *J* = 3.9 Hz), 4.11 (t, 1 H, *J* = 3.9 Hz)

6.5.2.2 2-(2-Fluorethoxy)-anilin Hydrochlorid (65)



Ansatz:

64	1,23 g	7,94 mmol
etherische HCl, 2 M	5 mL	

64 (1,23 g, 7,94 mmol) wurde in Diethylether (15 mL) gelöst und unter Rühren mit 2 M etherischer HCl (5 mL) versetzt. Der resultierende Feststoff wurde abfiltriert und mit Diethylether gewaschen.

Ausbeute:

1,43 g (7,5 mmol, 94 % d. Th.)

Charakterisierung:

Summenformel: C₈H₁₁ClFNO

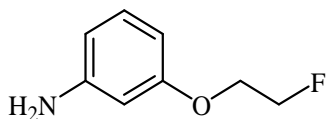
Molekulargewicht: 191,63 g/mol

hellbrauner Feststoff

¹H-NMR (DMSO-d₆, 300 MHz):

δ (ppm) = 10.01 (bs, 1 H), 7.45 (d, 1 H, *J* = 7.5 Hz), 7.33 (t, 1 H, *J* = 7.5 Hz), 7.21 (d, 1 H, *J* = 7.5 Hz), 7.03 (t, 1 H, *J* = 7.5 Hz), 4.88 (s, 1 H), 4.72 (s, 1 H), 4.41 (s, 1 H), 4.31 (s, 1 H)

6.5.2.3 3-(2-Fluorethoxy)-anilin (66)



Ansatz:

62	2,94 g	15,9 mmol
Palladium auf Aktivkohle (10 % Pd)	295 mg	

Im Ultraschallbad wurde **62** (2,94 g, 15,9 mmol) in Methanol (80 mL) gelöst und mit Palladium auf Aktivkohle (295 mg, 10 Gew.-%) versetzt. Anschließend wurde in das Reaktionsgemisch für 1 h H₂-Gas eingeleitet. Im Anschluss wurde das Reaktionsgemisch über Celite abfiltriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt.

Ausbeute:

2,36 g (15,2 mmol, 96 % d. Th.)

Charakterisierung:

Summenformel: C₈H₁₀FNO
hellbrauner Feststoff

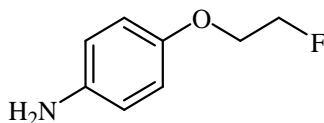
Molekulargewicht: 155,17 g/mol

R_f: 0,75 (Petrolether/Ethylacetat, 1/1)

¹H-NMR (DMSO-d₆, 300 MHz):

δ (ppm) = 6.88 (t, 1 H, J = 8.1 Hz), 6.16 – 6.13 (m, 2 H), 6.08 (dd, 1 H, J = 2.4 Hz, J = 5.1 Hz), 5.05 (s, 2 H), 4.76 (t, 1 H, J = 3.9 Hz), 4.60 (t, 1 H, J = 3.9 Hz), 4.13 (t, 1 H, J = 3.9 Hz), 4.30 (t, 1 H, J = 3.9 Hz)

6.5.2.4 4-(2-Fluorethoxy)-anilin (67)



Ansatz:

63	2,009 g	10,85 mmol
Palladium auf Aktivkohle (10 % Pd)	200 mg	

Im Ultraschallbad wurde **63** (2,009 g, 10,85 mmol) in 2-Propanol (50 mL) gelöst und mit Palladium auf Aktivkohle (200 mg, 10 Gew.-%) versetzt. Anschließend wurde in das Reaktionsgemisch für 100 min H₂-Gas eingeleitet. Im Anschluss wurde das Reaktionsgemisch über Celite abfiltriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt.

Ausbeute:

1,67 g (10,7 mmol, 99 % d. Th.)

Charakterisierung:

Summenformel: C₈H₁₀FNO

Molekulargewicht: 155,17 g/mol

hellbraune Kristalle

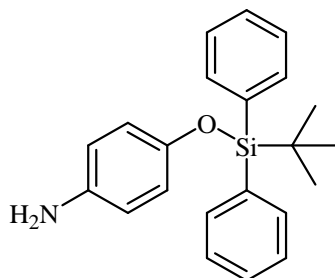
R_f: 0,37 (Petrolether/Ethylacetat, 1/1)

¹H-NMR (DMSO-d₆, 300 MHz):

δ (ppm) = 6.66 (td, 2 H, J = 2.7 Hz, J = 8.7 Hz), 6.50 (td, 2 H, J = 2.7 Hz, J = 8.7 Hz), 4.73 (t, 1 H, J = 3.9 Hz), 4.63 (s, 2 H), 4.57 (t, 1 H, J = 3.9 Hz), 4.10 (t, 1 H, J = 3.9 Hz), 4.00 (t, 1 H, J = 3.9 Hz)

MS (FD) m/z (% rel. Int.): 155.0 (4.3) [M⁺]

6.5.2.5 4-(tert.-Butyldiphenylsilyloxy)-phenylamin (68)



Ansatz:

4-Aminophenol	976 mg	8,94 mmol
tert.-Butyldiphenylsilylsilan	2,53 g	9,2 mmol
Imidazol	1,22 g	17,9 mmol

4-Aminophenol (976 mg, 8,94 mmol) wurde in THF (10 mL) suspendiert und Imidazol (1,22 g, 17,9 mmol) hinzugegeben. Die Reaktionsmischung wurde auf 0 °C gekühlt und 10 min gerührt. Innerhalb 1 min wurde tropfenweise tert.-Butyldiphenylsilylsilan (2,53 g, 9,2 mmol) hinzugegeben und 1,5 h bei RT gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und der Rückstand mit Wasser und Ethylacetat (jeweils 25 mL) versetzt. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase mit Ethylacetat (3 × 25 mL) extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet, abfiltriert und im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch (Petrolether/Ethylacetat, 1/1) aufgereinigt.

Ausbeute:

2,11 g (6,0 mmol, 68 % d. Th.)

Charakterisierung:

Summenformel: C₂₂H₂₅NOSi

Molekulargewicht: 347,53 g/mol

gelbes Öl

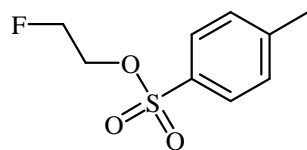
R_f: 0,70 (Petrolether/Ethylacetat, 1/1)

¹H-NMR (CDCl₃, 300 MHz):

δ (ppm) = 7.71 (d, 2 H, J = 1.5 Hz), 7.68 (d, 2 H, J = 1.5 Hz), 7.40 – 7.32 (m, 6 H), 6.57 (dd, 2 H, J = 2.1 Hz, J = 6.6 Hz), 6.43 (dd, 2 H, J = 2.1 Hz, J = 6.6 Hz), 3.09 (bs, 2 H), 1.07 (s, 9 H)

MS (FD) m/z (% rel. Int.): 346.9 (100.0) [M⁺], 693.9 (2.3) [2 M⁺]

6.5.2.6 Synthese des 2-Fluorethyltosylats (69)



Ansatz:

2-Fluorethanol	1,0 g	15,6 mmol
4-Toluolsulfonsäurechlorid	3,56 g	18,7 mmol

2-Fluorethanol (1,0 g, 15,6 mmol) wurde in wasserfreiem Pyridin (15 mL) gelöst und im Eisbad auf 0° C gekühlt. Innerhalb 30 min wurde 4-Toluolsulfonsäurechlorid (3,56 g, 18,7 mmol) portionsweise zugegeben. Nach beendeter Zugabe wurde die Reaktionslösung für 4 h bei 0° C gerührt. Anschließend wurde Eis (15 g) und Wasser (20 mL) hinzugegeben und die wässrige Phase mit Ethylacetat (50 mL) extrahiert. Die organische Phase wurde mit Wasser (20 mL), 1 M HCl (20 mL), Na₂CO₃-Lsg. (20 mL, pH 10) und gesättigter NaCl (20 mL) gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet, abfiltriert und im Vakuum entfernt.

Ausbeute:

2,38 g (10,9 mmol, 70 % d. Th.)

Charakterisierung:

Summenformel: C₉H₁₁FO₃S

Molekulargewicht: 218,25 g/mol

weißer Feststoff

R_f: 0,77 (Petrolether/Ethylacetat, 1/1)

¹H-NMR (CDCl₃, 300 MHz):

δ (ppm) = 7.79 (d, 2 H, J = 8.1 Hz), 7.34 (d, 2 H, J = 8.1 Hz), 4.63 (t, 1 H, J = 3.9 Hz), 4.47 (t, 1 H, J = 3.9 Hz), 4.28 (t, 1 H, J = 3.9 Hz), 4.19 (t, 1 H, J = 3.9 Hz), 2.43 (s, 3 H)

MS (FD) m/z (% rel. Int.): 218.3 (100.0) [M⁺]

6.5.2.7 Synthese des 2-[¹⁸F]Fluorethyltosylats

Das für die ¹⁸F-Synthesen verwendete Synthon, 2-[¹⁸F]Fluorethyltosylat ([¹⁸F]FETos), wurde durch eine computergesteuerte, automatisierte Synthese hergestellt. Das Fließbild des verwendeten Synthesemoduls ist in Abbildung 90 dargestellt.

