^{18}F- und ^{11}C-Markierung des β2-adrenergen Agonisten Fenoterol

DISSERTATION

der Fakultät für Chemie und Pharmazie
der Eberhard-Karls-Universität Tübingen

zur Erlangung des Grades eines Doktors
der Naturwissenschaften

2002

vorgelegt von

Esther Schirrmacher

Datum der mündlichen Prüfung: 26.09.2001

Dekan: Prof. Dr. H. Probst

1. Berichterstatter: Prof. Dr. H. J. Machulla
2. Berichterstatter: Prof. Dr. F. Rösch

Die vorliegende Arbeit wurde unter der Leitung von Prof. Dr. H.-J. Machulla und Prof. Dr. F. Rösch in der Zeit vom Januar 2000 bis Juni 2002 in der Sektion für Radiopharmazie am PET-Zentrum des Universitätsklinikums Tübingen und am Institut für Kernchemie der Johannes Gutenberg-Universität Mainz angefertigt.

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung 1
1.1 Bedeutung kurzlebiger Positronenstrahler in der Nuklearchemie 1
1.2 Zur Chemie von Reaktionen mit trägerfreien (n.c.a.) Radionukliden 5
1.3 Produktion von Fluor-18 6
1.4 Verfahren zur ^{18}F-Markierung organischer Moleküle 7
1.4.1 Elektrophile Fluorierungen 7
1.4.2 Nukleophile Substitution 8
1.4.3 Fluordiazonierung 12
1.4.4 Fluorierung über prosthetische Gruppen 12
1.5 Produktion von Kohlenstoff-11 und seiner primären Markierungsvorläufer 13
1.5.1. Sekundäre Markierungsvorläufer des C-11 14
1.6 Das β2-adrenerge System 17
1.6.1 Der β2-Adrenozeptor 17
1.6.2 Liganden des β-adrenergen Systems 18
1.6.3 Klinische Aspekte zum β-adrenergen System 19
1.6.4 β2-adrenerge Liganden in der PET 20
2. Problemstellung 24
3. Ergebnisse und Diskussion 28
3.1 Versuchte Synthese des möglichen Markierungsvorläufers (R,R)-Essigsäure-3-acetoxy-5-(2-(acetyl-[2-(4-hydroxyphenyl)-1-methylethyl]amino)-1-hydroxyethyl)phenylester 28
3.2 Synthese des möglichen Markierungsvorläufers (R,R)-4-(2-(Benzyl-[2-(3,5-bisbenzyl oxy-phenyl)-2-hydroxyethyl]amino)propyl)phenol 30
3.2.1 Synthese von 1-(3,5-Bisbenzyloxy-phenyl)-2-bromethanon 32
3.2.2 Versuchte Synthese von (R)-1-(3,5-Bisbenzyloxy-phenyl)-2-bromethanol 32
3.2.3 Synthese von 4-(2-Benzylaminopropyl)phenol 34
3.2.4 Synthese von 4-(2-(Benzyl-[2-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)-2-hydroxyethyl]-amino)-propyl)-phenol 36
3.3 Alternative Synthesen des Markierungsvorläufers 4-(2-(Benzyl-[2-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)-2-hydroxyethyl]amino)propyl)phenol 37
3.3.1 Synthese von 2-(Benzyl-[2-(4-hydroxyphenyl)-1-methylethyl]amino)-1-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)ethanon 38
3.3.2 Synthese von 4-(2-(Benzyl-[2-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)-2-hydroxyethyl]amino)-propyl)phenol 39
3.3.3 Synthese von 2-(3,5-Bisbenzyloxy-phenyl)oxiran 42
3.3.4 Synthese von 4-(2-(Benzyl-[2-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)-2-hydroxyethyl]amino)-propyl)phenol ausgehend vom Oxiran **14** 43
3.4 Synthese des möglichen Markierungsvorläufers Essigsäure-2-[benzyl-(1-methyl-2-(4-[2-toluol-4-sulfonyloxy)ethoxy]phenyl)ethyl)amino]-1-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl) ethylester 45

3.4.1 Synthese von 2-(Benzyl-(2-[4-(2-hydroxyethoxy)phenyl]-1-methylethyl)amino-1-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)ethanol 47
3.4.2 Synthese von Toluol-4-sulfonsäure-2-[4-(2-(benzyl-[2-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)-2-hydroxyethyl]amino)propyl)phenoxy]ethylester 47
3.4.3 Synthese von Essigsäure-2-[benzyl-(1-methyl-2-(4-[2-toluol-4-sulfonyloxy)ethoxy]-phenyl)ethyl)amino]-1-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)ethylester 48
3.5 Synthese der ^{19}F-Referenzverbindungen zur analytischen Charakterisierung und *in vitro*-Evaluierung 48
3.5.1 Synthese von 2-(Benzyl-(2-[4-(2-fluorethoxy)phenyl]-1-methylethyl)amino)-1-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)ethanol 49
3.5.2 Synthese von Essigsäure-2-(benzyl-(2-[4-(2-fluorethoxy)phenyl]-1-methylethyl) -amino)-1-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)ethylester 52
3.5.3 Synthese von 5-(2-(2-[4-(2-Fluorethoxy)phenyl]-1-methylethylamino)-1-hydroxyethyl)-benzen-1,3-diol 53
3.5.4 Bemerkungen zur Stereochemie 54
3.5.5 Synthese von 3-(2-Fluorethoxy)-5-(1-hydroxy-2-((2-(4-hydroxyphenyl)-isopropyl)amino)ethyl)phenol 56
3.5.6 Synthese von 5-(2-((2-Fluorethyl)-[2-(4-hydroxyphenyl)-1-methylethyl]amino)-1-hydroxyethyl)benzen-1,3-diol 57
3.5.7 Synthese von 2-(Benzyl-[2-(4-methoxyphenyl)-1-methylethyl]amino-1-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)ethanol 60
3.5.8 Synthese von 5-(1-Hydroxy-2-[2-(4-methoxyphenyl)-1-methylethylamino]ethylbenzen-1,3-diol 61
4 Radioaktive Markierungen 62
4.1 Radioaktive Markierung von 4-(2-(Benzyl-[2-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)-2-hydroxyethyl]amino)propyl)phenol (**9**) mit 2-[18F]Fluorethyltosylat zu 2-(Benzyl-(2-[4-(2-[^{18}F]fluorethoxy)phenyl]-1-methylethyl)amino-1-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)ethanol .. 62
4.1.1 Abhängigkeit der RCA an [^{18}F]**20** vom verwendeten Lösungsmittel 62
4.1.2 Abhängigkeit der RCA an [^{18}F]**20** von der verwendeten Hilfbase 64
4.1.3 Abhängigkeit der RCA an [^{18}F]**20** von der Basenkonzentration 65
4.1.4 Abhängigkeit der RCA an [^{18}F]**20** von der Temperatur in Acetonitril 66
4.1.5 Abhängigkeit der RCA an [^{18}F]**20** von der Temperatur in DMSO 67
4.1.6 Abhängigkeit der RCA an [^{18}F]**20** von der Temperatur in DMF 68
4.1.7 Abhängigkeit der RCA an [^{18}F]**20** von der Präcursorkonzentration an **9** 70
4.1.8 Optimierte Reaktionsparameter zur Darstellung von 2-(Benzyl-(2-[4-(2-[^{18}F]fluorethoxy)phenyl]-1-methylethyl)amino-1-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)ethanol ([^{18}F]**20**) mittels 2-[^{18}F]Fluorethyltosylat 72
4.2 Radioaktive Markierung von 4-(2-(Benzyl-[2-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)-2-hydroxyethyl]amino)propyl)phenol mit 1-Brom-2-[^{18}F]Fluorethan zu 2-(Benzyl-(2-[4-(2-[^{18}F]fluorethoxy)phenyl]-1-methylethyl)amino-1-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)-ethanol . 73
4.2.1 Abhängigkeit der RCA an [^{18}F]**20** vom verwendeten Lösungsmittel 73
4.2.2 Abhängigkeit der RCA an [^{18}F]**20** von der Reaktionstemperatur 74

4.3 Radioaktive Markierung von Essigsäure-2-[benzyl-(1-methyl-2-(4-[2-toluol-4-sulfonyloxy)ethoxy]phenyl)ethyl)amino]-1-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)ethylester mit [^{18}F]Fluorid zu Essigsäure-2-(benzyl-(2-[4-(2-[^{18}F]fluorethoxy)phenyl]-1-methyl-ethyl)amino)-1-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)ethylester 76
4.3.1 Abhängigkeit der RCA an [^{18}F]**24** vom verwendeten Lösungsmittel 76
4.3.2 Abhängigkeit der RCA an [^{18}F]**24** von der Reaktionstemperatur 77
4.3.3 Abhängigkeit der RCA an [^{18}F]**24** von der Eduktkonzentration an **17** 78
4.3.4 Optimierte Reaktionsparameter zur Synthese von Essigsäure-2-(benzyl-(2-[4-(2-[^{18}F]fluorethoxy)phenyl]-1-methylethyl)amino)-1-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)ethylester .. 79
4.4 Synthese von 5-(2-(2-[4-(2-[18F]Fluorethoxy)phenyl]-1-methylethylamino)-1-hydroxy-ethyl)benzen-1,3-diol durch Debenzylierung von [^{18}F]**20** 79
4.5 Synthese von 5-(2-(2-[4-(2-[^{18}F]Fluorethoxy)phenyl]-1-methylethylamino)-1-hydroxy-ethyl)benzen-1,3-diol ([^{18}F]**25**) durch Entschützung von [^{18}F]**24** 81
4.6 Radioaktive Markierung von [(R,R),(S,S)]-5-(1-Hydroxy-2-[2-(4-hydroxyphenyl)-1-methylethylamino]ethyl)benzen-1,3-diol mit 2-[^{18}F]Fluorethyltosylat zu (R,R)- und S,S)-5-(2-(2-[4-(2-[^{18}F]Fluorethoxy)phenyl]-1-methylethylamino)-1-hydroxyethyl) enzen-1,3-diol 81
4.6.1 Abhängigkeit der RCA an [^{18}F]**25** vom verwendeten Lösungsmittel 82
4.6.2 Abhängigkeit der RCA an [^{18}F]**25** vom Basenzusatz 82
4.6.3 Abhängigkeit der RCA an [^{18}F]**25** von der Reaktionstemperatur 85
4.6.4 Abhängigkeit der RCA an [^{18}F]**25** von der Eduktkonzentration 86
4.6.5 Optimierte Reaktionsparameter zur Darstellung von [(R,R),(S,S)]-5-(2-(2-[4-(2-[^{18}F]Fluorethoxy)phenyl]-1-methylethylamino)-1-hydroxyethyl)benzen-1,3-diol 87
4.7 Radioaktive Markierung von 4-(2-(Benzyl-[2-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)-2-hydroxyethyl]amino)propyl)phenol mit [^{11}C]Methyliodid zu 2-(Benzyl-[2-(4-[^{11}C]methoxyphenyl)-1-methylethyl]amino)-1-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)ethanol 87
4.7.1 Abhängigkeit der RCA an [^{11}C]**32** vom verwendeten Lösungsmittel 88
4.7.2 Abhängigkeit der RCA an [^{11}C]**32** von der verwendeten Hilfsbase 88
4.7.3 Abhängigkeit der RCA an [^{11}C]**32** von der Reaktionstemperatur 89
4.7.4 Abhängigkeit der RCA an [^{11}C]**32** von der Eduktkonzentration 89
4.8 Synthese von 5-(2-(2-[4-(2-[^{11}C]Methoxy)phenyl]-1-methylethylamino)-1-hydroxy-ethyl)benzen-1,3-diol 90
4.9 Radioaktive Markierung von [(R,R),(S,S)]-5-(1-Hydroxy-2-[2-(4-hydroxyphenyl)-1-methylethylamino]ethyl)benzen-1,3-diol mit [^{11}C]Methyliodid zu 5-(2-(2-[4-(2-[^{11}C]Methoxy)phenyl]-1-methylethylamino)-1-hydroxyethyl)benzen-1,3-diol 91
4.9.1 Abhängigkeit der RCA an [^{11}C]**34** vom verwendeten Lösungsmittel 91
4.9.2 Abhängigkeit der RCA an [^{11}C]**34** von der verwendeten Base 92
4.9.3 Abhängigkeit der RCA an [^{11}C]**34** von der Reaktionstemperatur 92
4.9.4 Abhängigkeit der RCA an [^{11}C]**34** von der Eduktkonzentration 93
4.9.5 Optimierte Reaktionsparameter zur Synthese von [(R,R),(S,S)]-5-(2-(2-[4-(2-[^{11}C]Methoxy)phenyl]-1-methylethylamino)-1-hydroxyethyl)benzen-1,3-diol 94
5 Bestimmung der logD-Werte 96

6 *in vitro*-Evaluierung von [^{19}F]Fluorethyl-Fenoterol (25) 101
7 Experimenteller Teil 103
7.1 Verwendete Chemikalien und Geräte 103
7.2 Darstellung der inaktiven Standardverbindungen und Markierungsvorläufer 106
7.3 Bestimmung der pKa – und logP-Werte 131
7.4 HPLC-Trennung der Enantiomere 131
7.5 Radiosynthesen 132
7.5.1 Radioaktive Markierungssynthesen mit [^{18}F]Fluorid 132
7.5.1.1 Herstellung einer [^{18}F]Fluoridlösung 132
7.5.1.2 Radioaktive Direktfluorierungen 133
7.5.1.3 Synthese von 2-[^{18}F]Fluorethyltosylat 133
7.5.1.4 Synthese von 1-Brom-2-[^{18}F]Fluorethan 134
7.5.1.5 Radioaktive Markierungssynthesen mit 2-[^{18}F]Fluorethyltosylat 135
7.5.1.6 Radioaktive Markierungssynthesen mit 1-Brom-2-[^{18}F]Fluorethan 136
7.5.1.7 Synthese von (R,R)- 5-(2-(2-[4-(2-[^{18}F]Fluorethoxy)phenyl]-1-methylethylamino)-1-hydroxyethyl)benzen-1,3-diol ((R,R)-[^{18}F]**25**) 136
7.5.2 Radioaktive Markierungssynthesen mit [^{11}C]CH_3I 137
7.5.2.1 Synthese von [^{11}C]Methyliodid 137
7.5.2.2 Synthese von 2-(Benzyl-[2-(4-[^{11}C]methoxyphenyl)-1-methylethyl]amino)-1-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)ethanol ([^{11}C]**32**) 137
7.5.2.3 Synthese von 5-(1-Hydroxy-2-[2-(4-[11C]methoxyphenyl)-1-methylethylamino]-ethyl)benzen-1,3-diol ([^{11}C]**34**) über 2-(Benzyl-[2-(4-[11C]methoxyphenyl)-1-methylethyl]amino)-1-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)ethanol ([^{11}C]**32**) 137
7.5.2.4 Synthese von 5-(1-Hydroxy-2-[2-(4-[11C]methoxyphenyl)-1-methylethylamino]-ethyl)benzen-1,3-diol ([^{11}C]**34**) durch radioaktive Markierung von **1** 138
7.6 *in vitro*-Evaluierung 138
8 Zusammenfassung 139
9 Literaturverzeichnis 144
Anhang A: Tabellarische Übersicht der wichtigsten dargestellten Verbindungen 150
Anhang B: Chromatogramme 152
Anhang C: *in vivo*-Evaluierung von [^{18}F]Fluorethyl-Fenoterol 154

1. Einleitung

Gregor von Hevesy (1885-1966) erkannte als erster die Bedeutung radioaktiver Isotope als Indikatoren für die Aufklärung physiologischer Prozesse. Er verwendete erstmals radioaktive Isotope bzw. „Radiotracer“, d.h. radioaktiv markierte Verbindungen, die es erlauben, einen biochemischen Vorgang *in vivo* zu verfolgen, ohne ihn dabei zu beeinflussen. Dieses Tracerkonzept hat fundamentale Bedeutung für die diagnostische und therapeutische Nuklearmedizin. G. von Hevesey gilt daher auch als der „Vater der Nuklearmedizin“ und erhielt 1943 den Nobelpreis.

1.1 Bedeutung kurzlebiger Positronenstrahler in der Nuklearchemie

Eine wesentliche Weiterentwicklung auf dem Gebiet der nuklearmedizinischen Anwendung von Radionukliden waren in den späten siebziger Jahren zwei computergestützte bildgebende Verfahren: die „Positronen-Emissions-Tomographie“ (PET) und die „Single-Photon-Emission-Tomographie“ (SPET).
Die PET erlaubt es aufgrund der Verwendung von kurzlebigen Positronenstrahlern biochemische Prozesse regional *in vivo* auch quantitativ zu erfassen [1]. Daher erklärt sich eine gewisse Sonderstellung der PET im Vergleich mit anderen bildgebenden Verfahren in der Medizin (z.B. der invasiven Autoradiographie, der Röntgen-Computer-Tomographie (CT) oder der schon genannten SPET). Möglich macht dies die spezielle Zerfallscharakteristik eines Positronenemitters.
Positronenemitter oder β^+ -Strahler sind neutronen-defizitäre Radioisotope, die unter Umwandlung eines Protons in ein Neutron zerfallen, wobei gleichzeitig ein Positron (β^+) und ein Elektonenneutrino (ν_e) frei werden (Abb. 1):

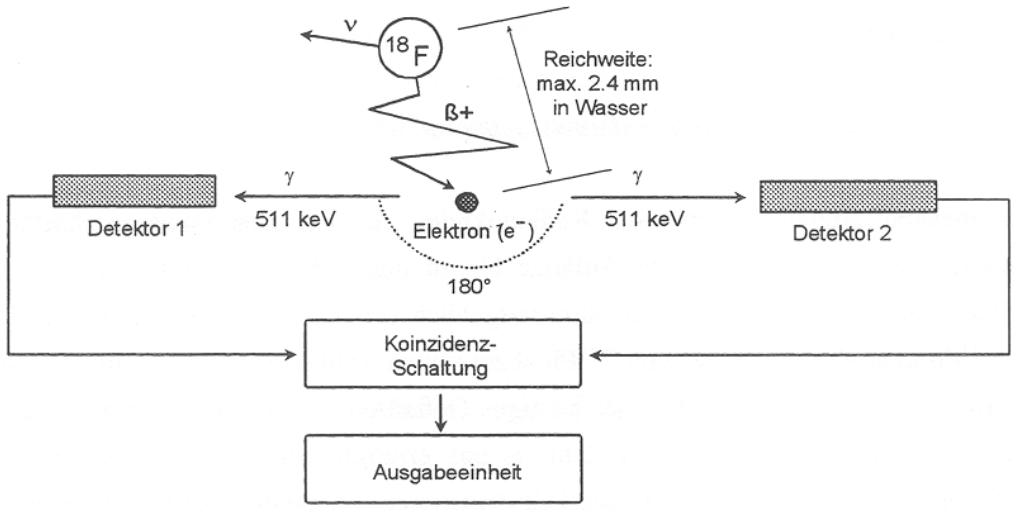


Abb.1: schematische Darstellung des β^+-Zerfalls von Fluor-18

Das emittierte Positron verliert seine hohe kinetische Energie von einigen MeV durch Abbremsvorgänge im umgebenden Gewebe. Der Bremsweg beträgt je nach kinetischer Energie des Positrons nur einige Millimeter beträgt, so beim ^{18}F 2-3 mm. Anschließend wird das Positron vernichtet, wenn es mit seinem Antiteilchen, dem Elektron, rekombiniert. Hierbei werden die Ruhemassen der beiden Teilchen bevorzugt in Form von zwei 511 keV γ-Quanten frei, die unter einem Winkel von 180° emittiert werden (Vernichtungsstrahlung, zur Übersicht siehe [2]). Die γ-Strahlung durchdringt das Körpergewebe leicht und kann von außen durch zwei gegenüberliegende, in Koinzidenz geschaltete Detektoren nachgewiesen werden (Abb. 2).
Dadurch ist ein ortsabhängiger Nachweis möglich, denn die zwei gegenüberliegenden Detektoren registrieren nur dann ein Zerfallsereignis, wenn sie gleichzeitig, also innerhalb der Koinzidenzauflösungszeit von wenigen Nanosekunden, getroffen werden. Die heutigen PET-Kameras bestehen aus 6 bis 8 ringförmig angeordneten Detektorsystemen mit hunderten Einzeldetektoren. Mehrere solcher Detektorsysteme, in denen jeder Detektor mit gegenüberliegenden Detektoren im gleichen und im benachbarten Ring in Koinzidenz geschaltet ist, erlauben es, Projektionen der Aktivitätsverteilung aufzunehmen. Durch die computergestützte Datenerfassung ist es so möglich, Schnittbilder von Organen wie Herz oder Gehirn zu erfassen und die Konzentrationen markierter Verbindungen im pikomolaren bis nanomolaren Bereich in sehr kleinen Volumenelementen von weniger als einem Kubikzentimeter zu bestimmen.

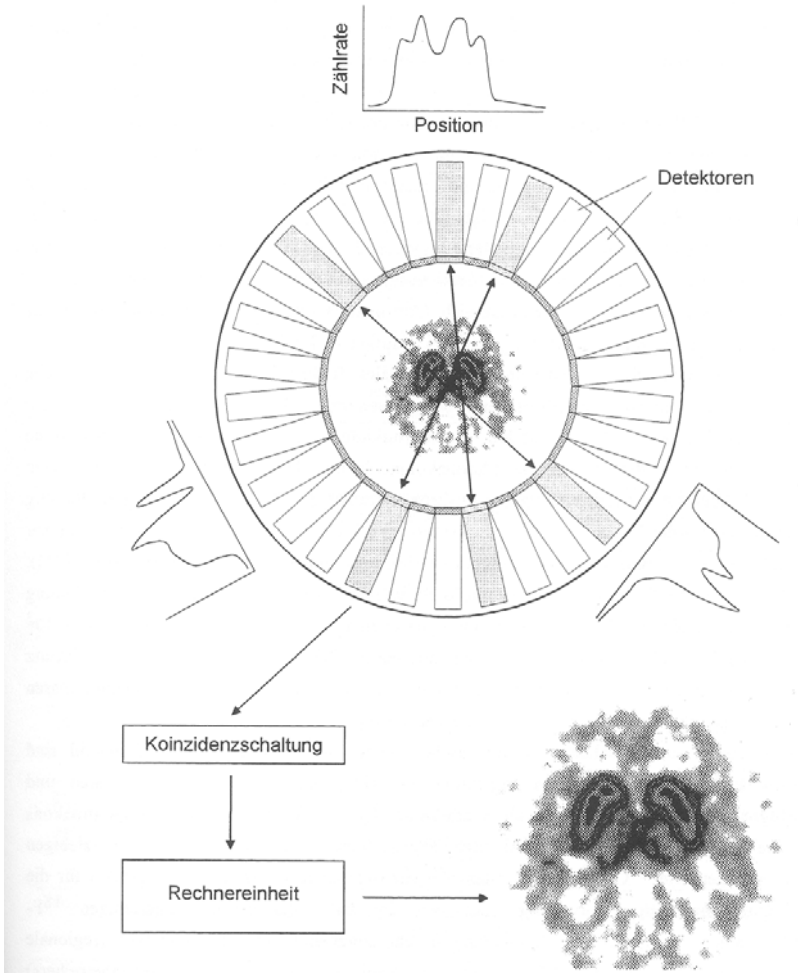


Abb. 2: Vereinfachte schematische Darstellung des Meßprinzips von PET-Kameras [3]

Die PET bietet somit die Möglichkeit, Verteilung und Kinetik eines Positronenemitters bzw. einer mit einem Positronenemitter markierten, pharmazeutisch interessanten Verbindung am Wirkort zu untersuchen. So werden z.B. Stoffwechselfunktionen wie der Sauerstoff- oder Glukoseumsatz sowie physiologische Funktionen wie der Blutfluß regional quantitativ erfaßt [1].
In Tabelle 1. sind die wichtigsten Positronenemitter für die PET aufgeführt.

Tab. 1: Wichtige bislang am häufigsten beim Menschen eingesetzte Positronenemitter für die PET (Kerndaten nach [4])

Nuklid	Halbwertszeit $T_{½}$ [min]	β^+-Zerfall Häufigkeit [%]	E_{max} (β^+) [keV]
^{11}C	20,4	99,8	960
^{13}N	9,96	100	1190
^{15}O	2,03	99,9	1723
^{18}F	110	96,9	635
^{76}Br	1002	66,5	3600

Physiologisch interessante Verbindungen bestehen im allgemeinen aus Kohlenstoff, Sauerstoff und Stickstoff. Daher erscheinen die Isotope ^{11}C, ^{13}N und ^{15}O dieser Elemente besonders geeignet für nuklearmedizinische Zwecke, zumal dann isotop markierte Verbindungen resultieren, deren biochemische Eigenschaften mit denen der nicht radioaktiv markierten Moleküle identisch sind.
Wichtige Kriterien für die Auswahl eines PET-Radionuklids sind die Emissionsrate der Positronen, die Halbwertszeit $T_{½}$ und die Zerfallsenergie E_{max}, wie auch gegebenenfalls die Zerfallscharakteristik des Tochternuklids, wobei bei den in Tab. 1 angegebenen Positronenemittern stabile Zerfallsprodukte entstehen. Schließlich spielt auch die Abstimmung der physikalischen Halbwertszeit des Positronenemitters auf die biologische Halbwertszeit des verwendeten Tracers eine wesentliche Rolle.
Für ^{13}N- und ^{15}O-markierte Verbindungen gelten daher aufgrund der kurzen Halbwertszeit der Isotope (9,96 min bzw. 2,03 min) zwei prinzipielle Einschränkungen. Zum einen sind mehrstufige, zeitaufwendige Synthesen von ^{13}N- bzw. ^{15}O-Verbindungen kaum möglich, zum anderen sind die resultierenden ^{13}N- bzw. ^{15}O-Radiopharmaka nur zur Messung sehr schneller physiologischer Prozesse geeignet. Sauerstoff-15 und Stickstoff-13 finden deshalb nur in leicht und schnell zugänglichen Verbindungen wie $[^{15}O]H_2O$, $[^{15}O]CO_2$, $[^{15}O]C_4H_9OH$ und $[^{13}N]NH_3$ Anwendung [5].
Die Halbwertszeit von ^{11}C (20,4 min) läßt längere Synthesezeiten von ca. einer Stunde zu und ermöglicht somit die Synthese komplexerer Radiopharmaka mit anschließender Qualitätskontrolle.

Die längerlebigen Positronenstrahler ^{18}F und ^{76}Br hingegen sind für sogenannte Analogtracer interessant. Hierbei wird über geeignete chemische Reaktionen an die inaktive Verbindung ein „fremdes“ Radionuklid oder eine das fremde Radionuklid enthaltende Molekülgruppe gebunden. Durch diese Fremdmarkierung wird die Verbindung chemisch geändert. Sie kann deshalb nur dann nuklearmedizinische Anwendung finden, wenn das physiologische Verhalten des Radiopharmakons weitgehend unbeeinflusst geblieben ist. Voraussetzung dafür sind ein ähnlicher sterischer

Raumbedarf des Fremdatoms (z.B. ^{76}Br für CH_3 oder ^{18}F für H) oder eine Homologie der chemischen Elemente (z.B. ^{73}Se für S).
Im Falle von Fluor-18 wird sehr oft die sterische Analogie von F und H ausgenutzt. Der van-der-Waals-Radius von Fluor (1,35 Å) ist dem Atomradius von Wasserstoff (1,20 Å) ähnlich. Auf diesem Struktur-Analogie-Prinzip beruht die Mehrheit der ^{18}F-markierten Radiopharmaka. Andererseits zeigt das Beispiel der weltweit routinemäßig als Radiopharmakon eingesetzten 2-[^{18}F]Fluor-2-deoxy-D-glukose (2-FDG) eindrucksvoll, dass die Einführung eines Fremdatoms zu einer Änderung im Metabolismus einer Verbindung im Körper führen kann, die diagnostische Vorteile mit sich bringt. 2-FDG wird im Körper über das Enzym *Hexokinase* zu 2-[^{18}F]Fluor-2-deoxy-D-glucose-6-phosphat umgewandelt, welches über das Enzym *Glukosephosphatisomerase* nicht weiter metabolisiert wird. Dadurch ist das Radiopharmakon im Zielorgan „gefangen" („metabolisches Trapping") und erlaubt somit die Messung seiner räumlichen und zeitlichen Verteilung [6].
Die Bindungsenergie der C-F-Bindung beträgt 444KJ/mol. Dies ist die thermodynamisch stabilste C-Hal-Bindung, weshalb ^{18}F-markierte Radiopharmaka eine gute Voraussetzung dafür besitzen, ohne Verlust des Radionuklids (z.B. durch Dehydrofluorierung) an den Wirkort zu gelangen.
Grundsätzlich führt die Einführung von Fremdatomen jedoch zu einer Änderung der chemischen Eigenschaften. Bei einer F- gegen H-Substitution ist allein durch die wesentlichen Unterschiede in der Elektronegativität (EN(F)=4,10, EN(H)=2,20) eine Änderung der Polarität und Ladungsverteilung im Molekül zu erwarten. Daher ist es immer notwendig, durch Zell- oder Tierversuche zu verifizieren, ob die markierte Verbindung tatsächlich ein analoges pharmakologisches Verhalten wie die Stammverbindung aufweist.

Die Vorteile der Verwendung eines mit ^{11}C–markierten Radiotracers sind evident: die Halbwertszeit von 20,4 min erlaubt in gewissen Grenzen auch aufwendigere Synthesen, und da das pharmakologisch interessierende Molekül unverändert bleibt, entfallen langwierige und kostspielige Evaluierungen, wie sie bei der Verwendung von Analogtracern notwendig sind. Allerdings gibt es auch gewisse Nachteile bei Kohlenstoff-11: zum einen ist die maximale Positronenenergie mit 960 keV relativ hoch, so dass die Ortsauflösung für die PET deutlich schlechter ist als z.B. bei Fluor-18 mit 635 keV. Zum anderen bedingt die Halbwertszeit, dass pharmakologisch interessante Prozesse mit einer biologischen Halbwertszeit von einigen Stunden nicht mehr dargestellt werden können.

Fluor-18 bietet als PET-Isotop nahezu ideale Voraussetzungen: Die Halbwertszeit von 110 Minuten bietet einen ausreichenden zeitlichen Rahmen, der die Durchführung mehrerer Syntheseschritte, die Reinigung der Radiopharmaka und die Qualitätskontrolle ermöglicht. Für die Produktion von ^{18}F stehen Kernreaktionen zur Verfügung, die eine hohe Ausbeute und eine hohe spezifische Aktivität ermöglichen. Die niedrige β^+-Energie bedingt eine niedrige Strahlenbelastung des Patienten und ermöglicht eine gute Ortsauflösung für die PET. Darüber hinaus ermöglicht die Halbwertszeit von ^{18}F, über eine Art „Satelliten-System" Arztpraxen in einem größeren Umkreis um ein Zyklotron mit ^{18}F-markierten Radiopharmaka zu versorgen [7].

Neben diesen Vorteilen gibt es allerdings auch einige Nachteile, die der Umgang mit kurzlebigen Positronenemittern und ihre Anwendung in der PET mit sich bringt:

1. Verfügbarkeit eines Zyklotrons (>11 MeV Protonen) für die Produktion der leichten Positronemitter
2. hohe Investitionskosten für den PET-Tomographen („Scanner“)
3. leistungsfähige Radiochemie zur Herstellung und Reinigung der markierten Radiopharmaka
4. unmittelbare Nachbarschaft von Herstellung und Anwendung (PET-Zentrum) oder zumindest die Organisation eines Satellitensystems im Fall von ^{18}F

1.2 Zur Chemie von Reaktionen mit trägerfreien (n.c.a.) Radionukliden

Zum Verständnis der Trägerfreiheit ist der Begriff der spezifischen Aktivität von Wichtigkeit. Die spezifische Aktivität ist die Aktivität bezogen auf die Stoffmenge aller isotoper (inaktiver und radioaktiver) Moleküle. Ihre Angabe erfolgt in [GBq/µmol] bzw. [Ci/µmol] oder [GBq/g] bzw. [Ci/g].
Im allgemeinen unterscheidet man:

1. „trägerfrei“ (carrier-free)
2. „n.c.a.“ (no-carrier-added)
3. „geträgert“ (carrier-added, c.a)

Der trägerfreie Zustand eines Radionuklids ist erreicht, wenn eine vollkommene Nuklidreinheit vorliegt, also keinerlei isotope Verunreinigungen vorhanden sind. Liegen isotope Beimischungen vor, z.B. aus dem Produktionsprozeß, so nennt man diesen Zustand „geträgert“.
Der trägerfreie Zustand ist grundsätzlich nur bei künstlichen Elementen wie z.B. Astat erreichbar, denn aufgrund der Allgegenwärtigkeit der natürlichen Elemente ist immer eine gewisse Verdünnung des erzeugten Radionuklids mit isotopem Träger gegeben. Auch bei den mit geringer Häufigkeit vorhandenen Halogenen ist es nicht möglich, eine Verdünnung um den Faktor 10-1000 zu vermeiden [8]. Die Aufnahme des isotopen Trägers erfolgt auf vielfältigen Wegen während der Synthese oder Reinigung (Gefäße, Targetmaterialien, Synthesechemikalien, Luft etc.). Man verwendet deshalb für Markierungssynthesen nicht den Ausdruck „trägerfrei“ (engl.: carrier-free), sondern „ohne Trägerzusatz“ (engl.: no-carrier-added: n.c.a.).

In der Praxis spielt die maximal erreichbare spezifische Aktivität vor allem bei toxischen, zentral wirksamen und bei rezeptorbindenden Radiopharmaka eine wesentliche Rolle, da diese häufig nur in Nanogramm-Mengen eingesetzt werden können, ohne eine Pharmakodynamik zu entfalten. Einige interessante Radiopharmaka wurden bisher nur mit größeren Mengen inaktiver Verunreinigungen hergestellt, so dass deren Einsatz am Menschen wegen eines möglichen Erreichens von toxischen Dosen nicht möglich ist [9]. Liegt ein Radiopharmakon jedoch in n.c.a.-Mengen vor, so ist prinzipiell keinerlei pharmakodynamische Wirkung zu erwarten.

Die wesentlichen Aspekte und Probleme der Synthese von markierten Verbindungen folgen aus kinetischen Unterschieden zu makroskopischen Stoffsystemen, den kurzen Halbwertszeiten und den n.c.a.-Mengen der Produkte:

1. Limitierung des Zeitaufwandes für Synthese, Reinigung und Qualitätskontrolle der markierten Verbindungen auf unterhalb von 3 Halbwertszeiten. Daher sind schnelle Syntheseschritte und eine routinemäßige automatisierte Prozessführung wünschenswert.
2. Hohe Anforderungen an die Reinheit der Chemikalien und die Beschaffenheit der Werkstoffe, um Adsorbtionsverluste (z.B. an Gefäßwänden oder Niederschlägen) und Nebenreaktionen (z.B. mit Lösungsmittelverunreinigungen) zu minimieren.
3. Durchführung der eigentlichen Markierungsreaktion möglichst im letzten Schritt innerhalb der Synthese mit dem Ziel, hohe radiochemische Ausbeuten zu erhalten.

1.3 Produktion von Fluor-18

Fluor-18 wird heute in der Regel an einem kleinen stromstarken Teilchenbeschleuniger, sogenannten Minizyklotronen oder „Baby"-Zyklotronen hergestellt. Solche Zyklotrone beschleunigen Protonen auf ca. 11-19,5 MeV und Deuteronen auf ca. 10 MeV mit Teilchenströmen von bis zu 100 µA [10].
In Tabelle 2 sind die vier bedeutendsten Kernreaktionen für die Produktion von Fluor-18 zusammengestellt:

Tab. 2: Die vier wichtigsten ^{18}F-Produktionsprozesse am Zyklotron [10]

Kernreaktion	Target	chemische Form des ^{18}F	Spezifische Aktivität [GBq/µmol] (Ci/µmol)
$^{18}O(p,n)^{18}F$	$H_2{}^{18}O$	$[^{18}F]F^-_{aq}$	bis zu $37 \cdot 10^2$ (10^2)
$^{16}O(^3He,p)^{18}F$	H_2O	$[^{18}F]F^-_{aq}$	bis zu $37 \cdot 10^2$ (10^2)
$^{20}Ne(d,\alpha)^{18}F$	Ne (0,1-0,2%F_2) 18 bar	$[^{18}F]F_2$	0,037-0,37 (0,001-0,01)
$^{18}O(p,n)^{18}F$	$^{18}O_2$, Kr (1%F_2), 20 bar	$[^{18}F]F_2$	0,037-1,85 (0,001-0,05)

Je nach Kernreaktion erhält man als Produktkern Fluor-18 in zwei verschiedenen chemischen Formen:
1. in ungeträgerter nukleophiler Form als $[^{18}F]F^-_{aq}$
2. in geträgerter elektrophiler Form als elementares $[^{18}F]F_2$

Zur Darstellung der n.c.a. nukleophilen Form (als Fluorid-Ion in wässriger Lösung, siehe Tab. 2) bedient man sich heute der $^{18}O(p,n)^{18}F$-Kernreaktion. Im Gegensatz zur $^{16}O(^3He,p)^{18}F$-Kernreaktion weist dieser Produktionsprozeß einen hohen Wirkungsquerschnitt bei relativ geringen

Protonenenergien (11 MeV) auf [11]. Durch Anreicherung des ^{18}O auf >99,8% im Targetwasser kann die Ausbeute auf >20 GBq maximiert werden. Aufgrund der hohen Kosten für das ^{18}O-angereicherte Wasser ist seine Rückgewinnung besonders von Bedeutung. Das erzeugte [^{18}F]Fluorid wird nach der Bestrahlung an einem Anionenaustauscher gebunden und mit wäßriger Kaliumcarbonatlösung eluiert. Dadurch erlaubt dieses Verfahren die Rückgewinnung des angereicherten [^{18}O]Wassers [12], welches nach photochemischer und destillativer Reinigung erneut als Targetmaterial genutzt werden kann.
Die Darstellung von [^{18}F]Fluor in Form von elektrophilem [^{18}F]F_2 gelingt über die Deuteronenbestrahlung von Neon ($^{20}Ne(d,\alpha)^{18}F$) [13] oder die Protonenbestrahlung von [^{18}O]Sauerstoff ($^{18}O(p,n)^{18}F$). Allerdings erhält man dann wegen des notwendigen Zusatzes von F_2 zum Target weit geringere spezifische Aktivitäten (0,037-0,37 bzw. 0,037-1,85 GBq/µmol, siehe Tab. 2). Bei Fluor-ierungsreaktionen mit [^{18}F]F_2 sind also nur trägerhaltige ^{18}F-markierte Zielverbindungen erhältlich, wodurch die maximal erreichbare spezifische Aktivität des markierten Moleküls deutlich begrenzt wird [14].

1.4 Verfahren zur ^{18}F-Markierung organischer Moleküle

Die grundlegenden Verfahren, die für die gezielte radiochemische ^{18}F-Markierung organischer Verbindungen zur Verfügung stehen, richten sich nach der chemischen Form des ^{18}F, in der es nach dem Produktionsprozeß vorliegt. Molekulares [^{18}F]F_2 steht für elektrophile Reaktionen zur Verfügung, das aus wäßriger Lösung isolierte Fluorid-Ion stellt hingegen unter bestimmten Bedingungen ein gutes Nukleophil für ^{18}F-Markierungen dar (siehe Abschnitt 1.6). Im folgenden sollen die elektrophilen und nukleophilen Fluorierungen gegenübergestellt werden.