Vor Beginn der Synthese wurden die nachfolgend aufgeführten Lösungen sowie die wässrige [¹⁸F]Fluorid-Lösung in den entsprechenden Vorratsgefäßen vorgelegt und die frisch konditionierten Festphasenkartuschen an entsprechender Stelle im Modul eingesetzt. Die Synthese erfolgte nach einem programmierten Syntheseprotokoll, in dem die verschiedenen Ventil- und Relaisstellungen, Heliumflussraten, Drücke und Reaktionsbedingungen festgelegt wurden.

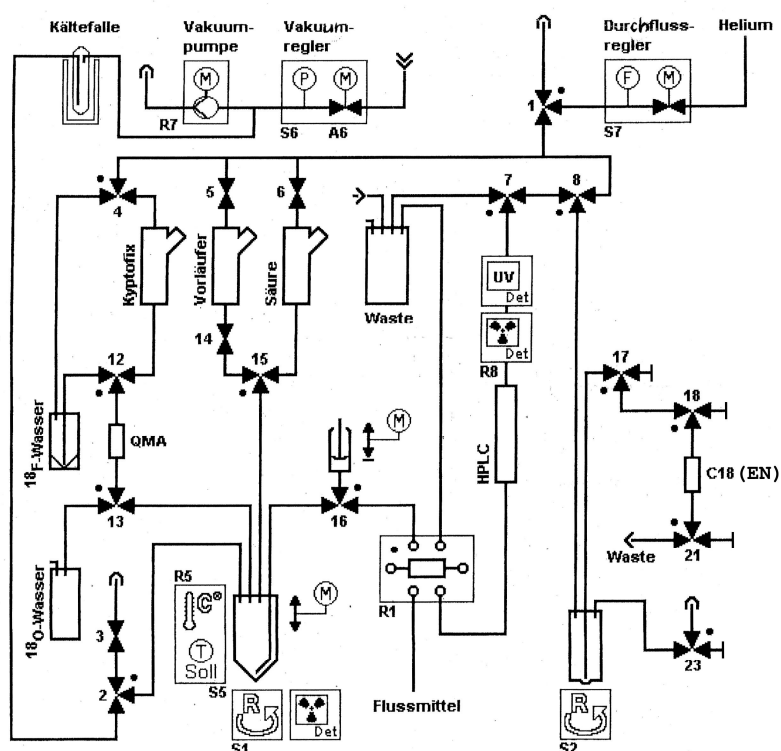


Abb. 90: Fließbild des computergestützten [¹⁸F]FETos-Synthesemoduls

Lösung „Kryptofix“: Kryptofix[®] 2.2.2. (15 mg) und 1 M K₂CO₃ (15 µL), gelöst in ACN (1 mL)

Lösung „Vorläufer“: Ethylen-1,2-ditosylat (20 mg) in ACN (1 mL)

Lösung „Säure“: Wasser/ACN, 1/1 (1 mL)

HPLC-Vorlage „S2“: Wasser (40 mL)

Kartusche „QMA“: 1 Sep-Pak[®] light QMA (konditioniert mit 1 M K₂CO₃ (10 mL), Wasser (20 mL)

Kartusche „C18“: LiChrolut[®] EN (konditioniert mit ACN (15 mL), Wasser (20 mL)

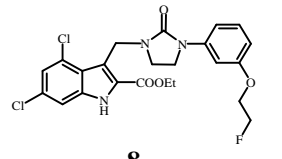
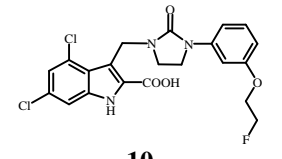
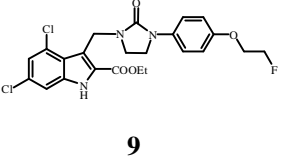
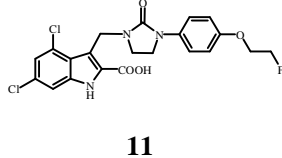
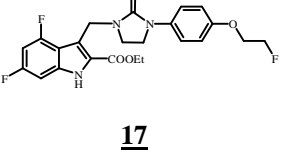
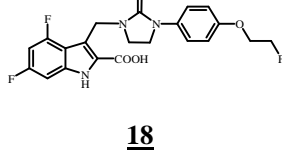
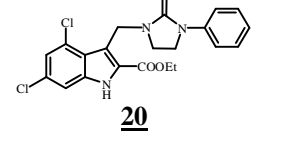
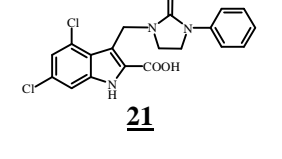
HPLC: Lichrospher 100 RP-18 Säule (EC-5 µ, 250 mm x 10 mm, CS-Chromatographie GmbH), Eluens: ACN/Wasser 50/50, Flussrate: 5 mL/min

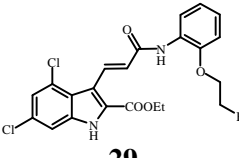
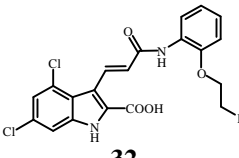
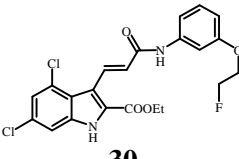
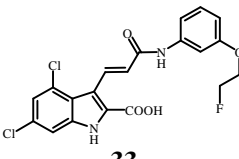
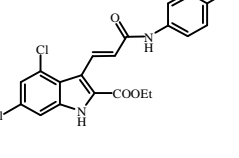
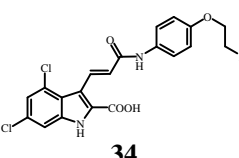
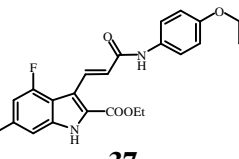
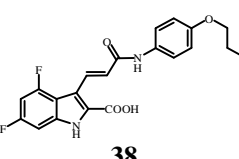
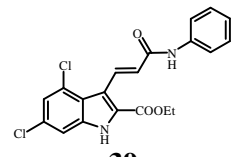
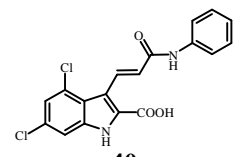
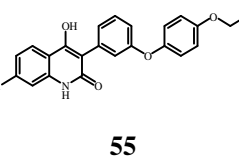
Das $^{18}\text{F}^-_{\text{aq}}$ wurde in einem Wheaton-Reaktorgefäß in die Apparatur eingesetzt und durch den angelegten Heliumfluss auf einer QMA-Kartusche fixiert. Durch Elution mit der Lösung „Kryptofix“ wurde das ^{18}F Fluorid in den Sigradur-Reaktor überführt. Im Reaktor wurde das ^{18}F Fluorid azeotrop mit Acetonitril bei 80 °C unter schrittweiser Reduktion von Vakuum und Heliumstrom getrocknet. Nach beendeter Trocknung wurde die „Vorläufer“-Lösung in den Reaktor geleitet. Die Markierung des Ethylen-1,2-ditosylats im Reaktor wurde bei 88 °C innerhalb von 3 min durchgeführt. Nach Abkühlung auf 25 °C wurde das Reaktionsgemisch mit der Lösung „Säure“ verdünnt und anschließend mittels HPLC aufgetrennt. Der das 2- ^{18}F FETos enthaltende Radioaktivitätspeak ($t_{\text{R}} = 8 - 10$ min) wurde in die wasserbefüllte Vorlage „S2“ geleitet und auf einer konditionierten „C18“-Kartusche fixiert, welche anschließend für 5 min mit einem Heliumstrom von 250 mL/min getrocknet wurde. Für die anschließende Markierungsreaktion wurde das fixierte ^{18}F FETos durch Elution mit DMSO direkt in einen Wheaton-Reaktor überführt. Die Gesamtsynthesezeit betrug 50 Minuten.