1.4.1 Elektrophile Fluorierungen

Da durch den Trägeranteil die radiochemischen Ausbeuten der elektrophilen Fluorierung maximal 50% betragen können (da ^{18}F und ^{19}F im ^{18}F-^{19}F praktisch gleichwertig reagieren und ein Fluor als HF verlorengeht), findet $^{18}F[F_2]$ zur Zeit nur dann Anwendung, wenn für die Darstellung des gewünschten Tracers keine geeignete Alternative über nukleophiles [^{18}F]Fluorid zur Verfügung steht, oder wenn aufgrund der hohen *in vivo*-Konzentration endogener Analoga die spezifische Aktivität der applizierten Tracer keine maßgebliche Rolle spielt. Die elektrophile ^{18}F-Markierung wird über die Reaktion von [^{18}F]F_2, das direkt aus dem Target gewonnen wird, oder über die milderen Fluorierungsagentien Acetylhypofluorid [^{18}F]CH_3COOF bzw. [^{18}F]XeF_2 mit elektronenreichen Reaktanden (Alkenen, Aromaten, Carbanionen) durchgeführt. Sieht man von den erforderlichen Vorsichtsmaßnahmen des experimentellen Umganges mit F_2 einmal ab, so ist die elektrophile Fluorierung insofern eine einfache Reaktion, da man ausgehend von einem Kohlenwasserstoff auf direktem Wege ein analoges ^{18}F-Fluorderivat erhält. Es treten allerdings Probleme infolge der hohen Reaktivität der elektrophilen ^{18}F-Fluorierungsagenzien auf, da sich durch den ^{19}F-Gehalt Mehrfachfluorierungen, radikalische Seitenreaktionen, Reaktionen mit den

Lösungsmitteln und die Bildung von Isomerengemischen nicht verhindern lassen. Als Beispiel sei hier die elektrophile aromatische Fluorierung von L-DOPA mit $[^{18}F]F_2$ in flüssigem Fluorwasserstoff genannt, die zu einem Isomerengemisch von 2- ,5- und 6-[^{18}F]Fluor-L-DOPA im Verhältnis 60:5:35 führt [15].

Um die Regioselektivität von elektrophilen Substitutionen zu erhöhen, werden in speziellen Fällen Demetallierungsreaktionen zur ^{18}F-Fluorierung herangezogen. Man setzt dabei $[^{18}F]F_2$ bei tiefen Temperaturen (-78°C) direkt zur Markierung ein oder wandelt dieses in die milderen elektrophilen Spezies wie Acetylhypofluorid $[^{18}F]CH_3COOF$ oder Xenondifluorid $[^{18}F]XeF_2$ um. Aufgrund der geringeren Reaktivität von Acetylhypofluorid im Vergleich zum $[^{18}F]F_2$ kann die Umsetzung bereits bei 0°C durchgeführt werden [16]. Zur Demetallierungsreaktion eignen sich vor allem Organosilicium-, Organogermanium- und Organozinnverbindungen, wobei die Substituierbarkeit der Abgangsgruppen in der Reihe M=Si, Ge, Sn zunimmt, so dass man im Fall der Destannylierungen die höchsten radiochemischen Ausbeuten erhält. Eine ^{18}F-Fluorierung ist aber auch über eine Demerkurierungsreaktion möglich, wie die Beispiele der Darstellung von 6-[^{18}F]Fluormetaraminol [17] und 6-[^{18}F]Fluor-L-DOPA [18] zeigen. Das Hauptproblem bei der Verwendung der elektrophilen Fluorierung bleibt jedoch die relativ geringe spezifische Aktivität, die mit den bekannten Fluorierungsagenzien erreicht wird. Sie liegen bei den bekannten Verbindungen in Größenordnungen von 0,01-0,1 mCi/µmol (0,37-3,7 MBq/µmol). Daher können diese Verbindungen nur auf solche physiologische Systeme angewendet werden, bei denen keine hohen spezifischen Aktivitäten erforderlich sind. Dies trifft z.B. bei 2-[^{18}F]Fluor-2-deoxy-D-glukose zu, bei der durch die hohe endogene Konzentration eines nichtisotopen Trägers (D-Glukose) die Tracereigenschaften nicht an eine hohe spezifische Aktivität gebunden ist. Zur Markierung toxischer Verbindungen sind jedoch hohe spezifische Aktivitäten erforderlich, damit eine pharmakodynamische Wirkung bei einer Applikation an Patienten ausgeschlossen werden kann. Insofern war eine PET-Anwendung von 6-[^{18}F]Fluormetaraminol an Patienten trotz der vielversprechenden tierexperimentellen Ergebnisse bis heute nicht möglich, da [^{18}F]Fluormetaraminol bisher nur auf elektrophilem Wege zugänglich war [19, 20].

1.4.2 Nukleophile Substitution

Die wichtigste Methode zur Synthese ^{18}F-fluorierter Verbindungen ist die nukleophile Fluorierung ausgehend von anionischem $[^{18}F]F^-_{aq}$, da nur auf diesem Wege n.c.a. Produkte erhalten werden können.

Neben der chemischen Struktur der zu markierenden Substanz und der zu substituierenden Abgangsgruppe spielt die Nukleophilie des n.c.a. [^{18}F]Fluorids eine entscheidende Rolle. Das kleine Fluoridion wird wegen seiner hohen Ladungsdichte in Anwesenheit acider Protonen unter Bildung von [^{18}F]Fluorwasserstoff leicht protoniert. Zudem ist es in wässriger Lösung von einer starken Hydrathülle [ΔH_{hyd}=506 KJ/mol) [21] umgeben und damit sehr unreaktiv.

Zur Anionenaktivierung und zur Fixierung des [^{18}F]Fluorids eignen sich vor allem Phasentransferkatalysatoren (PTK) wie Tetraalkylammoniumhydroxid und andere Oniumsalze, insbesondere Aminopolyether (APE) 2.2.2. in Verbindung mit K_2CO_3 als basischer Matrix. Die PTKs führen praktisch zu einem „nackten“ Fluoridion hoher Reaktivität. Einen besonderen

Stellenwert als Lösungsmittel bei ^{18}F-Markierungen haben Acetonitril, Dimethylsulfoxid (DMSO), N,N-Dimethylformamid (DMF) sowie N,N-Dimethylacetamid (DMAA), während Lösungsmittel mit geringen Dielektrizitätskonstanten wie Tetrahydrofuran, Dichlormethan oder Aceton selten Anwendung finden.

Die praktische Durchführung der Anionenaktivierung gestaltet sich derart, dass die wässrige [^{18}F]Fluorid-Lösung mit dem festen oder in Lösung befindlichen Phasentransferkatalysator versetzt und in Gegenwart von Acetonitril zur Trockene eingedampft wird. Auf diese Weise wird entweder das Alkalikation mit Hilfe des Aminopoly- oder Kronenethers komplexiert oder ein Ionenpaar zwischen dem Tetraalkylammoniumkation und dem [^{18}F]Fluorid gebildet. Gleichzeitig wird das Wasser, das über die wäßrige [^{18}F]Fluorid-Lösung in das Reaktionsgefäß eingebracht wurde, durch azeotrope Destillation aus dem Reaktionsansatz entfernt. Solange das Löslichkeitsprodukt des gebildeten Ionenpaares nicht überschritten wird, bleiben Adsorbtionsverluste an den Reaktionsgefäßen vernachlässigbar klein [22].

Aliphatische nukleophile Substitutionen mit [^{18}F]Fluorid können in den Medien Acetonitril, DMF, DMSO oder DMAA mechanistisch als einfache S_N2-Reaktion angesehen werden, wobei Halogene und Sulfonsäureester (Mesylat, Tosylat, Triflat) als Abgangsgruppen dienen [23]. Von besonderer Bedeutung ist in diesem Zusammenhang die Darstellung von 2-[^{18}F]Fluor-2-deoxy-D-glukose [24], des zur Zeit am meisten verwendeten Radiopharmakons für die PET zur Messung des regionalen Glukosestoffwechsels. 2-FDG wird aus einem vollständig acetylierten Mannosevorläufer durch Austausch von Triflat gegen [^{18}F]Fluorid gewonnen, wobei eine Walden-Umkehr zur Bildung des Glukosederivates führt.

Die nukleophile aromatische Substitution besitzt ebenfalls eine große Bedeutung zur Herstellung ^{18}F-fluorierter Radiopharmaka, was vor allem auf die große metabolische Stabilität fluorierter aromatischer Verbindungen zurückzuführen ist. Bei der nukleophilen aromatischen ^{18}F-Fluorierung an aktivierten Arenen werden in erster Linie Aromaten mit mesomer-elektronenziehenden Substituenten in Ortho- oder Parastellung zur Abgangsgruppe verwendet. Dem Austausch liegt dabei in der Regel folgendes Schema zugrunde (Abb.3):

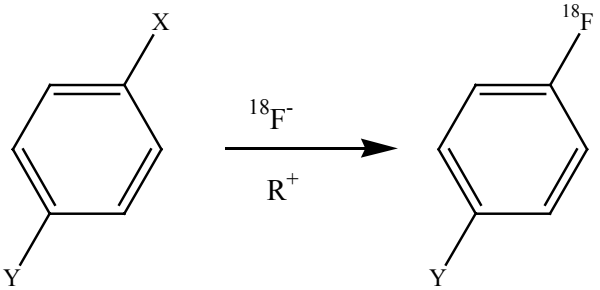


Abb. 3: Nukleophile aromatische Substitution mit n.c.a. [^{18}F]Fluorid an aktivierten Arenen
Y=NO_2, CN, CHO, RCO, COOR, (Cl, Br, I)
X=F, NO_2,$N(CH_3)_3^+$(TfO^-, Tos^-, ClO_4^-, I^-), Br, Cl, I
R^+=$[K^+\subset 2.2.2.]_2CO_3^{2-}$; ($[K^+\subset 2.2.2.]_2C_2O_4^{2-}$, CO_3^{2-}); R_4N^+, Cs^+, Rb^+

Unter den aktivierenden Gruppen Y finden sich besonders die Nitro-, Cyano- und Carbonylgruppe. Die radiochemischen Ausbeuten bei derartigen kleinen Modellverbindungen liegen meist über 80%. Bei zunehmender Komplexität der Moleküle gibt es jedoch oft Ausbeuteverluste bzw. es findet gar keine ^{18}F-Fluorierung statt, da die meist hohen Temperaturen oder die relativ stark basischen Reaktionsbedingungen der Tetraalkylammonium- bzw. Kryptofix-Kaliumcarbonat-Systeme zur Zersetzung der Edukte führen. Als günstig erwies sich in diesem Zusammenhang der Einsatz von Oxalat oder Hydrogencarbonat anstelle von Kaliumcarbonat [25]. Mit diesen weniger basischen Trägersalzen konnten diverse Fluor-Butyrophenon-Neuroleptika mit befriedigenden radiochemischen Ausbeuten von 45% dargestellt werden [26]. Als aromatischer Abgangssubstituenten eignen sich Fluor (dies führt jedoch zu geträgerten Produkten und hat deshalb keine praktische Bedeutung zur Synthese von Radiopharmaka), die Nitrogruppe, sonstige Halogene und die Trimethylammoniumgruppe. Die größte Nukleofugie unter den Abgangsgruppen besitzt dabei die Trimethylammoniumgruppe [27]. Als Gegenion zur Trimethylammoniumgruppe eignen sich Iodid, Perchlorat, Tosylat und Triflat, wobei Triflat in der Regel die besten radiochemischen Ausbeuten liefert [28]. Durch die Verwendung der Trimethylammoniumgruppe als Abgangssubstituent lassen sich zur Aktivierung eines nukleophilen aromatischen ^{18}F-für-N$(CH_3)_3$ Austauschs auch Halogene wie Chlor, Brom oder Iod heranziehen. Auf diesem Wege ist es möglich, 1-[^{18}F]Fluor-4-haloarenderivate auf direktem Wege in radiochemischen Ausbeuten von bis zu 12% und mit hoher spezifischer Aktivität zu erhalten [29, 30]. 1-[^{18}F]Fluor-4-haloarenderivate können wiederum zur Darstellung von 4-[^{18}F]Fluorphenyllithiumverbindungen herangezogen werden, welche auch eine ^{18}F-Fluorarylierung ermöglichen [31].

Ein Nachteil der Trimethylammoniumgruppe ist jedoch, dass es neben einer nukleophilen aromatischen Substitution auch zur Bildung von n.c.a. [^{18}F]Fluormethan als Konkurrenzreaktion kommen kann. Diese Reaktion ist in starkem Maße abhängig von den aktivierenden Substituenten am aromatischen Ring und deren Position zur Trimethylammoniumgruppe [32]. Tabelle 3 zeigt den Zusammenhang zwischen der Substituentenkonstante (Hammettkonstante) σ_p^0 und den radiochemischen Ausbeuten von [^{18}F]Fluormethan und den 4-[^{18}F]Fluorarenen.

Tab. 3: Radiochemische Ausbeute der 4-[^{18}F]Fluorarene und des [^{18}F]Fluormethans in Abhängigkeit von der Hammettkonstante σ_p^0 der para-ständigen Substituenten [32]

X=Substituent	σ_p^0	Ausbeute an 4-[^{18}F]Fluoraren [%]	Ausbeute an [^{18}F]Fluormethan [%]
F	0,06	2	85
Br	0,22	12,5	70
CHO	0,43	71	1
$COOC_2H_5$	0,45	77	2
$COCH_3$	0,50	79	1,5
CN	0,66	87	0
NO_2	0,78	88	0

Dass nicht nur die aktivierende Gruppe, sondern auch die Position der Abgangsgruppe die [^{18}F]Fluormethan-Bildung beeinflussen kann, zeigt das Beispiel der Umsetzung von 2-Acetyl-N,N,N-phenyltrimethylammonium-Triflat mit n.c.a. [^{18}F]Fluorid in DMSO, wobei radiochemische Ausbeuten von bis zu 67% an [^{18}F]Fluormethan erhalten wurden [33].
Zur Fluorierung von desaktivierten Aromaten bestehen im Prinzip zwei Möglichkeiten. Die erste ist eine zweistufige Synthese, wobei zunächst eine nukleophile aromatische Substitution mit Hilfe von aktivierenden Substituenten durchgeführt wird, die anschließend vom aromatischen Ring abgespalten werden. Als aktivierende Gruppen dienen z.B. Aldehyde, die nach der ^{18}F-Fluorierung mit Hilfe des Wilkinson-Katalysators Tris(triphenylphosphin)rhodium[I]-chlorid unter milden Bedingungen abgespalten werden können [34]. Eine Darstellung von [^{18}F]Fluoralkylarenen ausgehend von einer halogenaktivierten ^{18}F-für-N(CH$_3$)$_3$ Substitution kann ebenfalls durchgeführt werden, wobei die Halogene unter Verwendung von Hydrodehalogenierungsagentien wie Tributylzinnhydrid oder Natriumborhydrid aus dem aromatischen Ringsystem entfernt werden können [30].
Die zweite Möglichkeit besteht in der direkten Markierung desaktivierter Aromaten mit Hilfe von substituierten Diaryliodonium-Salzen und [^{18}F]Fluorid [35]. Dabei bilden sich im Fall verschieden substituierter Salze jedoch zwei Produkte, deren Verhältnis von der Art der Substituenten abhängig ist (Abb. 4).

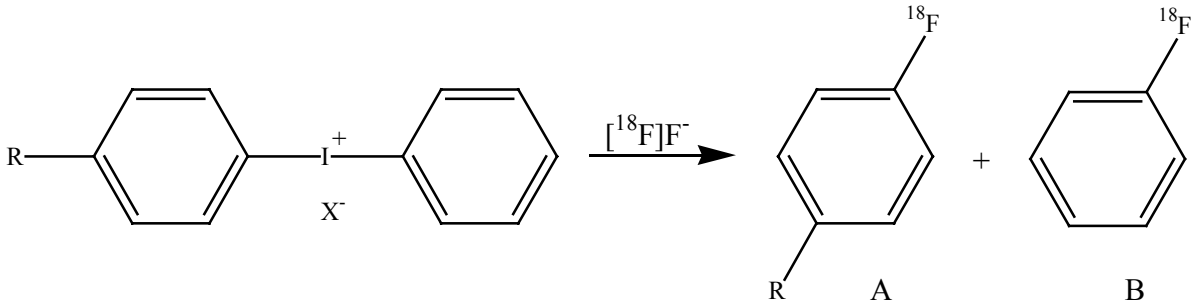


Abb. 4: ^{18}F-Fluorierung von Diphenyliodonium-Salzen

Besonders gute Ergebnisse zur Produktbildung von A werden dabei mit Substituenten erzielt, die einen geringen elektronischen Einfluß oder einen desaktivierenden Charakter besitzen, wie z.B. Methylgruppen oder die Halogene [36]. Elektronenschiebende Substituenten wie die Methoxygruppe liefern dagegen ausschließlich [^{18}F]Fluorbenzol B [37]. Als Anionen X$^-$ eignen sich Iodid, Bromid, Triflat und Tosylat, wobei mit Triflat und Tosylat die besten radiochemischen Ausbeuten erzielt werden konnten.
In vielen Fällen ist jedoch eine direkte ^{18}F-Fluorierung aufgrund der thermischen Instabilität der Edukte, den stark basischen Bedingungen oder einer nicht ausreichenden Aktivierung des Aromaten nicht möglich. Oftmals weicht man dann auf die Darstellung eines sekundären ^{18}F-markierten Vorläufers aus, der anschließend über eine mehrstufige Synthese in das eigentliche Produkt umgewandelt werden kann. Diese Darstellungen sind chemisch zwar interessant, aber in der Praxis im Hinblick auf eine fernbedienbare und automatisierte Synthese mit kurzlebigen

Positronenemittern meist ungeeignet, zumal sie bei einem Zeitaufwand von mehr als 2 Stunden oft nur geringe Ausbeuten liefern.

1.4.3 Fluordiazonierung

In der präparativen organischen Chemie werden zur Einführung von Fluor in aromatische Verbindungen häufig die Balz-Schiemann oder die Wallach-Reaktion angewendet, bei denen das Fluor über Dediazonierungsreaktionen in den Aromaten eingebaut wird. N.c.a. Synthesen mit Fluor-18 führen jedoch bei diesen Reaktionstypen meist zu geringen radiochemischen Ausbeuten [38, 39]. Dies ist im Fall der Balz-Schiemann-Reaktion zum einen auf die Verwendung von Tetrafluorboratanionen als Gegenion zum Diazonium zurückzuführen, wodurch die maximale radiochemische Ausbeute auf 25% limitiert ist und die spezifische Aktivität erniedrigt wird, zum anderen ist der Mechanismus für eine trägerfreie Synthese nicht geeignet. Es liegt bei beiden Reaktionstypen ein S_N1-Mechanismus vor, bei dem reaktive Kationen entstehen, die relativ unselektiv mit allen möglichen Nukleophilen abreagieren können, so dass die Wahrscheinlichkeit eines Zusammenstoßes mit einem $[^{18}F]F^-$ unter trägerarmen Bedingungen sehr gering ist und nur makroskopische Mengen an Fluor zu befriedigen Ergebnissen führen [40].

1.4.4 Fluorierung über prosthetische Gruppen

Wenn eine direkte ^{18}F-Fluorierung nicht möglich ist, so kann auf Markierungssynthesen mit prosthetischen Gruppen zurückgegriffen werden. Bei diesem Verfahren werden zuerst kleine, gut fluorierbare Moleküle mit Fluor-18 umgesetzt und diese anschließend mit einem Molekül gekoppelt, bei dem die direkte nukleophile Fluorierung versagt. Von besonderer Bedeutung sind hierbei die ^{18}F-Fluoralkylierungen [41], die ^{18}F-Fluoracylierung [42, 43] und die ^{18}F-Fluoramidierung [44].

Bei der ^{18}F-Fluoralkylierung werden Fluoralkylreste wie $X\text{-}CH_2\text{-}CH_2\text{-}^{18}F$ mit H-aciden Verbindungen wie Amino-, Hydroxy- oder Thiolgruppen zur Reaktion gebracht. Dabei liefert die Darstellung der ^{18}F-Fluoralkylreste ausgehend von Bistosylalkanen und Bistrifluormethansulfonylalkanen die besten Ausbeuten. Sowohl die Fluorierung als auch die anschließende nukleophile Substitution des zweiten Tosylrestes durch das zu markierende Edukt können in einer „Eintopfreaktion“ durchgeführt werden (Abb.5).

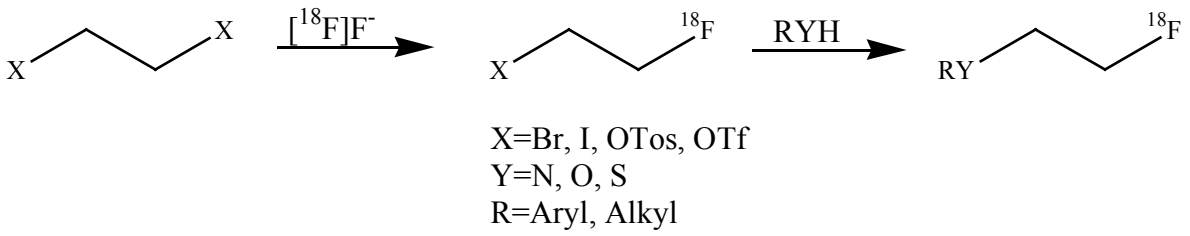


Abb. 5: ^{18}F-Fluoralkylierung H-acider Verbindungen

Anwendung findet diese Methode z.B. bei der Markierung von dopaminergen und serotonergen Rezeptorliganden [45, 46] und Benzodiazepinen [47], sowie bei der ^{18}F-Fluoralkylierung von Tyrosin [48].

Im Gegensatz zur ^{18}F-Fluoralkylierung können die ^{18}F-Fluoracylierungs- und ^{18}F-Fluoramidierungsreagentien auch in wäßrigen Systemen eingesetzt werden. Sie eignen sich damit besonders für die Markierung von Peptiden und Proteinen. Es handelt sich dabei um markierte Aktivester [Übersicht: 49]. Als Beispiel ist in Abbildung 6 die Aktivestersynthese auf der Basis des 2-[^{18}F]Fluorpropionsäuremethylesters dargestellt. Auf diese Weise ist z.B. die Markierung von Biotin [50] und Octreotid [51] mit Fluor-18 gelungen.

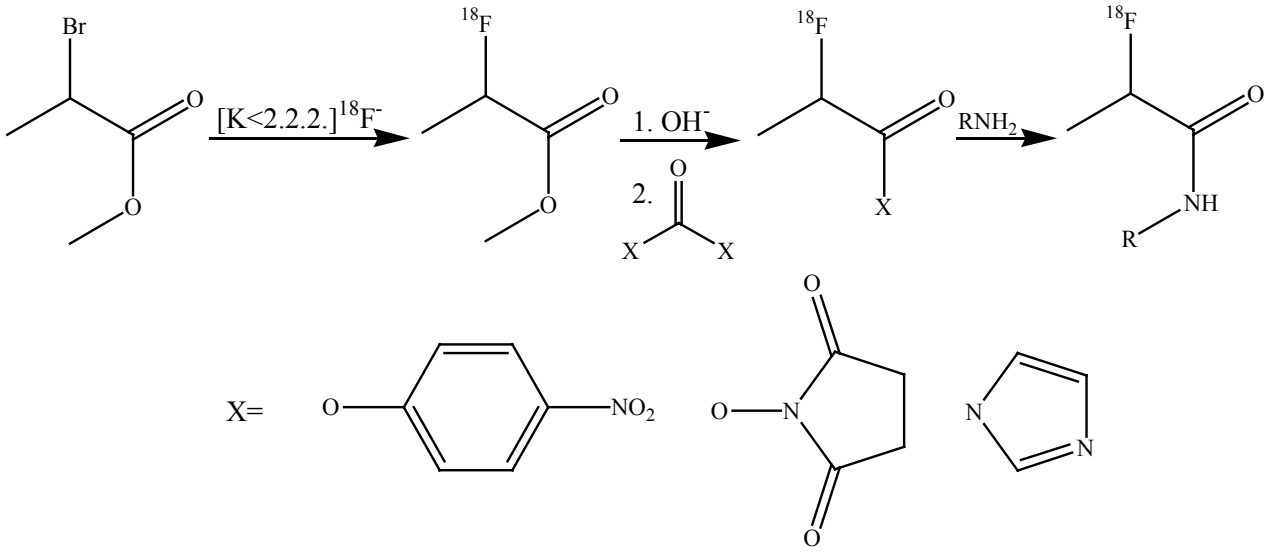


Abb. 6: N.c.a. ^{18}F-Fluoracylierung von Aminen und Peptiden mit Hilfe von 2-[^{18}F]Fluorpropionsäuremethylester

Anstelle von Aktivestern kann im Fall der ^{18}F-Fluoracylierung von Peptiden auch eine photochemische Kopplung mit Hilfe von 4-Azidophenacyl-[^{18}F]fluorid durchgeführt werden [52]. Diese bietet gegenüber der Aktivesterkopplung den Vorteil einer schnelleren Synthese, da auf eine aufwendige Aktivesterdarstellung verzichtet werden kann.

1.5 Produktion von Kohlenstoff-11 und seiner primären Markierungsvorläufer

Es liegt auf der Hand, dass sich das Kohlenstoff-Isotop C-11 in idealer Weise zur radioaktiven Markierung von organischen Verbindungen eignet. Eine Einschränkung ergibt sich aus der Halbwertszeit von 20,3 Minuten. Da die Synthesezeit eines Radiopharmakons nicht länger als drei Halbwertszeiten betragen sollte, sind dem synthetischen Spielraum enge Grenzen gesetzt. In dieser kurzen Zeit müssen die Darstellung des gewünschten ^{11}C-Markierungsvorläufers aus den

Targetspezies, die Reaktion mit dem Vorläufermolekül, Aufarbeitung und Reinigung des Radiopharmakons und dessen Qualitätskontrolle abgeschlossen sein. Daher ist es für die Darstellung des ^{11}C-Synthesevorläufers wichtig, von allen möglichen Reaktionen diejenigen zu selektieren, die mit einer großen Reaktionsgeschwindigkeit ablaufen und reaktionstechnisch einen geringen Aufwand bedeuten.
Das seit 1934 [53] bekannte Nuklid ^{11}C kann durch eine Vielzahl von Kernreaktionen dargestellt werden. Am häufigsten werden die Kernreaktionen benutzt, bei denen das produzierte ^{11}C-Isotop in hoher spezifischer Aktivität vorliegt (s. Tab. 4).

Tab. 4: Kernreaktionen zur Erzeugung von Kohlenstoff-11 [14]

Kernreaktion	Energiebereich [MeV]	Maximaler Wirkungs-querschnitt σ_{max} [mb]	integrale Ausbeute [MBq/µAh]
$^{10}B(d,n)^{11}C$	$10 \rightarrow 0$	≈ 200	2479
$^{11}B(p,n)^{11}C$	$10 \rightarrow 0$	≈ 360	3400
$^{14}N(p,\alpha)^{11}C$	$13 \rightarrow 3$	≈ 290	3820

Heutzutage wird fast ausschließlich die $^{14}N(p,\alpha)^{11}C$-Kernreaktion durchgeführt [54]. Für die Produktion von ^{11}C ist das Target im allgemeinen so konzipiert, dass bereits mit der Nukliderzeugung durch hochenergetische und strahlenchemische Prozesse *in situ* markierte Synthesevorläufer entstehen. Grundlage dieser *in situ*–Produktion primärer Markierungsvorläufer sind die Reaktionen „heißer Atome“. Die bei der Kernreaktion entstandenen Kohlenstoffatome besitzen Rückstoßenergien bis zu einigen MeV [54]. Nachdem sie ihre sehr hohe Anfangsenergie durch Stoßprozesse bis auf einige eV abgegeben haben, können sie chemische Reaktionen eingehen [14]. Chemische Zusätze bestimmen die chemische Form der im Target während der Bestrahlung gebildeten ^{11}C-Verbindungen. So entstehen schon bei Anwesenheit von wenig O_2 (1-10 ppm) im Targetgas N_2 [^{11}C]CO, [^{11}C]CO_2 und [^{11}C]CN-Radikale durch Reaktionen mit den N_2-Molekülen. Je nach Bestrahlungsbedingungen wie Strahlstromstärke und Strahlzeit läßt sich das Verhältnis [^{11}C]CO/[^{11}C]CO_2 zugunsten von [^{11}C]CO_2 steigern. [^{11}C]HCN kann ebenso direkt in einem N_2/H_2-Target erzeugt werden, wobei das durch die Radiolyse des [^{11}C]HCN entstehende Hauptprodukt [^{11}C]CH_4 mit NH_3 bei 1000°C über Platin-Katalyse quantitativ zu [^{11}C]HCN umgesetzt werden kann [55]. Die in-Targetsynthese von [^{11}C]Methyliodid, dem heute wichtigsten ^{11}C-Methylierungsagens, kann prinzipiell durch Bestrahlung einer Gasmischung von 85 % Stickstoff und 15 % Iodwasserstoffgas durchgeführt werden [56]. Der große Nachteil dieser Methode besteht in einer sehr starken Dosisabhängigkeit der [^{11}C]Methyliodidausbeute; oberhalb einer Dosis von 0.5 eV/Molekül geht die radiochemische Ausbeute von 25% [^{11}C]Methyliodid stark zurück. Die Methode konnte sich wegen der zu geringen Ausbeute allerdings nicht durchsetzen.

1.5.1. Sekundäre Markierungsvorläufer des C-11

Nur [^{11}C]CO_2 und [^{11}C]CH_4 sind über in-Targetsynthesen in ausreichender Menge, Reinheit und spezifischer Aktivität herstellbar. Nahezu alle Radiopharmaka-Synthesen gehen von diesen beiden

primären ^{11}C-Markierungsvorläufern aus. Insbesondere über [^{11}C]CO_2 ist eine große Anzahl von sekundären Markierungsvorläufern zugänglich, so dass ein breites Spektrum an Möglichkeiten zur effektiven Markierung mit Kohlenstoff-11 zur Verfügung steht (Abb. 7).

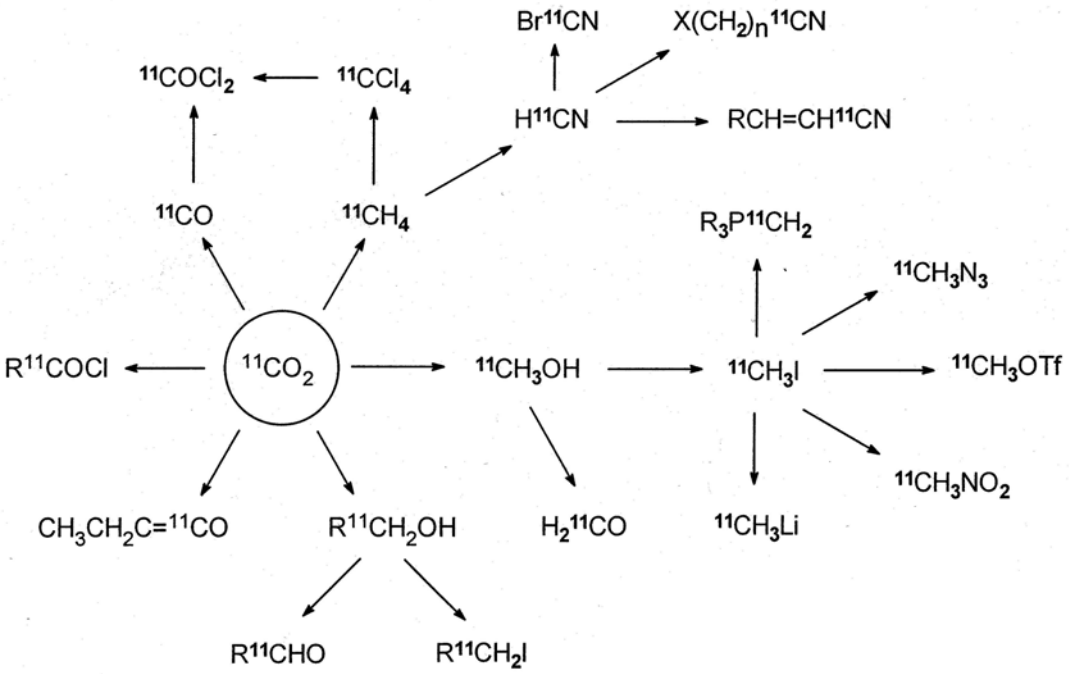


Abb. 7: Über [^{11}C]CO_2 zugängliche sekundäre Markierungsvorläufer [57]

So lassen sich z.B. durch Umsetzung von α-Lithioisonitrilen mit [^{11}C]CO_2 ^{11}C-markierte Aminosäuren erhalten [58]. Eine gut durchführbare Möglichkeit, um Carbonsäuren, Aminosäuren, Aldehyde und Ketone mit einer ^{11}C-markierten Carbonylfunktion zu erhalten, ist die Carboxylierung metallorganischer Verbindungen [59, 60]. Man erhält so z.B. über Grignard-Verbindungen relativ schnell und problemlos ^{11}C-markierte Carbonsäuren [61].

^{11}C-markiertes Kohlenmonoxid selbst wird für Markierungsreaktionen kaum eingesetzt. Allerdings bietet das über [^{11}C]CO zugängliche Phosgen [^{11}C]$COCl_2$ die Möglichkeit, zu anderen, sehr interessanten Synthesevorläufern wie Carbonsäureester, Säurechloride, Säureamide oder Isocyanate zu gelangen [62, 63].

Der wichtigste sekundäre ^{11}C-Markierungsvorläufer ist jedoch das [^{11}C]CH_3I, da es eine einfache Methylierung von Heteroatomen mit freien, nukleophilen Elektronenpaaren erlaubt, wie sie bei Schwefel, Stickstoff oder Sauerstoff zu finden sind, die in biochemisch und pharmakologisch relevanten Molekülen häufig vorkommen. [^{11}C]Methyliodid ist relativ einfach durch Reduktion von [^{11}C]CO_2 mit Lithiumaluminiumhydrid in THF und nachfolgender Umsetzung mit konzentrierter, wässriger Iodwasserstoffsäure zugänglich [64, 65]. Eine neuere, elegantere Methode zur Darstellung von [^{11}C]CH_3I ist die „on-line"-Umsetzung von [^{11}C]Methanol mit Triphenylphosphindiiodid anstelle von HI [66]. Heutzutage wird [^{11}C]Methyliodid überwiegend durch katalytische Reduktion von [^{11}]CO_2 mit Wasserstoff an Nickel und nachfolgender Umsetzung

mit elementarem Iod bei 760 °C dargestellt. Für diese Synthese stehen automatisierte Apparaturen zur Verfügung [67].

Über die Umsetzung von [^{11}C]CH_3I mit Silbertrifluormethansulfonat ist das sogenannte [^{11}C]Methyltriflat (Trifluormethansulfonsäure-[^{11}C]methylester) erhältlich, welches ein um den Faktor 10.000 stärkeres Methylierungsagens darstellt als Methyliodid [68, 69]. Mit [^{11}C]Methyltriflat sind auch sonst nur schwer methylierbare Funktionalitäten markierbar. Man ist dabei allerdings auf Lösungsmittel angewiesen, die gegenüber Methyltriflat inert sind (z.B. Choroform, 1,2-Dichlorethan) [68].

1.6 Das β2-adrenerge System

Im Zusammenhang mit einigen häufig vorkommenden Atemwegserkrankungen wie Asthma und chronisch obstruktiver Bronchitis wird der Einfluß des β-Adrenozeptors kontrovers diskutiert. Deshalb soll im folgenden näher auf diesen Rezeptortyp eingegangen werden.

1.6.1. Der β2-Adrenozeptor

Das β-adrenerge System gehört ebenso wie das α-adrenerge System zu der Gruppe der G-Protein gekoppelten Rezeptoren. Charakteristisch für diese Rezeptoren ist das Vorkommen von sieben Sequenzabschnitten bestehend aus je 20-25 hydrophoben Aminosäuren, die die Transmembrandomäne bilden und die Membran in Form von alpha-Helices durchspannen. Die Transmembranelemente sind durch unterschiedlich große Schleifen auf der Außen- und Innenseite verbunden. Der Rezeptor kann sich vermutlich in zwei Konformationen befinden, die häufige inaktive Konformation und die seltenere aktive Konformation [93]. An einen Rezeptor, der sich in einem solchen „high-affinity"-Zustand befindet, kann ein Agonist binden. Eine an das Bindungsereignis geknüpfte Konformationsänderung des Rezeptors wird als Signal an die Innenseite der Membran und an das nachgeschaltete nächste Glied der Signalübertragung, das G-Protein, weitergegeben (s. Abb. 8).

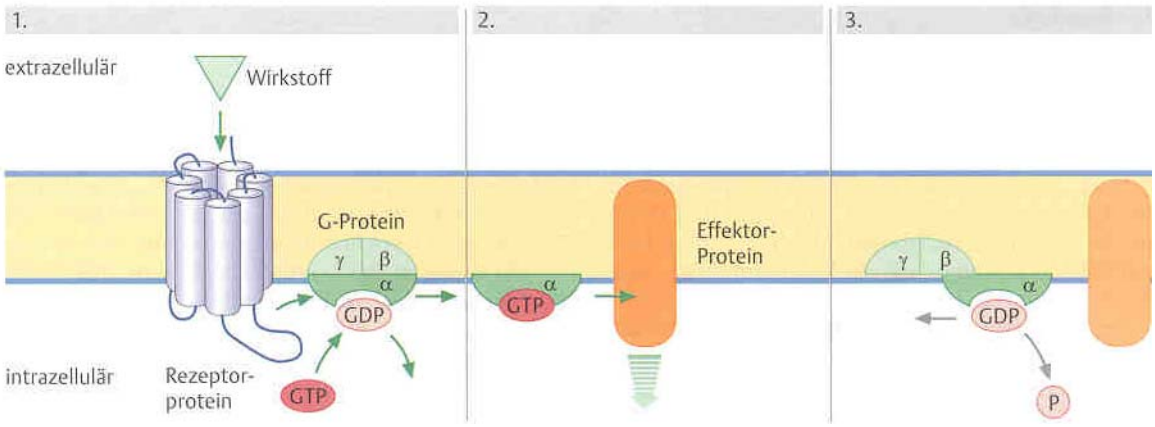


Abb. 8: Aufbau eines G-Protein-gekoppelten Rezeptors: 1. Erregung eines Rezeptorproteins durch einen Wirkstoff mit nachfolgender Aktivierung des G-Proteins. 2. Die GTP-besetzte α-Untereinheit des G-Proteins verändert den Funktionszustand eines Effektorproteins. 3. Die α-Untereinheit wirkt als GTPase; im GDP-besetzten Zustand ist die α-Untereinheit inaktiv und verbindet sich wieder mit der βγ-Untereinheit. [93]

Derzeit sind drei β-adrenerge Rezeptoren beim Menschen bekannt, wobei der β2-Subtyp in der Lunge überwiegt [94]. Der β1-Adrenozeptor kommt überwiegend im Herz und in den Blutgefäßen vor, wo er unter anderem für die Regulation des Blutdrucks und der Pulsfrequenz mitverantwortlich ist. Der β3-Adrenozeptor kommt hauptsächlich im Fettgewebe vor, seine Rolle ist noch weitgehend ungeklärt. Der β2-Subtyp kommt unter anderem in der Leber und den glatten Muskelzellen der

Lunge und der Gebärmutter vor, wo es für die Kontraktion bzw. die Relaxation der Muskelzellen verantwortlich ist.
Die β2-Rezeptoren bewirken über stimulierende G-Proteine eine Aktivitätssteigerung der Adenylatcyclase und damit eine Erhöhung der intrazellulären cAMP-Konzentration, was unter anderem zu einer erhöhten Calcium-Aufnahme in die Speicher des endoplasmatischen Reticulums führt. Dies hat zur Folge, dass die cytoplasmatische Calciumkonzentration in der glatten Muskelzelle sinkt und so eine Verminderung der Myosinkinase-Aktivität bewirkt.
Ein anderer Effekt beruht darauf, dass die cAMP-abhängige Proteinkinase die Myosinkinase phosphoryliert und so deren Affinität zum Calcium-Calmodulin-Komplex herabsetzt. So werden deutlich höhere Konzentrationen des Calcium-Calmodulin-Komplexes benötigt, um die Myosinkinase zu aktivieren. Dies bedeutet aber, dass unter β2-adrenerger Stimulation nicht ausreichend nicht-phosphorylierte, aktive Myosinkinase vorhanden ist, um Myosin zu phosphorylieren, und so eine Kontraktion des Muskels auszulösen. Dieser Mechanismus liegt der Verwendung von β2-Agonisten bei obstruktiven Atemwegserkrankungen zugrunde.