7. Zusammenfassung und Ausblick

Da derzeit noch keine geeignete Liganden zur Visualisierung des NMDA-Rezeptors zur Verfügung stehen, wurden aufgrund aussichtsreicher und biologisch aktiver Substanzen insgesamt acht potentielle PET-Liganden entwickelt und auf ihre biologischen Eigenschaften hin untersucht. Dabei wurden zwei Fluorethoxy-Derivate der 4,6-Dichlor-3-(2-oxo-3-phenylimidazolidin-1-ylmethyl)-1*H*-indol-2-carbonsäure (Derivate des MDJ-114) und drei Derivate der 4,6-Dichlor-3-(2-phenylcarbamoyl-vinyl)-1*H*-indol-2-carbonsäure (Derivate des GV150526) sowie das fluorethylierte Derivat des 7-Chlor-4-hydroxy-3-(3-phenoxyphenyl)-1*H*-chinolin-2-ons (Derivat des L-701,324) dargestellt und *in vitro* auf ihre Affinität zum NMDA-Rezeptor untersucht. Von den Indol-Derivaten wurden neben den Carbonsäuren auch die entsprechenden Ethylester auf ihre Affinität hin getestet. Ebenso wurden zum Vergleich die 4,6-dichlorierten Verbindungen ohne eine Substitution im terminalen Phenylring synthetisiert. Basierend auf diesen Ergebnissen wurden zusätzlich zu den 4,6-dichlorierten Derivaten auch die para-fluorethylierten Verbindungen mit einer 4,6-Difluorsubstitution im Indolgrundkörper dargestellt. Vom L-701,324 wurde ein Derivat mit Fluorethoxysubstitution in para-Position dargestellt, da sich dieses Substitutionsmuster als aussichtsreich erwies. Die zuvor synthetisierten Verbindungen der 3-substituierten 4,6-Dichlorindol-2-carbonsäuren bestätigten diesen Trend.

Tab. 18: Übersicht der Affinitäten und der log D-Werte der inaktiven Referenzverbindungen

Struktur	log D	IC ₅₀ / μM	K _i / μM	Struktur	log D	IC ₅₀ / μM	K _i / μM
	3,91 ± 0,01*	28 ± 4	16 ± 3		0,84 ± 0,02	7,4 ± 0,3	4,7 ± 0,2
	3,63 ± 0,01*	15 ± 1	10 ± 1		0,50 ± 0,01*	1,4 ± 0,1	0,9 ± 0,1
	2,80 ± 0,01*	5,2 ± 0,7	17,4 ± 0,8		-0,32 ± 0,01	3,0 ± 0,2	1,9 ± 0,1
	4,20 ± 0,01*	108 ± 4	68 ± 3		1,18 ± 0,01	0,17 ± 0,07	0,08 ± 0,05

 <p>29</p>	3,93 ± 0,01*	258 ± 56	168 ± 37	 <p>32</p>	0,76 ± 0,01	1,4 ± 0,5	0,9 ± 0,3
 <p>30</p>	3,67 ± 0,01*	239 ± 53	156 ± 34	 <p>33</p>	0,72 ± 0,01	0,60 ± 0,06	0,39 ± 0,04
 <p>31</p>	3,41 ± 0,05	401 ± 36	261 ± 23	 <p>34</p>	0,23 ± 0,03	0,20 ± 0,25	0,13 ± 0,16
 <p>37</p>	2,72 ± 0,01*	4,5 ± 1,0	2,9 ± 0,7	 <p>38</p>	-0,42 ± 0,01*	0,42 ± 0,04	0,29 ± 0,03
 <p>39</p>	3,74 ± 0,01	48 ± 9	32 ± 6	 <p>40</p>	0,59 ± 0,04	0,02 ± 0,01	0,013 ± 0,006
 <p>55</p>	-0,25 ± 0,01	78 ± 37	51 ± 24				

*Fehler < 0,01

Von den insgesamt 19 Verbindungen wurde der log D-Wert als Maß für deren Lipophilie per HPLC-Methode bestimmt. Hier zeigten besonders die 4,6-difluorierten Derivate sowie das L-701,324-Derivat (**55**) äußerst niedrige log D-Werte im negativen Bereich. Die übrigen Carbonsäuren wiesen Werte im Bereich von 0,23 – 1,18 auf.

Im Folgenden wurde die Affinität der jeweiligen inaktiven Referenzverbindung zur Glycinbindungsstelle des NMDA-Rezeptors an präparierten Schweinehirnmembranen durch Verdrängung des Radioliganden [³H]MDL-105,519 bestimmt. Erste Erkenntnisse dieses Experiments zeigen, dass eine Carboxylgruppe wichtig für die Rezeptoraffinität ist. So besitzen die Ethylester der 3-substituierten Indol-2-carbonsäurederivate kein hohes Bindungspotential. Der Übergang zu den korrespondierenden Carbonsäuren hingegen führt zu einer Steigerung der Affinitäten im nanomolaren Bereich. Bei allen Verbindungen weisen die unsubstituierten Verbindungen die beste Affinität auf. Der Übergang zur Fluorethoxygruppe in para-Position des terminalen Phenylrings führt zwar zu einer Affinitätsverschlechterung, jedoch wirkt sich diese moderat aus. Eine Substitution in ortho- und meta-

Stellung führt zu erheblichen Affinitätsverlusten. Verbindung **55** als Vertreter der 4-substituierten 3-Aryl-chinolin-2-*1H*-one weist entgegen der Erwartung eine recht schlechte Affinität auf. Zum einen könnte es an der Einführung der Fluorethoxygruppe in para-Stellung liegen, wobei eine entsprechende Substitution in ortho- oder meta-Position gegebenenfalls zu einer besseren Affinität hätte führen können. Zum anderen könnte der Ansatz, die 4-Hydroxy-chinolin-2-on-Gruppierung als Carboxylatersatz zu verwenden, in einem Affinitätsverlust resultieren. Beides kann nicht ausgeschlossen werden.

Dennoch wurde von dieser Verbindung der Markierungsvorläufer synthetisiert, da man sich gerade von diesem Liganden durch die biosterische 4-Hydroxy-chinolin-2-on-Gruppierung eine verbesserte Permeabilität der Blut-Hirn-Schranke versprach.

Da eine para-Substitution im terminalen Phenylring der Indole die besten Affinitätswerte lieferte und die Affinität des [^{19}F]Gavestinderivats (**34**) im Vergleich zum MDJ-114-Derivat eine Steigerung aufwies, wurden die Synthesen des entsprechenden Markierungsvorläufers durchgeführt.

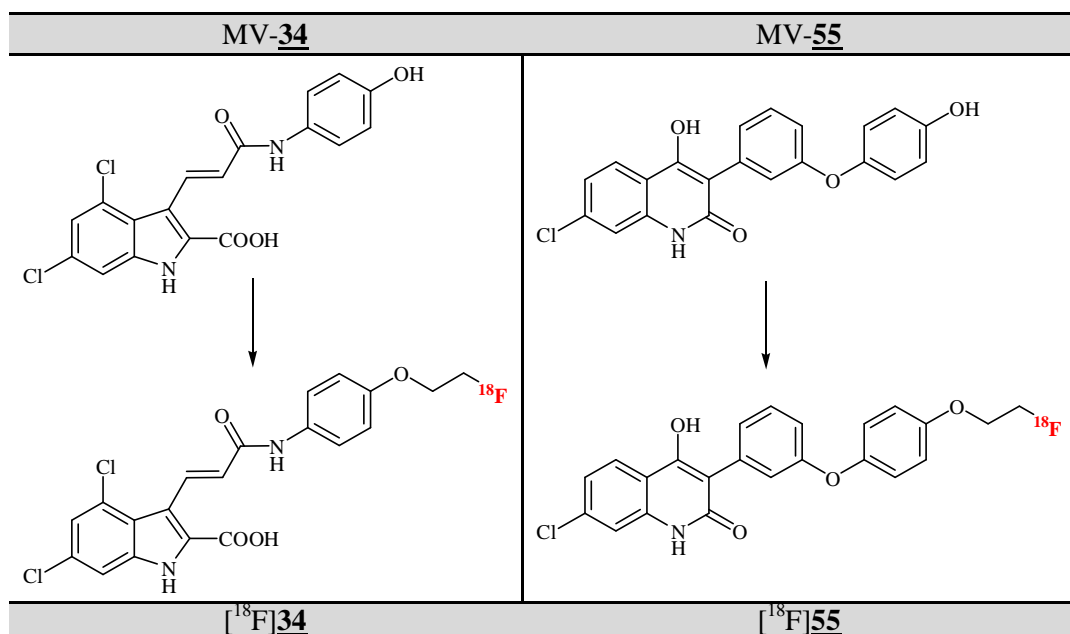


Abb. 91: Übersicht der verwendeten Markierungsvorläufer

Diese wurden hinsichtlich einer Radiomarkierung mit dem Synthon 2-[^{18}F]Fluorethyltosylat optimiert. Desweiteren wurde an semipräparativen Abtrennverfahren gearbeitet, um das entsprechende Radioprodukt ($[^{18}\text{F}]\mathbf{34}$ bzw. $[^{18}\text{F}]\mathbf{55}$) von Nebenprodukten zu befreien.

Bei der Synthese von $[^{18}\text{F}]\mathbf{34}$ wurden radiochemische Ausbeuten von bis zu 60 % erreicht. Die spezifische Aktivität lag im Bereich von 2,48 – 3,22 GBq/ μmol . In Autoradiographiestudien wurden präparierte Rattenhirnschnitte in zwei verschiedenen Ansätzen mit dem Tracer inkubiert. Dabei zeigte eine Aktivierung der Hirnschnitte mit Magnesiumchlorid und Glutamat eine positive Wirkung auf das Bindungsverhalten des Radioliganden. Nach Optimierung der Konzentration des Tracers und der Waschzeit konnten die besten Hirnschnitte zur Quantifizierung und Auswertung genutzt werden. Es zeigte sich eine Anreicherung in NMDA-reichen Regionen wie im Cortex, jedoch war auch ein hohes Maß an unspezifischer Bindung in Bereichen mit niedriger NMDA-Rezeptordichte, wie im Hippocampus, zu verzeichnen. Zwar weist der Radioligand aufgrund der Carboxylgruppe einen recht niedrigen log D-Wert auf, allerdings stellt der Molekülrest einen recht lipophilen Teil dar, der für das hohe Maß an unspezifischer Bindung verantwortlich sein könnte. Ebenso kann eine mögliche Cross-Affinität des Liganden zu anderen Rezeptorsystemen nicht ausgeschlossen werden. Im *in vivo*-Tierexperiment mittels μPET zeigte der Tracer jedoch keine ausreichende Hirngängigkeit.

Zur abschließenden Beurteilung der Bioaktivität der inaktiven Liganden der 3-substituierten 4,6-Dichlorindol-2-carbonsäure wurde die ^{19}F -fluorethylierte Carbonsäure des GV150526 (**34**) sowie der entsprechende Ethylester (**31**) wild-type- und Pgp-knockout-Mäusen appliziert, um den Liganden *ex vivo* gegebenenfalls im Gehirn und/oder im Blutplasma nachzuweisen. Erste Ergebnisse legen die Vermutung nahe, dass beide Verbindungstypen, weder bei wild-type- als auch bei Pgp-knockout-Mäusen, die Blut-Hirn-Schranke überwinden können. Eine Analyse des Plasmas konnte aufgrund technischer Voraussetzungen noch nicht zum Abschluss gebracht werden.

Der Radioligand [^{18}F]**55** wurde in radiochemischen Ausbeuten bis zu 86 % dargestellt und *in vivo* getestet. Die Verwendung einer biosterischen Gruppe als Ersatz für das Carboxylat führte jedoch zu keiner Erhöhung der Hirngängigkeit. Um die Bioverfügbarkeit des Liganden zu erhöhen, wurde eine Lösung des Warfarin-Natriumsalzes coinjiziert, um so die Bindung des Tracers an das Blutplasma protein abzusättigen. Auch hierdurch konnte keine signifikante Erhöhung der Hirnaufnahme erreicht werden.

Entgegen den Erwartungen besitzen die synthetisierten Tracer und deren inaktive Referenzverbindungen keine ausreichende biologische Aktivität und können für eine Anwendung in der PET nicht genutzt werden. Allerdings können basierend auf den gewonnen Erkenntnissen und den experimentellen Daten weitere Optimierungsmaßnahmen hinsichtlich des Designs neuer PET-Liganden zur Visualisierung des NMDA-Rezeptors getroffen werden.

So zeichnet sich ab, dass ein möglicher Radioligand in seiner Struktur über ein nicht zu lipophiles Grundgerüst verfügen darf. Auf diese Weise sollte es möglich sein, das bislang hohe Maß an unspezifischer Bindung einzuschränken. Im Hinblick auf die Funktionalisierung von Leitstrukturen zur Anwendung in der PET stellt sich eine Variation der Fluorethoxygruppierung lediglich in para-Stellung an der „bulk-tolerance-region“ als praktikabel dar. Die Verwendung einer Carboxylgruppe ist für die Rezeptoraffinität essentiell, wirkt sich allerdings aufgrund der negativen Ladung unter physiologischen Bedingungen drastisch auf eine Nichtpassierbarkeit der Blut-Hirn-Schranke aus. Daher ist es notwendig, zum einen den Einsatz möglicher biosterischer Gruppen zu untersuchen, die einerseits die Carboxylgruppe für die Rezeptoraffinität imitieren und andererseits eine Penetration der Blut-Hirn-Schranke ermöglichen. Zum anderen sollten geeignete Ester als potentielle Prodrugs auf ihre Verwendung hin überprüft werden. Hier könnte die Verwendung entsprechender Ester zu einer Passage der Blut-Hirn-Schranke führen. Diese müssen jedoch im Anschluss im Gehirn durch Esterasen gespalten werden, um die notwendige Carboxylfunktion freizulegen.

Alternativ haben sich in der Literatur andere Zielstrukturen unter den Aspekten der *in vitro*- und *in vivo*-Aktivität als geeignet erwiesen. Basierend auf dem N-[4-(4-Fluorbenzyl)-piperidin-1-yl]-N'-(2-oxo-1,3-dihydrobenzimidazol-5-yl)-oxamid könnte ein neuer PET-Ligand für die NR2B-Untereinheit des NMDA-Rezeptors dargestellt werden. Hier könnte eine über die in ortho-Stellung zur Nitrogruppe eingeführte Carbonylgruppe eine Aktivierung des Aromaten bewirken, sodass dieser mit [^{18}F]Fluorid in einer $\text{S}_{\text{N}}2$ -Reaktion markiert werden kann. Im Anschluss müsste eine Abspaltung der Carbonylschutzgruppe erfolgen, um das gewünschte Produkt zu erhalten.

Unter Berücksichtigung der gewonnenen Erkenntnisse und der möglichen Ansätze können weitergehende Versuche unternommen werden, neue, bioaktive Liganden zur Visualisierung des NMDA-Rezeptors zu synthetisieren und zu evaluieren.