Im Hinblick auf die Verteilung der β-Rezeptoren in den Atemwegen von Säugern ist bekannt, dass sich etwa 70% der Rezeptoren im Bereich der Atemwegsmukosa (Epithelzellen) befinden, während nur 20-30% der β-Rezeptoren in der Bronchialmuskulatur lokalisiert ist. Über die physiologische und pathophysiologische Bedeutung der epithelialen β-Rezeptoren ist jedoch kaum etwas bekannt, obwohl diese Fraktion die der muskulär lokalisierten β-Rezeptoren bei weitem überwiegt. In den letzten Jahren wurden erste Funktionen der epithelialen β-Adrenozeptoren aufgedeckt. Epitheliale β-Rezeptoren vermitteln neuromodulatorische Funktionen. So stellt die Stimulation von epithelialen β-Adrenozeptoren einen komplexen neuro-mukosalen Regulationsweg dar, der zur Homöostase des mukosalen Atemwegssystems beiträgt und in die Pathogenese von chronischen Atemwegserkrankungen involviert sein könnte [95, 96, 97, 98, 99].

1.6.2. Liganden des β-adrenergen Systems

Zu den Liganden der G-Protein gekoppelten Rezeptoren gehören biogene Amine wie Adrenalin und Noradrenalin sowie Peptide und große Glycoproteine. Die Signalübertragung wird durch Ligandenbindung an den Rezeptor eingeleitet, wobei kleine Ligand-Moleküle im Innern der transmembranständigen Abschnitte wechselwirken. Im Falle des β2-Adrenozeptors ist die Wechselwirkung des agonistischen Liganden mit dem Rezeptor aufgeklärt [100]. Allen β2-Agonisten ist eine gewisse Leistruktur eigen, die sich aus zwei Resorcinol-artigen Hydroxyfuntionen, einer aliphatischen sekundären Aminofunktion und einer beta-ständigen aliphatischen Hydroxyfunktion zusammensetzt (s. Abb. 9). In einigen Fällen wird eine der phenolischen Hydroxyfunktionen durch eine stickstoffhaltige Gruppe wie z.B. eine Methanamidgruppe bei Formoterol ersetzt, welche ebenfalls in der Lage ist, Wasserstoffbrückenbindungen auszubilden.

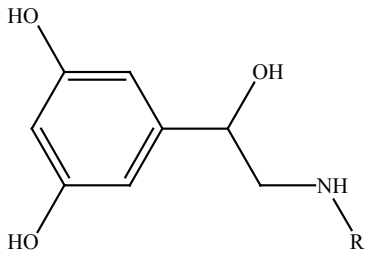


Abb. 9: Leitstruktur eines β2-Agonisten

Die beiden resorcinolischen Hydroxyfunktionen wechselwirken über H-Brücken mit den Aminosäuren Ser-204 und Ser-207 des 5. Transmembranabschnittes des β2-Adrenozeptors. Die protonierte Aminofunktion des Catecholamins bildet ebenfalls eine H-Brücke mit Asp-113 des 3. Transmembranabschnittes. Andere Aminosäure-Sequenzen, die nicht direkt mit dem Liganden wechselwirken, sind z.B. über Disulfid-Brückenbildung für die dreidimensionale Struktur der Bindungstasche verantwortlich, und bewirken so unter anderem auch eine gewisse sterische Selektivität.

1.6.3. Klinische Aspekte zum β-adrenergen System

Es ist seit langem bekannt, dass β2-Agonisten in der Asthma-Therapie zur Prävention und zur Linderung von Bronchospasmen eingesetzt werden können [Übersicht 71]. Sie gehören heute zu der am häufigsten verordneten Medikation für Asthma-Patienten. Allerdings begannen bereits kurz nach ihrer Einführung in den sechziger Jahren die Diskussionen über Nebenwirkungen und sogar erhöhte Mortalitätsraten von Asthmatikern [71]. Obschon der β2-Adrenozeptor als relativ gut erforscht gilt, bleiben viele Fragestellungen im Zusammenhang mit Asthma unbeantwortet. So ist z.B. bis heute nicht abschließend geklärt, ob die β2-Adrenozeptordichte und –verteilung bei Asthmatikern im Vergleich zu gesunden Probanden verändert ist oder ob es einen Unterschied diesbezüglich zwischen Patienten mit Asthma oder einer chronisch obstruktiven Bronchitis gibt [72]. Es ist auch unklar, ob bei Asthma und chronisch obstruktiver Bronchitis zwischen dem Ausmaß der bronchialen Hyperreagibilität gegenüber spezifischen (Allergene) oder unspezifischen Stimuli (z.B. Histamin, Anstrengung) und der Dichte pulmonaler β-Rezeptoren ein Zusammenhang besteht. Von besonderem Interesse sind auch Unterschiede der pulmonalen β-Rezeptordichte bei Patienten mit intrinsischem im Vergleich zu extrinsischen (allergischem) Asthma. Bei der saisonalen allergischen Rhinitis läßt sich häufig eine Zunahme der bronchialen Hyperreagibilität gegenüber unspezifischen Stimuli beobachten [73]. Bislang ist nicht untersucht worden, ob es im Rahmen der saisonalen allergischen Rhinitis zu einer Beeinflussung der Dichte und Verteilung pulmonaler β-Rezeptoren kommt, die möglicherweise die saisonale Zunahme der bronchialen Hyperreagibilität bei den Patienten erklären könnte.

Es gibt einige Studien, deren Ergebnisse darauf hindeuten, dass bei Asthmatikern in der Tat eine geringere Dichte an Adrenozeptoren in der Lunge vorliegt [72, 74, 75]. Allerdings konnte auch bei

diesen Studien nicht geklärt werden, ob es sich bei dieser Reduktion um eine Ursache der Krankheit oder aber um eine Folge der Medikation mit β2-Agonisten handelt. So gibt es beispielsweise Hinweise darauf, dass unter einer Therapie mit langwirksamen β-Agonisten eine Reduktion der bronchoprotektiven Effekte auftritt [101], aber eine verminderte Expression des Adrenozeptors wird noch kontrovers diskutiert [74].

1.6.4. β2-adrenerge Liganden in der PET

Die ersten Untersuchungen mit radioaktiv markierten β2-Rezeptorliganden fanden 1976 mit [^{3}H]Dihydroalprenolol an menschlichen Lymphozyten statt [76]. Es folgten weitere Studien an Lymphozyten [77, 78, 79], die mit der Annahme arbeiteten, dass der Rezeptorstatus der Lymphozyten den der Lunge widerspiegle. Diese Annahme gilt heute als äußerst fragwürdig [80]. Im weiteren Verlauf wurde postmortales Lungengewebe zur Bestimmung des β2-Adrenozeptorstatus verwendet [81], das allerdings teilweise prämortal eine Behandlung mit hohen Dosen Kortikosteroide und β-Agonisten erfahren hatte, was die Aussagekraft dieser Studien beeinträchtigt [75].

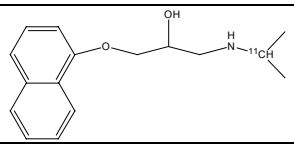
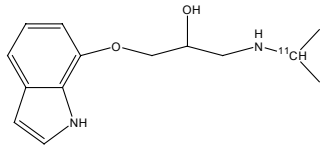
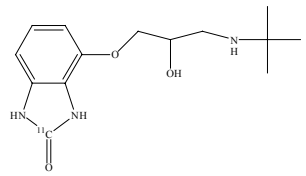
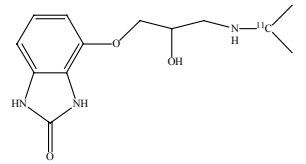
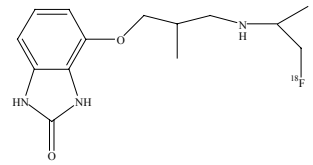
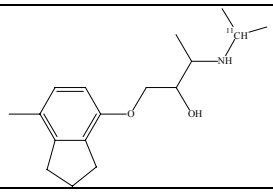
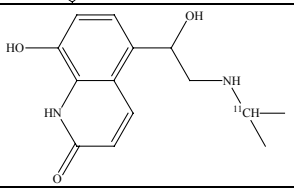
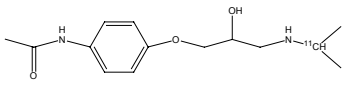
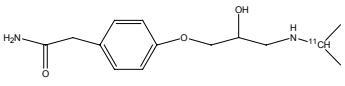
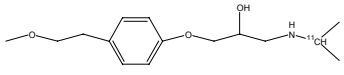
Mit der Positronen-Emissions-Tomographie (PET) können biochemische Vorgänge nicht-invasiv und quantitativ dargestellt werden. Die radioaktive Markierung von β-Agonisten mit PET-Nukliden stellt eine vielversprechende neue Methode dar, neben der reinen Bildgebung pulmonaler β-Rezeptoren im weitesten Sinne auch dynamische Prozesse der Rezeptorphysiologie z.B. im Rahmen einer therapeutischen Intervention einer Analyse zugänglich zu machen.

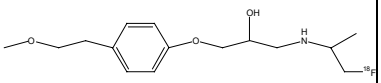
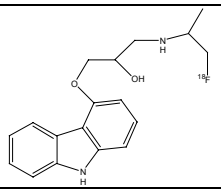
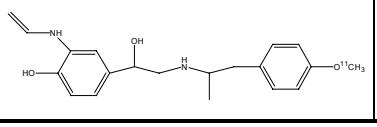
Die ersten β-adrenergen Liganden, die 1983 mit Positronen-emittierenden Nukliden markiert wurden, waren Antagonisten wie Propanolol und Practolol [82]. Sie wurden, ebenso wie der Antagonist Pindolol 1986 mit Kohlenstoff-11 markiert [83]. Allerdings waren diese Liganden nicht subtyp-spezifisch, und die spezifische Bindung war so gering, dass keine PET-Aufnahmen gemacht wurden. 1989 wurden die Synthesen von ^{11}C-markiertem Atenolol, Metoprolol und Propanolol veröffentlicht [84]. Der Antagonist Metoprolol wurde 1993 von deGroot auch mit Fluor-18 markiert [85]. Hierbei handelte es sich erstmals um einen β1-subtyp-spezifischen Antagonisten, dessen Affinität zum Rezeptor jedoch zu gering war, um PET-Aufnahmen zu gestatten. Elsinga et al. publizierten 1996 die Synthese von 1-[^{18}F]Fluorcarazolol, einem nicht-subtyp-spezifischen Antagonisten, dessen Rezeptoraffinität ausreicht, um eine spezifische Bindung an den Adrenozeptor zu ermöglichen [86]. Der Nachteil dieses Liganden liegt zum einen in seiner Bindung an alle Subtypen des β-Adrenozeptors, was aussagekräftige PET-Aufnahmen der Lunge deutlich erschwert. Zum anderen ist der Ligand sehr lipophil, so dass er durch die Zellmembran hindurchdiffundieren kann. Dies ist insofern ein Nachteil, als im Innern der Zelle Adrenozeptoren quasi „aufbewahrt“ werden, die jedoch an Effekten der Bronchodilatation nicht teilnehmen. Mit CGP-12177 fand man einen Antagonisten, der einerseits hydrophil ist ($Log_{10}P = 1,81$) und nicht die Zellmembran durchdringt, und der andererseits eine hohe Affinität zum Adrenozeptor besitzt (K_D = 0.3 nM) [87]. 1986 wurde dieser Ligand erstmals mit Kohlenstoff-11 markiert, allerdings als Racemat [88]. Da jedoch aus vorherigen Studien bekannt war, dass das S-Enantiomer eine etwa 80-fach höhere Affinität zum Adrenozeptor aufweist als das R-Enantiomer [89], und da es zudem

Hinweise auf Unterschiede im Metabolismus, in der Biodistribution und in pharmakokinetischen und pharmakologischen Effekten gab [90, 91], publizierten Brady et al. 1991 die Synthese von S-[^{11}C]CGP-12177 [92]. Mit diesem nunmehr enantiomerenreinen Liganden gelang es auch der Arbeitsgruppe am Hammersmith-Hospital, die pulmonalen Rezeptordichten bei Patienten mit pulmonalen Malignomen zu quantifizieren und diese mit *in vitro* erhobenen Befunden nach einer Thorakotomie zu validieren [102]. Darüber hinaus konnte in einer anderen Studie auch die β-Adrenozeptordichte bei Patienten mit einer hypertrophischen Kardiomyopathie bestimmt werden [103]. Auch die Fragestellung der Rezeptordichte bei Asthmatikern wurde mit S-[^{11}C]CGP-12177 bereits untersucht, allerdings wiesen die Patienten dieser Studie eine Lungenfunktion auf, die nach deutscher Klassifizierung als normal zu bezeichnen wäre [75].
Eines der Probleme dieses Liganden ist seine biologische Verweildauer am Adrenozeptor. Mit einigen Stunden ist sie eigentlich für einen ^{11}C-markierten Liganden zu hoch. Aus diesem Grund wurde die Struktur des Liganden dahingehend modifiziert, dass anstelle einer tertiären Butylgruppe am Stickstoff eine mit Fluor-18 markierte Isopropylfunktion eingefügt wurde. Allerdings weist der resultierende Ligand, S-[^{18}F]CGP-12388, eine deutlich erhöhte Lipophilie und eine deutlich erniedrigte Affinität zum Rezeptor auf [104]. Neuere Forschungsergebnisse weisen darauf hin, dass die Anreicherung in der Lunge, die mit diesem PET-Liganden beobachtet wird, auf eine Bindung an den Alveolen, und nicht an der Atemwegsmuskulatur zurückzuführen ist [148, 149]. Zwei weitere Probleme dieses Liganden erfordern zusätzliche Aufmerksamkeit: fehlende Subtyp-Spezifität und Antagonisten-Charakter. Dies ist aber erforderlich, da in der menschlichen Lunge nur 80% der Adrenozeptoren vom β2-Typus sind, und immerhin 20% β1-Rezeptoren, die jedoch in keinem Zusammenhang mit Asthma gesehen werden. Zum anderen ist dieser Ligand ein Antagonist, der an jeden Adrenozeptor binden kann, und nicht nur an den „high affinity state“, wie es wünschenswert wäre.
Visser et al. markierten 1998 erstmals einen Agonisten mit Kohlenstoff-11, der subtyp-spezifisch nur an den β2-Rezeptor bindet, und zusätzlich eine extrem hohe Affinität aufweist [105]. Allerdings handelt es sich hierbei um Formoterol, ein langwirksames β-Sympathomimetikum. Mit einer Verweildauer von ca. 20 Stunden am Rezeptor ist nicht nur C-11, sondern vermutlich auch F-18 als Positronen-emittierendes Nuklid ungeeigent, um PET-Aufnahmen der Lunge zu ermöglichen.
Die Anforderungen an einen optimalen PET-Liganden zur Visualisierung des β2-adrenergen Rezeptors in der Lunge sind somit zusammenfassend:

Ein Agonist, der
ein hohes Ausmaß an Subtyp-Spezifität,
eine hohe Affinität zum Adrenozeptor,
eine möglichst hohe Hydrophilie und
eine Verweildauer von nicht mehr als 10 Stunden am Rezeptor
aufweist.

Tab. 5: Übersicht über bisherige mit PET-Nukliden markierte β-Adrenozeptorliganden

LIGAND	FORMEL	K_D, SPEZIFITÄT	LITERATUR
[^{11}C]Propanolol		β1, β2, Antagonist LogP=3,65 K_D=1,1 nM	[82]
[^{11}C]Pindolol		β1, β2, Antagonist LogP=1,75 K_D=1,3 nM	[83]
[^{11}C]CGP-12177		Antagonist β1, β2 LogP=1,8 K_D=0,3 nM	[87, 92]
[^{11}C]CGP-12388		Antagonist β1, β2	[104]
[^{18}F]CGP-12388		Antagonist β1, β2	[104]
[^{11}C]ICI-118551		Antagonist β2 K_D=1 nM	[145]
[^{11}C]Procaterol		Agonist β2 LogP=-1,38 K_D=3,1 nM	[146]
[^{11}C]Practolol		Antagonist β1 LogP=0,79 K_D=110 nM	[82]
[^{11}C]Atenolol		Antagonist, β1	[84]
[^{11}C]Metoprolol		Antagonist β1/β2 = 30,7 K_D = 0,3 µM	[84, 85]

[^{18}F]Metoprolol		Antagonist β1/β2 = 48,6 K_D = 0,3 μM	[85]
[^{18}F]Carazolol		Antagonist, β2>β1 LogP=2,2	[86]
[^{11}C]Formoterol		Agonist β2 K_D=1,5 nM	[105]

2. Problemstellung

Mit der Positronen-Emissions-Tomographie (PET) können biochemische Vorgänge nicht-invasiv und quantitativ dargestellt werden. Der Status der β-Adrenozeptor-Funktion, obwohl häufig Gegenstand der Forschung, wird noch immer kontrovers diskutiert [74]. Die radioaktive Markierung von β-Agonisten mit PET-Nukliden stellt eine vielversprechende neue Methode dar, neben der reinen Bildgebung pulmonaler β-Rezeptoren im weitesten Sinne auch dynamische Prozesse der Rezeptorphysiologie z.B. im Rahmen einer therapeutischen Intervention einer Analyse zugänglich zu machen. Bisherige Studien, die sich mit der radioaktiven Markierung von β-adrenergen Liganden befaßten [76-105], führten bislang noch nicht zur endgültigen Klärung der Rolle von β2-Adrenozeptoren bei Krankheitsbildern wie Asthma oder chronisch obstruktiver Bronchitis.

Ein optimaler PET-Ligand für dieses System sollte ein hydrophiler Agonist sein, um nur die funktionierenden Rezeptoren an der Zelloberfläche, die sich im high-affinity-Zustand befinden, abzubilden. Er sollte weiterhin eine möglichst hohe Affinität zum Rezeptor aufweisen, um das Verhältnis spezifische zu unspezifischer Bindung positiv zu beeinflussen. Dies ist insbesondere deshalb wichtig, weil β2-Adrenozeptoren auch auf Lymphozyten und im Herzen vorkommen, was eine qualitativ hochwertige PET-Aufnahme ohnehin erschwert. Der optimale Ligand sollte außerdem eine hohe Subtyp-Spezifität aufweisen, da in der Lunge neben 80% β2-Rezeptoren auch 20% β1-Rezeptoren vorkommen, denen jedoch kein Anteil an den diskutierten Krankheitsbildern zugesprochen wird. Ein weiteres Augenmerk sollte auf der Verweildauer des Liganden am Rezeptor liegen: man unterscheidet generell zwischen sogenannten langwirksamen und kurzwirksamen Liganden. Zu den langwirksamen gehört neben Formoterol auch Salmeterol. Beide haben eine Wirkungsdauer der Bronchodilatation von ca. 20 Stunden. Die kurzwirksamen Liganden unterscheiden sich lediglich hinsichtlich der Länge und der Lipophilie des Restes R am sekundären Stickstoff. Sie weisen in der Regel eine Verweildauer von 4-5 Stunden auf, was eine Markierung mit den Nukliden C-11 und F-18 ermöglicht.

Ein in der Medizin sehr häufig verwendetes Asthma-Therapeutikum ist das Fenoterol (s. Abb. 10), ein kurzwirksamer, hochaffiner, subtyp-spezifischer Agonist mit einem LogP von 0,74. Aufgrund dreidimensionaler Computermodelle an geklonten Rezeptoren konnten die pharmakophoren Gruppen des Liganden aufgeklärt werden [106]. Zum Einsatz in der Medizin kommt ein Gemisch von 2 Stereoisomeren des Fenoterols [(R,R) und (S,S)], die jedoch unterschiedliche Affinitäten zum Rezeptor aufweisen. Um eine exakte Quantifizierung zu erlauben, sollte jedoch ein enantiomerenreines radioaktiv markiertes Produkt vorliegen. In der Literatur wird dem Stereoisomer (R,R)-Fenoterol die größte Affinität zum Rezeptor zugesprochen [106].

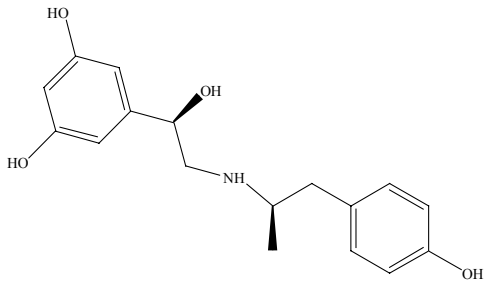


Abb. 10: (R,R)-Fenoterol ((R,R)-**1**)

Ziel dieser Arbeit war es deshalb, eine Methode der radioaktiven Fluor-18- bzw. Kohlenstoff-11-Markierung des Agonisten Fenoterol zu etablieren. Dazu war es zuerst erforderlich, eine effiziente, enantiomerenreine Markierungsvorläufersynthese, welche eine Voraussetzung für eine effektive finale radioaktive Markierung ist, zu erarbeiten. Die Syntheseplanung zur Vorläufersynthese sollte so gehalten sein, dass der Präcursor anschließend mit einfach zugänglichen Markierungssynthons wie [^{18}F]Fluorid, [^{11}C]Methyliodid oder 2-[^{18}F]Fluorethyltosylat in einem abschließenden Syntheseschritt radioaktiv markierbar ist. Durch die Struktur des Fenoterols (**1**) ergibt sich die Möglichkeit, unter Verwendung von [^{11}C]Methyliodid und 2-[^{18}F]Fluorethyltosylat die phenolische Hydroxyfunktion zu alkylieren (s. Abb. 11). Hierzu ist es notwendig, die beiden resorcinolischen Hydroxyfunktionen sowie die sekundäre Aminofunktion zu schützen, um radioaktive Nebenprodukte auszuschließen. Für eine Markierung mit [^{18}F]Fluorid müssen noch zusätzlich die aliphatische Hydroxyfunktion geschützt, sowie an die phenolische OH-Funktion eine Abgangsgruppe ankondensiert werden, welche eine aliphatische nukleophile Substitution durch [^{18}F]F$^-$ erlaubt.

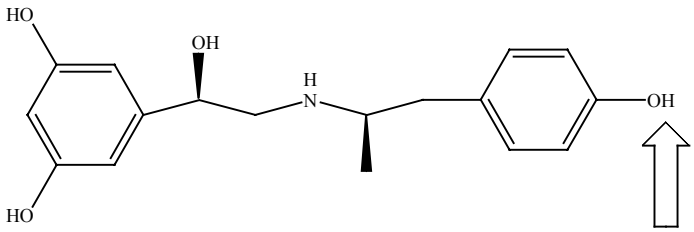


Abb. 11: möglicher Ansatzpunkt für eine radioaktive Markierung von (R,R)-Fenoterol ((R,R)-**1**)

Für eine ^{18}F-Fluoralkylierung stellt eine phenolische Hydroxyfunktion ein optimaler Angriffspunkt dar. Da bei einer ^{18}F-Fluoralkylierung mit einer Hilfsbase gearbeitet wird, um durch die Abstraktion eines Protons eine erhöhte Nukleophilie der OH-Gruppe zu gewährleisten, müssen alle Gruppen, die über acide Protonen verfügen und die nicht radioaktiv markiert werden sollen, entsprechend geschützt werden. Deshalb müssen in diesem Fall die beiden catecholischen OH-Gruppen sowie die sekundäre Aminofunktion geschützt werden, weil es sonst durch unerwünschte ^{18}F-Fluoralkylierung zu radioaktiven Nebenprodukten kommt. Die Schutzgruppen sollten möglichst in einem Schritt schnell und quantitativ abgespalten werden können, um die radiochemische Ausbeute des finalen Produktes nicht unnötig zu verringern. Sind diese Voraussetzungen jedoch erfüllt, so sind

Verbindungen mit phenolischen Hydroxyfunktionen gewöhnlich in hohen Ausbeuten radioaktiv markierbar [106].

Für eine ^{11}C-Markierung mit [^{11}C]Methyliodid gilt analog zur ^{18}F-Fluoralkylierung, dass eine phenolische Hydroxyfunktion ein guter Angriffspunkt für eine radioaktive Markierung darstellt. Allerdings ist es auch hier erforderlich, dass weitere aromatische Hydroxygruppen und insbesondere auch primäre oder sekundäre Aminofunktionen geschützt werden müssen, um die Bildung unerwünschter ^{11}C-Alkylierungsprodukte zu unterbinden. Daher kann prinzipiell die gleiche Verbindung als Markierungsvorläufer sowohl für eine ^{11}C-Methylierung als auch für eine ^{18}F-Fluoralkylierung zur Verwendung kommen. Für eine ^{18}F-Direktfluorierung muss dagegen ein Markierungsvorläufer mit einer tosylierten aliphatischen Hydroxyfunktion dargestellt werden.

Mit ^{18}F-Direktfluorierungen ausgehend von anionischem [^{18}F]Fluorid können sehr trägerarme Produkte erhalten werden [8]. Allerdings ist für eine ^{18}F-Direktfluorierung eine phenolische Hydroxyfunktion nicht geeignet, da es beim Vorhandensein acider Protonen zur Ausbildung von H-F-Bindungen kommt, was die Nukleophile des Fluorid-Ions herabsetzt und so keine radiochemischen Ausbeuten an gewünschtem Produkt mehr erhalten werden können [22]. Aus diesem Grund ist es notwendig, alle aciden Protonen des Moleküls zu schützen. Als Abgangsgruppen für Direktfluorierungen haben sich Funktionen wie Bromid, Chlorid und im besonderen die 4-Toluolsulfonyl-Gruppe (OTos) mit ihrer sehr hohen Nukleofugie im Aliphatischen bewährt. Abb. 12 zeigt die möglichen Markierungsvorläufer zur radioaktiven Markierung mit [^{18}F]Fluorid, 2-[^{18}F]Fluorethyltosylat und [^{11}C]Methyliodid.

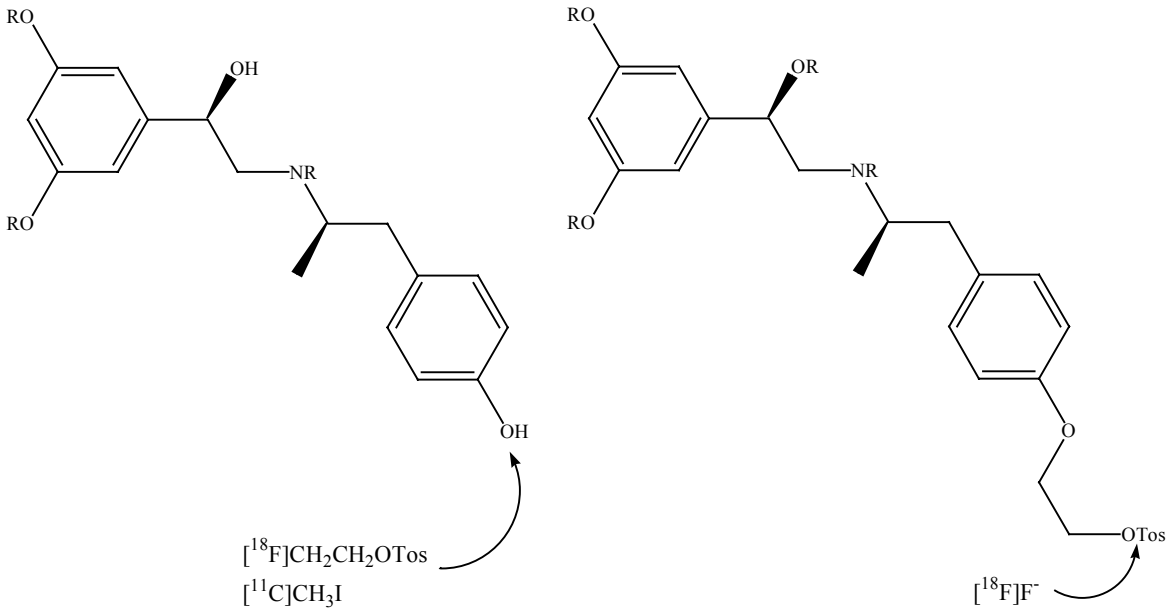
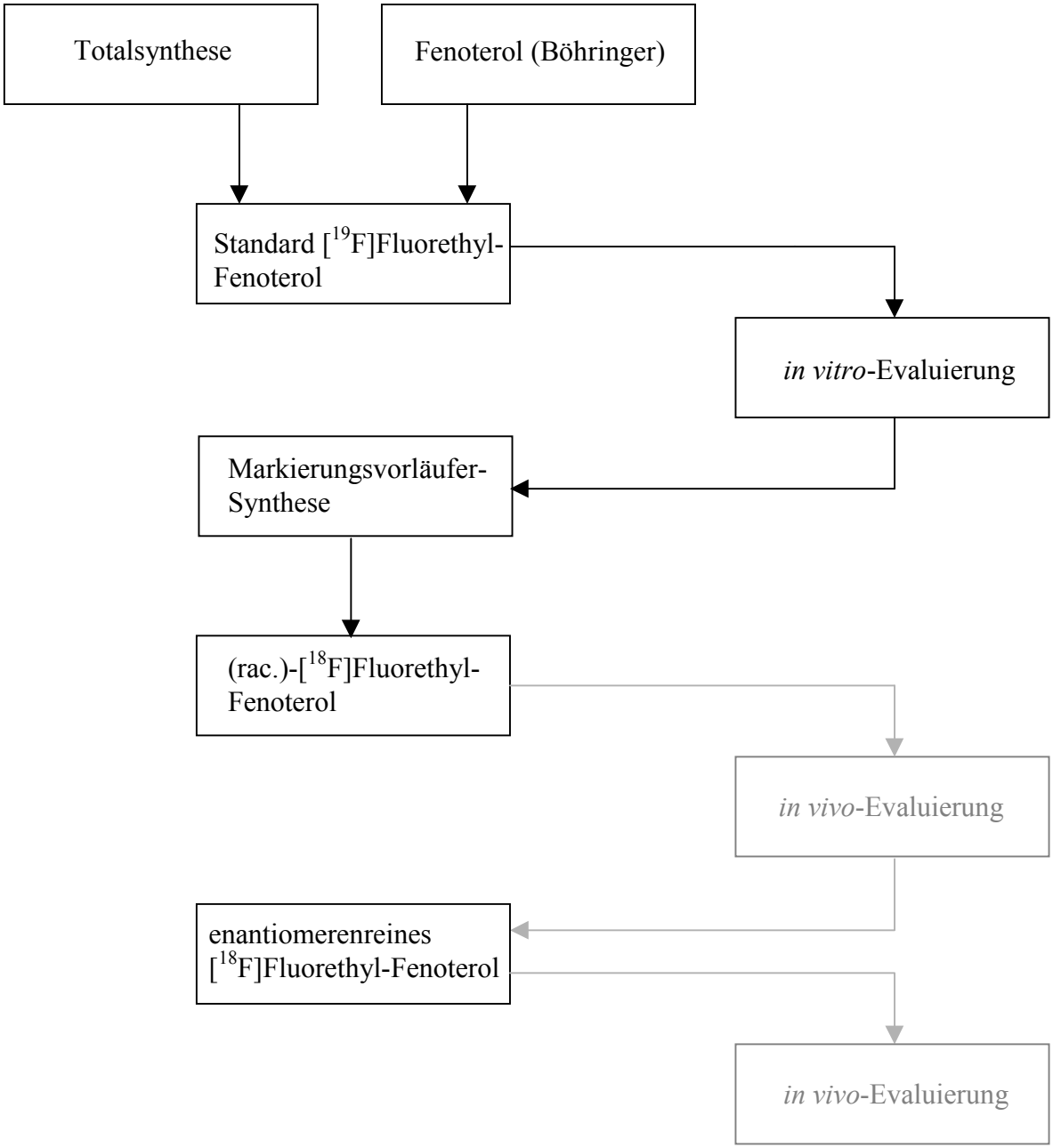


Abb. 12: Zwei mögliche Markierungsvorläufer zur radioaktiven Markierung mit 2-[^{18}F]Fluorethyltosylat, [^{11}C]Methyliodid und [^{18}F]Fluorid (R: Schutzgruppe)

Bei der radioaktiven Markierung sollte der Einfluß der verschiedenen Reaktionsparameter wie Temperatur, Lösungsmittel, Präcursorkonzentration und Basensystem untersucht werden. Außerdem war eine effiziente Trennung des finalen, entschützten, radioaktiven Produktes mittels Hochleistungs-Flüssigchromatographie (HPLC) zu erarbeiten. Die radiochemischen Ausbeuten, die

bei der Verwendung dieser Markierungsvorläufer erhalten werden, sollten mit den Ausbeuten verglichen werden, die bei der Verwendung des von Boehringer Ingelheim zur Verfügung gestellten Fenoterols selbst erhalten werden können. Parallel dazu sollten die entsprechenden nicht-radioaktiven Standard-Verbindungen synthetisiert und chemisch charakterisiert werden. Diese sollten zum einen mit Hilfe von *in vitro*–Evaluierungen auf ihre Affinität zum Rezeptor hin untersucht und zum anderen für Trennprozesse zur Aufreinigung bzw. Bestimmungen der spezifischen Aktivität als Referenzsubstanzen eingesetzt werden.
Der Arbeitsplan für das ^{18}F-fluorierte Fenoterol besteht also aus folgenden in Schema 1 illustrierten Schritten:



Schema 1: geplanter Arbeitsablauf für das ^{18}F-fluorierte Fenoterol

3. Ergebnisse und Diskussion

3.1 Versuchte Synthese des möglichen Markierungsvorläufers (R,R)-Essigsäure-3-acetoxy-5-(2-(acetyl-[2-(4-hydroxyphenyl)-1-methylethyl]amino)-1-hydroxyethyl)phenylester (2)

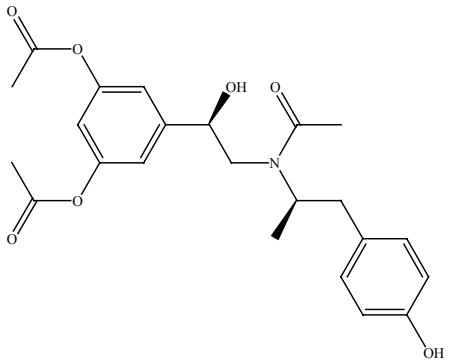


Abb. 13: Markierungsvorläufer (R,R)-Essigsäure-3-acetoxy-5-(2-(acetyl-[2-(4-hydroxyphenyl)-1-methylethyl]amino)-1-hydroxyethyl)phenylester (**2**)

Es wurde die Darstellung eines Markierungsvorläufers angestrebt, der sich einfach und schnell mit 2-[^{18}F]Fluorethyltosylat und [^{11}C]Methyliodid an der phenolischen Hydroxygruppe radioaktiv markieren lässt. Als Schutzgruppe wurde die Acetylfunktion ausgewählt, die sich unter basischen Bedingungen im n.c.a. Massstab im allgemeinen schnell und quantitativ abspalten lässt. Abb. 14 zeigt die Retrosynthese dieser Verbindung.

Ausgehend von 3,5-Bishydroxy-acetophenon sollten zunächst die beiden resorcinolischen Hydroxyfunktionen mittels Acetylchlorid geschützt werden. Anschließende Bromierung des geschützten Acetophenons (**3**) sollte das Edukt zu einer stereoselektiven Reduktion der Carbonylverbindung mittels Boran-Dimethylsulfidkomplex und einem chiralen Auxilliar liefern.

N-[2-(4-Hydroxyphenyl)-1-methylethyl]acetamid (**8**) sollte ausgehend von 4-Hydroxyphenylaceton (**4**) aufgebaut werden. Zunächst müsste dafür eine reduktive Aminierung mit Benzylamin und Wasserstoff im Autoklaven durchgeführt werden. Anschließend sollte die Benzylgruppe am Amin abgespalten werden und das resultierende 4-(2-Aminopropyl)phenol (**6**) mit Acetylchlorid acetyliert werden. Nach einer selektiven, unter milden Bedingungen durchgeführten Deacetylierung der phenolischen Hydroxyfunktion [107] könnte dann Baustein **8** mit Essigsäure-3-acetoxy-5-(2-brom-1-hydroxyethyl)phenylester (**7**) zum gewünschten Markierungsvorläufer **2** gekoppelt werden.

1-(3,5-Bisacetoxy-phenyl)-ethanon (**3**) konnte ausgehend von 3,5-Bishydroxy-acetophenon durch Umsetzung mit Essigsäureanhydrid und Natriumacetat mit Ausbeuten von 65% dargestellt werden. Die anschließende Umsetzung mit einem Äquivalent molekularem Brom unter Lichtausschluß lieferte allerdings nicht das gewünschte mono-bromierte Produkt Essigsäure-3-acetoxy-5-(2-bromacetyl)-phenylester (**5**), da trotz des equimolaren Einsatzes von Brom Mehrfachbromierungen der anderen Acetylgruppen nicht verhindert werden konnten. Da deshalb die Verwendung von

Acetyl-Schutzgruppen für die resorcinolischen Hydroxyfunktionen nicht realisiert werden konnte, wurde auch die Synthese des Bausteins **8** nicht durchgeführt, da der komplette Syntheseweg auf eine Acetylschutzgruppe für die sekundäre Aminofunktion ausgerichtet war, um nach einer radioaktiven Markierung mittels 2-[^{18}F]Fluorethyltosylat oder [^{11}C]Methyliodid die drei im Molekül vorhandenen Schutzgruppen in einem Schritt basisch abspalten zu können.

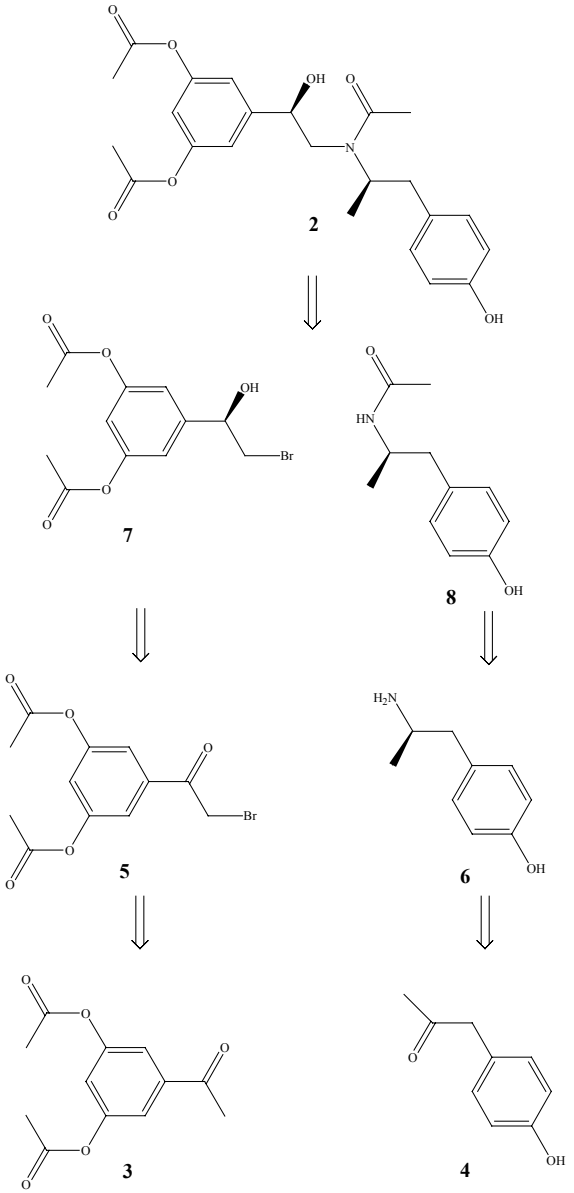


Abb. 14: Retrosyntheseschema des Markierungsvorläufers **2**

3.2 Synthese des möglichen Markierungsvorläufers (R,R)-4-(2-(Benzyl-[2-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)-2-hydroxyethyl]amino)propyl)phenol ((R,R)-9)

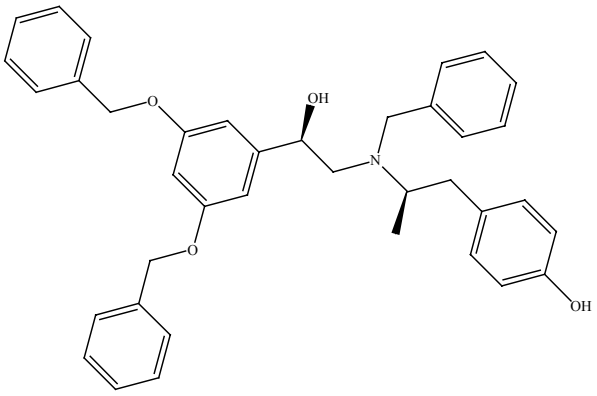


Abb. 15: Markierungsvorläufer (R,R)-4-(2-(Benzyl-[2-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)-2-hydroxyethyl]-amino)propyl)phenol ((R,R)-**9**)

Da sich die Acetylfunktion als Schutzgruppe als untauglich herausstellte, wurde die Benzylgruppe als Alternative ausgewählt. Sie ist unter basischen Bedingungen stabil, und kann auch ein saures Medium bis pH 2-3 unbeschadet überstehen [108, 109]. Stark saure Bedingungen spalten allerdings vor allem O-Benzyl-Gruppen [110]. Die Abspaltung der Schutzgruppe gelingt jedoch leicht unter reduktiven Bedingungen mit Wasserstoff am Palladium-Katalysator [110]. Die Retrosynthese in Abb. 16 zeigt den geplanten Reaktionsweg.

Zunächst soll ausgehend vom 3,5-Bisbenzyloxy-acetophenon das bromierte Produkt 1-(3,5-Bisbenzyloxy-phenyl)-2-bromethanon (**11**) dargestellt werden, welches dann mittels Boran-Dimethylsulfid-Komplex und (1R,2S)-Aminoindanol in das enantiomerenreine (R)-1-(3,5-Bisbenzyloxy-phenyl)-2-bromethanol ((R,R)-**12**) überführt wird. Mittels einer reduktiven Aminierung mit Wasserstoff und Benzylamin soll ausgehend vom kommerziell erhältlichen 4-Hydroxyacetophenon das racemische 4-(2-Benzylaminopropyl)phenol (**13**) dargestellt werden. Aus dem Racemat soll dann über eine fraktionierte Kristallisation mit (L)-Mandelsäure das reine (R)-Enantiomer erhalten werden. In einem finalen Kopplungsschritt soll dann der Markierungsvorläufer (R,R)-4-(2-(Benzyl-[2-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)-2-hydroxyethyl]amino)propyl)phenol ((R,R)-**9**) erhalten werden.

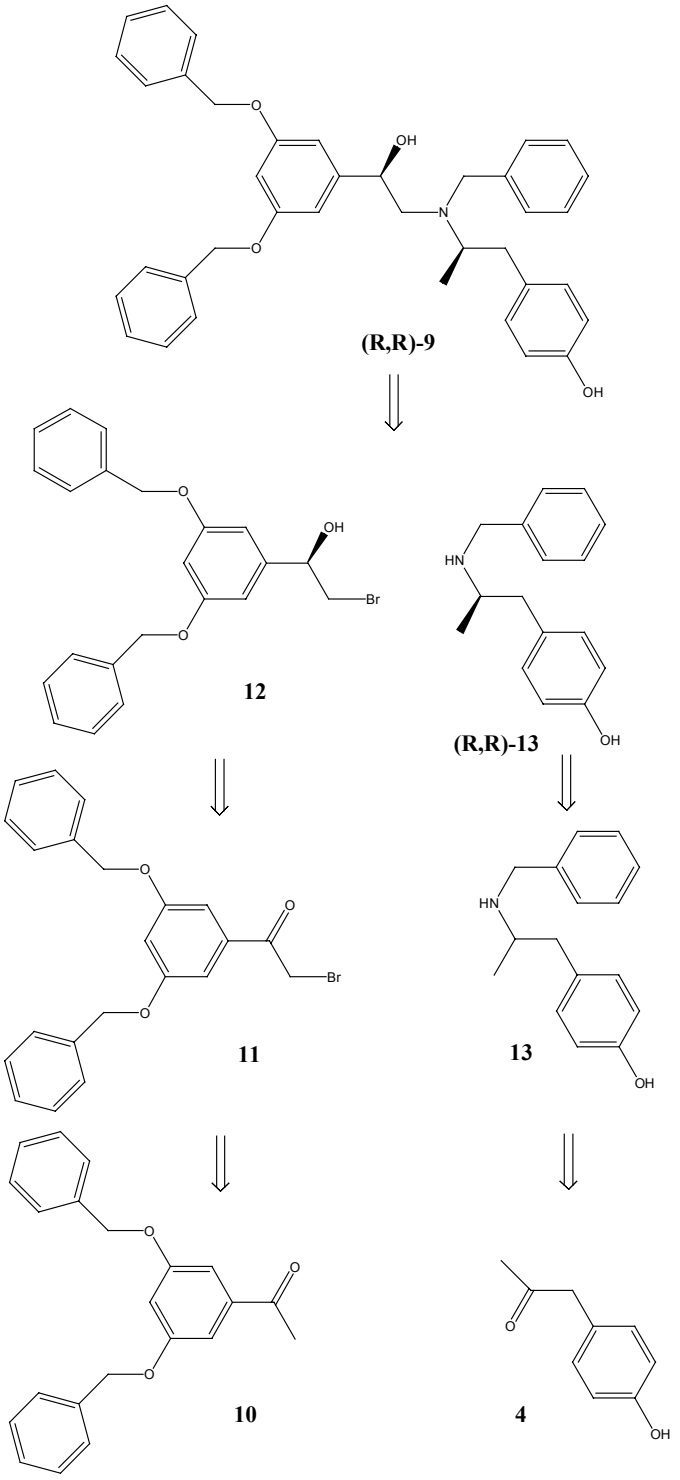


Abb. 16: Retrosynthese-Schema des Markierungsvorläufers (R,R)-**9**

3.2.1 Synthese von 1-(3,5-Bisbenzyloxy-phenyl)-2-bromethanon (11)

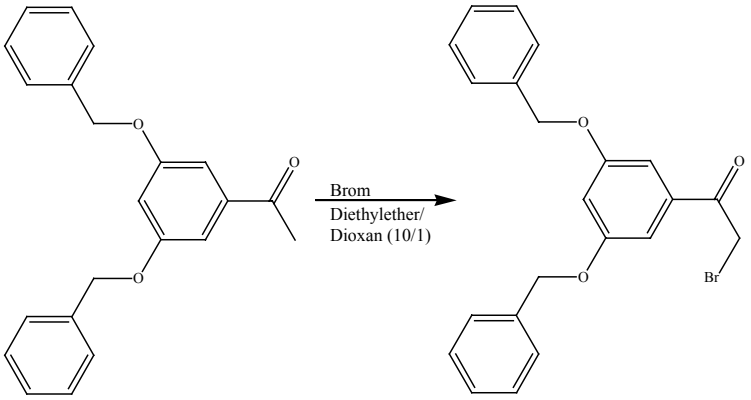


Abb. 17: Darstellung von 1-(3,5-Bisbenzyloxy-phenyl)-2-bromethanon (**11**)

T. E. Goodwin et al. beschreiben die Bromierung eines derivatisierten Acetophenons mittels molekularem Brom in Chloroform mit hohen Ausbeuten von 70% [111]. Eine analoge Reaktionsführung bei der Bromierung des 3,5-Bisbenzyloxy-acetophenons lieferte jedoch nur geringe Ausbeuten von 40%. Eine massenspektrometrische Bestimmung eines der Nebenprodukte zeigte, dass es in Teilen zu einem Brom-gegen-Chlor-Austausch aufgrund des Lösungsmittels Chloroform kam. Bei weiteren Nebenprodukten kam es zu einer Bromierung der Benzyl-Schutzgruppen. Dies dürfte durch das relativ hohe Dipolmoment des Chloroforms und der damit verbundenen Stabilisierung radikalischer Spezies, die eine solche Kernsubstitution verursachen, bedingt sein. Y. Rival et al. schlagen für die Darstellung von α-Bromketonen ein Lösungsmittelgemisch von Diethylether und Dioxan (2/1) vor [112]. Obschon unter diesen Reaktionsbedingungen keine Ausbeuteverbesserung erzielt werden konnte, kam es doch nicht zu einem Brom-gegen-Chlor Austausch. Die höchsten chemischen Ausbeuten von 60-70% konnten mit einem Lösungsmittelgemisch von Diethylether und Dioxan (10/1) erzielt werden. Der geringe Dioxananteil von 10% ist notwendig, um die Löslichkeit des Eduktes 3,5-Bisbenzyloxy-acetophenon zu gewährleisten. Diethylether scheint als Lösungsmittel am geeignetsten, da es am wenigsten zur Solvatation des entstehenden HBr geeignet sein dürfte, welches die säurelabilen Benzyl-Schutzgruppen angreifen kann. So wurde bei der Verwendung dieses Lösungsmittelgemisches nur ein nicht identifizierbares Nebenprodukt gebildet. Der Nachteil dieser Methode ist die schlechte Löslichkeit des Broms im verwendeten Lösungsmittelgemisch. Es muss im Tropftrichter durch ständige Bewegung in Lösung gehalten werden, da sich sonst eine Phase aus reinem Brom absetzt. Dies führt zu einer zu hohen Konzentration an molekularem Brom im Reaktionsgemisch, was wiederum Kernsubstitutionen zur Folge hat.

3.2.2 Versuchte Synthese von (R)-1-(3,5-Bisbenzyloxy-phenyl)-2-bromethanol ((R)-12)

In der Literatur wird eine große Anzahl von Möglichkeiten beschrieben, Carbonylfunktionen stereoselektiv zu reduzieren [Übersicht: 113]. Eine Einschränkung in der Wahl des Reduktionsmittels ergibt sich aus den Benzyl-Schutzgruppen des Substrates, die unter drastischen reduktiven Bedingungen nicht stabil sind. Als milde Reduktionsmittel werden überwiegend Boran-Komplexe mit chiralen Auxilliaren beschrieben [114]. H. C. Brown et al. schlagen z.B. die Verwendung von Midland's Reagenz, B-3-Pinanyl-9-borabicyclo[3.3.1]nonan, zur asymmetrischen Reduktion von prochiralen α-Halo-Ketonen vor [115]. So reduzierten sie beispielsweise α-Bromacetophenon in 96 Stunden zu (R)-2-Brom-1-phenylethanol mit einem Enatiomerenüberschuß von 86%. Dieses Ergebnis konnte leider mit 1-(3,5-Bisbenzyloxy-phenyl)-2-bromethanon nicht erreicht werden. Zwar fand in chemischen Ausbeuten von 65% die Reduktion der Carbonylfunktion zum Alkohol statt, aber das α-Pinen blieb unter den gewählten Reaktionsbedingungen kovalent an die neu entstandene Hydroxyfunktion gebunden. Erst eine Aufarbeitung im stark sauren Milieu führte zu einer Abspaltung des α-Pinens, allerdings unter Verlust der Benzyl-Schutzgruppen.

R. Hett et al. beschreiben eine stereoselektive Reduktion eines α-Bromketons mittels Boran und (1R,2S)-Aminoindanol [116]. Hierbei soll zunächst durch die Zugabe von Boran in THF zu (1R,2S)-Aminoindanol das chirale Agens 2-Methyl-3,3a,8,8a-tetrahydro-2H-1-oxy-3-aza-2-bora-cyclopenta[α]indol (s. Abb. 18) gebildet werden.

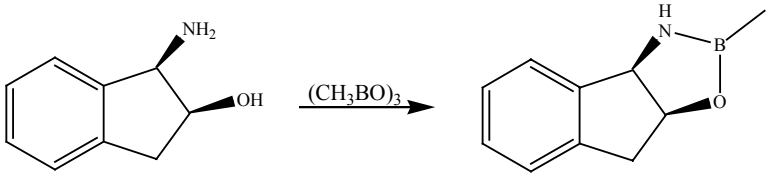


Abb. 18: Reaktionsschema der Bildung des chiralen Hilfsauxilliars

Mit der Hilfe dieses chiralen Agens reduzierten R. Hett et al. 1-(4-Benzyloxy-3-nitrophenyl)-2-bromethanon mit einem Enantiomerenüberschuss von 96% zum entsprechenden (R)-Alkohol. Allerdings bildete sich der chirale Übergangszustand von 2-Methyl-3,3a,8,8a-tetrahydro-2H-1-oxy-3-aza-2-bora-cyclopenta[α]indol mit 1-(3,5-Bisbenzyloxy-phenyl)-2-bromethanon (**11**) nicht aus. So wurde die Carbonylfunktion zwar mit einer Ausbeute von 15% erhalten, aber das ^{1}H-NMR unter Zusatz von Pirkle's Reagenz (Shift-Reagenz) zeigte, dass die Substanz als Racemat vorlag. Um einen Enantiomerenüberschuss mittels ^{1}H-NMR zu bestimmen, wird versucht, die Signale der Protonen am Stereozentrum oder der Protonen in α-Stellung zum Stereozentrum durch Zugabe eines chiralen Verschiebungsreagens voneinander zu separieren. Diese chiralen Verschiebungsreagentien besitzen die Eigenschaft, mit chiralen Verbindungen gelöste diastereomere Komplexe zu bilden, wodurch es zur Aufspaltung der Signale kommt. Um solche diastereomere Komplexe mit Amino- oder Hydroxyfunktionen zu bilden, wird häufig Pirkle's Reagens verwendet. Es handelt sich hierbei um (S)-(+)-2,2,2-Trifluor-1-(9-anthryl)ethanol, das auch zu Komplexbildungen mit Lösungsmittel wie DMSO fähig ist. Aus diesem Grund muss bei

solchen Verschiebungsexperimenten mit deuteriertem Chloroform als Lösungsmittel gearbeitet werden. Zur Untersuchung wurden 18 mg 1-(3,5-Bisbenzyloxy-phenyl)-2-bromethanol (**12**) in deuteriertem Chloroform gelöst und in Portionen von je 2 mg bis zu einer Gesamtmenge von 28 mg mit Pirkle's Reagens versetzt. Nach jeder Zugabe wurde ein ^{1}H-NMR-Spektrum des Substanzgemisches aufgenommen und mit dem der Reinsubstanz verglichen. Besondere Augenmerk wurde dabei auf das in Abb 19 rot dargestellte Proton, das bei der Reinsubstanz als Multiplett bei 4,7 ppm erscheint, gerichtet. Bei diesem Proton wurde auch ein Auseinanderdriften des Signals beobachtet, allerdings zeigte das Verhältnis der beiden Peakflächen von 1:1 das Vorliegen eines Racemates an.

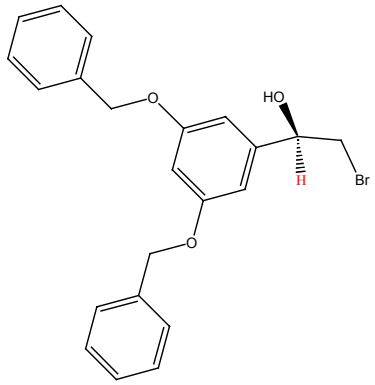


Abb. 19: 1-(3,5-Bisbenzyloxy-phenyl)-2-bromethanol ((R)-**12**)

Basierend auf diesen Ergebnissen wurde der Versuch der Darstellung von (R)-1-(3,5-Bisbenzyloxy-phenyl)-2-bromethanol eingestellt und es wurde mit dem Racemat weitergearbeitet. Da bei allen in der Literatur beschriebenen Verfahren der Enantiomerenüberschuss höchstens 97% betrug, wäre auch bei erfolgreicher Synthese eine abschließende Abtrennung der 3-5% des unerwünschten Stereoisomers mittels chiraler HPLC oder ähnlicher Methoden notwendig geworden. Da die nicht-stereoselektive Reduktion dieser Carbonylgruppe billiger und effizienter möglich war, wurde sie mittels eines Boran-THF-Komplexes durchgeführt.

3.2.3 Synthese von 4-(2-Benzylaminopropyl)phenol (13)

In der Literatur werden nur zwei Wege beschrieben, die in Abb. 20 dargestellte Stoffklasse zu synthetisieren [116].

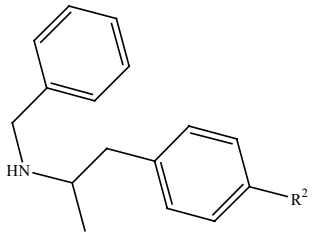


Abb. 20: Derivate des 4-(2-Benzylaminopropyl)phenols

Die eine Möglichkeit besteht in der reduktiven Benzylierung des entsprechenden Amphetamin-Derivates [117]. Da hier jedoch R^2 eine freie phenolische Hydroxyfunktion ist, müsste diese vorher ge- und nach der Reaktion wieder entschützt werden. Eine Alternative wäre, sowohl die Amino- als auch die Hydroxyfunktion zu benzylieren und anschließend die phenolische Hydroxyfunktion selektiv zu debenzylieren. Einfacher ist allerdings die zweite Möglichkeit, die in der Literatur beschrieben wird, zumal Amphetamin-Derivate nach den Drogenschutzgesetzen speziellen Schutzbedingungen unterliegen. M. Freifelder et al. beschreibt die reduktive Aminierung eines 4-substituierten Phenylacetons mittels Benzylamin [118]. Er versuchte die Darstellung von Benzyl-[2-(4-chlorphenyl)-1-methylethyl]amin (R^2 = Cl) ausgehend von 1-(4-Chlorphenyl)propan-2-on und Benzylamin mit verschiedenen Katalysatoren wie Palladium, Rhodium, Platinoxid und Platin auf Kohlenstoff.

In Analogie zu seinen Ergebnissen wurde für die Synthese von 4-(2-Benzylaminopropyl)phenol (**13**) mit dem Katalysator Platin auf Kohlenstoff (5%) gearbeitet. Die Qualität des Katalysators spielt eine entscheidende Rolle für die Ausbeuten dieser Reaktion.

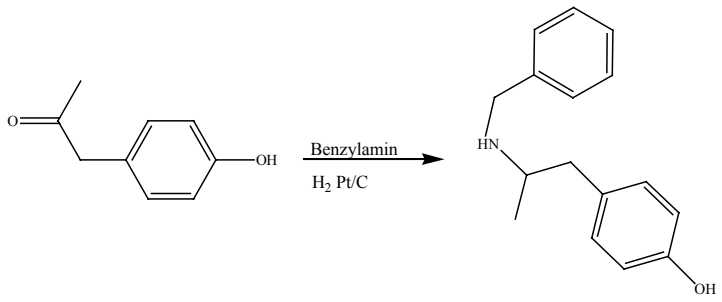


Abb. 21: Darstellung von 4-(2-Benzylaminopropyl)phenol (**13**)

Bereits Spuren von Luftfeuchtigkeit am Katalysator führen zu einer Verringerung der Ausbeuten von 80% auf unter 50%. Nach R. Hett et al. [116] ist es nicht möglich, bei dieser Reaktion die Stereochemie zu kontrollieren. Die einzige Möglichkeit, (R)- oder (S)-4-(2-Benzylaminopropyl)-phenol zu erhalten, besteht in einer fraktionierten Kristallisation mit (L)- oder (D)-Mandelsäure in Methanol. Führt man diese Reaktion im Kilogramm-Maßstab durch, so sind nach drei Kristallisationen Ausbeuten von bis zu 10% möglich bei einem Enantiomerenüberschuss von 99%. Bei kleineren Mengen reduzieren sich diese allerdings bis auf weniger als 1%. Daher wurde aus Kostengründen die fraktionierte Kristallisation nicht durchgeführt, und es wurde mit dem Racemat **13** weitergearbeitet.

3.2.4 Synthese von 4-(2-(Benzyl-[2-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)-2-hydroxyethyl]-amino)-propyl)-phenol (9)

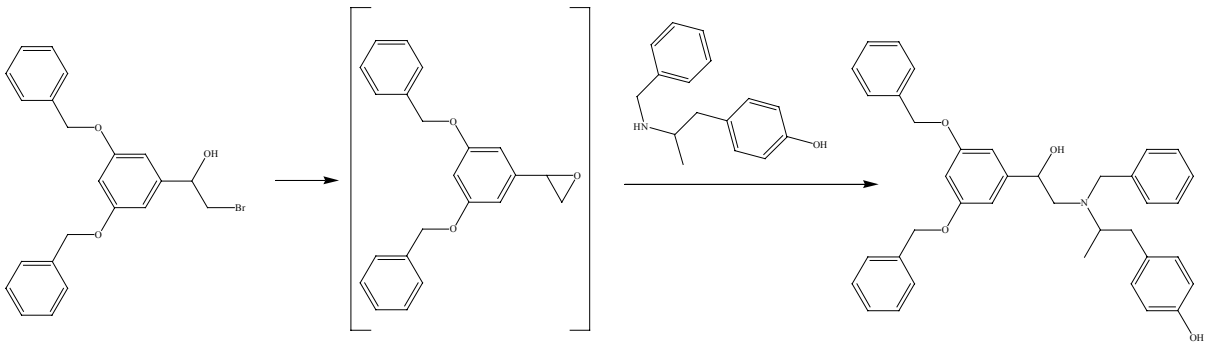


Abb. 22: Darstellung des Markierungsvorläufers 4-(2-(Benzyl-[2-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)-2-hydroxyethyl]-amino)-propyl)-phenol (**9**) über die Kopplung von 1-(3,5-Bisbenzyloxy-phenyl)-2-bromethanol (**12**) und 4-(2-Benzylaminopropyl)phenol (**13**)

Die Darstellung von β-Amino-alkoholen aus Aminen und α-Hydroxybrom-Verbindungen verläuft im allgemeinen gut unter intermediärer Bildung eines Epoxids, welches dann nukleophil durch das Amin geöffnet wird. Allerdings kommt es zu Problemen, falls das Amin keine ausreichend hohe Nukleophilie besitzt, oder aber sterisch gehindert ist. Solche Amine reagieren meistens nur bei hohen Temperaturen und in niedrigen Ausbeuten [119]. Bei der Epoxid-Öffnung durch das Amin können zwei Regioisomere entstehen, je nachdem, ob der Angriff des Amins am C-1- (dem sterisch gehinderten) oder am C-2- (dem sterisch weniger gehinderten) Kohlenstoff des Epoxides erfolgt (vgl. Abb. 23). Faktoren, die die Regioselektivität dieser Reaktion bestimmen, sind der sterische Anspruch des Amins, seine Nukleophilie und die Lewis-Säurestärke des Kations der verwendeten Hilfsbase. Während die Eigenschaften des Amins durch das Zielmolekül vorgegeben sind, kann das Kation der Base variiert werden. Je schwächer der Lewis-Säurecharakter des Kations ist (z.B. bei Na^+ oder K^+), desto ausgeprägter ist der S_N2-Typus des Angriffs, was zum nukleophilen Angriff auf den sterisch weniger gehinderten Kohlenstoff führt [120].

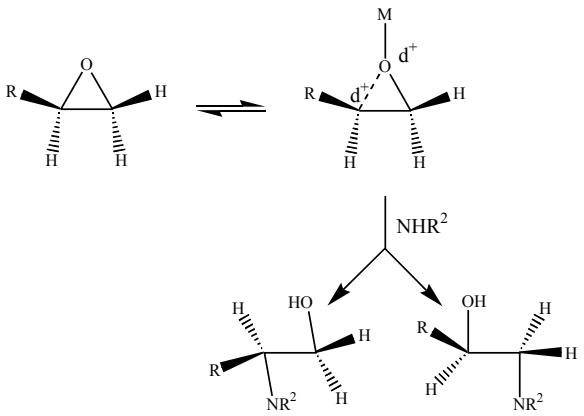


Abb. 23: Regioselektivität bei der Aminolyse eines Oxirans

Y. Gao et al. beschreiben die intermediäre Bildung eines Epoxids aus einem substituierten 1-Phenyl-2-bromethanol mit Kaliumcarbonat in Methanol [121]. Bei der Anwendung auf die Kopplung von 1-(3,5-Bisbenzyloxy-phenyl)-2-bromethanol (**12**) und 4-(2-Benzylaminopropyl)phenol (**13**) konnte das gewünschte Regioisomer 4-(2-(Benzyl-[2-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)-2-hydroxyethyl]amino)propyl)phenol (**9**) mit 20% Ausbeute erhalten werden. Dank der schlechten Lewis-Base K^+ kam es nicht zur Bildung des anderen Regioisomeres, 4-(2-(Benzyl-[1-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)-2-hydroxyethyl]amino)propyl)phenol (s. Abb. 24). Allerdings sind die Ausbeuten mit 20% relativ niedrig. Dies liegt zum einen an der geringen Nukleophilie des Amins und zum anderen an seinem Raumbedarf, was die Verwendung hoher Reaktionstemperaturen (130°C) notwendig machte. Wird das Amin im Überschuß verwendet, so erhöhen sich die Ausbeuten geringfügig auf 25%, das nicht umgesetzte Amin **13** fällt nach Abkühlen der Reaktionsmischung in Form des Hydrobromids aus und kann so leicht zurückgewonnen werden. Eine synthetisch einfachere Reaktionsführung, die zu wesentlich höheren Ausbeuten führt, wird in Abschnitt 3.3.3 beschrieben.

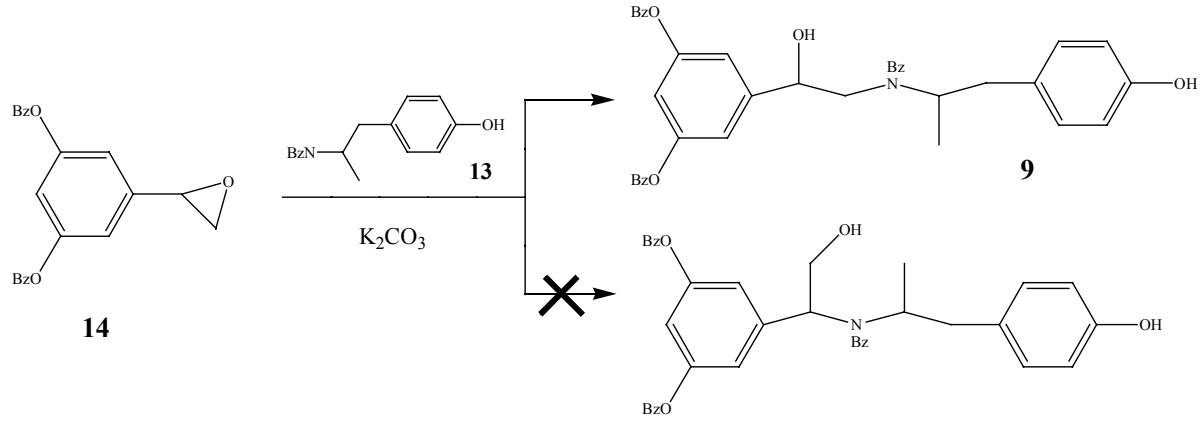
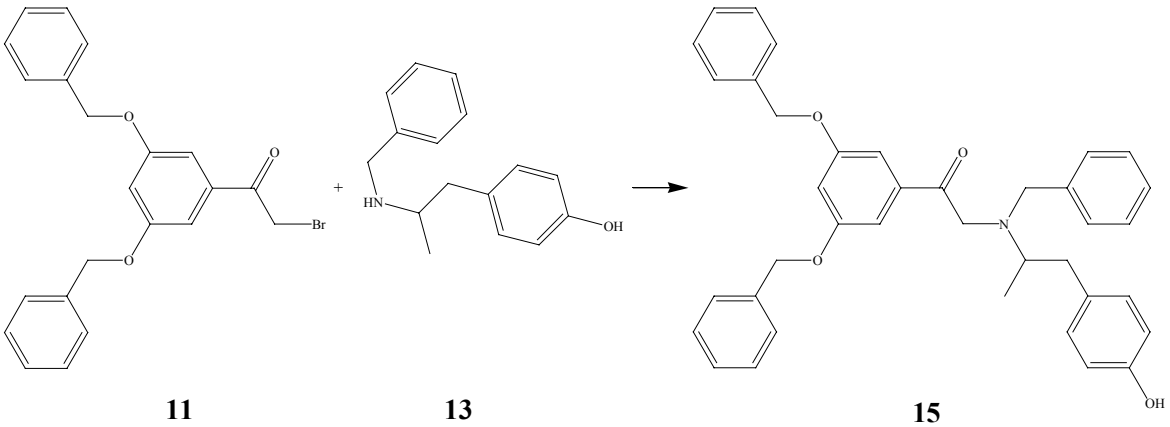


Abb. 24: Epoxidöffnung durch 4-(2-Benzylaminopropyl)phenol (**13**)zu 4-(2-(Benzyl-[2-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)-2-hydroxyethyl]amino)propyl)phenol (**9**)

3.3 Alternative Synthesen des Markierungsvorläufers 4-(2-(Benzyl-[2-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)-2-hydroxyethyl]amino)propyl)phenol (9)

Eine mögliche Alternative zur oben beschriebenen Darstellung dieses Markierungsvorläufers besteht darin, die Carbonylverbindung 1-(3,5-Bisbenzyloxy-phenyl)-2-bromethanon (**11**) direkt, also ohne vorherige Reduktion mit Synthon **14**, 4-(2-Benzylaminopropyl)phenol umzusetzen. Nach erfolgter Kopplung kann dann die resultierende Verbindung, 2-(Benzyl-[2-(4-hydroxyphenyl)-1-methylethyl]amino)-1-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)ethanon (**15**), zum gewünschten Markierungsvorläufer 4-(2-(Benzyl-[2-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)-2-hydroxyethyl]amino)propyl)-phenol (**9**) reduziert werden.

3.3.1 Synthese von 2-(Benzyl-[2-(4-hydroxyphenyl)-1-methylethyl]amino)-1-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)ethanon (15)



11 **13** **15**

Abb. 25: Darstellung von 2-(Benzyl-[2-(4-hydroxyphenyl)-1-methylethyl]amino)-1-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)ethanon (**15**)

A. A. Larsen et al. beschreiben bei der Darstellung von Sulfonaniliden die Kopplung von substituierten 4-(2-Bromacetyl)phenylsulfonamiden mit Aminen unter Verwendung einer Hilfsbase [122]. Sie verwenden Triethylamin, um die Nukleophilie des Amins durch Abstraktion des Protons zu erhöhen. Das Amin soll in doppeltmolarem Überschuss eingesetzt werden, um in Acetonitril als Lösungsmittel moderate Ausbeuten von bis zu 60% zu erzielen. Unter diesen Reaktionsbedingungen konnte allerdings das gewünschte Produkt 2-(Benzyl-[2-(4-hydroxyphenyl)-1-methylethyl]amino)-1-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)ethanon (**15**) nur in Ausbeuten von 5% erhalten werden.

T. E. Goodwin et al. dagegen beschreiben die Kopplung von α-Bromketonen mit Aminen ohne die Verwendung von Hilfsbasen in Tetrahydrofuran als Lösungsmittel [111]. Unter equimolarem Einsatz der Aminkomponente konnte nach dreistündiger Reaktionszeit unter Rückfluß das gewünschte Produkt in Ausbeuten von 38% erhalten werden. Ein großer Prozentsatz des eingesetzten Amins 4-(2-Benzylaminopropyl)phenols (**13**) kann in Form des Hydrobromids nach Abkühlen des Reaktionsgemisches auf Raumtemperatur abfiltriert und wiedergewonnen werden. Eine Verlängerung der Reaktionszeit führt zu einem deutlichen Ausbeuteverlust, was durch das Erscheinen zahlreicher Neben- bzw. Zersetzungsprodukte auf der Dünnschichtchromatographie-Platte interpretiert werden kann.

3.3.2 Synthese von 4-(2-(Benzyl-[2-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)-2-hydroxyethyl]amino)-propyl)phenol (9)

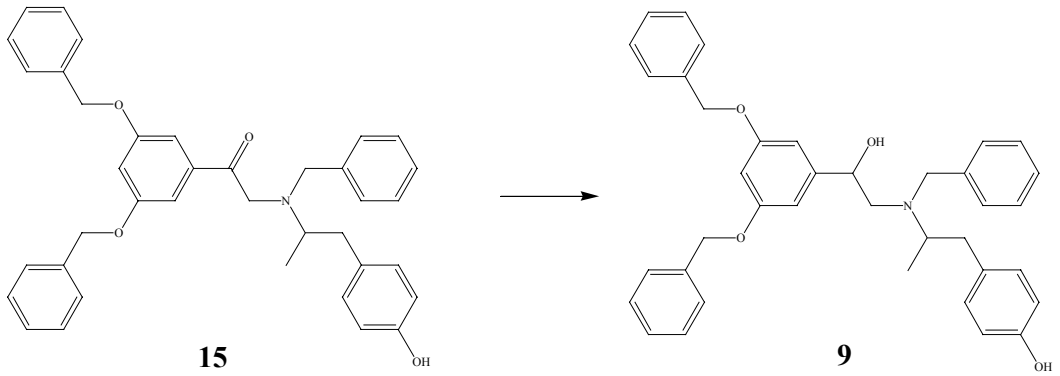


Abb. 26: Darstellung von 4-(2-(Benzyl-[2-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)-2-hydroxyethyl]amino)-propyl)phenol (**9**) durch Reduktion von 2-(Benzyl-[2-(4-hydroxyphenyl)-1-methylethyl]amino)-1-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)ethanon (**15**)

A. A. Larsen et al. beschreiben in [122] auch die Reduktion einer Carbonylfunktion in β-Stellung zu einer Aminofunktion mittels Wasserstoff am Palladium-Katalysator. Dieser Weg wurde hier allerdings nicht gewählt, da sonst die Gefahr der Abspaltung der Benzylschutzgruppen, hier besonders der Benzylether gegeben wäre. T. E. Goodwin et al. dagegen beschreiben die Reduktion mit Lithiumaluminiumhydrid-Lösung [111]. Eine Kühlung auf –78°C erwies sich dabei als nicht hilfreich, da unter diesen Reaktionsbedingungen keine Reduktion erfolgte. Erst beim Erwärmen auf Raumtemperatur erfolgt die Reduktion mit einer Ausbeute von über 80%.

Dieser Reaktionsweg eröffnete zusätzlich eine weitere Möglichkeit einer stereoselektiven Reaktionsführung. Bereits 1979 nützt R. Noyori den Gebrauch von komplexen Aluminiumhydrid-Reagentien zur enantioselektiven Reduktion von Carbonylverbindungen [123]. In einem Übersichtsartikel von 1984 beschreibt er vor allem den Gebrauch von BINAL-H als gute Möglichkeit, β-Hydroxyamine mit definierter Stereochemie zu erhalten [124]. BINAL-H ist ein Reagens, das aus optisch reinem Binaphtol und Lithiumaluminiumhydrid dargestellt wird (s. Abb. 27). So soll durch eine Reduktion mit (R)-(+)-Binaphtol und Lithiumaluminiumhydrid in THF die entsprechende (R)-β-Hydroxyamin-Verbindung in guten Ausbeuten und mit einem hohen Enantiomerenüberschuss erhalten werden.

Eine weitere Verbesserung der optischen Induktion ergibt sich, wenn eines der beiden homotopen H-Atome von BINAL-H durch eine einfache Alkoxyfunktion wie z.B. eine Methoxy- oder Ethoxy-Gruppe ersetzt werden [125]. Allerdings gelingt mit diesem Reagens nur dann ein hoher Enantiomerenüberschuss, wenn bei Temperaturen von –100 bis –78°C gearbeitet wird.

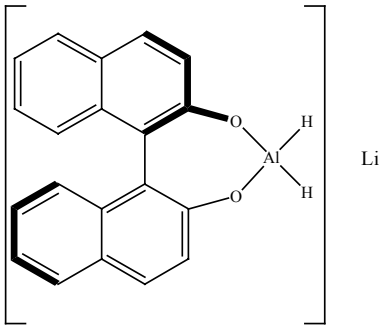


Abb. 27: BINAL-H (Lithiumaluminiumhydrid-(R)-(+)-10,10‘-dihydroxy-9,9‘-biphenantryl-Komplex)

Bei einer Übertragung dieser Reaktionsbedingungen auf 2-(Benzyl-[2-(4-hydroxyphenyl)-1-methylethyl]amino)-1-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)ethanon (**15**) fand jedoch keine Reduktion statt. Erst bei einer Erhöhung der Reaktionstemperatur auf 0°C konnte das Produkt 4-(2-(Benzyl-[2-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)-2-hydroxyethyl]amino)propyl)phenol (**9**) isoliert werden, allerdings ohne jede Stereoselektivität.

Der Grund dafür, dass ausschließlich die racemische β-Hydroxyamino-Verbindung erhalten wurde, könnte im sterischen Anspruch der Benzylschutzgruppen an den resorcinolischen Hydroxyfunktionen und der sekundären Aminofunktion begründet sein, welcher das Ausbilden des Übergangszustandes von Carbonylfunktion und chiralem Auxilliar unmöglich machte. Da jedoch auch bei Gelingen der Reaktion nur Enantiomerenüberschüsse von maximal 92% zu erwarten gewesen wären [123, 124], hätte es auch hier einer finalen Reinigung bedurft, um vollständig enantiomerenreine Verbindungen zu erhalten.

Aus diesem Grunde wurde auf die weitere Durchführung von Reaktionen mit dem Ziel der Stereokontrolle verzichtet und es wurde ausschließlich mit racemischen Verbindungen weitergearbeitet, mit der Strategie, die gewünschten enantiomerenreinen Verbindungen durch eine finale Aufreinigung mittels chiraler HPLC zu erhalten.