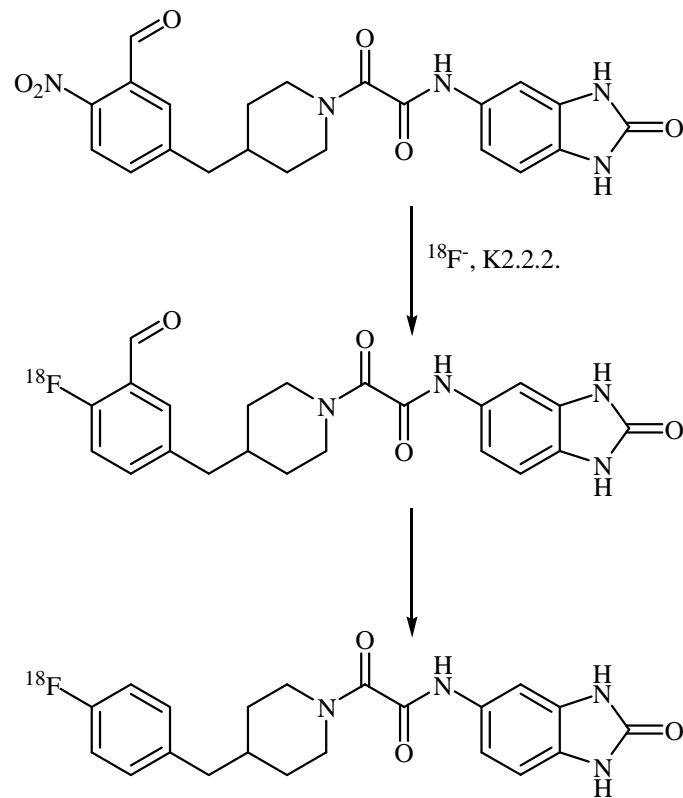


Abb. 92: Mögliche Radiosynthese eines neuen NMDA-PET-Liganden

8. Anhang

8.1 Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
ACN	Acetonitril
Äquiv.	Äquivalente
Boc	tert.-Butyloxycarbonyl
BOLD	Blood Oxygen Level Dependency
Bq	Becquerel, Einheit des radioaktiven Zerfalls
bs	breites Singulett
c	Konzentration
ca	carrier added, Träger zugesetzt
CT	Computertomographie
δ	chemische Verschiebung
d	Dublett
dd	Dublett vom Dublett
dt	Dublett vom Triplett
d. Th.	Der Theorie
DC	Dünnschichtchromatographie
DIPEA	Diisopropylethylamin
DMF	N,N-Dimethylformamid
DMSO	Dimethylsulfoxid
FD	Feld-Desorption, schonende Massenspektrometrie
FDG	Fluor-desoxy-D-glukose
FLT	Fluor-L-tyrosin
ges.	gesättigt
Gew.-%	Gewichtsprozent
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
IC ₅₀	Halb-maximale Hemmdosis; Dosis bei der eine 50 %-ige Inhibition auftritt
i. v.	intravenös
k	Kapazitätsfaktor der HPLC-Säule
K _d	Gleichgewichtsdissoziationskonstante zwischen einem Radioliganden und einem Rezeptor
K _i	Gleichgewichtsinhibitionskonstante zwischen einem Liganden und einem Rezeptor
Kryptofix [®]	4, 7, 13, 16, 21, 24-Hexaoxa-1, 10-diazabicyclo[8.8.8]hexacosan
m	Multipllett
min	Minute(n)
MRT	Magnetresonanztomographie
MS	Massenspektrum
mSv	Millisievert
MV	Markierungsvorläufer
nca	no carrier added, kein Träger hinzugesetzt
NMR	Nuclear Magnetic Resonance
p. a.	pro analysis
PET	Positronenemissionstomographie
PTK	Phasentransferkatalysator
puriss.	purissimum

q	Quartett
R _f	ratio of fronts
RP	reversed phase
s	Singulett
sA	spezifische Aktivität
S _N 2	Nukleophile Substitution 2. Ordnung
SPECT	Single Photon Emission Computer Tomography (Einzelphotonenemissionstomographie)
t	Triplet
t ₀	Totzeit
t _{1/2}	Halbwertszeit
t _R	Retentionszeit
Tab.	Tabelle
techn.	technisch
tert.	tertiär
THF	Tetrahydrofuran
v/v	Volumenanteil
λ	Zerfallskonstante

8.2 Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Einzelphotonenemission am Beispiel des Technetiums	4
Abb. 2: Funktionsweise eines Kollimators.....	4
Abb. 3: Zerfallsgleichung einer β ⁺ -Umwandlung.....	5
Abb. 4: Prinzip der Koinzidenzmessung.....	5
Abb. 5: Übersicht der verschiedenen chemischen Zustände von Radionukliden	7
Abb. 6: PET-Aufnahme eines Hirntumors mit [¹⁸ F]FDG (A) und [¹⁸ F]FET (B): In A wird der Tumor durch einen verminderten Glukosestoffwechsel als Negativregion dargestellt. In B zeigt das Bild aufgrund des Tumorwachstums eine verstärkte Aufnahme der Aminosäure [¹⁸ F]FET	8
Abb. 7: Abbildung eines Lungentumors (Bild A: [¹⁸ F]FDG-PET, Bild B: CT-Aufnahme)	8
Abb. 8: Bildfusion einer MRT- und einer [¹⁸ F]FDG-PET-Aufnahme (MRT: links, PET: mitte, Bildfusion: rechts).....	9
Abb. 9: Bild 1: Hirntumor (Oligodendroglioma) im MRT (A, C) und dargestellt durch Bildfusion (MRT/PET) (B, D); Bild 2: Hirntumor in der MRT-Darstellung mit verschiedenen Kontrastmitteln (A, C, D) und in der Bildfusion mit PET (B).....	9
Abb. 10: Gleichung der spezifischen Aktivität am Beispiel des ¹⁸ F	10
Abb. 11: D-Glukose und [¹⁸ F]FDG im Vergleich.....	11
Abb. 12: Isotopen- und Analogtracer im Vergleich zum Originalmolekül.....	11
Abb. 13: Elektrophile Fluorierung zur Herstellung von 6-[¹⁸ F]Fluor-L-DOPA.....	13
Abb. 14: S _N 2-Reaktion am Beispiel der [¹⁸ F]FDG-Synthese	14
Abb. 15: Nukleophile Substitution mit nca [¹⁸ F]Fluorid an aktivierten Aromaten.....	14
Abb. 16: Allgemeine Übersicht über die Einführung einer prosthetischen Gruppe durch ein Synthon	15
Abb. 17: Synthese des 2-[¹⁸ F]Fluorethyltosylats	15
Abb. 18: Synthese des [¹⁸ F]Fluorethylflumazenils mit Hilfe einer prosthetischen Gruppe ³⁷	15
Abb. 19: Übersicht der Aminosäurerezeptoren	16
Abb. 20: Übersicht der selektiven Agonisten der jeweiligen Rezeptortypen.....	16
Abb. 21: Übersicht der ionotropen Glutamat-Rezeptoren.....	17
Abb. 22: Der NMDA-Rezeptor in der Übersicht.....	17
Abb. 23: Übersicht der Liganden der Strychnin-insensitiven Glycinbindungsstelle	19

Abb. 24: Übersicht der Liganden der Glutamatbindungsstelle	21
Abb. 25: Übersicht natürlicher und synthetischer Polyamine	22
Abb. 26: Alternative Liganden der Polyaminbindungsstelle.....	22
Abb. 27: Übersicht der Liganden des Ionenkanals	23
Abb. 28: Übersicht der markierten Liganden für die PET	24
Abb. 29: Vorgesehene Fluorethoxyderivate der verschiedenen Substanzklassen (schwarz: Molekül- grundstruktur, blau: variable Seitenkette, rot: Fluorethoxysubstitutionsmuster).....	26
Abb. 30: Übersicht der verwendeten Leitstrukturen.....	27
Abb. 31: Syntheschema von Verbindung 5 ausgehend vom 3,5-Dichloranilin	30
Abb. 32: Syntheseweg der Carbonsäuren	31
Abb. 33: Syntheseweg der unsubstituierten Vergleichssubstanzen	31
Abb. 34: Synthese des 4,6-Difluor-Derivats	32
Abb. 35: Synthese des 3,5-Dichlorphenylhydrazins (1)	32
Abb. 36: Synthese des Hydrazons (2).....	33
Abb. 37: ¹ H-NMR-Spektrum des E-Isomers (Bild 1) und Z-Isomers (Bild 2).....	33
Abb. 38: Mechanismus der sauerkatalysierten Indolsynthese nach Fischer.....	34
Abb. 39: Übersicht der Vilsmeier-Synthese.....	35
Abb. 40: Reduktive Aminierung.....	36
Abb. 41: Reaktionsweise von Triphosgen.....	37
Abb. 42: Synthese der unsymmetrischen Harnstoffe.....	37
Abb. 43: Zyklisierung des Imidazolidinrings	38
Abb. 44: Synthese der Carbonsäuren durch basische Verseifung	38
Abb. 45: Übersicht der Synthese der Derivate des GV150526	40
Abb. 46: Synthese der unsubstituierten Derivate.....	41
Abb. 47: Synthese der 4,6-Difluorderivate des GV150526	41
Abb. 48: Herstellung des Wittig-Reagenzes	41
Abb. 49: Mechanismus der Wittig-Reaktion.....	42
Abb. 50: Mechanismus der E-Isomerenbildung	42
Abb. 51: Spaltung des tert.-Butylesters.....	43
Abb. 52: Mechanismus der Amidierung	43
Abb. 53: Verseifung der Ethylester mit Natronlauge.....	44
Abb. 54: Fluorethylisiertes Derivat des L-701,324	44
Abb. 55: Syntheschema für das fluorethylierte L-701,324-Derivat	45
Abb. 56: Mechanismus der Fluroethylierung und anschließender Esterspaltung.....	46
Abb. 57: Säurechloridddarstellung über Oxalylchlorid und anschließender Amidierung	47
Abb. 58: Zyklisierung von 54 zu Verbindung 55	47
Abb. 59: Synthesewege zur Darstellung der 2-Fluroethoxyanilin-Derivate	48
Abb. 60: Synthese des TBDPS-geschützten Aminophenols	48
Abb. 61: Übersicht der geplanten Markierungsvorläufersynthese MV- 11	49
Abb. 62: Übersicht der Synthese des Markierungsvorläufers des GV150526-Derivats	50
Abb. 63: mechanistische Betrachtung der TBDPS-Schutzgruppenabspaltung	51
Abb. 64: Syntheseweg zum Markierungsvorläufer des L-701,324-Derivats	52
Abb. 65: Gleichung des radioaktiven Zerfalls	53
Abb. 66: Geschwindigkeitsgesetz einer nca-Radiosynthese 2. Ordnung.....	53
Abb. 67: Produktbildungsgleichung	54
Abb. 68: Schematische Darstellung des Reaktionsverlaufs einer nca-Markierung	54
Abb. 69: Synthesewege zur Herstellung der ¹⁸ F-markierten Zielmoleküls	55