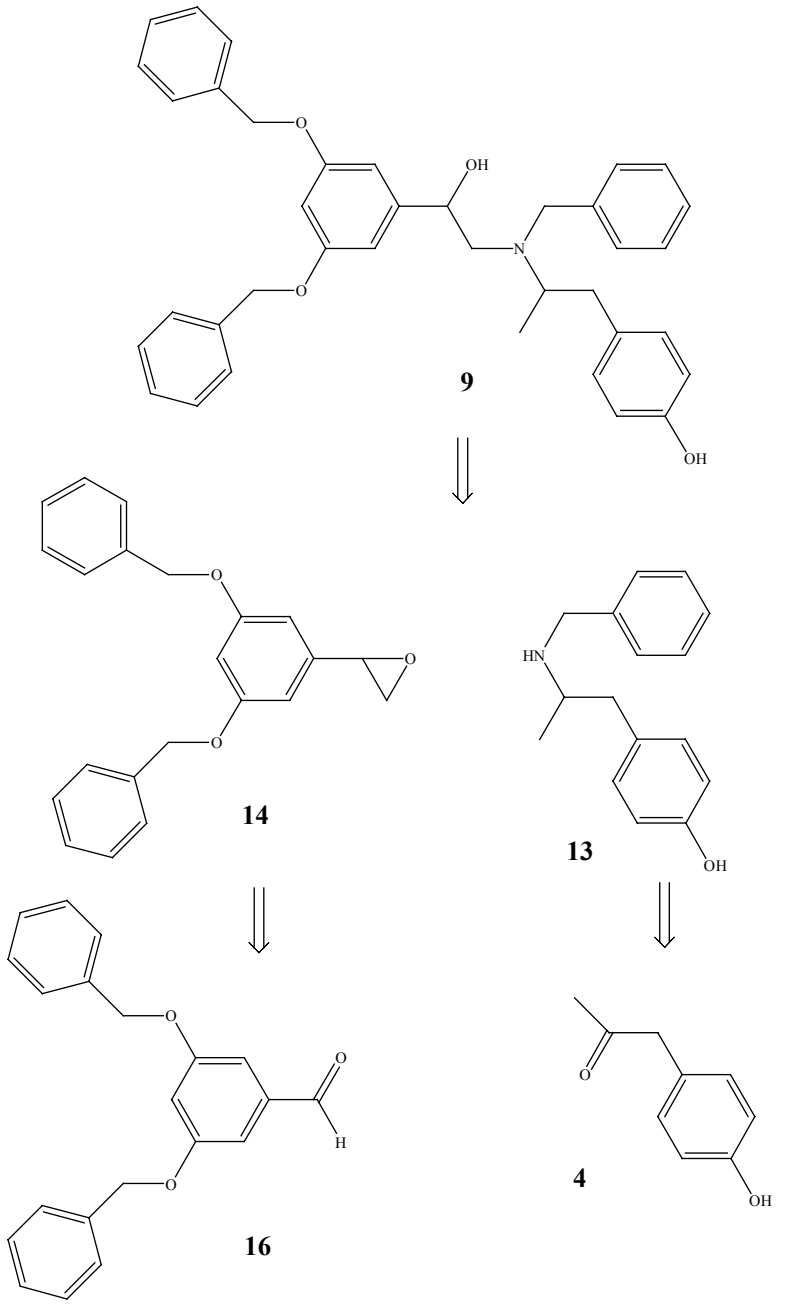


Abb. 28: Retrosynthese-Schema zur Darstellung des Markierungsvorläufers 4-(2-(Benzyl-[2-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)-2-hydroxyethyl]amino)propyl)phenol (**9**)

Eine weitere Alternative, zum Markierungsvorläufer 4-(2-(Benzyl-[2-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)-2-hydroxyethyl]-amino)-propyl)-phenol (**9**) zu gelangen, wurde bereits in Abschnitt 3.3.4 erwähnt. Dort wurde die Kopplung der Aminkomponente **13** mit einem intermediär aus der α-Hydroxy-Bromverbindung dargestellten Epoxid beschrieben. Ein einfacher und schneller synthetischer Weg zu einem solchen Epoxid führt über ein analog substituertes Benzaldehyd (s. Abb. 29).

3.3.3 Synthese von 2-(3,5-Bisbenzyloxy-phenyl)oxiran (14)

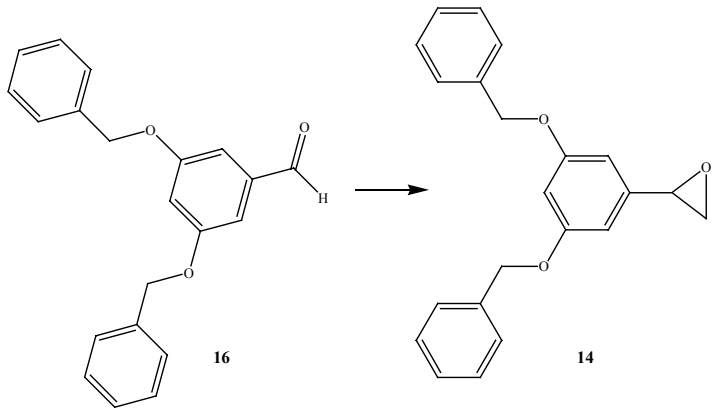


Abb. 29: Synthese von 2-(3,5-Bisbenzyloxy-phenyl)oxiran (**14**)

R. Albrecht et al. beschreiben in ihrem Artikel über die Synthese von Isoprenalin- und Terbutalin-Derivaten auch die Darstellung von 2-(3,5-Bisbenzyloxy-phenyl)oxiran (**14**) aus 3,5-Bisbenzyloxy-benzaldehyd (**16**) [126]. Methylierungsagens ist Trimethylsulfoniumiodid, Natriumhydrid dient als Base.

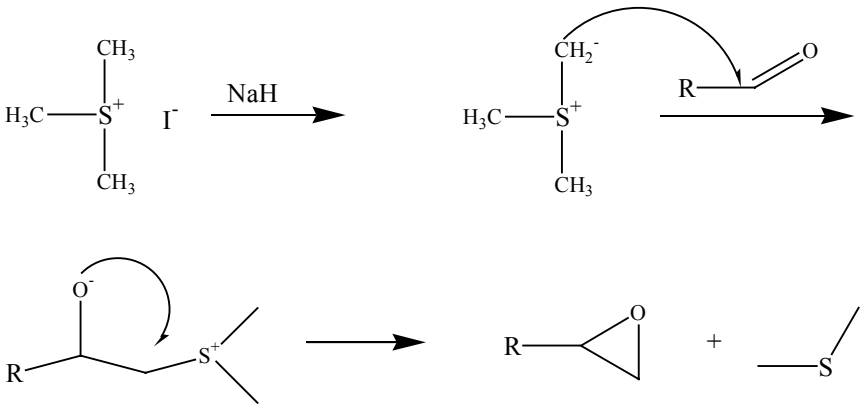
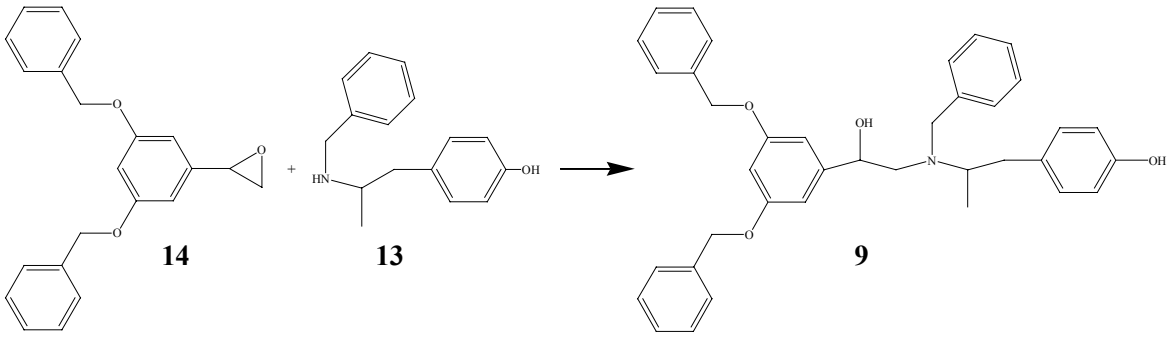


Abb. 30: Mechanismus der Epoxid-Bildung mit Trimethylsulfoniumiodid und NaH

Diese Darstellungsmethode stellt einen einfachen und eleganten Zugang zu dieser Klasse von Epoxiden dar, der ohne den Umweg über die Reduktion von α-Bromketonen auskommt. So funktioniert diese Reaktion mit Ausbeuten von über 70%. Die Aufreinigung kann destillativ unter reduziertem Druck erfolgen. Bei der intermediären Darstellung des Epoxids über den Umweg der Bromierung von 3,5-Bisbenzyloxyacetophenon (**10**) und anschließender Reduktion der Carbonylverbindung kann dagegen nur eine Gesamtausbeute von knapp 30% realisiert werden (s. Abschnitt 3.3.1 bzw. 3.3.2).

3.3.4 Synthese von 4-(2-(Benzyl-[2-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)-2-hydroxyethyl]amino)-propyl)phenol (9) ausgehend vom Oxiran 14



14 **13** **9**

Abb. 31: Darstellung des Markierungsvorläufers 4-(2-(Benzyl-[2-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)-2-hydroxyethyl]amino)-propyl)phenol (**9**) ausgehend vom Oxiran **14**

Einige prinzipielle Bemerkungen zur Öffnung von Epoxiden durch Amine wurden bereits in Abschnitt 3.3.4 erwähnt. Bei der Verwendung von Kaliumcarbonat als Base kommt es zwar nicht zum Angriff des Amins auf das sterisch stärker gehinderte C-Atom des Oxirans, aber die Ausbeuten sind mit 20% nur unbefriedigend. Ein Versuch der Kopplung nach [121], ohne Verwendung einer Base, aber mit einer erhöhten Reaktionstemperatur von 130°C in Toluol als Lösungsmittel, resultierte in 60% Ausbeute.

M. Chini et al. beschreiben verschiedene Metall-Salze als effiziente Katalysatoren für eine Aminolyse von Oxiranen [127]. Unter der Metall-Salz-Katalyse können die Reaktionsbedingungen milder gestaltet werden, die Reaktionszeiten, die sonst bei 24 Stunden oder mehr liegen, werden erheblich verkürzt, und das Amin muss nicht mehr im Überschuss eingesetzt werden. Lithiumperchlorat wird als der effektivste Katalysator für sterisch gehinderte Oxirane und wenig nukleophile Amine beschrieben, wobei das Anion des Salzes vor allem für die Löslichkeit des Metallsalzes im verwendeten Lösungsmittel (Acetonitril, Toluol, Aceton) zu sorgen hat, da heterogene Metall-Salz-Katalyse nicht zur gewünschten Epoxid-Öffnung führt. Bei der Anwendung dieser Reaktionsbedingungen auf die Kopplung von 2-(3,5-Bisbenzyloxy-phenyl)oxiran (**14**) und Benzyl-(1-methyl-2-phenylethyl)amin (**13**) konnten jedoch nur Ausbeuten von 15% erreicht werden. Dies lag vermutlich an der Amin-Komponente **13**, die nicht nur eine geringe Nukleophilie aufweist, sondern zusätzlich auch sterisch gehindert ist. Die von M. Chini et al. getesteten Amine waren sterisch wesentlich anspruchsloser.

J. Augé et al. verwenden Lithiumtrifluormethansulfonat (Lithiumtriflat) als Katalysator, der zum einen deutlich weniger gefährlich im Umgang ist als Lithiumperchlorat, und zum anderen bessere Ausbeuten in kürzeren Reaktionszeiten liefern soll [128]. Jedoch scheint auch für diesen Katalysator Benzyl-(1-methyl-2-phenylethyl)amin (**13**) sterisch zu anspruchsvoll zu sein, denn es konnten nur Ausbeuten von 20% erhalten werden.

1994 beschreiben M. Chini et al. schliesslich die Verwendung von Lanthanid(III)-Triflaten zur Aminolyse von Oxiranen [129]. Sie haben den Vorteil, dass sie auch sterisch anspruchsvollen Aminen von geringer Nukleophilie die Öffnung sterisch anspruchsvoller Epoxide erlauben. Je nach Reaktivität der Oxiran- bzw. Amin-Komponente kann die Reaktion durch größere Mengen an Katalysator beschleunigt werden. So konnten auch 7-Oxa-bicyclo[4.1.0]heptan mit Di-isopropyl-amin bei Verwendung von 10 Mol-% Ytterbiumtriflat oder Gadoliniumtriflat innerhalb von 18 Stunden in hohen Ausbeuten gekoppelt werden.
Bei der Kopplung von 2-(3,5-Bisbenzyloxy-phenyl)oxiran (**14**) und Benzyl-(1-methyl-2-phenyl-ethyl)amin (**13**) in Dichlormethan konnten bei der Verwendung von Gadoliniumtriflat Ausbeuten von 35% erzielt werden, bei der Verwendung von Ytterbiumtriflat wurden Ausbeuten von über 70% erreicht. Die Reaktionsdauer konnte dabei von 24 Stunden auf 2 bzw. 3 Stunden gesenkt werden. Es kam nicht zum Angriff des Amins auf das sterisch gehinderte C-Atom des Oxirans. Durch die Absenkung der Reaktionstemperatur von 130°C auf Raumtemperatur konnte auch die Bildung von Nebenprodukten verhindert werden. Nicht umgesetztes Epoxid bzw. Amin kann bei der säulenchromatographischen Aufarbeitung wiedergewonnen werden. Zur besseren Reaktionskontrolle wurden die Ausbeuten der Reaktionen mit verschiedenen Katalysatoren mittels HPLC kontrolliert (s. Abb. 32).

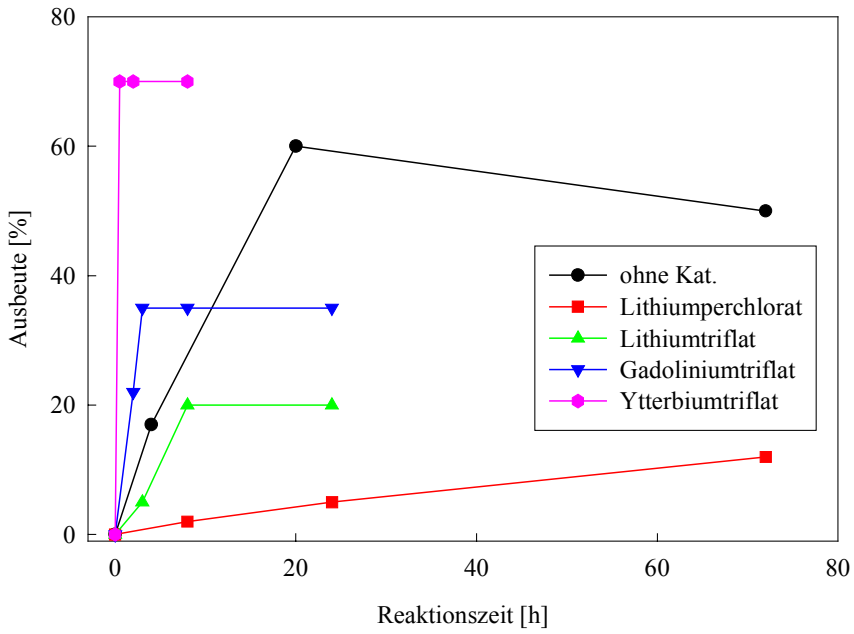


Abb. 32: Ausbeuten der Kopplung von Benzyl-(1-methyl-2-phenylethyl)amin (**13**) und 2-(3,5-Bisbenzyloxy-phenyl)oxiran (**14**) mit verschiedenen Katalysatoren

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass der effizienteste Weg zum Markierungsvorläufer 4-(2-(Benzyl-[2-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)-2-hydroxyethyl]amino)propyl)phenol (**9**) für Markierungen mit 2-[^{18}F]Fluorethyltosylat und [^{11}C]Methyliodid über die Aminolyse von 2-(3,5-Bisbenzyloxy-phenyl)oxiran (**14**) mit Gesamtausbeuten von 50% verläuft.

3.4 Synthese des möglichen Markierungsvorläufers Essigsäure-2-[benzyl-(1-methyl-2-(4-[2-toluol-4-sulfonyloxy)ethoxy]phenyl)ethyl)amino]-1-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)ethyl-ester (17)

Direktfluorierungen haben den Vorteil, dass das radioaktive Isotop erst im letzten Schritt in das Molekül eingeführt wird, ohne zuvor den Umweg über einen sekundären Markierungsvorläufer gehen zu müssen. Dies kann zum einen die radiochemische Ausbeute aufgrund der Zeitersparnis erhöhen, zum anderen kann durch die Verringerung der durchzuführenden Reaktionsschritte im allgemeinen eine Erhöhung der spezifischen Aktivität erreicht werden. Schließlich sollte sich der apparative Ablauf einfacher gestalten lassen. Als Abgangsgruppe im Aliphatischen hat sich die Toluolsulfonsäuregruppe (Tosylat) bewährt. Das Retrosynthese-Schema dieses Markierungsvorläufers zeigt, wie sie in das Molekül eingeführt werden soll (Abb. 33).
Wie aus Abb. 33 ersichtlich, kann der Markierungsvorläufer Essigsäure-2-[benzyl-(1-methyl-2-(4-[2-toluol-4-sulfonyloxy)ethoxy]phenyl)ethyl)amino]-1-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)ethylester (**17**) direkt aus dem Markierungsvorläufer 4-(2-(Benzyl-[2-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)-2-hydroxyethyl]-amino)propyl)phenol (**9**) in einer dreistufigen Synthese aufgebaut werden.
Eine frühere Einführung der Tosylatgruppe, noch vor der Aminolyse des Oxirans in Analogie zum Markierungsvorläufer **9**, scheint wenig aussichtsreich, da es zu Nebenreaktionen mit der sekundären Aminofunktion kommen würde (s. Abb. 34).

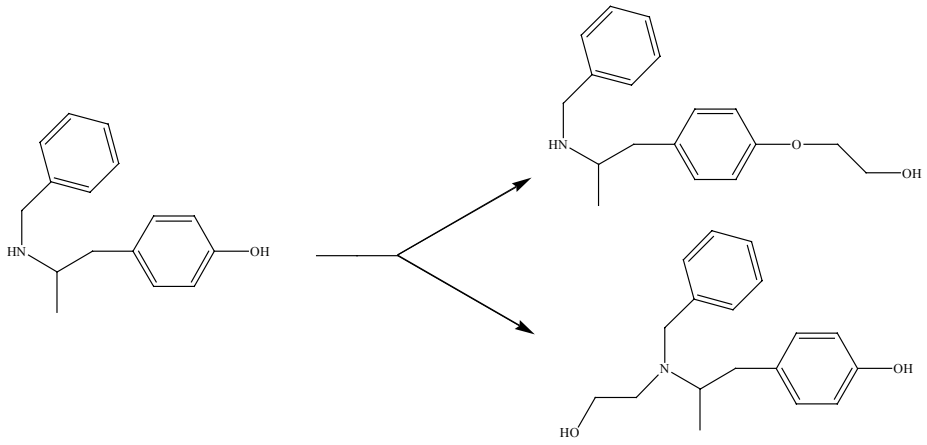


Abb. 34: mögliche Produkte bei der Umsetzung von Benzyl-(1-methyl-2-phenylethyl)amin (**13**) mit 2-Bromethanol

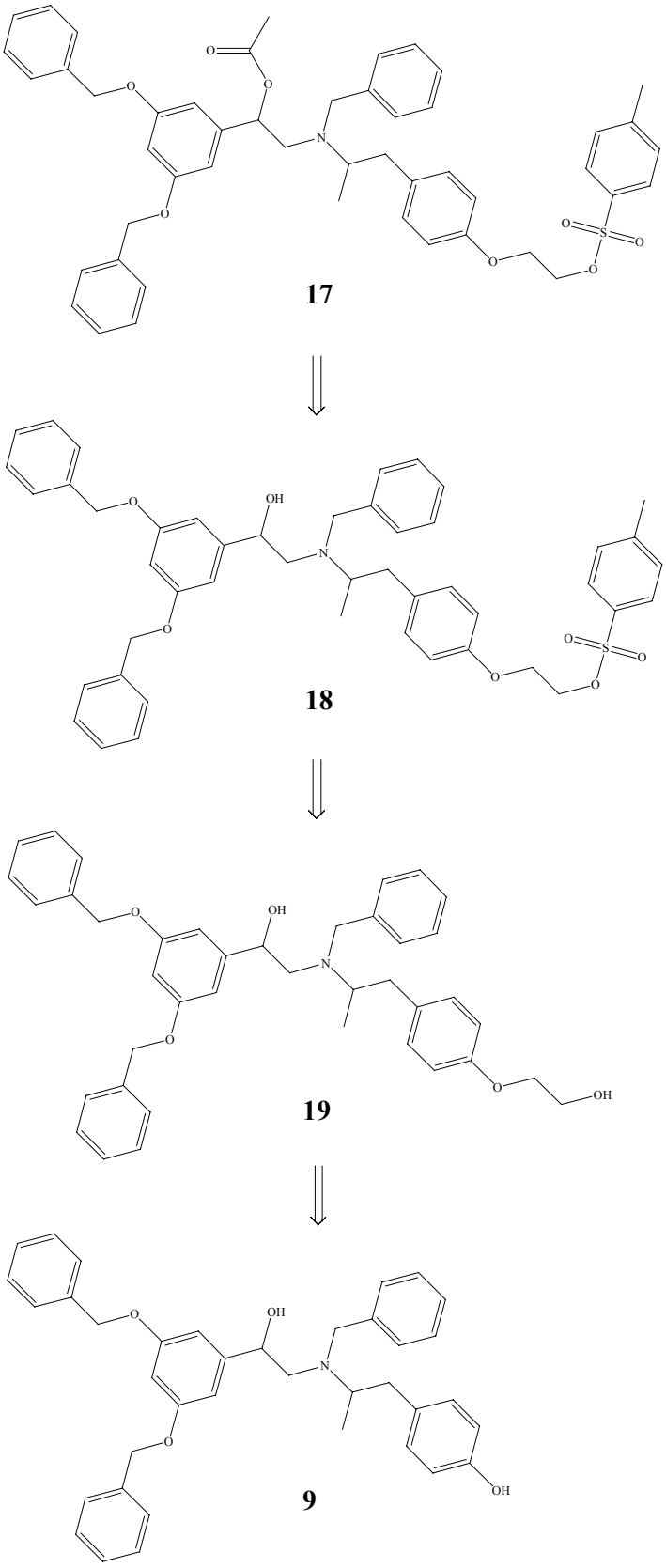


Abb. 33: Retrosynthese-Schema des Markierungsvorläufers Essigsäure-2-[benzyl-(1-methyl-2-(4-[2-toluol-4-sulfonyloxy)ethoxy]phenyl)ethyl)amino]-1-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)ethyl-ester (**17**)

3.4.1 Synthese von 2-(Benzyl-(2-[4-(2-hydroxyethoxy)phenyl]-1-methylethyl)amino-1-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)ethanol (19)

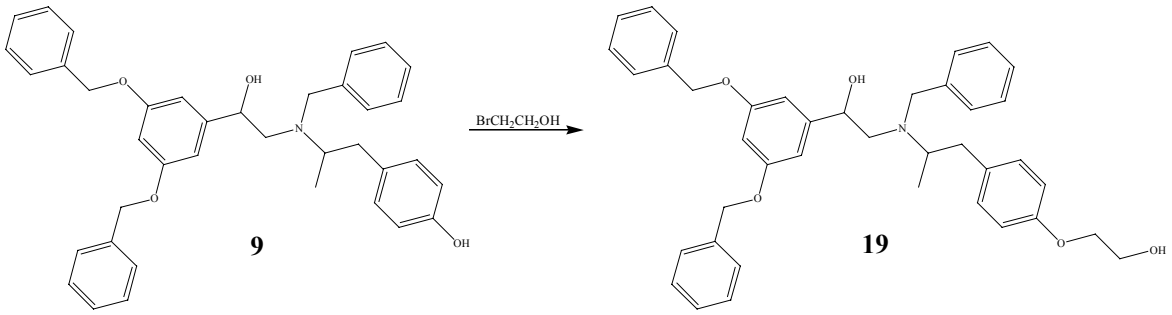


Abb. 35: Darstellung von 2-(Benzyl-(2-[4-(2-hydroxyethoxy)phenyl]-1-methylethyl)amino-1-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)ethanol (**19**)

Die Alkylierung einer phenolischen Hydroxyfunktion mit 2-Bromethanol unter Verwendung von Kaliumcarbonat in DMF verlief selektiv in Ausbeuten von 50%. Es kam zu keiner Nebenreaktion, da die aliphatische Hydroxyfunktion unter diesen Reaktionsbedingungen chemisch inert ist, und die tertiäre Aminofunktion sterisch gehindert ist. Eine Erhöhung der Ausbeuten und eine Beschleunigung des Reaktionsablaufes kann durch Zugabe einer katalytischen Menge Natriumiodid erzielt werden, welches in einer Art Finkelstein-Reaktion einen Brom-gegen-Iod-Austausch vornimmt. Da Iodid die bessere Abgangsgruppe im Vergleich zu Bromid darstellt, kann man durch Zugabe von Natriumiodid bei dieser Reaktion Ausbeuten von über 60% erhalten [130].

3.4.2 Synthese von Toluol-4-sulfonsäure-2-[4-(2-(benzyl-[2-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)-2-hydroxyethyl]amino)propyl)phenoxy]ethylester (18)

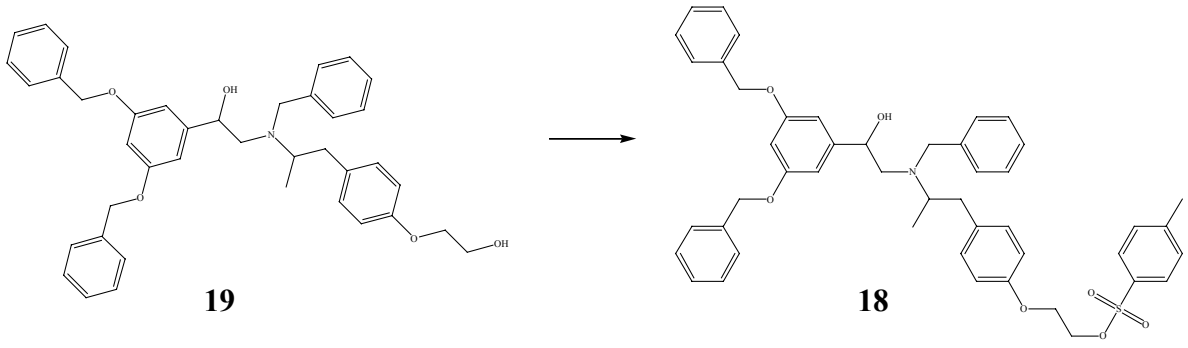


Abb. 36: Synthese von Toluol-4-sulfonsäure-2-[4-(2-(benzyl-[2-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)-2-hydroxyethyl]amino)propyl)phenoxy]ethylester **(18)**

Zur Tosylierung einer aliphatischen Hydroxyfunktion wird 4-Toluolsulfonsäurechlorid verwendet. Durch Zusatz von Pyridin als Protonenfänger erhält man das gewünschte Produkt in einer Ausbeute von 50% im Lösungsmittel Chloroform. Aufgrund der sterischen Hinderung der sekundären aliphatischen Hydroxyfunktion in β-Position zur benzylierten Aminogruppe kam es zur ausschließlichen Tosylierung der primären OH-Funktion.

3.4.3 Synthese von Essigsäure-2-[benzyl-(1-methyl-2-(4-[2-toluol-4-sulfonyloxy)ethoxy]-phenyl)ethyl)amino]-1-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)ethylester (17)

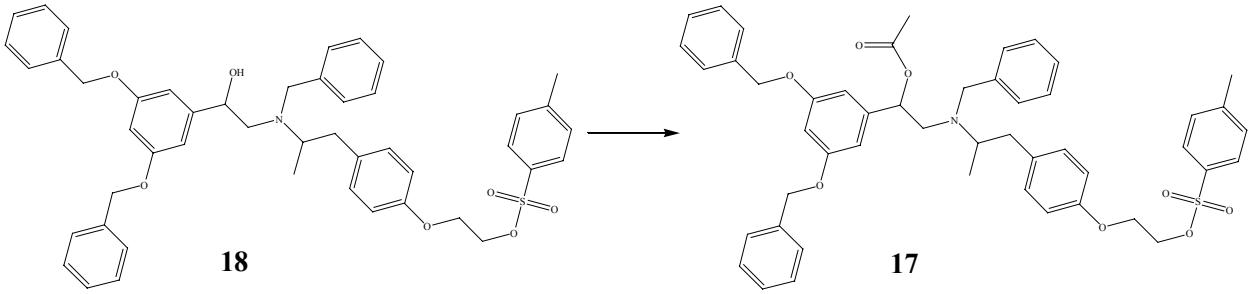


Abb. 37: Synthese des Markierungsvorläufers Essigsäure-2-[benzyl-(1-methyl-2-(4-[2-toluol-4-sulfonyloxy)ethoxy]-phenyl)ethyl)amino]-1-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)ethylester **(17)**

Essigsäure-2-[benzyl-(1-methyl-2-(4-[2-toluol-4-sulfonyloxy)ethoxy]phenyl)ethyl)amino]-1-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)ethylester (**17**) kann durch Acetylierung von Toluol-4-sulfonsäure-2-[4-(2-(benzyl-[2-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)-2-hydroxyethyl]amino)propyl)phenoxy]ethyl-ester (**18**) dargestellt werden. Ein synthetisch einfacher Weg ist die Acetylierung mit Essigsäureanhydrid, das gleichzeitig als Lösungsmittel fungiert. Um trotz der sterischen Hinderung der aliphatischen Hydroxyfunktion gute Ausbeuten zu erzielen, wurden Ytterbium(III)-salze als Katalysator zugesetzt. Experimentell besonders einfach ist der Einsatz von polymer-gebundenem Ytterbiumtoluolsulfonat auf Polystyrolbasis.

3.5 Synthese der ^{19}F-Referenzverbindungen zur analytischen Charakterisierung und *in vitro*-Evaluierung

Die Synthese der nicht-radioaktiven ^{19}F-Referenzverbindungen erfüllt zum einen den Zweck der analytischen Charakterisierung. Da mit den radioaktiven ^{18}F-Verbindungen keine herkömmliche Analytik durch spektroskopische Methoden möglich ist, werden R_f-Werte für die Dünnschicht-Chromatographie und Retentionszeiten für die HPLC zur Identifizierung der ^{18}F-Verbindungen mit den ^{19}F-analogen inaktiven Standardverbindungen erarbeitet. Andererseits werden die ^{19}F-

Referenzverbindungen benötigt, um mittels *in vitro*-Evaluierungen die Affinität der dargestellten Substanzen zum β2-Adrenozeptor zu bestimmen.
Die Synthese der Standard-Verbindungen erfolgt im Prinzip analog zur Darstellung der Markierungsvorläufer (s. Abb. 38). Auch hier gibt es drei prinzipielle Möglichkeiten: zum einen kann das Amin mit der reduzierten Carbonylverbindung **12** gekoppelt werden. Eine weitere Möglichkeit besteht in der Kopplung des Amins mit dem α-Bromketon **11** und nachfolgender Reduktion der Carbonylverbindung zum Alkohol. Die dritte Möglichkeit besteht in der Kopplung des Amins mit dem entsprechenden Oxiran **14**. Für die angestrebte Optimierung der Reaktionsparameter für die ^{18}F- bzw. ^{11}C-Markierung erscheint es außerdem sinnvoll, auch den vollständig benzylgeschützten ^{19}F- bzw. ^{12}C-Standard zu synthetisieren, um dann anschließend erst die Optimierung der Schutzgruppen-Abspaltung mittels der finalen, entschützten ^{19}F- bzw. ^{11}C-Standards durchzuführen, die auch zur *in vitro*-Testung verwendet werden sollen.

3.5.1 Synthese von 2-(Benzyl-(2-[4-(2-fluorethoxy)phenyl]-1-methylethyl)amino)-1-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)ethanol (20)

Entsprechend der ersten Möglichkeit im Retrosynthese-Schema der ^{19}F-Referenzverbindungen (Abb. 19) kann 1-(3,5-Bisbenzyloxy-phenyl)-2-bromethanol (**12**) aus der Synthese des Markierungsvorläufers **9** als Baustein übernommen werden. Die Amin-Komponente Benzyl-(2-[4-(2-fluorethoxy)phenyl]-1-methylethyl)amin (**21**) dagegen muss in einer zweistufigen Synthese dargestellt werden. Hierzu wird zunächst 4-Hydroxyphenylaceton (**4**) mittels 1-Brom-2-Fluorethan fluorethyliert. C. F. H. Allen et al. schlagen hierfür die Verwendung von Kaliumcarbonat als Hilfsbase vor [131]. Dies hat zum einen den Vorteil, dass die Nukleophilie des Phenolat-Anions deutlich höher ist als die der Phenolgruppe, zum anderen können überschüssiges Kaliumcarbonat sowie abreagiertes Kaliumhydrogencarbonat nach Beendigung der Reaktion einfach abfiltriert werden, da beide im Lösungsmittel Aceton nicht löslich sind.

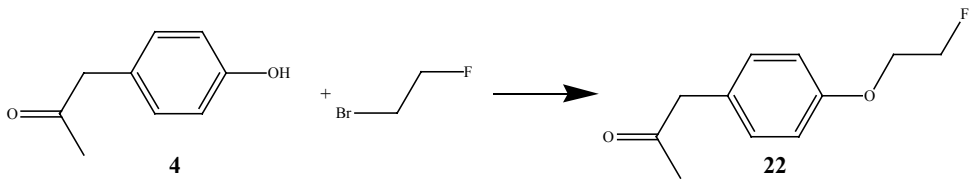


Abb. 39: Synthese von 1-[4-(2-Fluorethoxy)phenyl]propan-2-on (**22**)

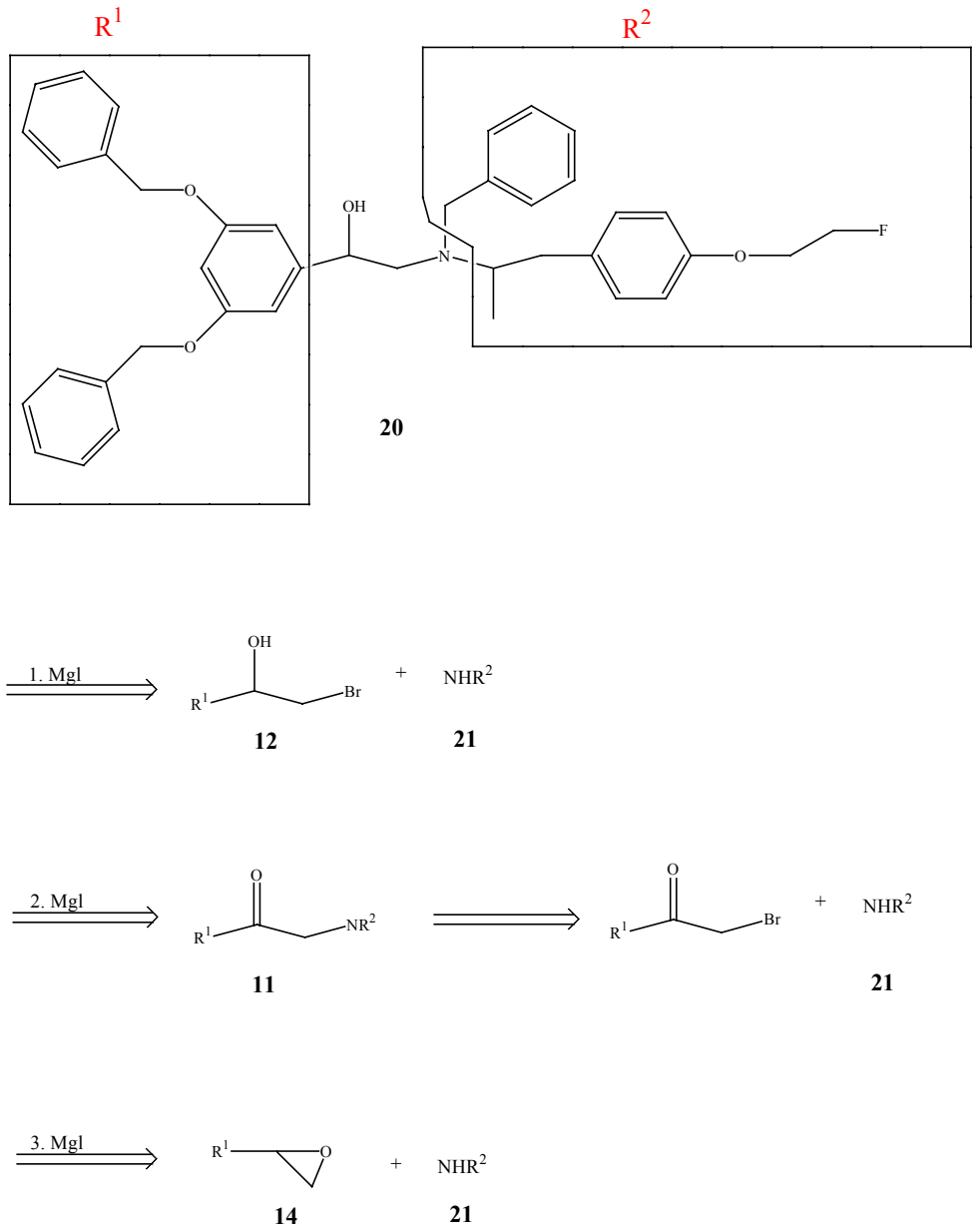
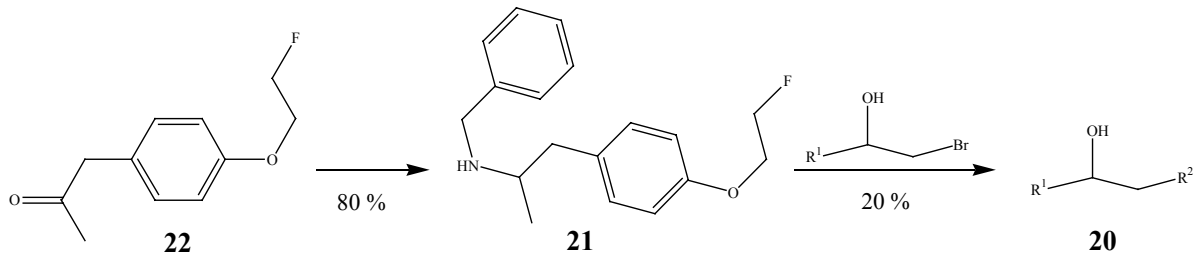


Abb. 38: mögliche Retrosynthesewege des nicht-radioaktiven Markierungsstandards **20** zur ^{18}F-Alkylierung mit 2-[^{18}F]Fluorethyltosylat oder 1-Brom-2-[^{18}F]fluorethan

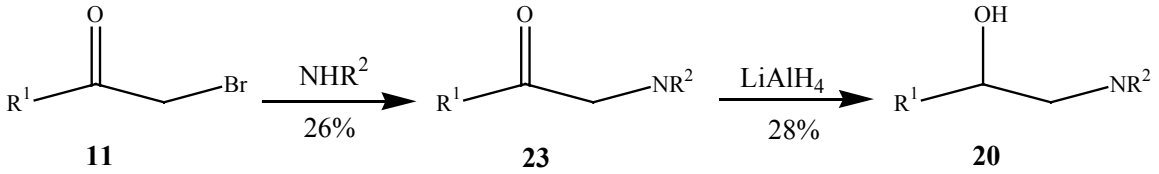
Die anschließende reduktive Aminierung von 1-[4-(2-Fluorethoxy)phenyl]propan-2-on (**22**) zu Benzyl-(2-[4-(2-fluorethoxy)phenyl]-1-methylethyl)amin (**21**) erfolgt mit Benzylamin und Wasserstoff im Autoklaven bei 4 bar am Platin/Kohlenstoff-Katalysator nach [118]. Die anschließende Kopplung von **12** und **21** kann in DMSO bei 160°C erfolgen. Die Ausbeuten sind allerdings gering, und die Reaktionsdauer mit 48 Stunden relativ lang. Anhand der DC-Kontrolle der Reaktion lässt sich die Bildung von thermischen Zersetzungsprodukten verfolgen.



22 **21** **20**

Abb. 40: Synthese des ^{19}F-Standards 2-(Benzyl-(2-[4-(2-fluorethoxy)phenyl]-1-methylethyl)amino)-1-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)ethanol (**20**) nach der 1. Möglichkeit aus Abb. 38

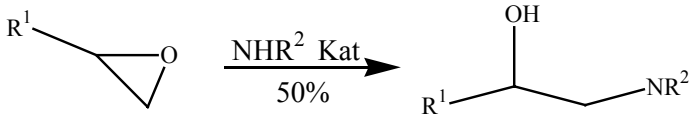
Entsprechend der zweiten Möglichkeit im Retrosynthese-Schema (Abb 38) kann auch die fluorethylierte Amin-Komponente **21** direkt mit dem α-Bromketon **11** gekoppelt werden, wobei anschließend die Reduktion der Carbonylfunktion zum Alkohol erfolgen muss. In Analogie zur Synthese des Markierungsvorläufers **9** erfolgt die Kopplung von 1-(3,5-Bisbenzyloxy-phenyl)-2-brom-ethanon (**11**) mit equimolaren Mengen Benzyl-(2-[4-(2-fluorethoxy)phenyl]-1-methylethyl)amin (**21**) in THF. Man erhält Ausbeuten von 25% unter Rückgewinnung eines erheblichen Anteils der Amin-Komponente, die in Form des Hydrobromids nach dem Abkühlen des Reaktionsgemisches ausfällt. Die anschließende Reduktion mit Lithiumaluminiumhydrid wird ebenfalls in Analogie zur Markierungsvorläufer-Synthese der Verbindung **9** durchgeführt. Die Ausbeuten sind allerdings mit 28% erheblich schlechter. Mittels DC kann eine Spaltung des Fluorethylethers unter diesen reduktiven Bedingungen nachgewiesen werden.



11 **23** **20**

Abb. 41: Synthese des ^{19}F-Standards 2-(Benzyl-(2-[4-(2-fluorethoxy)phenyl]-1-methylethyl)amino)-1-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)ethanol (**20**) nach der 2. Möglichkeit aus Abb. 38

Bei der dritten Möglichkeit der Darstellung der nicht-radioaktiven Standardverbindung 2-(Benzyl-(2-[4-(2-fluorethoxy)phenyl]-1-methylethyl)amino)-1-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)ethanol (**20**) schliesslich wird 2-(3,5-Bisbenzyloxy-phenyl)oxiran (**14**) mit Benzyl-(2-[4-(2-fluorethoxy)-phenyl]-1-methylethyl)amin (**21**) gekoppelt. In DMSO ohne Katalysator bei erhöhten Reaktionstemperaturen können Ausbeuten von bis zu 25% erreicht werden. Wesentlich effektiver verläuft die Kopplung allerdings unter Verwendung von Ytterbiumtriflat als Katalysator. Hier können bei Raumtemperatur innerhalb von 1 Stunde Ausbeuten von 50% erhalten werden. Bei längeren Reaktionszeiten nimmt die Ausbeute allerdings stark ab, da es zu einer Zersetzung des Moleküls kommt.

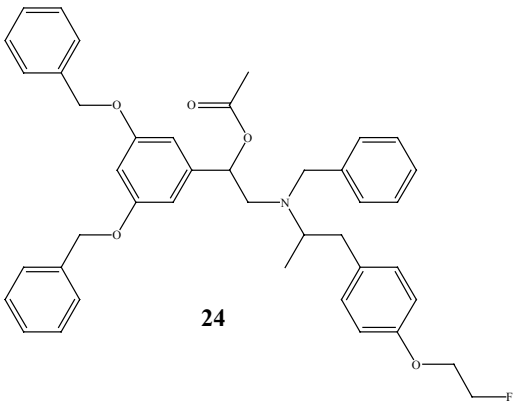


14 **20**

Abb. 42: Synthese des ^{19}F-Standards 2-(Benzyl-(2-[4-(2-fluorethoxy)phenyl]-1-methylethyl)amino)-1-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)ethanol (**20**) nach der 3. Möglichkeit aus Abb. 38

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass für die Synthese des benzylgeschützten nicht-radioaktiven Markierungsstandards 2-(Benzyl-(2-[4-(2-fluorethoxy)phenyl]-1-methylethyl)amino)-1-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)ethanol (**20**) die dritte Möglichkeit über die Kopplung des Oxirans **14** mit der fluorethylierten Amin-Komponente **21** die besten Ausbeuten von insgesamt 37% erzielt werden können. Die anderen Möglichkeiten dagegen liefern lediglich Gesamtausbeuten von 5,5 bzw. 3,7%.

3.5.2 Synthese von Essigsäure-2-(benzyl-(2-[4-(2-fluorethoxy)phenyl]-1-methylethyl)-amino)-1-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)ethylester (24)



24

Abb. 43: ^{19}F-Markierungsstandard Essigsäure-2-(benzyl-(2-[4-(2-fluorethoxy)phenyl]-1-methylethyl)amino)-1-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)ethylester **(24)**

Für die Synthese von Essigsäure-2-(benzyl-(2-[4-(2-fluorethoxy)phenyl]-1-methylethyl)amino)-1-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)ethylester (**24**) als Markierungsstandard zur ^{18}F-Direktfluorierung geht man von 2-(Benzyl-(2-[4-(2-fluorethoxy)phenyl]-1-methylethyl)amino)-1-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)ethanol (**20**) aus, welches mittels Essigsäureanhydrid an der aliphatischen Hydroxyfunktion acetyliert wird. Um diese sterisch recht gehinderte OH-Gruppe in hohen Ausbeuten zu acetylieren, wird Ytterbiumtoluolsulfonat als Katalysator verwendet. Besonders einfach in der Handhabung

wird dies durch den Einsatz von polymer gebundenem Ytterbiumtoluolsulfonat, welches nach erfolgter Reaktion durch einfaches Abfiltrieren aus dem Reaktionsgemisch entfernt werden kann.

3.5.3 Synthese von 5-(2-(2-[4-(2-Fluorethoxy)phenyl]-1-methylethylamino)-1-hydroxyethyl)-benzen-1,3-diol (25)

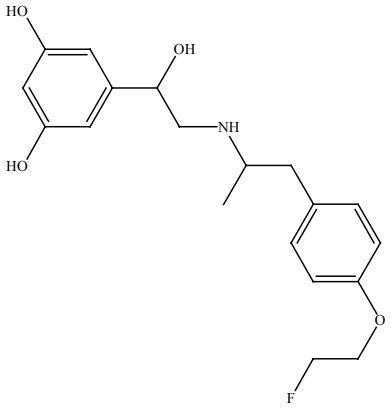
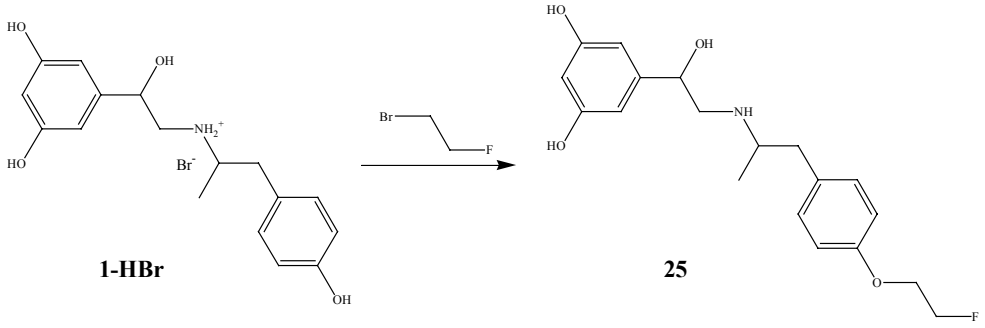


Abb. 44: ^{19}F-Standard 5-(2-(2-[4-(2-Fluorethoxy)phenyl]-1-methylethylamino)-1-hydroxyethyl)-benzen-1,3-diol **(25)**

Die Synthese des finalen entschützten ^{19}F-Standards 5-(2-(2-[4-(2-Fluorethoxy)phenyl]-1-methylethylamino)-1-hydroxyethyl)benzen-1,3-diol (**25**) erfolgt durch Debenzylierung des benzylgeschützen Markierungsstandards **20**. Zunächst wurde versucht, die Benzylschutzgruppen durch Säurekatalyse abzuspalten [110]. Die O-Benzylgruppen wurden auch bereits bei pH 3 abgespalten, die N-Benzylgruppe erforderte jedoch einen pH von < 1, welches in einer Spaltung des Fluorethylethers resultierte. Aus diesem Grund wurde eine reduktive Abspaltung mit Palladium auf Kohlenstoff als Katalysator durchgeführt. Hier reicht bereits Wasserstoff bei Normaldruck aus, der durch die Reaktionslösung in absolutem Methanol geperlt wird, arbeiten unter Druck ist nicht notwendig.
Eine andere Möglichkeit, den finalen Standard 5-(2-(2-[4-(2-Fluorethoxy)phenyl]-1-methylethylamino)-1-hydroxyethyl)benzen-1,3-diol (**25**) zu erhalten, ergibt sich aus der direkten Fluorethylierung von Fenoterol-Hydrobromid (**1**-HBr), welches von der Firma Boehringer Ingelheim zur Verfügung gestellt wurde (Abb. 45).

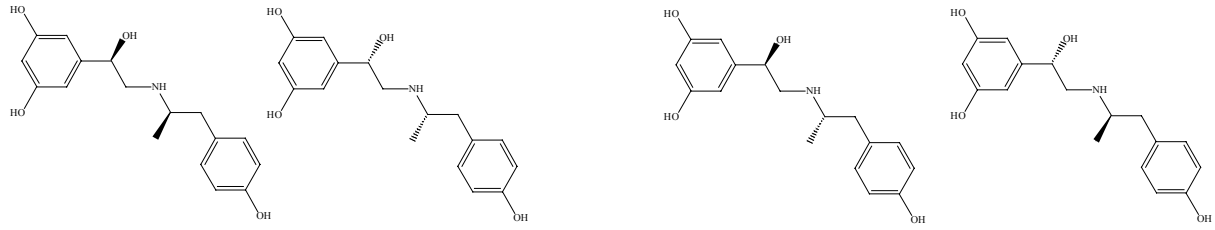


1-HBr **25**

Abb. 45: Synthese des ^{19}F-Standards 5-(2-(2-[4-(2-Fluorethoxy)phenyl]-1-methylethylamino)-1-hydroxyethyl)benzen-1,3-diol (**25**) aus Fenoterol-Hydrobromid

Die Fluoralkylierung gelingt mit einem doppeltmolaren Basenzusatz von Kaliummethanolat, der zum einen Fenoterol (**1**) aus seinem Hydrobromid freisetzt und zum andern eine der phenolischen Hydroxyfunktionen deprotoniert. Interessanterweise entstand das gewünschte Produkt mit einer Ausbeute von 44%, während eine Fluorethylierung an einer der resorcinolischen Hydroxyfunktionen nur zu 20% stattfand. Mit den aus der Literatur abgeschätzten pK_a-Werten (9,15 für die erste resorcinolische OH-Funktion und 9,7 für die phenolische OH-Funktion) wäre die ausschließliche Fluorethylierung einer der beiden resorcinolischen Hydroxyfunktionen zu erwarten gewesen, da der pK_a-Wert der ersten der Resorcinol-Hydroxyfunktionen deutlich unter dem pK_a-Wert der phenolischen OH-Funktion liegen sollte [132].

3.5.4 Bemerkungen zur Stereochemie



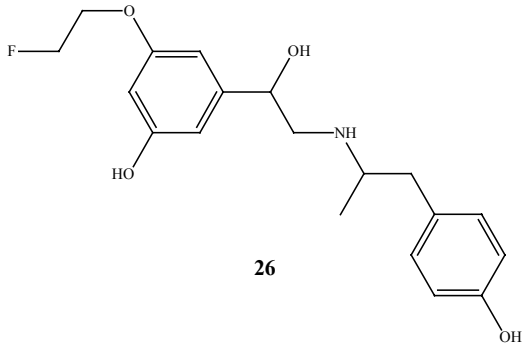
(R,R) (S,S) (R,S) (S,R)

Abb. 46: 4 Stereoisomere des Fenoterols (**1**)

Das von Boehringer Ingelheim zur Verfügung gestellte Fenoterol-Hydrobromid ist ein Gemisch aus 2 Enantiomeren, nämlich (R,R)- und (S,S)-Fenoterol. Diese beiden Enantiomere lassen sich im NMR nicht unterscheiden. Lediglich bei Aufgabe auf eine chirale HPLC-Säule (z.B. Chirex 3022 der Firma Phenomenex) können diese beiden Enantiomere getrennt werden. Bei der Verwendung von n-Hexan/1,2-Dichlorethan/Methanol/Trifluoressigsäure (230/140/30/1) als Eluens besitzt eines der beiden Isomere eine Retentionszeit von 22 Minuten, das andere von 24 Minuten. Da die Fluorethylierung räumlich weit entfernt von den beiden Stereozentren des Moleküls stattfindet, ist

eine Veränderung der Stereozentren durch die Reaktion unwahrscheinlich. So zeigt auch das Chromatogramm des fluorethylierten Fenoterols [(R,R), (S,S)-25] unter den gleichen Bedingungen den gleichen Habitus, mit einer Verschiebung der Retentionszeiten auf 14,5 bzw. 17 Minuten (Chromatogramme siehe Anhang B).
Der finale ^{19}F-Standard **25**, Fluorethyl-Fenoterol, der nach einer Totalsynthese und anschließender Debenzylierung von 2-(Benzyl-(2-[4-(2-fluorethoxy)phenyl]-1-methylethyl)amino)-1-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)ethanol erhalten wird, besteht dagegen aus 4 Stereoisomeren. Diese 4 Isomere bilden je 2 Enantiomerenpaare, die sich zueinander diastereomer verhalten [(R,R)- und (S,S)-, sowie (R,S)- und (S,R)-**25**]. Konsequenterweise zeigen sich im NMR dieser totalsynthetisch aufgebauten Verbindung charakteristische Doppelpeaks und Aufspaltungen, da sich Diastereomere im NMR unterscheiden lassen. Diasterotope Protonen sowie Protonen, die den Stereozentren benachbart sind, erscheinen als Doppelpeaks. Gibt man dieses racemische Gemisch aus 4 Stereoisomeren unter den gleichen Bedingungen wie oben auf die chirale Säule, so lässt sich im Chromatogramm kein Unterschied feststellen. Auf einer „normalen“, d.h. nicht-chiralen Säule wie z.B. eine LiChrospher oder eine Luna-Säule der Firma Phenomenex dagegen lassen sich die Diastereomerenpaare ebenso trennen wie über eine konventionelle Kieselgel-Schwerkraftsäule (s. experimentellen Teil). Gibt man die solchermaßen getrennten Diastereomerenpaare jeweils unter den gleichen Bedingungen wie oben auf die Chirex 3022-HPLC-Säule, so erhält man zwei absolut identische Chromatogramme. Wenn das racemische Gemisch aus allen vier Stereoisomeren auf die chirale Säule gegeben und die beiden Peaks getrennt aufgefangen werden, so zeigt das NMR der aufgefangenen Peaks noch die charakteristische Aufspaltung eines Diastereomerengemisches.
Daraus lässt sich schließen, dass die Auftrennung der Enantiomeren auf dieser Chirex-Säule auf der Wechselwirkung der Säule mit nur *einem* Stereozentrum beruht und deshalb eine direkte Trennung des Racemats in die 4 Stereoisomere mit Hilfe dieser Säule nicht möglich ist. Da jedoch die Diastereomerenpaare makroskopisch über Kieselgel oder in geringen Mengen über konventionelle HPLC-Säulen getrennt werden können, gelingt es mit der Chirex 3022-Säule, sowohl die ^{19}F-Referenzverbindung **25**, als auch analog die ^{18}F-Verbindung [^{18}F]**25** enantiomerenrein zu erhalten.
Die Zuordnung der Enantiomeren zu ihrer absoluten Konfiguration ist einwandfrei nur über eine Röntgenstruktur-Analyse möglich. Da es jedoch nicht gelang, Einkristalle von hinreichender Größe zu erhalten, blieb dieser Weg versperrt. Es sollte jedoch möglich sein, über entsprechende Funktionalitäts-Studien der ^{19}F-Verbindungen (**25**) an isolierten β2-Adrenozeptoren eine Zuordnung der Enantiomere zu ihrer absoluten Konfiguration zu ermöglichen, da die Reihenfolge ihrer Potenz bekannt ist [133]. Ebenfalls möglich wäre damit eine Zuordnung über die ^{18}F-Verbindungen ([^{18}F]**25**), da im Falle des affinsten Liganden (R,R)-Fluorethyl-Fenoterol [(R,R)**25**] auch die höchste Anreicherung in der Lunge, oder aber das beste Verhältnis von spezifischer zu unspezifischer Bindung in Geweben, die eine hohe β2-Adrenozeptordichte aufweisen, gefunden werden sollte.

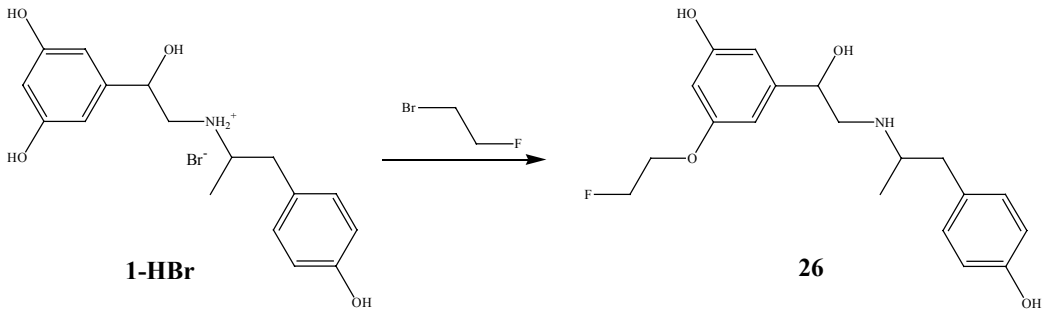
3.5.5 Synthese von 3-(2-Fluorethoxy)-5-(1-hydroxy-2-((2-(4-hydroxyphenyl)-isopropyl)amino)ethyl)phenol (26)



26

Abb. 47: 3-(2-Fluorethoxy)-5-(1-hydroxy-2-((2-(4-hydroxyphenyl)isopropyl)amino)ethyl)-phenol (**26**)

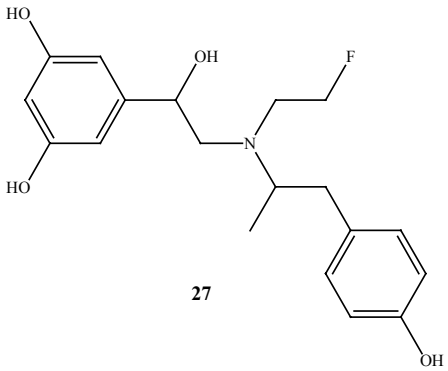
Um eine Charakterisierung der wichtigsten potentiellen Nebenprodukte bei der ^{18}F-Fluorethylierung zu ermöglichen, wurde auch 3-(2-Fluorethoxy)-5-(1-hydroxy-2-((2-(4-hydroxyphenyl)-isopropyl)amino)ethyl)phenol (**26**) dargestellt. Diese Verbindung sollte bei der Reaktion von 2-[^{18}F]Fluorethyltosylat mit dem von Boehringer Ingelheim zur Verfügung gestellten Fenoterol gebildet werden, da die pK_a-Werte, die aus der Literatur abgeschätzt werden können, nahelegen, dass aufgrund der höheren Acidität von Resorcinol-artigen Hydroxyfunktionen im Vergleich zu phenolischen OH-Funktionen eine Deprotonierung zunächst an einer der Resorcinol-OH-Funktionen stattfindet [132]. Die Synthese von **26** erfolgte durch Umsetzung von Fenoterol-Hydrobromid (**1**-HBr) mit 1-Brom-2-Fluorethan in DMF unter Katalyse von Natriumiodid mit Ausbeuten von 10%.



1-HBr **26**

Abb. 48: Synthese von 3-(2-Fluorethoxy)-5-(1-hydroxy-2-((2-(4-hydroxyphenyl)-isopropyl)-amino)ethyl)phenol (**26**)

3.5.6 Synthese von 5-(2-((2-Fluorethyl)-[2-(4-hydroxyphenyl)-1-methylethyl]amino)-1-hydroxyethyl)benzen-1,3-diol (27)



27

Abb. 49: 5-(2-((2-Fluorethyl)-[2-(4-hydroxyphenyl)-1-methylethyl]amino)-1-hydroxyethyl)benzen-1,3-diol (**27**)

Auch diese Verbindung könnte bei der Umsetzung von 2-[^{18}F]Fluorethyltosylat mit Fenoterol gebildet werden. Allerdings erfolgt diese Reaktion beim makroskopischen Umsatz von Fenoterol (**1**) mit 1-Brom-2-Fluorethan nicht, so dass diese Verbindung in einer mehrstufigen Synthese aufgebaut werden muss (s. Abb. 50).
Die gewünschte Verbindung wird durch Debenzylierung von 2-[[2-(4-Benzyloxy-phenyl)-1-methylethyl]-(2-fluorethyl)amino]-1-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)ethanol (**28**) erhalten. **28** seinerseits kann durch die Kopplung des bereits bekannten Oxiran-Derivates **14** mit dem entsprechenden Amin, [2-(4-Benzyloxy-phenyl)-1-methylethyl]-(2-fluorethyl)amin, dargestellt werden. Allerdings kann die benötigte Amin-Komponente nur über eine vierstufige Synthese dargestellt werden (s. Abb. 51). Die erste Stufe ist eine Synthese, die bereits zur Darstellung des Markierungsvorläufers **9** durchgeführt wurde. Die anschließende Debenzlierung der Aminofunktion gelingt relativ gut mit Ausbeuten von 60%.

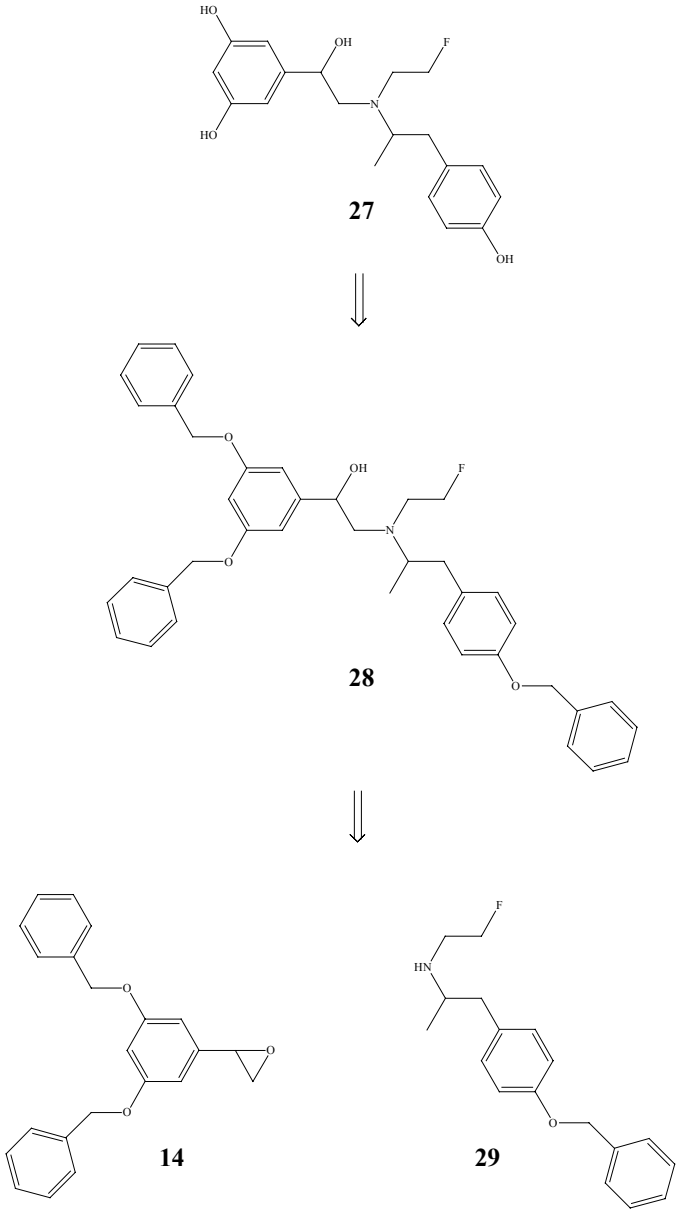


Abb. 50: Teilretrosynthese-Schema zur Synthese der Verbindung 5-(2-((2-Fluorethyl)-[2-(4-hydroxyphenyl)-1-methylethyl]amino)-1-hydroxyethyl)benzen-1,3-diol (**27**)

Die folgende Benzylierung der phenolischen OH-Funktion in Anwesenheit einer primären Aminofunktion gelingt mit 40% Ausbeute, falls eine Base verwendet wird. Ohne Basenzusatz stellt die Aminofunktion die nukleophilere Gruppe dar, und es kommt zu einer Benzylierung, wobei wieder 4-(2-Benzylaminopropyl)phenol (**13**) aus der 1. Stufe erhalten wird. Die anschließende Fluorethylierung liefert schließlich das gewünschte Amin **29**, [2-(4-Benzyloxy-phenyl)-1-methylethyl]-(2-fluorethyl)amin, in Ausbeuten von 75 %.

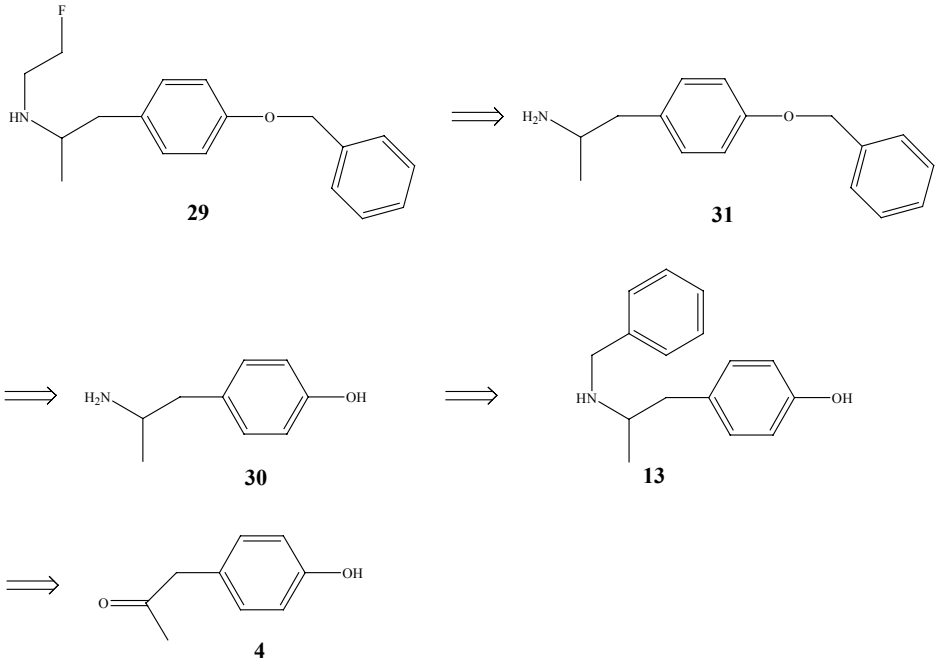


Abb. 51: Retrosynthese-Schema zur Synthese von [2-(4-Benzyloxy-phenyl)-1-methylethyl]-(2-fluorethyl)amin (**29**)

Die Oxiran-Öffnung durch das Amin gelingt ausschließlich bei Verwendung von Ytterbium-Triflat als Katalysator, alle anderen bei der Synthese des Markierungsvorläufers **9** getesteten Katalysatoren führen nicht zum gewünschten Produkt. Aber auch mit Ytterbiumtriflat können lediglich Ausbeuten von 25% realisiert werden. Der Grund hierfür liegt vermutlich in der äußerst geringen Nukleophilie des Amins, die durch Ersatz einer Benzylgruppe durch einen Fluorethylrest resultiert. Auch die finale Abspaltung der Benzyl-Schutzgruppen der drei aromatischen Hydroxyfunktionen gelingt nur mit 25% Ausbeute, so dass die Gesamtausbeute für die Synthese von 5-(2-((2-Fluorethyl)-[2-(4-hydroxyphenyl)-1-methylethyl]amino)-1-hydroxyethyl)benzen-1,3-diol (**27**) nur bei 1% liegt.

3.5.7 Synthese von 2-(Benzyl-[2-(4-methoxyphenyl)-1-methylethyl]amino-1-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)ethanol (32)

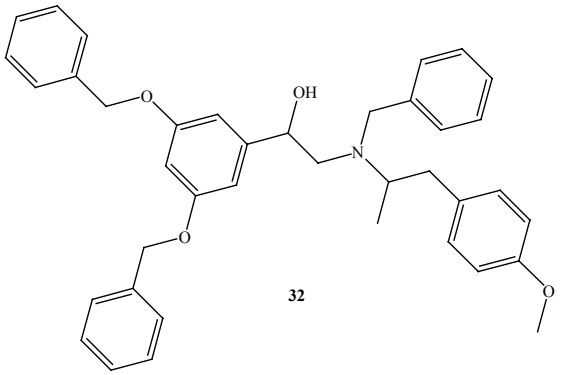


Abb. 52: Markierungsvorläufer 2-(Benzyl-[2-(4-methoxyphenyl)-1-methylethyl]amino-1-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)ethanol **(32)**

Analog zur Synthese der ^{19}F-Referenzverbindung 2-(Benzyl-(2-[4-(2-fluorethoxy)phenyl]-1-methylethyl)amino)-1-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)ethanol (**20**) kann auch die ^{12}C-Referenzverbindung zur Synthese der ^{11}C-markierten Verbindung ausgehend vom bereits bekannten Oxiran-Derivat **14** und dem entsprechenden Amin nach drei Möglichkeiten erfolgen (vgl. Abb. 38). Da jedoch bereits gezeigt wurde, dass die dritte Möglichkeit mit den weitaus besten Ausbeuten realisiert werden kann, wurde auf die Durchführung der ersten beiden Möglichkeiten verzichtet (Abb. 53).

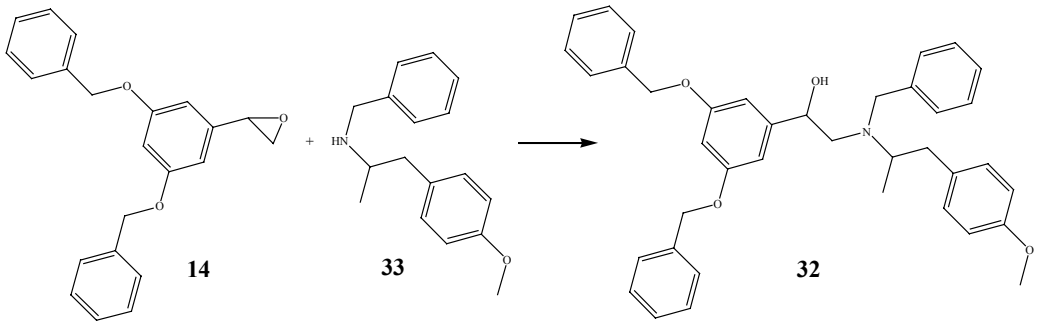
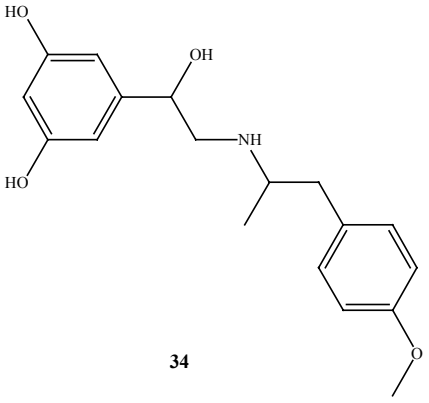


Abb. 53: Darstellung des ^{12}C-Markierungsstandards 2-(Benzyl-[2-(4-methoxyphenyl)-1-methylethyl]amino-1-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)ethanol **(32)**

Im Gegensatz zur Kopplung des Oxirans **14** mit Amin **21** zur Darstellung der ^{19}F-Referenzverbindung **20**, welche wenn auch mit geringen Ausbeuten auch ohne Verwendung eines Katalysators nur durch eine erhöhte Reaktionstemperatur erzwungen werden konnte, gelingt die Kopplung mit dem Benzyl-[2-(4-methoxyphenyl)-1-methylethyl]amin (**33**) ausschließlich bei Verwendung eines Katalysators. Ytterbiumtriflat als Katalysator ermöglicht bei dieser Reaktion

Ausbeuten von knapp 60% innerhalb von 30 Minuten. Allerdings führen längere Reaktionszeiten zu deutlichen Ausbeute-Einbußen, da sich das Produkt wieder zersetzt. NMR-Spektroskopie der Zersetzungsprodukte zeigt deutlich eine Spaltung des Methyl-Arylethers, wahrscheinlich induziert durch den Katalysator Ytterbiumtriflat und das gleichzeitige Vorhandensein der Aminkomponente **33**. Das methylierte Amin Benzyl-[2-(4-methoxyphenyl)-1-methylethyl]amin selbst wird analog zu 4-(2-Benzylaminopropyl)phenol (**13**) durch reduktive Aminierung von kommerziell erhältlichem 1-(4-Methoxyphenyl)propan-2-on mit Benzylamin und Wasserstoff im Autoklaven bei 5 bar dargestellt. Die Gesamtausbeute dieser Synthese beläuft sich auf 30%.

3.5.8 Synthese von 5-(1-Hydroxy-2-[2-(4-methoxyphenyl)-1-methylethylamino]ethylbenzen-1,3-diol (34)



34

Abb. 54: ^{12}C-Standard 5-(1-Hydroxy-2-[2-(4-methoxyphenyl)-1-methylethylamino]ethyl-benzen-1,3-diol **(34)**

Der finale, entschützte ^{12}C-Standard 5-(1-Hydroxy-2-[2-(4-methoxyphenyl)-1-methylethylamino]-ethylbenzen-1,3-diol (**34**) kann durch Debenzylierung von 2-(Benzyl-[2-(4-methoxyphenyl)-1-methylethyl]amino-1-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)ethanol (**32**) mit Wasserstoff am Palladium-Katalysator in Ausbeuten von 45% erhalten werden.
Auch für diese Verbindung gilt das in Abschnitt 3.5.4 Gesagte zur Stereochemie. Die Retentionszeiten auf der Chirex 3022-Säule unter identischen Bedingungen wie oben ergeben sich zu 13 Minuten bzw. 14,5 Minuten für die beiden Enantiomere eines jeden Diastereomerenpaares von 5-(1-Hydroxy-2-[2-(4-methoxyphenyl)-1-methylethylamino]ethyl-benzen-1,3-diol.

4 Radioaktive Markierungen

Im Rahmen der ^{18}F- und ^{11}C-Markierungen wurden die radiochemischen Ausbeuten bei der Umsetzung der Markierungsvorläufer **1**, **9** und **17** mit [^{18}F]Fluorid, 2-[^{18}F]Fluorethyltosylat ([^{18}F]FETos), 1-Brom-2-[^{18}F]Fluorethan ([^{18}F]BFE) und [^{11}C]Methyliodid untersucht und optimiert. Bei der Optimierung wurden als Reaktionsparameter die Reaktionstemperatur, Reaktionsdauer, Lösungsmittel, Art der Hilfsbasen, Basenkonzentration und Markierungsvorläuferkonzentration untersucht.
Bei den Markierungsreaktionen handelt es sich auf Grund der Reaktionsbedingungen stets um bimolekulare nukleophile Substitutionen (S_N2). Durch die Wahl geeigneter Reaktionsbedingungen lassen sich Eliminierungs- und Umlagerungsreaktionen vermeiden, was im Hinblick auf die mögliche Bildung von leichtflüchtigen radioaktiven Verbindungen von Bedeutung ist.

4.1 Radioaktive Markierung von 4-(2-(Benzyl-[2-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)-2-hydroxyethyl]amino)propyl)phenol (9) mit 2-[^{18}F]Fluorethyltosylat zu 2-(Benzyl-(2-[4-(2-[^{18}F]fluorethoxy)phenyl]-1-methylethyl)amino-1-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)ethanol ([^{18}F]20)

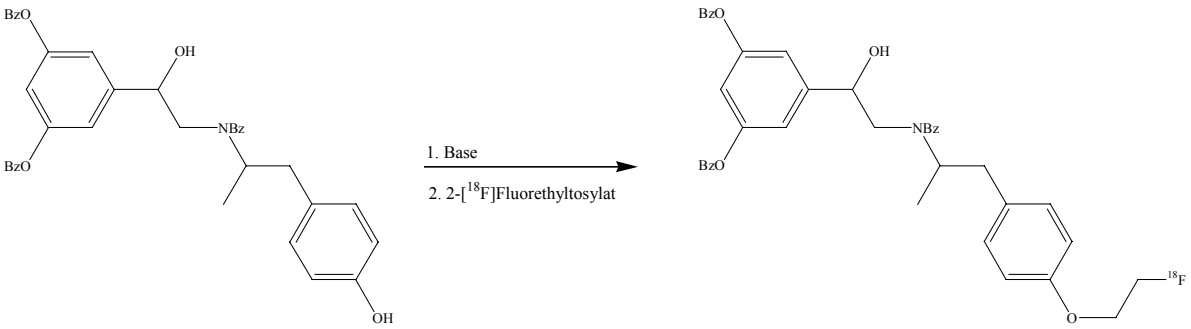


Abb. 55: ^{18}F-Fluorethylierung von 4-(2-(Benzyl-[2-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)-2-hydroxyethyl]amino)propyl)phenol (**9**) mit 2-[^{18}F]Fluorethyltosylat zu [^{18}F]**20**

4.1.1 Abhängigkeit der RCA an [^{18}F]20 vom verwendeten Lösungsmittel

Nukleophile Substitutionen 2. Ordnung laufen in polar aprotischen Lösungsmitteln häufig bereitwilliger ab als in protischen Solventien. Dieser Effekt ist dadurch erklärbar, dass die Gegenionen der nukleophilen Anionen in Lösungsmitteln wie N,N-Dimethylformamid (DMF), Dimethylsulfoxid (DMSO) oder Acetonitril stark solvatisiert, und als Folge davon die Anionen von den Kationen getrennt sind, was ihre Nukleophilie drastisch erhöht. Diese Solventien haben sich zum einen auf Grund ihrer hohen Dielektrizitätskonstanten (DMSO: ε=47; DMF: ε=37; Acetonitril: ε=38) und ihres hohen Dipolmoments (DMSO: $\mu=13{,}7\cdot10^{-30}$ CM; DMF: $\mu=13\cdot10^{-30}$ CM), zum

anderen wegen ihrer hohen Siedepunkte (nukleophile aliphatische Substitutionen laufen zumeist erst bei höheren Temperaturen mit guten Ausbeuten ab) bei nukleophilen ^{18}F-Fluorethylierungen bewährt. Weiterhin gibt es Hinweise darauf, dass S_N2-Übergangszustände in aprotisch polaren Lösungsmitteln besser stabilisiert sind als in protischen Solventien [134]. Bei der ^{18}F-Fluorethylierung von 4-(2-(Benzyl-[2-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)-2-hydroxyethyl]amino)propyl)phenol (**9**) mit [^{18}F]FETos unter Verwendung einer Hilfsbase zur Deprotonierung der phenolischen Hydroxyfunktion steigt erwartungsgemäß die radiochemische Ausbeute (RCA) an 2-(Benzyl-(2-[4-(2-[^{18}F]fluorethoxy)-phenyl]-1-methylethyl)amino-1-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)ethanol ([^{18}F]**20**) mit zunehmender Polarität des Lösungsmittels an (Abb. 56). Besonders DMF und DMSO begünstigen eine Reaktion nach dem S_N2-Mechanismus.