Abb. 70: Ausbeute der ^{18}F -Fluorethylierung in Abhängigkeit von der Reaktionstemperatur bei konstantem Basenzusatz und Markierungsvorläufereinwaage sowie DMSO als Lösungsmittel	56
Abb. 71: Exemplarisches Beispiel einer Bildungskinetik von [^{18}F]34 und des Nebenproduktes unter Abnahme des [^{18}F]FETos-Synthons.....	56
Abb. 72: Chromatogramm der semipräparativen HPLC-Aufreinigung von [^{18}F]34 (UV-Signal: schwarz, Aktivitätssignal: rot)	57
Abb. 73: Regressionsgerade zur Bestimmung der spezifischen Aktivität.....	59
Abb. 74: Markierungskinetik von [^{18}F]31 in Abhängigkeit der Reaktionszeit, Temperatur und Basenkonzentration bei konstanter Markierungsvorläufereinwaage sowie DMSO als Lösungsmittel	60
Abb. 75: Chromatogramm der semipräparativen HPLC-Aufreinigung von [^{18}F]31 (UV-Signal: schwarz, Aktivitätssignal: rot)	60
Abb. 76: Synthese von [^{18}F]55	61
Abb. 77: Ausbeute der ^{18}F -Fluorethylierung von [^{18}F]55 in Abhängigkeit von der Reaktionstemperatur bei konstantem Basenzusatz und Markierungsvorläufereinwaage sowie DMSO als Lösungsmittel	62
Abb. 78: Ausbeute der ^{18}F -Fluorethylierung von [^{18}F]55 in Abhängigkeit der Markierungsvorläufereinwaage bei konstantem Basenzusatz und Temperatur sowie DMSO als Lösungsmittel	62
Abb. 79: Exemplarische Bildungskinetik des [^{18}F]55 und des Nebenproduktes unter Abnahme des [^{18}F]FETos-Synthons	63
Abb. 80: Chromatogramm der semipräparativen HPLC-Aufreinigung von [^{18}F]55 (UV-Signal: schwarz, Aktivitätssignal: rot)	64
Abb. 81: Gleichung zur Ermittlung des log D-Wertes.....	66
Abb. 82: Gleichung zur Ermittlung des Kapazitätsfaktors.....	66
Abb. 83: Lineare Regression zur Ermittlung der Kalibrationsgeraden	67
Abb. 84: Vergleich eines nicht-aktivierten Hirnschnitts (A) und eines aktivierten Hirnschnitts (B)	72
Abb. 85: Autoradiographische Hirnschnitte mit A: unspezifische Bindung (Transversalschnitt), B: absolute Bindung (Transversalschnitt), C: unspezifische Bindung (Saggitalschnitt), D: absolute Bindung (Saggitalschnitt)	73
Abb. 86: Vergleich der spezifischen und unspezifischen Bindung.....	73
Abb. 87: Vergleich der erhaltenen Autoradiographien (B, D) mit denen aus der Literatur (A, C)	74
Abb. 88: Zeitaktivitätskurven für [^{18}F]34 mit Sinus (links) und ohne Sinus (rechts)	75
Abb. 89: Transversalaufnahmen der Aktivitätsverteilung von [^{18}F]34 in verschiedenen Hirnregionen im PET-Experiment. PET-Aufnahmen (A und B) und die korrespondierenden Auswertegraphiken (C und D), dunkelblau (Cortex rechts), hellblau (Cortex links), grün (Cerebellum), violett (Sinus)	75
Abb. 90: Fließbild des computergestützten [^{18}F]FETos-Synthesemoduls	149
Abb. 91: Übersicht der verwendeten Markierungsvorläufer	153
Abb. 92: Mögliche Radiosynthese eines neuen NMDA-PET-Liganden.....	155

8.3 Tabellenverzeichnis

- Tab. 1: Übersicht ausgewählter PET-Nuklide
- Tab. 2: Übersicht der Produktionsrouten von ^{18}F
- Tab. 3: Übersicht der synthetisierten Ethylester und Carbonsäuren der 3-imidazolidin-substituierten 4,6-Dichlorindol-2-carbonsäurederivate
- Tab. 4: Übersicht der dargestellten Derivate des GV150526
- Tab. 5: Übersicht der erhaltenen Ausbeute nach HPLC-Abtrennung von [^{18}F]**34**
- Tab. 6: Aufstellung der Wiederfindungsrate von [^{18}F]**34**
- Tab. 7: Werte zur Aufnahme der Kalibrationsgeraden
- Tab. 8: Übersicht der erhaltenen Ausbeute nach HPLC-Abtrennung von [^{18}F]**55**
- Tab. 9: Aufstellung der Wiederfindungsrate von [^{18}F]**55**
- Tab. 10: Verwendete Eichsubstanzen zur Erstellung der Kalibrationsgeraden
- Tab. 11: Übersicht der log D-Werte
- Tab. 12: Übersicht der ermittelten log D-Werte der Verbindung [^{18}F]**34** über die Aktivimetermethode
- Tab. 13: Übersicht der ermittelten log D-Werte der Verbindung [^{18}F]**34** über die Countermethode
- Tab. 14: Affinitäten der 3-imidazolidin-substituierten Indolcarbonsäure-Derivate
- Tab. 15: Affinitäten der GV150526-Derivate
- Tab. 16: Affinität des L-701,324-Derivats
- Tab. 17: Übersicht der Autoradiographieparameter
- Tab. 18: Übersicht der Affinitäten und der log D-Werte der inaktiven Referenzverbindungen

8.4 Literaturverzeichnis

1. Röntgen, W. C. On a new kind of rays, *Nature* 53, 274–276 (1896).
2. Grünwald, F. Nuklearmedizinische Diagnostik und Therapie - Aktuelle Bedeutung für die klinische Medizin -, *Hess Arztebl*, 105–111 (2001).
3. Becquerel, H. Recherches sur une propriété nouvelle de la matière. Activité radiante spontanée ou radioactivité de la matière, *Memoires de L'Académie des Sciences de France* 46, 355 (1903).
4. Fermi, E. Radioactivity Induced by Neutron Bombardment, *Nature* 133, 757 (1934).
5. Lawrence, E. O. & Livingston, M. S. The Production of High Speed Protons Without the Use of High Voltages, *Phys. Rev.* 38, 834 (1931).
6. Lawrence, E. O. & Livingston, M. S. The Production of High Speed Light Ions Without the Use of High Voltages, *Phys. Rev.* 40, 19 (1932).
7. Hounsfield, G. N. Computerized transverse axial scanning (tomography): Part 1. Description of system, *Br J Radiol* 46, 1016–1022 (1973).
8. Cormack, A. M. Reconstruction of densities from their projections, with applications in radiological physics, *Phys Med Biol*, 195–207 (1973).
9. Hevesy, G. The Absorption and Translocation of Lead by Plants: A Contribution to the Application of the Method of Radioactive Indicators in the Investigation of the Change of Substance in Plants, *Biochem J* 17, 439–445 (1923).
10. Ogawa, S. Lee, T. M. Kay, A. R. & Tank, D. W. Brain magnetic resonance imaging with contrast dependent on blood oxygenation, *PNAS* 87, 9868–9872 (1990).
11. Reichenbach, J. R. & Haacke, M. E. High-resolution BOLD venographic imaging: a window into brain function, *NMR Biomed* 14, 453–467 (2001).
12. Ache, H. J. Chemie des Positrons und Positroniums, *Angew Chem* 84, 234–255 (1972).
13. Herzog, H. & Rösch, F. PET- und SPECT-Technik: Chemie und Physik der Bildgebung, *Pharm Unserer Zeit* 34, 468–473 (2005).
14. Weber, M. J. & Monchamp, R. R. Luminescence of $\text{Bi}_4\text{Ge}_3\text{O}_{12}$. Spectral and decay properties, *J Appl Phys* 44, 5495–5499 (1973).
15. Cho, Z. H. & Farukhi, M. R. Bismuth Germanate as a Potential Scintillation Detector in Positron Cameras, *J Nucl Med* 18, 840–844 (1977).
16. Korzhik, M. *et al.* Development of scintillation materials for PET scanners. Proceedings of the 1st International Conference on Molecular Imaging Technology - EuroMedIm 2006, *Nucl Instrum Methods Phys Res, Sect A* 571, 122–125 (2007).
17. Parrington, J. R. *et al.* Nuclides and Isotopes Fifteenth Edition. *Chart of the Nuclides*, Lockheed Martin, GE Nuclear Energy.
18. Nutt, R. The History of Positron Emission Tomography, *Mol Imag Biol* 4, 11–26 (2002).
19. Kuhl, D. E. & Edwards, R. Q. Image Separation Radioisotope Scanning, *Radiology* 80, 653–661 (1963).
20. Lockwood, A. H. *et al.* The dynamics of ammonia metabolism in man. Effects of liver disease and hyperammonemia, *J Clin Invest* 63, 449–460 (1979).
21. Ido, T. *et al.* Labeled 2-deoxy-D-glucose analogs. ^{18}F -labeled 2-deoxy-2-fluoro-D-glucose, 2-deoxy-2-fluoro-D-mannose and ^{14}C -2-deoxy-2-fluoro-D-glucose, *J Labelled Compd Radiopharm* 14, 175–183 (1978).
22. Reivich, M. *et al.* The [^{18}F]fluorodeoxyglucose method for the measurement of local cerebral glucose utilization in man, *Circ Res* 44, 127–137 (1979).

23. Langen, K.-J. *et al.* Diagnostik von Hirntumoren mit radioaktiv markierten Aminosäuren, *Dtsch Arztebl* 105, 55–61 (2008).
24. Buck, A. K. *et al.* Imaging Proliferation in Lung Tumors with PET: ^{18}F -FLT Versus ^{18}F -FDG, *J Nucl Med* 44, 1426–1431 (2003).
25. Schlemmer, H.-P. Pichler, B. J. Krieg, R. & Heiss, W.-D. An integrated MR/PET system: prospective applications, *Abdom Imaging* 34, 668–674 (2009).
26. Ledezma, C. J. *et al.* ^{18}F -FDOPA PET/MRI fusion in patients with primary/recurrent gliomas: Initial experience. Rheumatoid Disease and Imaging, *Eur J Radiol* 71, 242–248 (2009).
27. Wagner, H. N. J. *et al.* Assessment of dopamine receptor densities in the human brain with carbon-11-labeled N-methylspiperone, *Ann Neurol* 15, 79–84 (1984).
28. Gallagher, B. M. *et al.* Metabolic Trapping as a Principle of Radiopharmaceutical Design: Some Factors Responsible for the Biodistribution of [^{18}F] 2-Deoxy-2-Fluoro-D-Glucose, *J Nucl Med* 19, 1154–1161 (1978).
29. Phelps, M. E. *et al.* Tomographic measurement of local cerebral glucose metabolic rate in humans with (F-18)2-fluoro-2-deoxy-D-glucose: Validation of method, *Ann Neurol* 6, 371–388 (1979).
30. Pagani, M. Stone-Elander, S. & Larsson, S. A. Alternative positron emission tomography with non-conventional positron emitters: effects of their physical properties on image quality and potential clinical applications, *Eur J Nucl Med* 24 (1997).
31. Adam, M. J. Ruth, T. J. Grierson, J. R. Abeysekera, B. & Pate, B. D. Routine Synthesis of L-[^{18}F]6-Fluorodopa with Fluorine-18 Acetyl Hypofluorite, *J Nucl Med* 27, 1462–1466 (1986).
32. Vries, E. F. J. de, Luurtsema, G. Brüssermann, M. Elsinga, P. H. & Vaalburg, W. Fully automated synthesis module for the high yield one-pot preparation of 6-[^{18}F]fluoro--DOPA, *Appl Radiat Isot* 51, 389–394 (1999).
33. Haka, M. S. Kilbourn, M. R. Watkins, G. L. & Toorongian, S. A. Aryltrimethylammonium trifluoromethanesulfonates as precursors to aryl [^{18}F]fluorides: Improved synthesis of [^{18}F]GBR-13119, *J Labelled Compd Radiopharm* 27, 823–833 (1989).
34. Banks, W. R. Satter, M. R. & Hwang, D.-R. A new method for the NCA production of [^{18}F]fluoromethane, *Appl Radiat Isot* 45, 69–74 (1994).
35. Shah, A. Pike, V. W. & Widdowson, D. A. The syntheses of [^{18}F]fluoroarenes from the reaction of cyclotron-produced [^{18}F]fluoride ion with diaryliodonium salts, *J Chem Soc, Perkin Trans 1*, 2043–2046 (1998).
36. Ekaeva, I. Barre, L. Lasne, M.-C. & Gourand, F. 2- and 4-[^{18}F]Fluorophenols from Baeyer-Villiger Oxidation of [^{18}F]Fluorophenylketones and [^{18}F]Fluorobenzaldehydes, *Appl Radiat Isot* 46, 777–782 (1995).
37. Gründer, G. *et al.* [^{18}F]Flumazenil: a novel tracer for PET imaging of human benzodiazepine receptors, *Eur J Nucl Med* 28, 1463–1470 (2001).
38. Dingledine, R. Borges, K. Bowie, D. & Traynelis, S. F. The Glutamate Receptor Ion Channels, *Pharmacological Reviews* 51, 7–62 (1999).
39. Stark, H. Graßmann, S. & Reichert, U. Teil 1: Architektur und Modulation der Rezeptoren Struktur, Funktion und potentielle therapeutische Bedeutung von NMDA-Rezeptoren, *Pharm Unserer Zeit* 29, 159–166 (2000).
40. Danysz, W. & Parsons, C. G. Glycine and N-Methyl-d-Aspartate Receptors: Physiological Significance and Possible Therapeutic Applications, *Pharmacol Rev* 50, 597–664 (1998).
41. Rosenmund, C. Stern-Bach, Y. & Stevens, C. F. The Tetrameric Structure of a Glutamate Receptor Channel, *Science* 280, 1596–1599 (1998).

42. Monyer, H. Burnashev, N. Laurie, D. J. Sakmann, B. & Seeburg, P. H. Developmental and regional expression in the rat brain and functional properties of four NMDA receptors, *Neuron* 12, 529–540 (1994).
43. Wollmuth, L. P. & Sobolevsky, A. I. Structure and gating of the glutamate receptor ion channel, *Trends Neurosci* 27, 321–328 (2004).
44. Ascher, P. & Nowak, L. The role of divalent cations in the N-methyl-D-aspartate responses of mouse central neurones in culture, *J Physiol* 399, 247–266 (1988).
45. Cooke, S. F. & Bliss, T. V. P. Plasticity in the human central nervous system, *Brain* 129, 1659–1673 (2006).
46. Cotman, C. W. & Monaghan, D. T. Excitatory Amino Acid Neurotransmission: NMDA Receptors and Hebb-Type Synaptic Plasticity, *Ann Rev Neurosci* 11, 61–80 (1988).
47. Choi, Y.-B. Chen, H.-S. V. & Lipton, S. A. Three Pairs of Cysteine Residues Mediate Both Redox and Zn²⁺ Modulation of the NMDA Receptor, *J Neurosci* 21, 392–400 (2001).
48. Jansen, M. & Dannhardt, G. Antagonists and agonists at the glycine site of the NMDA receptor for therapeutic interventions, *Eur J Med Chem* 38, 661–670 (2003).
49. Leeson, P. D. *et al.* Kynurenic acid derivatives. Structure-activity relationships for excitatory amino acid antagonism and identification of potent and selective antagonists at the glycine site on the N-methyl-D-aspartate receptor, *J Med Chem* 34, 1243–1252 (1991).
50. Kessler, M. Baudry, M. & Lynch, G. Quinoxaline derivatives are high-affinity antagonists of the NMDA receptor-associated glycine sites, *Brain Res* 489, 377–382 (1989).
51. Keana, J. F. W. *et al.* Synthesis and Structure-Activity Relationships of Substituted 1,4-Dihydroquinoxaline-2,3-diones: Antagonists of N-Methyl-D-aspartate (NMDA) Receptor Glycine Sites and Non-NMDA Glutamate Receptors, *J Med Chem* 38, 4367–4379 (1995).
52. Carling, R. W. *et al.* 2-Carboxytetrahydroquinolines. Conformational and stereochemical requirements for antagonism of the glycine site on the N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptor, *J Med Chem* 35, 1942–1953 (1992).
53. Balsamini, C. *et al.* (E)-3-(2-(N-Phenylcarbamoyl)vinyl)pyrrole-2-carboxylic Acid Derivatives. A Novel Class of Glycine Site Antagonists, *J Med Chem* 41, 808–820 (1998).
54. Rowley, M. *et al.* 3-Acyl-4-hydroxyquinolin-2(1H)-ones. Systemically active anticonvulsants acting by antagonism at the glycine site of the N-methyl-D-aspartate receptor complex, *J Med Chem* 36, 3386–3396 (1993).
55. Kulagowski, J. J. *et al.* 3'-(Arylmethyl)- and 3'-(Aryloxy)-3-phenyl-4-hydroxyquinolin- 2(1H)-ones: Orally Active Antagonists of the Glycine Site on the NMDA Receptor, *J Med Chem* 37, 1402–1405 (1994).
56. Salituro, F. G. *et al.* 3-(2-Carboxyindol-3-yl)propionic acid-based antagonists of the NMDA (N-methyl-D-aspartic acid) receptor associated glycine binding site, *J Med Chem* 35, 1791–1799 (1992).
57. Jansen, M. Potschka, H. Brandt, C. Loscher, W. & Dannhardt, G. Hydantoin-Substituted 4,6-Dichloroindole-2-carboxylic Acids as Ligands with High Affinity for the Glycine Binding Site of the NMDA Receptors, *J Med Chem* 46, 64–73 (2003).
58. Conti, P. *et al.* Synthesis and pharmacological evaluation of novel conformationally constrained homologues of glutamic acid, *Eur J Med Chem* 42, 1059–1068 (2007).
59. Kinney, W. A. *et al.* Design and Synthesis of [2-(8,9-Dioxo-2,6-diazabicyclo[5.2.0]non-1(7)-en-2-yl)- ethyl]phosphonic Acid (EAA-090), a Potent N-Methyl-d-aspartate Antagonist, via the Use of 3-Cyclobutene-1,2-dione as an Achiral $\hat{\text{I}}_{\pm}$ -Amino Acid Bioisostere, *J Med Chem* 41, 236–246 (1998).