Die Beobachtung, dass DMF und DMSO nahezu gleich hohe, Acetonitril jedoch nur geringe radiochemische Ausbeuten liefert, lässt sich nicht durch den Vergleich der Dielektrizitätskonstanten erklären. Diese unterscheiden sich nämlich erheblich und legen die Vermutung höherer RCA in den Solventien DMSO und Acetonitril nahe. Besonders die geringe radiochemische Ausbeute im Solvens Acetonitril fordert eine alternative theoretische Beschreibung der Ausbeutecharakteristik. Eine bessere Deutung der experimentellen Befunde gelingt mit Hilfe der Theorie des Übergangszustandes und dem Begriff der Donorzahlen [134].

Bei dieser Betrachtung steht die Fähigkeit eines Lösungsmittels zur Stabilisierung eines S_N2-Übergangszustandes im Vordergrund. Diese durch Donor-Akzeptor-Wechselwirkung von Elektronenpaar-Donor-Solventien wie DMSO und DMF mit der polaren, molekularen Spezies im Übergangszustand der S_N2-Reaktion führt zu einer Absenkung der Aktivierungsenergie und damit zu einem schnelleren kinetischen Profil.

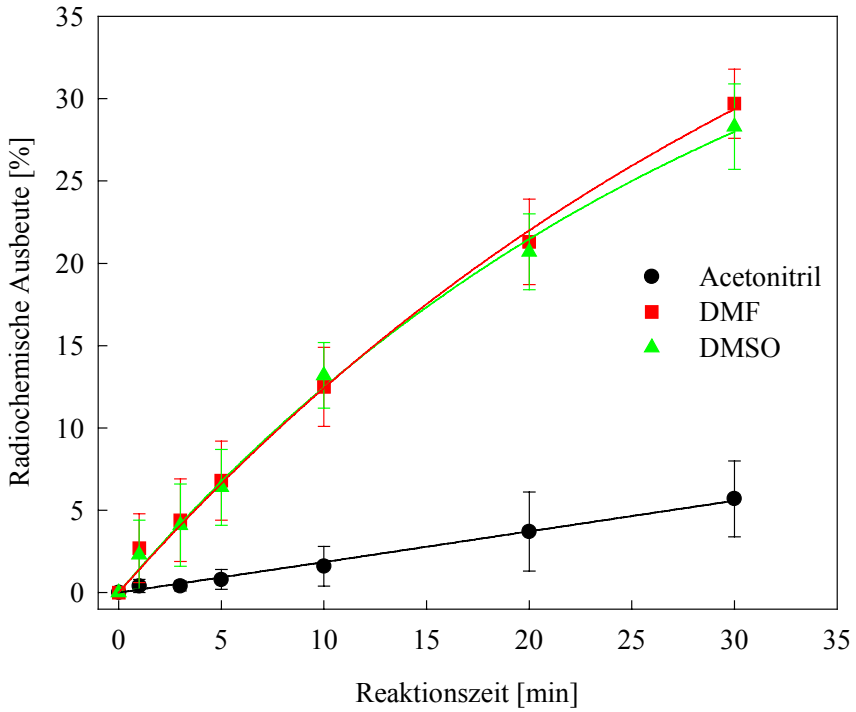


Abb. 56: Abhängigkeit der RCA an [^{18}F]**20** vom Solvens bei Verwendung von 2-[^{18}F]Fluorethyltosylat
(T=80°C, 1 Eqv. NaOH (1 N), Präcursorkonzentration 25 mmol/l)

Der direkte Vergleich der Donor-Zahlen von DMSO, DMF und Acetonitril (29.8; 23.7 und 11.9) bestätigt den experimentellen Befund. Letztendlich fiel die Wahl des Lösungsmittels im Hinblick auf eine saubere HPLC-chromatographische Isolierung des radioaktiv markierten Produktes auf DMF, da der Effekt des sogenannten Peak-Tailings bei DMF wesentlich geringer ist als bei DMSO.

4.1.2 Abhängigkeit der RCA an [^{18}F]20 von der verwendeten Hilfbase

Um den Markierungsvorläufer 4-(2-(Benzyl-[2-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)-2-hydroxyethyl]amino)-propyl)phenol (**9**) an der phenolischen Hydroyfunktion mit [^{18}F]FETos zu fluorethylieren, ist die Verwendung einer Hilfsbase zur Abstraktion des phenolischen Protons nötig. Mit der Bildung des Phenolations ändert sich die Nukleophilie der phenolischen OH-Funktion wesentlich. Das Phenolat-Anion stellt nunmehr im Vergleich mit der tertiären Aminofunktion das nukleophilste Zentrum im Molekül dar und ermöglicht eine selektive O-^{18}F-Fluorethylierung zu [^{18}F]**20**. In diesem Zusammenhang war die Frage wichtig, welche Basen generell für eine Deprotonierung geeignet sind. Daher wurde eine Vielzahl von Basen zur Unterstützung der O-selektiven ^{18}F-Fluorethylierung des Präcursors **9** auf ihre Eigenschaften als Deprotonierungsreagenzien untersucht. Um die direkte Vergleichbarkeit zu gewährleisten, wurden alle Basen equimolar eingesetzt. Es zeigt sich, dass nur wenige Basen den allgemeinen Verwendungskriterien genügen.

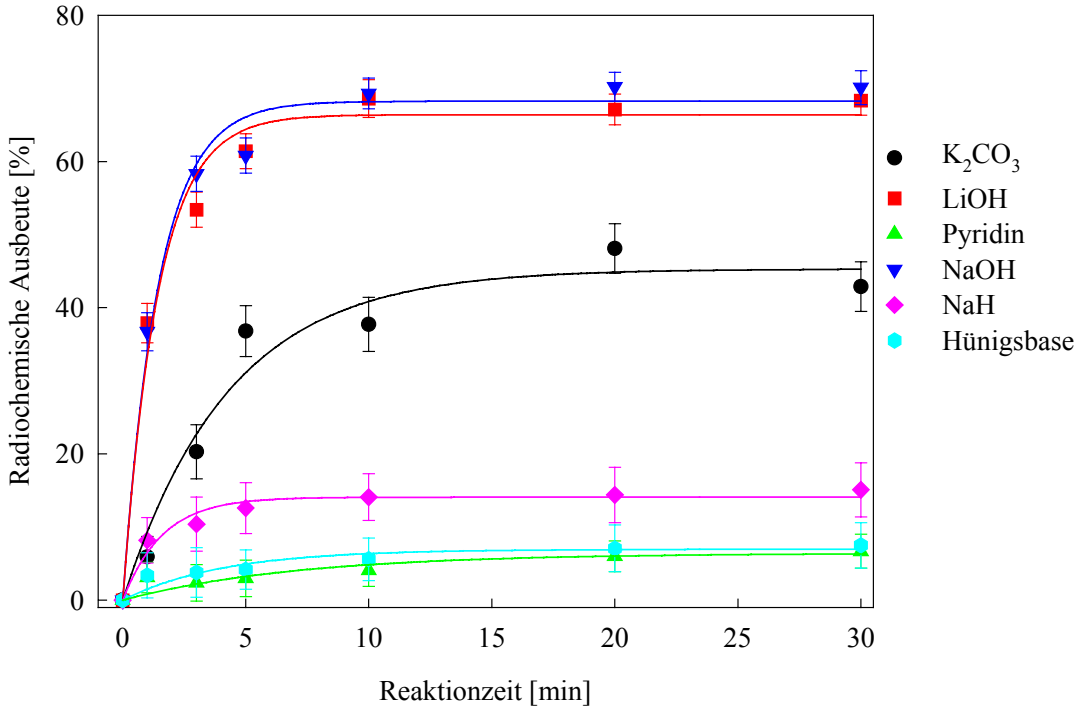


Abb. 57: Abhängigkeit der RCA an [^{18}F]**20** von der verwendeten Hilfsbase bei Verwendung von 2-[^{18}F]Fluorethyltosylat
(T= 120°C, 1 Eqiv. Base, DMF, Präcursorkonzentration 25 mmol/l)

Wie aus Abb. 57 ersichtlich, ergeben sich die höchsten radiochemischen Ausbeuten bei Verwendung von sehr starken Basen wie Natriumhydroxid oder Lithiumhydroxid. Gerade bei diesen Basen sollte das Gleichgewicht der Säure-Base-Reaktion vollständig auf Seiten des Phenolat-Anions liegen, womit sich die durchweg hohen radiochemischen Ausbeuten von ca. 70% an [^{18}F]**20** begründen lassen. Die geringen radiochemischen Ausbeuten bei Verwendung von Natriumhydrid als Base lassen sich nicht über die Basenstärke erklären, denn hier wäre eigentlich eine sehr hohe RCA zu erwarten gewesen. Durch die Abstraktion des Protons wird irreversibel Wasserstoff aus dem Reaktionsgemisch entfernt, so dass das Gleichgewicht eigentlich vollständig zu der Seite des Phenolat-Anions verschoben sein müsste. Der Grund für die geringe RCA an [^{18}F]**20** bei Verwendung von Natriumhydrid dürfte vielmehr in einer chemischen Zersetzung des Markierungsvorläufers **9** zu finden sein. Die Dünnschicht-chromatographische Verfolgung der Reaktion zeigt bereits nach 1 Minute Reaktionszeit mehrere neu entstandene nicht-radioaktive Spots sowie etliche radioaktive Spots. Eine plausible Erklärung hierfür könnte die leichte Metallierbarkeit des DMF mit Natriumhydrid sein, die zur Bildung eines nukleophilen Carbanions führt (s. Abb. 58), welches wiederum mit [^{18}F]FETos reagieren kann. Eine weitere Schwierigkeit bei der Verwendung von NaH als Base liegt in den hohen Messungenauigkeiten beim Abwiegen und daraus resultierenden Überkonzentrationen dieser Base. Während alle anderen Basen in der Form ihrer wässrigen Lösungen eingesetzt wurden, die mittels geeigneter Pipetten mit hoher Genauigkeit dosiert werden können, wurde Natriumhydrid als Pulver eingewogen, was speziell bei den geringen Mengen, die für solche Markierungsreaktionen notwendig sind, mit grossen Messungenauigkeiten behaftet ist.

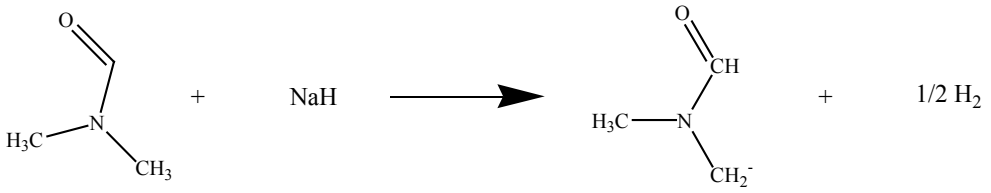


Abb. 58: Bildung des Dimethylformamid-Carbanions aus DMF und NaH

Die Verwendung von Ethyldiisopropylamin (Hünigsbase) besitzt in der präparativen Alkylierungschemie große Bedeutung, da sie nicht nukleophil genug ist, um selbst alkyliert zu werden. Allerdings reicht ihre Basenstärke offensichtlich nicht aus, um das phenolische Proton zu abstrahieren. Auch die zweite organische Base, Pyridin, erwies sich als nicht stark genug. Im folgenden wurden deshalb nur noch Lithiumhydroxid bzw. Natriumhydroxid in Form ihrer wässrigen Lösungen (1 N) verwendet, da sie die höchsten radiochemischen Ausbeuten liefern.

4.1.3 Abhängigkeit der RCA an [^{18}F]20 von der Basenkonzentration

Wesentlich für eine optimierte Markierungssynthese mit [^{18}F]FETos ist auch die Frage, in welchem Konzentrationsbereich der Hilfsbase die höchsten radiochemischen Ausbeuten erzielt werden

können. Die höchsten radiochemischen Ausbeuten von etwa 75% werden bei einem 1,5-fachen bis doppelten Basenzusatz erzielt. Zu erwarten gewesen wäre eine maximale RCA bei einem equimolaren Basenzusatz. Der experimentelle Befund lässt sich erklären, wenn man berücksichtigt, dass es sich beim Phenolat-Anion um eine schwache Base handelt, die mit dem gebildeten Wasser ebenfalls unter einer Säure-Base-Reaktion zum Phenol abreagieren kann.

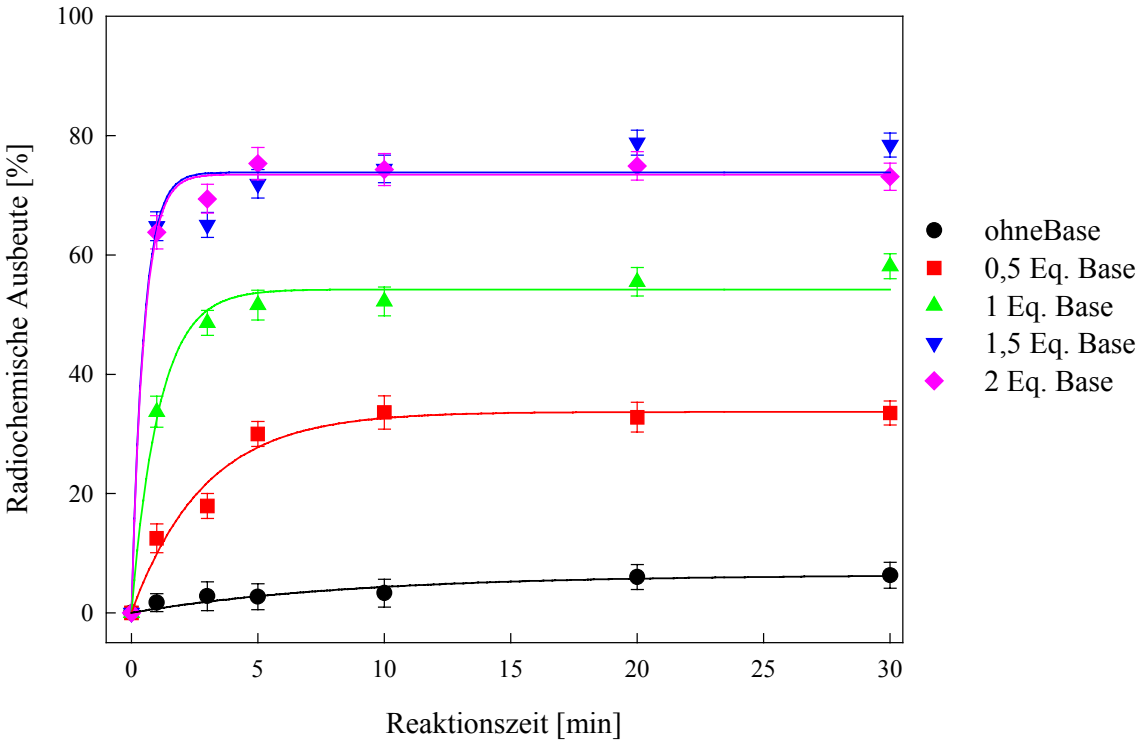


Abb. 59: Abhängigkeit der RCA an [^{18}F]**20** von der Basenkonzentration bei Verwendung von 2-[^{18}F]Fluorethyltosylat
(T= 120°C, DMF, NaOH, Präcursorkonzentration 25 mmol/l)

Bei erhöhtem Basenzusatz wird das Gleichgewicht aufgrund der erhöhten OH^--Ionenkonzentration vollständig auf die Seite des Phenolats verschoben. Erst bei einem dreifachen Basenüberschuss kommt es zu einer Zersetzung des gebildeten [^{18}F]**20**. Zunächst steigt die radiochemische Ausbeute auf einen Maximalwert von 30% innerhalb einer Minute an, um dann anschließend wieder auf 10% zu fallen. Die Radio-DC zeigt außerdem Zersetzungen des 2-[^{18}F]Fluorethyltosylates an.

4.1.4 Abhängigkeit der RCA an [^{18}F]20 von der Temperatur in Acetonitril

Wie aus Abbildung 60 ersichtlich, liegen die maximalen radiochemischen Ausbeuten bei der Verwendung von Acetonitril als Lösungsmittel bei 10-12% nach 30 Minuten Reaktionsdauer und einer Reaktionstemperatur von 80°C. Aufgrund seines Siedepunktes erlaubt Acetonitril keine höheren Reaktionstemperaturen, die jedoch nötig wären, um die in DMF oder DMSO erreichbaren

wesentlich höheren RCA zu erzielen. Auch der lineare Verlauf der Kinetik deutet daraufhin, dass in Acetonitril nicht die zur Erreichung der Aktivierungsenergie notwendige Reaktionstemperatur erreicht werden kann, denn auch nach 30 Minuten Reaktionsdauer steigt die radiochemische Ausbeute noch linear an. Acetonitril ist demnach zur Darstellung von [^{18}F]**20** nicht das geeignete Lösungsmittel.

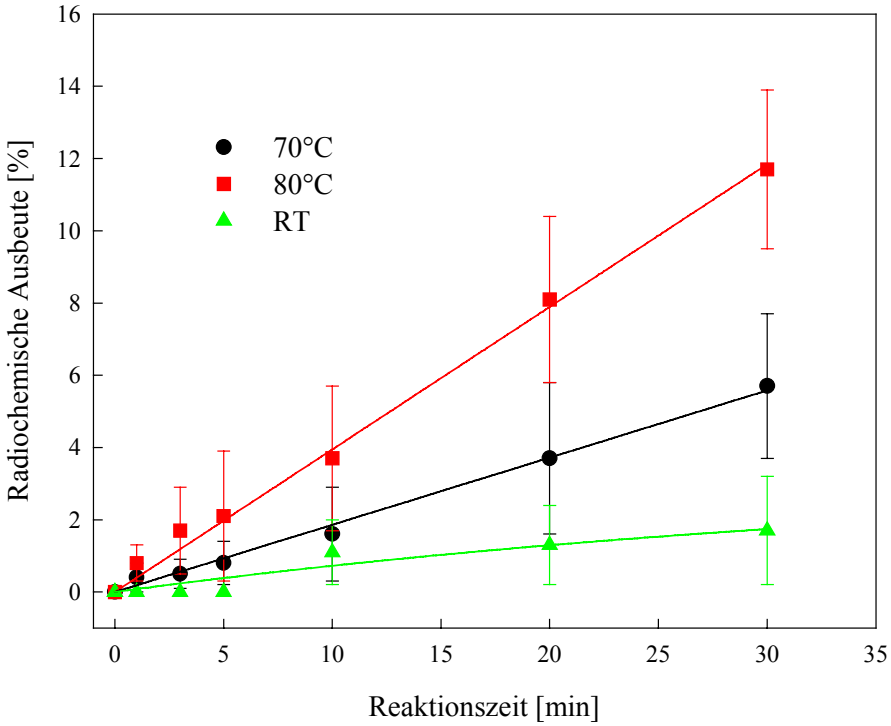


Abb. 60: Abhängigkeit der RCA an [^{18}F]**20** von der Reaktionstemperatur in Acetonitril bei Verwendung von 2-[^{18}F]Fluorethyltosylat
(2 Eqiv. NaOH, Präcursorkonzentration 25 mmol/l)

4.1.5 Abhängigkeit der RCA an [^{18}F]20 von der Temperatur in DMSO

Bereits beim Vergleich der radiochemischen Ausbeuten an [^{18}F]**20** in verschiedenen Lösungsmitteln konnte gezeigt werden, dass bei der dort eingehaltenen Reaktionstemperatur von 80°C auch nach 30 Minuten noch nicht das Ausbeutemaximum erhalten wurde. Deshalb wurden in DMSO ausschließlich höhere Temperaturen von 110, 120 und 130°C untersucht. Es konnte bereits bei der Darstellung der inaktiven ^{19}F-Referenzverbindung gezeigt werden, dass sich diese Verbindung bei Temperaturen ab 140°C thermisch zersetzt, so dass die maximale Reaktionstemperatur bei 130°C liegt.

Erwartungsgemäß zeigen alle drei Kinetiken einen Verlauf pseudo-erster Ordnung (Abb. 61). Das Maximum der radiochemischen Ausbeuten an [^{18}F]**20** von 75% wird bereits nach 7 Minuten Reaktionszeit erreicht, die verschiedenen Reaktionstemperaturen haben im Rahmen der

Messgenauigkeiten kaum Einfluss auf die Reaktionsgeschwindigkeit oder die RCA, so lange sie oberhalb von 100°C liegen.

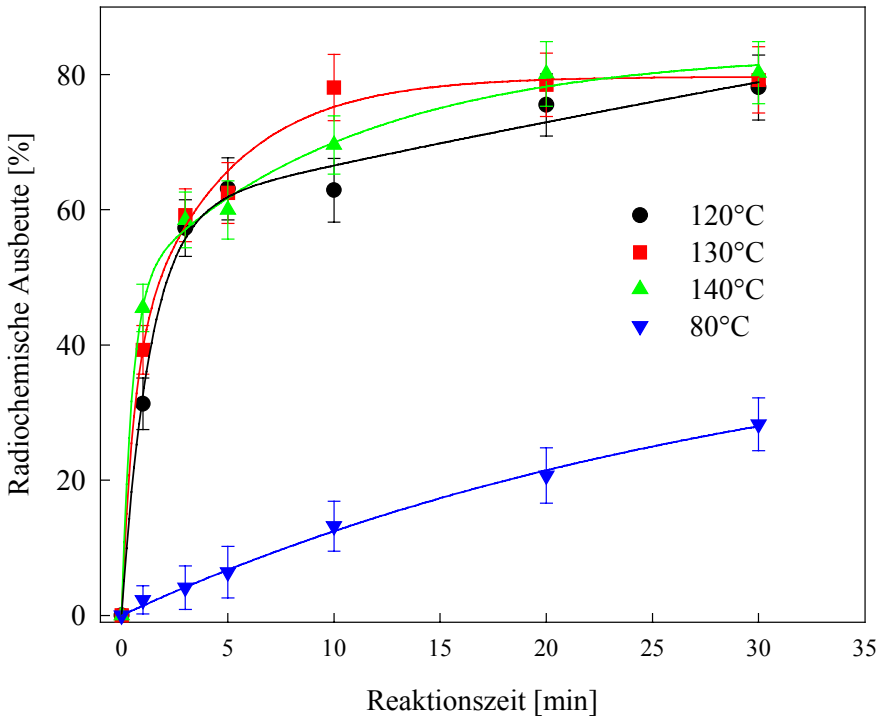


Abb. 61: Abhängigkeit der RCA an [^{18}F]**20** von der Reaktionstemperatur in DMSO bei Verwendung von 2-[^{18}F]Fluorethyltosylat
(1,5 Eqiv. NaOH, Präcursorkonzentration 25 mmol/l)

4.1.6 Abhängigkeit der RCA an [^{18}F]20 von der Temperatur in DMF

Abbildung 62 zeigt zwei zu erwartende Effekte bei der Temperaturabhängigkeit der radiochemischen Ausbeute an [^{18}F]**20** in DMF. Zum einen erhöht sich die maximale RCA mit steigender Temperatur von 30% auf 80%. Der deutlichste Anstieg der RCA liegt dabei bei der Erhöhung der Reaktionstemperatur von 80 auf 90°C, welches eine Verdopplung der radiochemischen Ausbeute von 30% auf 60% bewirkt. Zum anderen zeigen die Kurven einen signifikanten Unterschied in den ersten 5 Minuten der Reaktionsdauer. Es ist deutlich zu sehen, dass eine Erhöhung der Reaktionstemperatur nicht nur eine Erhöhung der RCA mit sich bringt, sondern auch deutlich die Reaktionskinetik beeinflusst.

Mit Hilfe der Parameter der gefitteten Kurven aus Abbildung 62 lässt sich über die Arrhenius-Gleichung die Aktivierungsenergie dieser Reaktion in DMF berechnen. Die allgemeine Funktionsgleichung der Ausbeutekurven lautet:

$$y = A_1 \cdot (1 - e^{(-x/b)})$$

wobei A_1 die theoretische radiochemische Ausbeute nach unendlicher Reaktionszeit ist; b ist definiert als der Kehrwert der apparenten Geschwindigkeitskonstante k‘.

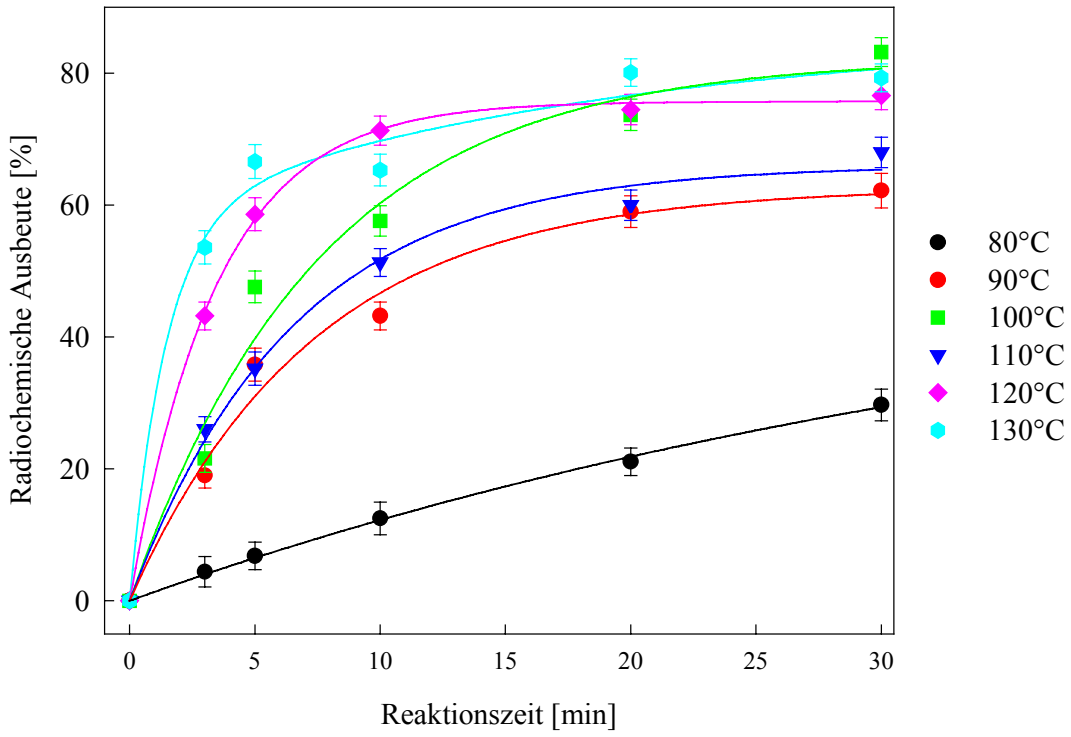


Abb. 62: Abhängigkeit der RCA an [^{18}F]**20** von der Reaktionstemperatur in DMF bei Verwendung von 2-[^{18}F]Fluorethyltosylat
(1,5 Eqiv. NaOH, Präcursorkonzentration 25 mmol/l)

Diese ist über die Eduktkonzentration mit der tatsächlichen Geschwindigkeitskonstante k verknüpft:

$$k‘ = k \cdot [Edukt]$$

Für die Temperaturabhängigkeit der Geschwindigkeitskonstanten k gilt nach Arrhenius:

$$\ln k = -(E_a/RT) + \ln A$$

wobei E_a die Aktivierungsenergie bezeichnet und A der präexponentielle Faktor ist, der die maximal mögliche Geschwindigkeitskonstante der Reaktion angibt.

Durch Auftragung von ln k gegen 1/T (die Reaktionstemperatur in Kelvin) ergibt sich eine Gerade, deren Geradensteigung nach Multiplikation mit der Gaskonstanten R die Aktivierungsenergie

liefert. Durch lineare Regression der in Abbildung 63 dargestellten Werte ergibt sich für die ^{18}F-Fluorethylierung von 4-(2-(Benzyl-[2-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)-2-hydroxyethyl]amino)propyl)-phenol (**9**) in DMF eine Aktivierungsenergie von 147 (± 5,4) kJ/mol.

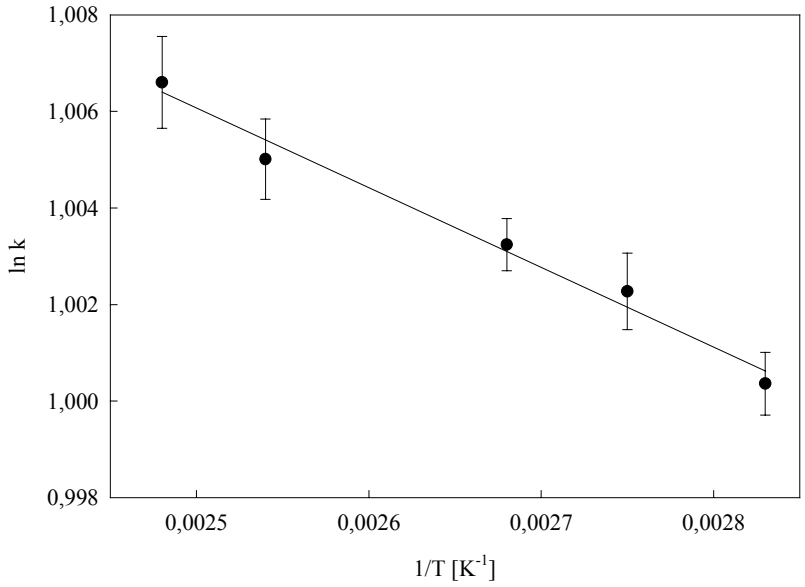


Abb. 63: Arrhenius-Auftragung zur Bestimmung der Aktivierungsenergie der Reaktion von 4-(2-(Benzyl-[2-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)-2-hydroxyethyl]amino)propyl)phenol (**9**) mit 2-[^{18}F]Fluorethyltosylat zu 2-(Benzyl-(2-[4-(2-[^{18}F]fluorethoxy)phenyl]-1-methylethyl)-amino-1-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)ethanol ([^{18}F]**20**)in DMF

4.1.7 Abhängigkeit der RCA an [^{18}F]20 von der Präcursorkonzentration an 9

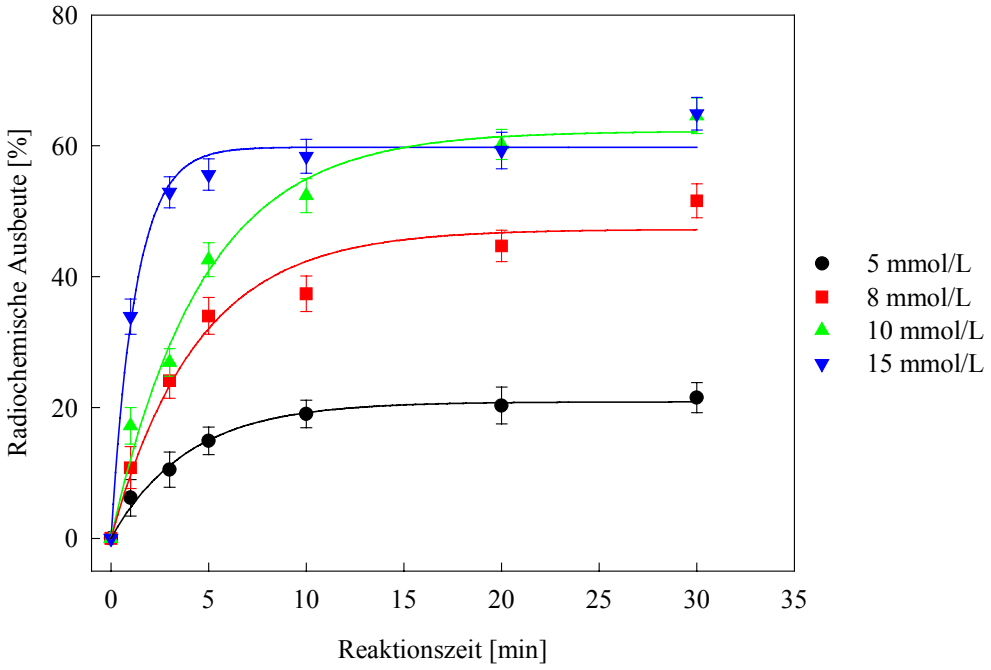


Abb. 64: Abhängigkeit der RCA an [^{18}F]**20** von der Präcursorkonzentration **9** bei Verwendung von 2-[^{18}F]Fluorethyltosylat
(1,5 Eqiv. NaOH, DMF, T= 130°C)

Die radiochemischen Ausbeutekurven in Abbildung 64 zeigen, dass die maximalen RCA von 60% unter den gewählten Bedingungen bereits bei einer Markierungsvorläuferkonzentration von 25 mmol/L in DMF zu erreichen sind, allerdings erst bei Reaktionszeiten von 15 Minuten. Deutlich schnellere Kinetiken können bei höheren Eduktkonzentrationen von 30 mmol/L_{DMF} erzielt werden, hier erreicht die RCA bereits nach 5 Minuten den Sättigungsbereich.

Abbildung 65 zeigt eine andere Darstellung der Abhängigkeit der RCA an [^{18}F]**20** von der Markierungsvorläuferkonzentration. Es wird deutlich, dass ab einer Sättigungseduktkonzentration von 30 µmol/mL_{DMF} die radiochemischen Ausbeuten einen konstanten Verlauf zeigen. Deshalb wurde diese Eduktkonzentration als Standardkonzentration bei allen folgenden Markierungsexperimenten verwendet.

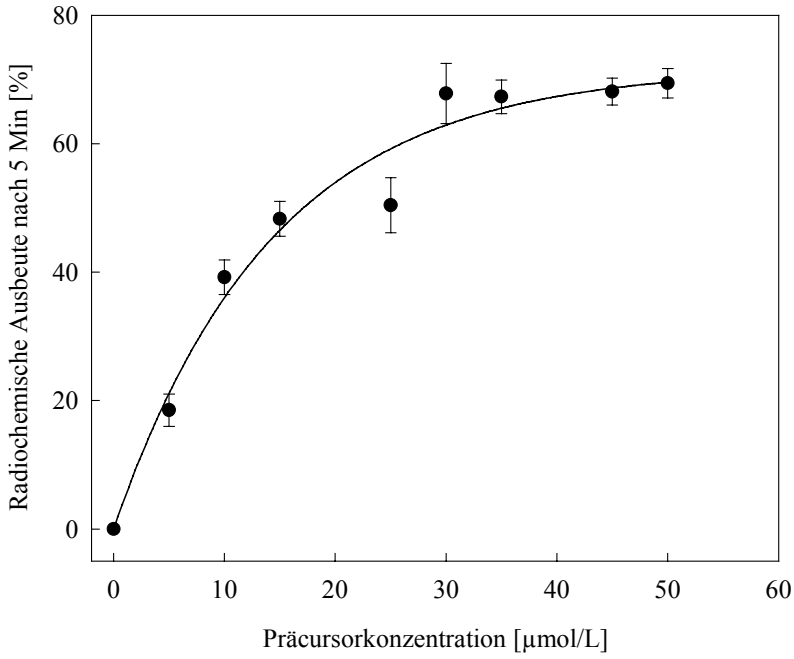


Abb. 65: Abhängigkeit der RCA an [^{18}F]**20** von der Eduktkonzentration bei Verwendung von 2-[^{18}F]Fluorethyltosylat
(1,5 Eqiv. NaOH, DMF, T= 120°C, Reaktionszeit 5 min)

4.1.8 Optimierte Reaktionsparameter zur Darstellung von 2-(Benzyl-(2-[4-(2-[^{18}F]fluorethoxy)phenyl]-1-methylethyl)amino-1-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)ethanol ([^{18}F]20) mittels 2-[^{18}F]Fluorethyltosylat

Die optimalen radiochemischen Ausbeuten an [^{18}F]**20** lassen sich erzielen, wenn mit einer Markierungsvorläuferkonzentration von 30 µmol/ml in DMF bei einem 1,5-2fachen Basenzusatz von Lithium- oder Natriumhydroxid (1 N) gearbeitet wird. Bei einer Reaktionstemperatur von 130°C lassen sich nach 5 Minuten mit nicht aufgereinigtem [^{18}F]FETos radiochemische Ausbeuten von 60 bis 70% erhalten. Die Schwankungen ergeben sich aus den schwankenden radiochemischen Reinheiten des [^{18}F]FETos, wenn es nicht aufgereinigt wird (85-95% radiochemische Reinheit). Werden diese optimierten Reaktionsparameter jedoch gemeinsam mit [^{18}F]FETos verwendet, welches mittels einer HPLC-Abtrennung in hoher radiochemischer Reinheit vorliegt (>98%), so steigen die radiochemischen Ausbeuten an 2-(Benzyl-(2-[4-(2-[^{18}F]fluorethoxy)phenyl]-1-methylethyl)amino-1-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)ethanol bis auf 99% binnen 5 Minuten.
Da der Markierungsvorläufer **9** ein Racemat ist, entstehen 4 Stereoisomere von 2-(Benzyl-(2-[4-(2-[^{18}F]fluorethoxy)phenyl]-1-methylethyl)amino-1-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)ethanol. Analog zu der ^{19}F-Referenzverbindung können die beiden Diastereomerenpaare z.B. über eine Luna-HPLC-Säule der Firma Phenomenex getrennt werden, die Retentionszeiten betragen 10 und 12 Minuten bei

Methanol/Wasser (93/7) als Eluens. Jedes Diastereomerenpaar kann anschließend über eine Chirex 3022-HPLC-Säule der Firma Phenomenex in seine beiden Enantiomere aufgespalten werden, die Retentionszeiten betragen 5,1 und 6,5 Minuten bei der Verwendung von n-Hexan/1,2-Dichlorethan/Methanol/Trifluoressigsäure (230/140/30/1) als Eluens (Chromatogramme siehe Anhang B).

4.2 Radioaktive Markierung von 4-(2-(Benzyl-[2-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)-2-hydroxyethyl]amino)propyl)phenol (9) mit 1-Brom-2-[^{18}F]Fluorethan zu 2-(Benzyl-(2-[4-(2-[^{18}F]fluorethoxy)phenyl]-1-methylethyl)amino-1-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)-ethanol ([^{18}F]20)

Als Alternative zum ^{18}F-Fluoralkylierungsagens [^{18}F]FETos ist auch eine radioaktive Markierung von **9** mit dem ^{18}F-Fluoralkylierungsagens [^{18}F]BFE denkbar.