60. Kinney, W. A. *et al.* Bioisosteric replacement of the .alpha.-amino carboxylic acid functionality in 2-amino-5-phosphonopentanoic acid yields unique 3,4-diamino-3-cyclobutene-1,2-dione containing NMDA antagonists, *J Med Chem* 35, 4720–4726 (1992).
61. Menniti, F. *et al.* CP-101,606, a potent neuroprotectant selective for forebrain neurons, *Eur J Pharmacol* 331, 117–126 (1997).
62. Butler, T. W. *et al.* (3R,4S)-3-[4-(4-Fluorophenyl)-4-hydroxypiperidin-1-yl]chroman-4,7-diol: A Conformationally Restricted Analogue of the NR2B Subtype-Selective NMDA Antagonist (1S,2S)-1-(4-Hydroxyphenyl)-2-(4-hydroxy-4-phenylpiperidino)-1-propanol, *J Med Chem* 41, 1172–1184 (1998).
63. Harris, E. W. Ganong, A. H. Monaghan, D. T. Watkins, J. C. & Cotman, C. W. Action of 3-((±)-2-carboxypiperazin-4-yl)-propyl-1-phosphonic acid (CPP): a new and highly potent antagonist of N-methyl-D-aspartate receptors in the hippocampus, *Brain Res* 382, 174–177 (1986).
64. Williams, K. Dawson, V. L. Romano, C. Dichter, M. A. & Molinoff, P. B. Characterization of polyamines having agonist, antagonist, and inverse agonist effects at the polyamine recognition site of the NMDA receptor, *Neuron* 5, 199–208 (1990).
65. Duval, D. Roome, N. Gauffeny, C. Nowick, J. P. & Scatton, B. SL 82.0715, an NMDA antagonist acting at the polyamine site, does not induce neurotoxic effects on rat cortical neurons, *Neurosci Lett* 137, 193–197 (1992).
66. Clineschmidt, B. V. Martin, G. E. & Bunting, P. R. Anticonvulsant activity of (+)-5-methyl-10,11-dihydro-5H-dibenzo[a, d]cyclohepten-5, 10-imine (MK-801), a substance with potent anticonvulsant, central sympathomimetic, and apparent anxiolytic properties, *Drug Dev Res* 2, 123–134 (1982).
67. Thorell, J.-O. *et al.* Synthesis of a ¹¹C-labelled nitrated 1,4-dihydroquinoxaline-2,3-dione, the NMDA glycine receptor antagonist ACEA 1021 (Licostinel), *J Labelled Compd Radiopharm* 41, 345–353 (1998).
68. Piel, M. *et al.* Synthesis and evaluation of 5,7-dichloro-4-(3-{4-[4-(2-[¹⁸F]fluoroethyl)-piperazin-1-yl]-phenyl}-ureido)-1,2,3,4-tetrahydroquinoline-2-carboxylic acid as a potential NMDA ligand to study glutamatergic neurotransmission in vivo, *J Labelled Compd Radiopharm* 46, 645–659 (2003).
69. Waterhouse, R. N. *et al.* Synthesis and characterization of 4,6-dichloroindole-based radioligands for imaging the glycine site of the NMDA ion channel, *J Labelled Compd Radiopharm* 45, 91–102 (2002).
70. Fuchigami, T. *et al.* Difference in brain distributions of carbon 11-labeled 4-hydroxy-2(1H)-quinolones as PET radioligands for the glycine-binding site of the NMDA ion channel, *Nucl Med Biol* 35, 203–212 (2008).
71. Ponchant, M. Kamenkaj, M. & Crouzel, C. Synthesis of 3-[¹⁸F]-fluoromethyl-TCP1, A potential tool for pet study of the nmda receptor channel complex, *J Labelled Compd Radiopharm* 31, 955–960 (1992).
72. Blin, J. *et al.* PET studies of [¹⁸F]methyl-MK-801, a potential NMDA receptor complex radioligand, *Neurosci Lett* 121, 183–186 (1991).
73. Samnick, S. *et al.* Electrophysiological Study, Biodistribution in Mice, and Preliminary PET Evaluation in a Rhesus Monkey of 1-Amino-3-[¹⁸F]fluoromethyl-5-methyl-adamantane (¹⁸F-MEM): A Potential Radioligand for Mapping the NMDA-Receptor Complex, *Nucl Med Biol* 25, 323–330 (1998).
74. Labas, R. *et al.* Radiosynthesis of N-[4-(4-fluorobenzyl)piperidin-1-yl]-N'-(2-[¹¹C]oxo-1,3-dihydrobenzimidazol-5-yl)oxamide, a NR2B-selective NMDA receptor antagonist, *J Labelled Compd Radiopharm* 53, 63–67 (2010).

75. Hamill, T. G. McCauley, J. A. & Burns, H. D. The synthesis of a benzamidine-containing NR2B-selective NMDA receptor ligand labelled with tritium or fluorine-18, *J Labelled Compd Radiopharm* 48, 1–10 (2005).
76. Di Fabio, R. *et al.* Substituted Indole-2-carboxylates as in Vivo Potent Antagonists Acting as the Strychnine-Insensitive Glycine Binding Site, *J Med Chem* 40, 841–850 (1997).
77. Di Fabio, R. *et al.* Substituted Analogues of GV150526 as Potent Glycine Binding Site Antagonists in Animal Models of Cerebral Ischemia, *J Med Chem* 42, 3486–3493 (1999).
78. Bordi, F. Pietra, C. Ziviani, L. & Reggiani, A. The Glycine Antagonist GV150526 Protects Somatosensory Evoked Potentials and Reduces the Infarct Area in the MCAo Model of Focal Ischemia in the Rat, *Experimental Neurology* 145, 425–433 (1997).
79. Eckert, H. & Forster, B. Triphosgen, ein kristalliner Phosgen-Ersatz, *Angew Chem-Ger Edit* 99, 922–923 (1987).
80. Ley, S. V. & Thomas, A. W. Moderne Synthesemethoden: Kupfer-vermittelte C(Aryl)-O-, C(Aryl)-N- und C(Aryl)-S-Verknüpfungen, *Angew Chem-Ger Edit* 115, 5558–5607 (2003).
81. Cheng, Y.-C. & Prusoff, W. H. Relationship between the inhibition constant (K_i) and the concentration of inhibitor which causes 50 per cent inhibition (I_{50}) of an enzymatic reaction, *Biochem Pharmacol* 22, 3099–3108 (1973).
82. Pickard, L. Noel, J. Henley, J. M. Collingridge, G. L. & Molnar, E. Developmental Changes in Synaptic AMPA and NMDA Receptor Distribution and AMPA Receptor Subunit Composition in Living Hippocampal Neurons, *J Neurosci* 20, 7922–7931 (2000).
83. Petralia, R. S. Yokotani, N. & Wenthold, R. J. Light and Electron Microscope Distribution of the NMDA Receptor Subunit NMDAR1 in the Rat Nervous System Using a Selective Anti-Peptide Antibody, *J Neurosci* 14, 667–696 (1994).

Danksagung

*„Leider lässt sich eine wahrhafte Dankbarkeit mit Worten nicht ausdrücken.“
Johann Wolfgang von Goethe (1749 – 1832)*

Dennoch möchte ich auf diese Weise den vielen Menschen meinen Dank kundtun, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.