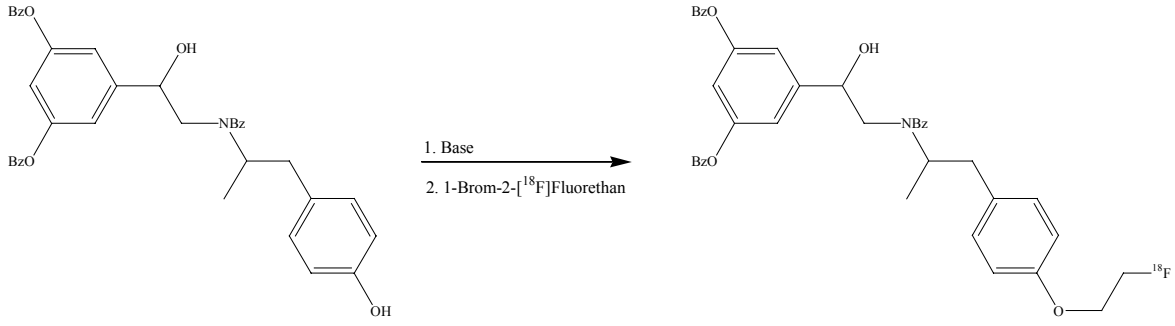


Abb. 66: ^{18}F-Fluorethylierung von 4-(2-(Benzyl-[2-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)-2-hydroxyethyl]-amino)propyl)phenol (**9**) mit 1-Brom-2-[^{18}F]Fluorethan zu 2-(Benzyl-(2-[4-(2-[^{18}F]fluorethoxy)phenyl]-1-methylethyl)amino-1-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)-ethanol ([^{18}F]**20**)

4.2.1 Abhängigkeit der RCA an [^{18}F]20 vom verwendeten Lösungsmittel

Auch bei der radioaktiven Markierung von 4-(2-(Benzyl-[2-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)-2-hydroxyethyl]amino)propyl)phenol (**9**) mit [^{18}F]BFE wurden die Lösungsmittel DMF, DMSO und Acetonitril getestet. Zur direkten Vergleichbarkeit wurde die Reaktion bei allen Lösungsmitteln bei einer Reaktionstemperatur von 80°C durchgeführt, obwohl schon aus Abschnitt 4.1.1 bekannt war, dass bei dieser Temperatur die ^{18}F-Fluorethylierung nur mit geringen Ausbeuten gelingt.
Abbildung 67 zeigt, dass die radiochemischen Ausbeuten an [^{18}F]**20** in DMF und DMSO vergleichbar sind, während auch mit [^{18}F]BFE die ^{18}F-Fluorethylierung in Acetonitril nur mit deutlich schlechteren Ausbeuten verläuft. Vergleicht man jedoch die RCA an [^{18}F]**20**, die mittels

[^{18}F]FETos bzw. [^{18}F]BFE erhalten werden können (30% bzw. 5%), so lässt sich bereits hier feststellen, dass zumindest unter den gewählten Reaktionsbedingungen [^{18}F]FETos als Fluorethylierungsagens vorzuziehen ist. Auch bei diesen Experimenten wird DMF der Vorzug gegenüber DMSO gegeben, um die sich anschließende HPLC-chromatographische Aufreinigung des Produktes zu vereinfachen.

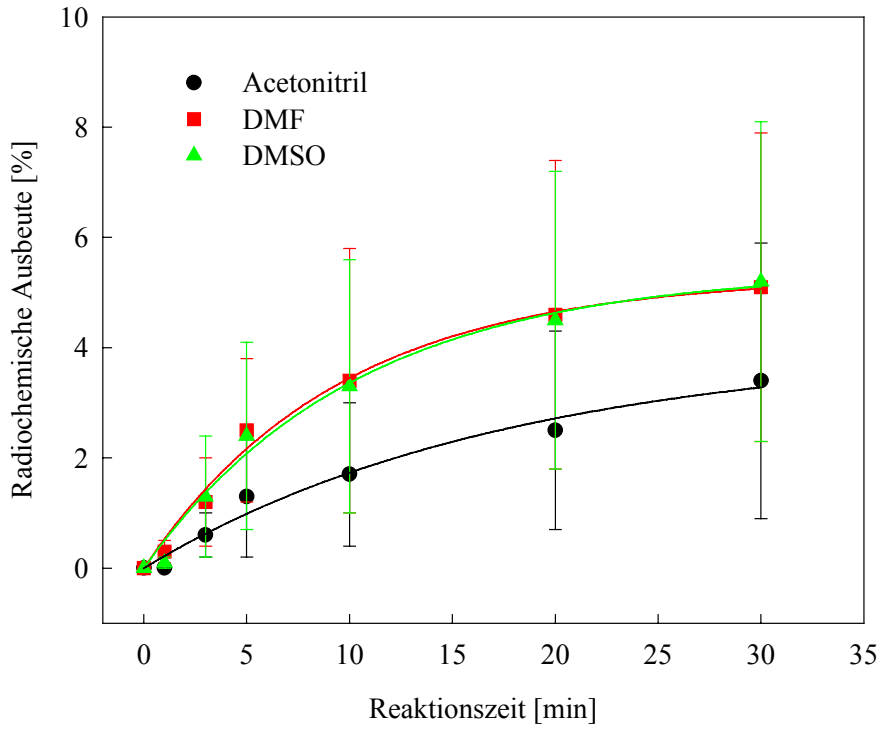


Abb. 67: Abhängigkeit der RCA an [^{18}F]**20** vom verwendeten Lösungsmittel bei Verwendung von 1-Brom-2-[^{18}F]Fluorethan
(1,5 Eqiv. NaOH, T= 80°C, Präcursorkonzentration 30 mmol/l)

4.2.2 Abhängigkeit der RCA an [^{18}F]20 von der Reaktionstemperatur

Da es sich um den gleichen Markierungsvorläufer wie bei der ^{18}F-Fluorethylierung mit [^{18}F]FETos handelt, muss die Abhängigkeit der RCA an [^{18}F]**20** von der Art und der Konzentration der verwendeten Hilfsbase nicht untersucht werden. So werden für alle radioaktiven Markierungsreaktionen mit [^{18}F]BFE 1,5 bis 2 Equivalente Lithium- oder Natriumhydroxid als Base verwendet. Die Abhängigkeit der RCA an [^{18}F]**20** von der Reaktionstemperatur in DMF zeigt den zu erwartenden Verlauf. Eine Erhöhung der Reaktionstemperatur von 80°C auf 100°C bringt eine Verdreifachung der radiochemischen Ausbeute. Oberhalb einer Reaktionstemperatur von 110°C steigt die maximale radiochemische Ausbeute von 15% nicht weiter an, allerdings erfolgt erwartungsgemäß eine raschere Kinetik. Vergleicht man jedoch die maximale radiochemische Ausbeute bei der Reaktion von **9** mit [^{18}F]BFE bei einer gegebenen Reaktionstemperatur mit der maximalen radiochemischen Ausbeute von [^{18}F]**20** mit [^{18}F]FETos (Abb. 62 und 68), so sieht man

die deutliche Überlegenheit von [^{18}F]FETos als ^{18}F-Fluorethylierungsagens für **9**. Die Verwendung von [^{18}F]BFE bringt im allgemeinen einen Zeitvorteil mit sich, da die HPLC-chromatographische Aufreinigung zum Erzielen einer hohen radiochemischen Reinheit, die normalerweise bei [^{18}F]FETos erfolgt, nicht notwendig ist [144]. Da jedoch die maximalen radiochemischen Ausbeuten an [^{18}F]**20** mit nicht-aufgereinigtem [^{18}F]FETos bei 60–80% liegen, und bei Verwendung von [^{18}F]BFE nur bei 15%, ist [^{18}F]FETos bei dieser Reaktion besser geeignet.

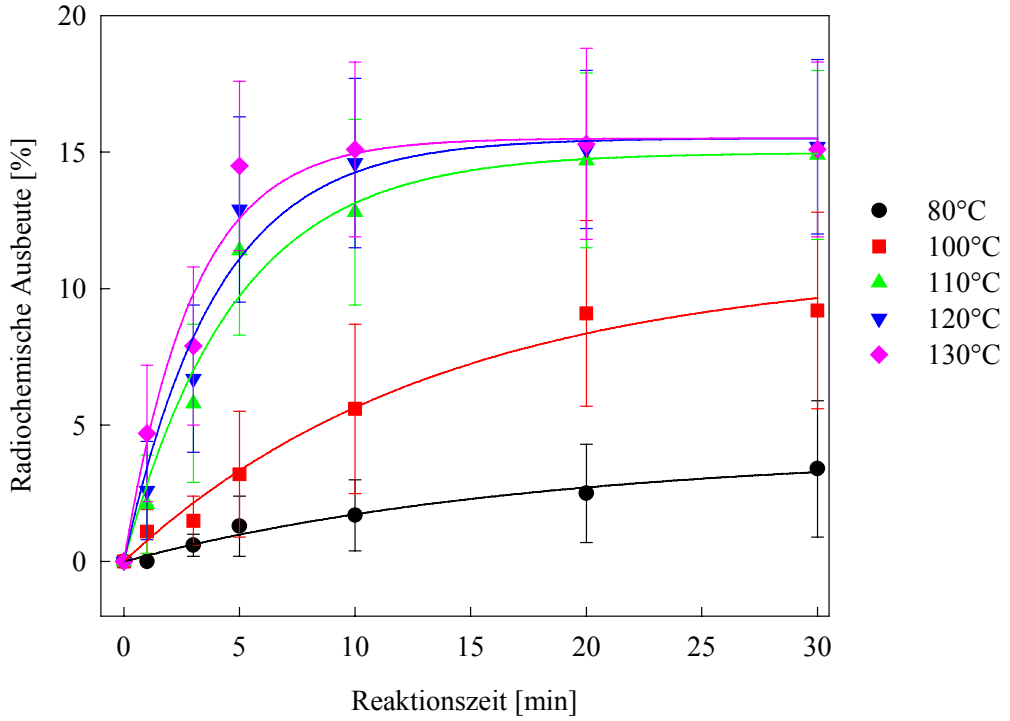


Abb. 68: Abhängigkeit der RCA an [^{18}F]**20** von der Reaktionstemperatur bei Verwendung von 1-Brom-2-[^{18}F]Fluorethan
(1,5 Eqiv. NaOH, DMF, Präcursorkonzentration 30 mmol/l)

Die Tatsache, dass die radiochemischen Ausbeuten an [^{18}F]**20** mit [^{18}F]BFE deutlich geringer sind als mit [^{18}F]FETos erklärt sich aus der Qualität der jeweiligen Abgangsgruppe. Aus der Literatur ist bekannt, dass die Solvolyse-Geschwindigkeit von 1-Phenylethylestern und –halogeniden sich deutlich unterscheiden [114]. So ist die Gleichgewichtskonstante für die Solvolyse eines p-Toluolsulfonates im Vergleich zur analogen Bromverbindung um drei Größenordnungen höher. Dies bedeutet, dass die Reaktionsgeschwindigkeit der p-Toluolsulfonate mit harten Nukleophilen (HSAB-Konzept) wie RO^- oder auch H_2O deutlich größer im Vergleich zu den Bromiden ist [136].

4.3 Radioaktive Markierung von Essigsäure-2-[benzyl-(1-methyl-2-(4-[2-toluol-4-sulfonyloxy)ethoxy]phenyl)ethyl)amino]-1-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)ethylester (17) mit [^{18}F]Fluorid zu Essigsäure-2-(benzyl-(2-[4-(2-[^{18}F]fluorethoxy)phenyl]-1-methyl-ethyl)amino)-1-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)ethylester ([^{18}F]24)

Hauptintention zur Etablierung eines weiteren Syntheseweges zur Darstellung von [^{18}F]**25** ist das Vermeiden der 2-[^{18}F]Fluorethyltosylat-Synthese. Um diesen zusätzlichen Syntheseschritt zu umgehen, muss der verwendete Markierungsvorläufer, dessen radioaktive Markierung mit [^{18}F]Fluorid nach der Entschützung ebenfalls das Produkt [^{18}F]**25** liefern soll, über eine am Phenolat-Anion ankondensierte 2-(4-Toluolsulfonyl)ethoxy-Gruppe verfügen. Dieser Tosylrest kann in einer direkten nukleophilen Substitution mit [^{18}F]F$^-$ substituiert werden und liefert daher in einem einzigen Reaktionsschritt das erwünschte radioaktive Reaktionsprodukt. Zusätzlich ist allerdings die aliphatische Hydroxyfunktion zu schützen, da es sonst zur Ausbildung von Wasserstoffbrücken-Bindungen mit dem [^{18}F]Fluorid-Ion kommt, und keine radiochemischen Ausbeuten an [^{18}F]**24** erhalten werden können.

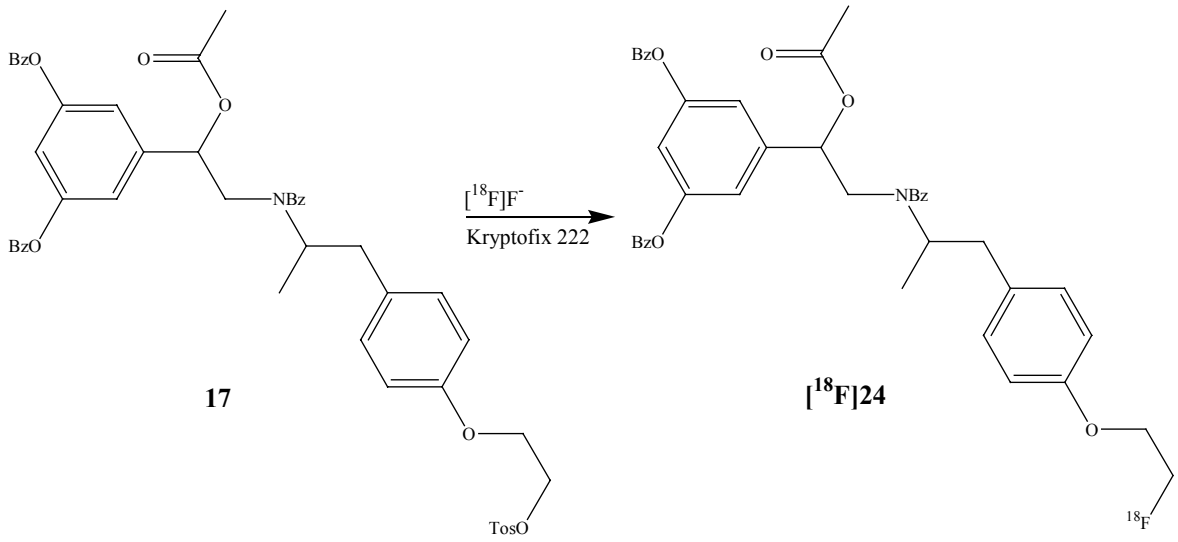


Abb. 69: Radioaktive Markierung von Essigsäure-2-[benzyl-(1-methyl-2-(4-[2-toluol-4-sulfonyloxy)ethoxy]phenyl)ethyl)amino]-1-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)ethylester (**17**) mit [^{18}F]Fluorid zu Essigsäure-2-(benzyl-(2-[4-(2-[^{18}F]fluorethoxy)phenyl]-1-methylethyl)amino)-1-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)ethylester ([^{18}F]**24**)

4.3.1 Abhängigkeit der RCA an [^{18}F]24 vom verwendeten Lösungsmittel

Die Lösungsmittelabhängigkeit der RCA an [^{18}F]**24** wurde wieder mit den üblichen dipolar aprotischen Lösungsmitteln DMF, DMSO und Acetonitril durchgeführt. Abbildung 70 zeigt die erhaltenen radiochemischen Ausbeuten. Die Tatsache, dass sich gerade Acetonitril als Lösungsmittel der Wahl zur direkten aliphatischen Substitution von nukleofugen Gruppen wie z.B. Tosylat eignet, findet sich in der Literatur oft bestätigt. Es waren maximale radiochemische

Ausbeuten von 30% nach 12 Minuten im Solvens Acetonitril möglich, ohne dass eine Bildung von radioaktiven Nebenprodukten zu beobachten ist.

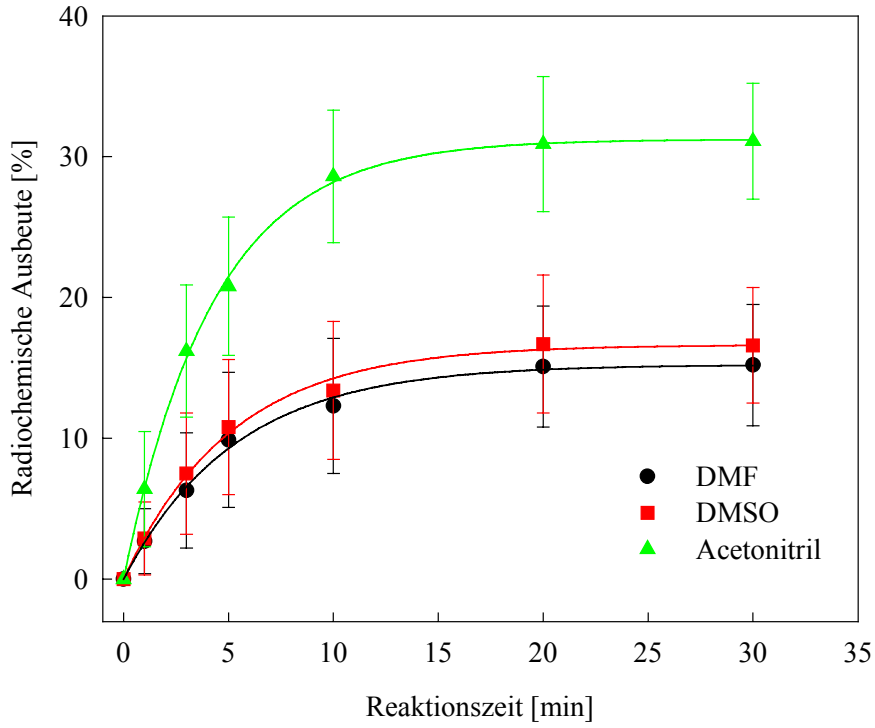


Abb. 70: Abhängigkeit der RCA an [^{18}F]**24** vom verwendeten Lösungsmittel
(T= 80°C, Präcursorkonzentration 20 mmol/L)

4.3.2 Abhängigkeit der RCA an [^{18}F]24 von der Reaktionstemperatur

Die experimentell bestimmten Reaktionskinetiken bei 60, 70 und 80°C haben das Profil einer typischen Reaktion pseudo-erster Ordnung. Die RCA an Markierungsprodukt zeigen somit eine ausgeprägte Temperaturabhängigkeit, was durch die Tatsache bestätigt wird, dass nukleophile aliphatische Substitutionen zumeist erst bei höheren Temperaturen mit moderaten Ausbeuten ablaufen. Eine weitere Steigerung der Temperatur auf 100°C im geschlossenen Reaktionsgefäß führte jedoch zu einem thermisch induzierten Zerfall an Reaktionsprodukt nach 5 Minuten. Diese Beobachtung kann unter Berücksichtigung der starken basischen Eigenschaften des Fluoridions durch eine baseninduzierte Eliminierungsreaktion am 2-(4-Toluolsulfonyl)ethoxyphenyl-Rest erklärt werden.

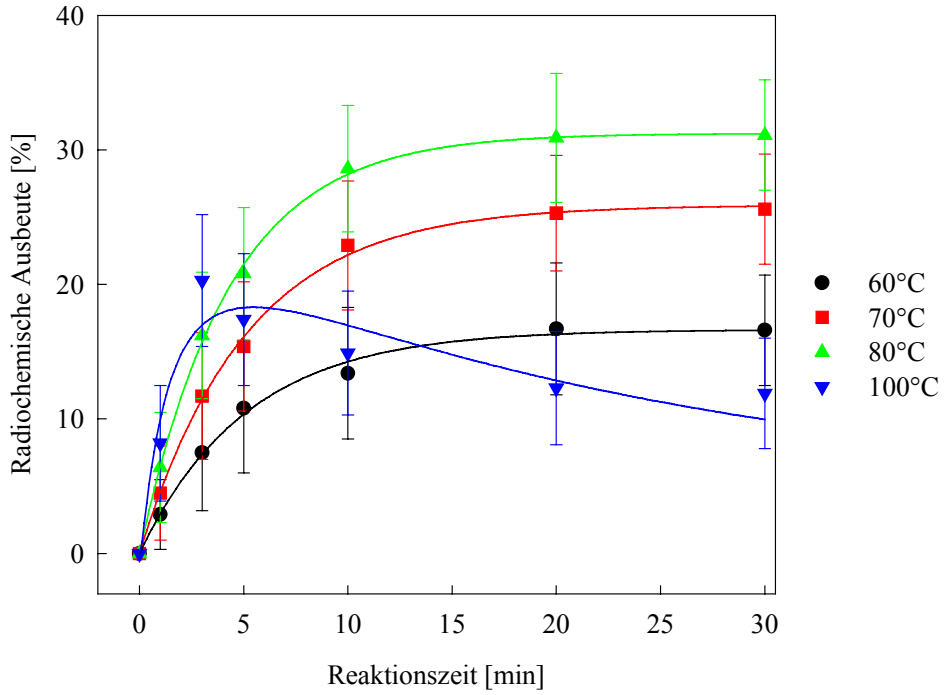


Abb. 71: Abhängigkeit der RCA an [^{18}F]**24** von der Reaktionstemperatur
(Acetonitril, Präcursorkonzentration 20 mmol/L)

4.3.3 Abhängigkeit der RCA an [^{18}F]24 von der Eduktkonzentration an 17

Abbildung 72 zeigt die Abhängigkeit der RCA an [^{18}F]**24** von der Eduktkonzentration. Die maximale radiochemische Ausbeute von 30% wird ab einer Sättigungskonzentration von 20 mmol/L erreicht.

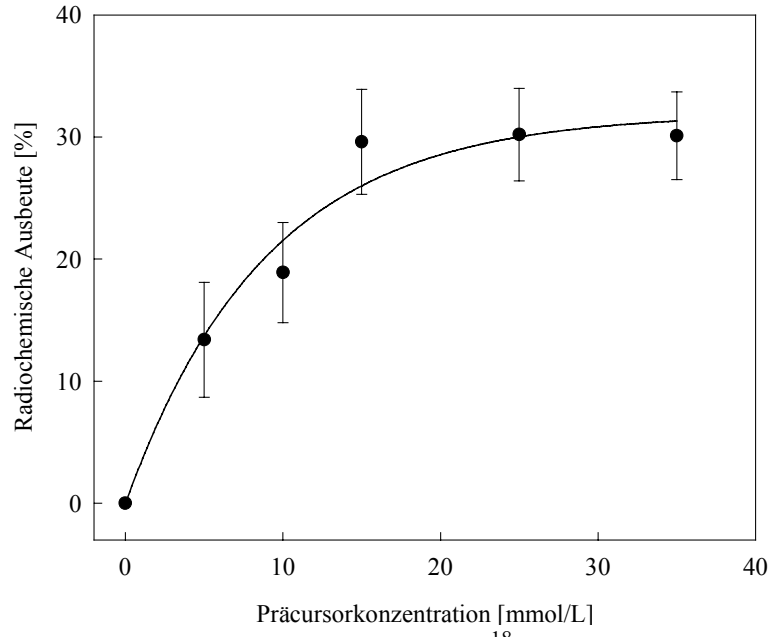


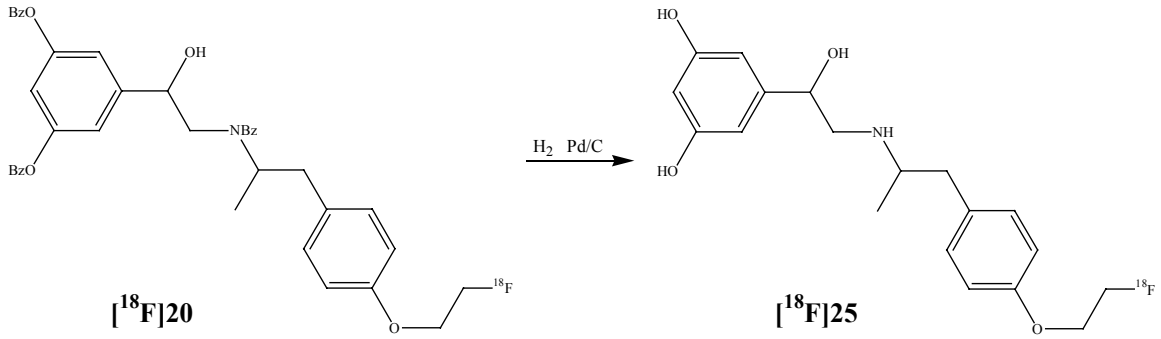
Abb. 72: Abhängigkeit der RCA an [^{18}F]**24** von der Eduktkonzentration an **17**
(Acetonitril, T= 80°C, Reaktionszeit 15 min)

4.3.4 Optimierte Reaktionsparameter zur Synthese von Essigsäure-2-(benzyl-(2-[4-(2-[^{18}F]fluorethoxy)phenyl]-1-methylethyl)amino)-1-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)ethylester ([^{18}F]24)

Die maximalen radiochemischen Ausbeuten von 30% durch eine Direktfluorierung werden nach einer Reaktionszeit von 15 Minuten in Acetonitril bei 80°C und einer Präcursorkonzentration von 20 mmol/L erzielt. Berücksichtigt man allerdings, dass die radioaktive Markierung von **9** mit [^{18}F]FETos innerhalb von 5 Minuten quantitativ verläuft, und [^{18}F]FETos selbst durch Direktfluorierung mit Ausbeuten > 60% dargestellt werden kann, so ergibt sich trotz des Mehraufwandes an Zeit von 30 Minuten für die Synthese von [^{18}F]FETos ein Ausbeutegewinn von 30% an radioaktivem Endprodukt. Außerdem weißt das radioaktiv markierte Produkt [^{18}F]**24** zwei verschiedene Schutzgruppen auf, die nicht in einem Reaktionsschritt abgespalten werden können, was einen zusätzlichen Zeitaufwand bedeutet.

4.4 Synthese von 5-(2-(2-[4-(2-[^{18}F]Fluorethoxy)phenyl]-1-methylethylamino)-1-hydroxy-ethyl)benzen-1,3-diol ([^{18}F]25) durch Debenzylierung von [^{18}F]20

5-(2-(2-[4-(2-[^{18}F]Fluorethoxy)phenyl]-1-methylethylamino)-1-hydroxyethyl)benzen-1,3-diol ([^{18}F]**25**) kann durch Debenzylierung von 2-(Benzyl-(2-[4-(2-[^{18}F]fluorethoxy)phenyl]-1-methylethyl)amino-1-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)ethanol mittels Wasserstoff am Palladium-Aktivkohle-Katalysator dargestellt werden.



[^{18}F]20 [^{18}F]25

Abb. 73: finale Entschützung von 2-(Benzyl-(2-[4-(2-[^{18}F]fluorethoxy)phenyl]-1-methyl-ethyl)amino-1-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)ethanol ([^{18}F]**20**) zu 5-(2-(2-[4-(2-[^{18}F]Fluorethoxy)phenyl]-1-methylethylamino)-1-hydroxy-ethyl)benzen-1,3-diol ([^{18}F]**25**)

Hierzu muss [^{18}F]**20** in Ethanol oder Methanol gelöst vorliegen. Dies kann erreicht werden, indem [^{18}F]**20** nach erfolgreicher Synthese und HPLC-Reinigung mit Wasser verdünnt auf einer C-18-Kartusche von Waters fixiert wird und anschließend mit auf 50°C temperiertem Methanol oder Ethanol eluiert wird. Der Katalysator sollte möglichst konzentriert sein, da es durch Adsorption auf

die Aktivkohle zu Verlusten bei der radiochemischen Ausbeute kommt. Bei den Optimierungsversuchen wurde 10% Palladium auf Aktivkohle verwendet. Wird der Katalysator unter Luftausschluss gelagert, so reichen äußerst geringe Mengen (1-2 mg) aus, um eine vollständige Debenzlyierung innerhalb von 5 Minuten zu erreichen. In diesem Falle beträgt der Verlust der radiochemischen Ausbeute durch Adsorption an das Katalysatormaterial etwa 10 bis 15%.

B. ElAmin et al. beschreiben eine milde N-Debenzylierung mit verdünnter Ameisensäure als Hydridüberträger [135]. Aus diesem Grund wurden vergleichende Experimente mit Wasserstoff bei Normaldruck mit und ohne Zusatz von Ameisensäure durchgeführt. Wird ohne Zusatz von Ameisensäure gearbeitet, verläuft die Schutzgruppenabspaltung innerhalb von 5 Minuten quantitativ. Bei Zusatz von Ameisensäure ist eine raschere Kinetik der Abspaltung zu beobachten: bereits nach 2 Minuten ist kein benzylgeschützter Vorläufer [^{18}F]**20** mehr vorhanden, allerdings betragen die radiochemischen Ausbeuten nur noch 98%, und es entsteht ein nicht näher identifiziertes radioaktives Nebenprodukt. Verlängert man die Reaktionszeit unter Ameisensäurezusatz, so sinken die radiochemischen Ausbeuten bis auf 60% nach 30 Minuten, in gleichem Masse steigt die radiochemische Ausbeute des nicht identifizierten Nebenprodukts (s. Abb. 74).

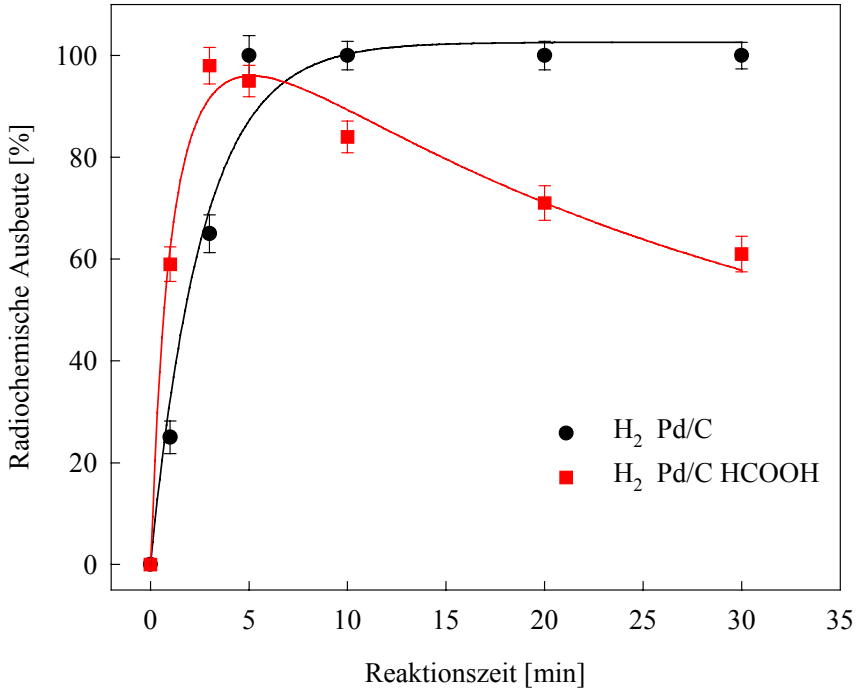
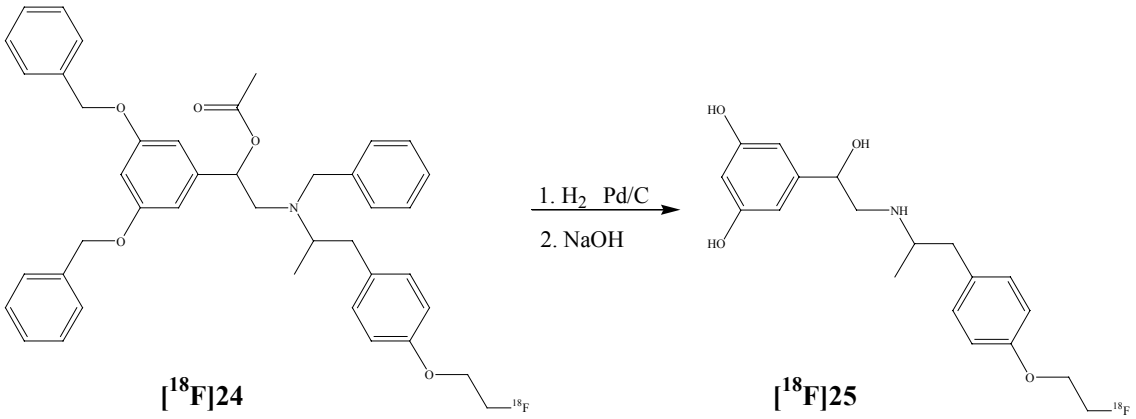


Abb. 74: Abhängigkeit der RCA an [^{18}F]**25** von der Reaktionszeit durch Debenzylierung von [^{18}F]**20**

(2 mg Pd/C, 1 mL Ethanol, 1 bar Wasserstoff, Raumtemperatur)

4.5 Synthese von 5-(2-(2-[4-(2-[^{18}F]Fluorethoxy)phenyl]-1-methylethylamino)-1-hydroxy-ethyl)benzen-1,3-diol ([^{18}F]25) durch Entschützung von [^{18}F]24

[^{18}F]**25** kann durch Debenzylierung und anschließende Deacetylierung von [^{18}F]**24** dargestellt werden. Die Debenzylierung von [^{18}F]**24** verläuft analog zur Debenzylierung von 2-(Benzyl-(2-[4-(2-[^{18}F]fluorethoxy)phenyl]-1-methylethyl)amino-1-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)ethanol ([^{18}F]**20**) in Ethanol oder Methanol mit Wasserstoff am Palladium-Katalysator.



[^{18}F]**24** [^{18}F]**25**

Abb. 75: Debenzylierung und Deacetylierung von [^{18}F]**24** zu 5-(2-(2-[4-(2-[^{18}F]Fluorethoxy)phenyl]-1-methylethylamino)-1-hydroxy-ethyl)benzen-1,3-diol ([^{18}F]**25**)

Zur anschließenden Deacetylierung von Essigsäure-1-(3,5-dihydroxyphenyl)-2-(2-[4-(2-[^{18}F]-fluorethoxy)phenyl]-1-methylethylamino)ethylester wird direkt nach Abspaltung der Benzyl-Schutzgruppen ohne Aufarbeitung das Reaktionsgemisch mit 1 N NaOH versetzt und bei 60°C 5 Minuten gerührt. Die Entschützung zu [^{18}F]**25** verläuft unter diesen Bedingungen quantitativ, allerdings kommt es auch hier zu Adsorptionsverlusten an der Aktivkohle des Katalysators in Höhe von 10-15%.

4.6 Radioaktive Markierung von [(R,R),(S,S)]-5-(1-Hydroxy-2-[2-(4-hydroxyphenyl)-1-methylethylamino]ethyl)benzen-1,3-diol (Fenoterol, 1) mit 2-[^{18}F]Fluorethyltosylat zu (R,R)- und (S,S)-5-(2-(2-[4-(2-[^{18}F]Fluorethoxy)phenyl]-1-methylethylamino)-1-hydroxyethyl)benzen-1,3-diol ([^{18}F]25)

Das von Boehringer Ingelheim zur Verfügung gestellte Fenoterol lag in Form seines Hydrobromides vor. Bei direkter Verwendung des Hydrobromides unter Verwendung eines zusätzlichen Basenequivalentes konnten keinerlei radiochemische Ausbeuten an 5-(2-(2-[4-(2-[^{18}F]Fluorethoxy)-phenyl]-1-methylethylamino)-1-hydroxyethyl)benzen-1,3-diol erzielt werden. Erst nach vorheriger Freisetzung des Hydrobromides konnte in Experimenten mit der freien Base das gewünschte Produkt [^{18}F]**25** dargestellt werden.

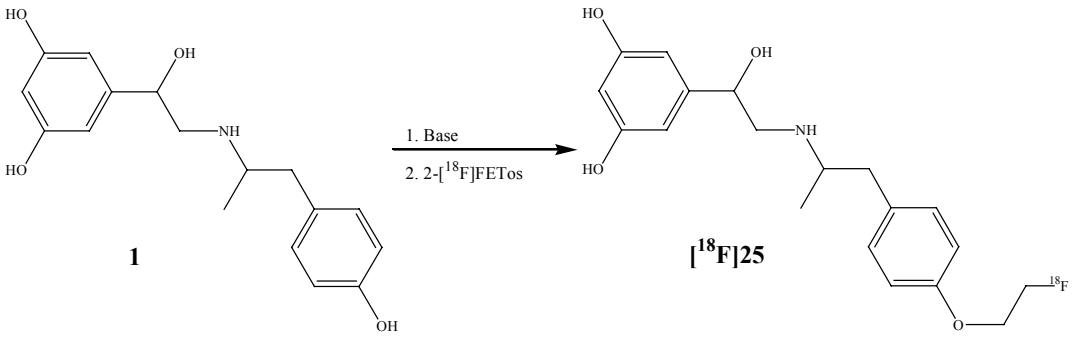


Abb. 76: Darstellung von 5-(2-(2-[4-(2-[^{18}F]Fluorethoxy)phenyl]-1-methylethylamino)-1-hydroxyethyl)benzen-1,3-diol ([^{18}F]**25)** mit 2-[^{18}F]Fluorethyltosylat aus Fenoterol (**1**)

4.6.1 Abhängigkeit der RCA an [^{18}F]25 vom verwendeten Lösungsmittel

Auch bei der radioaktiven Markierung von Fenoterol mit [^{18}F]FETos wurden die Lösungsmittel DMF, DMSO und Acetonitril getestet. Zur direkten Vergleichbarkeit wurde die Reaktion bei allen Lösungsmittel bei einer Reaktionstemperatur von 80°C durchgeführt.

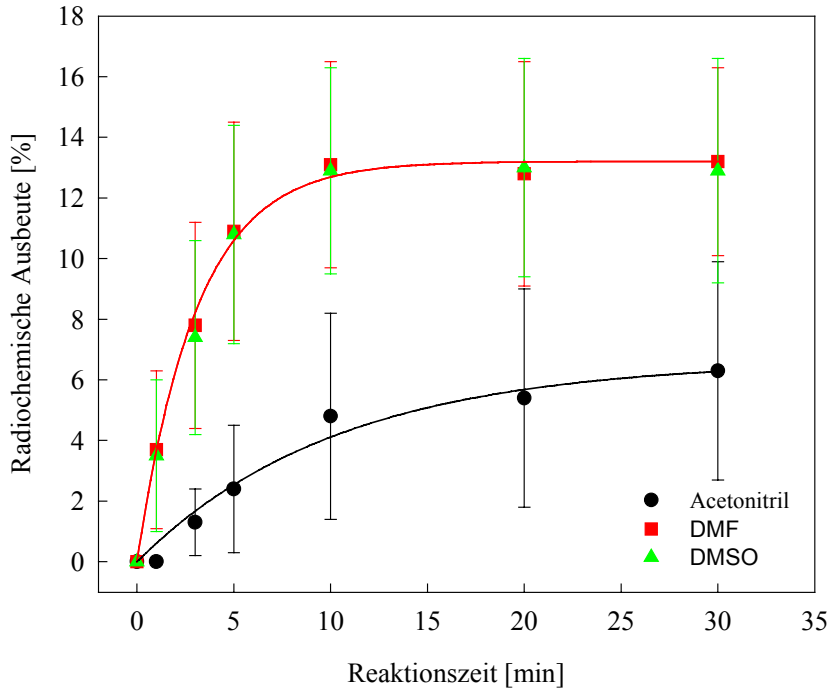


Abb. 77: Abhängigkeit der RCA an [^{18}F]**25** aus Fenoterol vom verwendeten Lösungsmittel
(1 Eqiv. LiOH, T= 80°C, Präcursorkonzentration 15 mmol/l)

Wie aus Abbildung 77 ersichtlich, zeigt der Verlauf der radiochemischen Ausbeuten in den verschiedenen Lösungsmitteln den bereits bekannten Verlauf. Im Interesse einer einfachen HPLC-

chromatographischen Reinigung von [^{18}F]**25** wurde in allen weiteren Experimenten DMF als Lösungsmittel verwendet.

4.6.2 Abhängigkeit der RCA an [^{18}F]25 vom Basenzusatz

Als Hilfsbasen zur Abstraktion des phenolischen Protons wurden LiOH, NaOH und Kaliumcarbonat getestet. Abbildung 78 zeigt die experimentellen Ergebnisse bei einer Reaktionstemperatur von 120°C und einem equimolaren Basenzusatz. Lithiumhydroxid und Natriumhydroxid in Form ihrer wässrigen Lösungen (1 N) erreichen maximale radiochemische Ausbeuten von 25-30%, Kaliumcarbonat als schwächere Base ermöglicht nur Ausbeuten von knapp 20%.

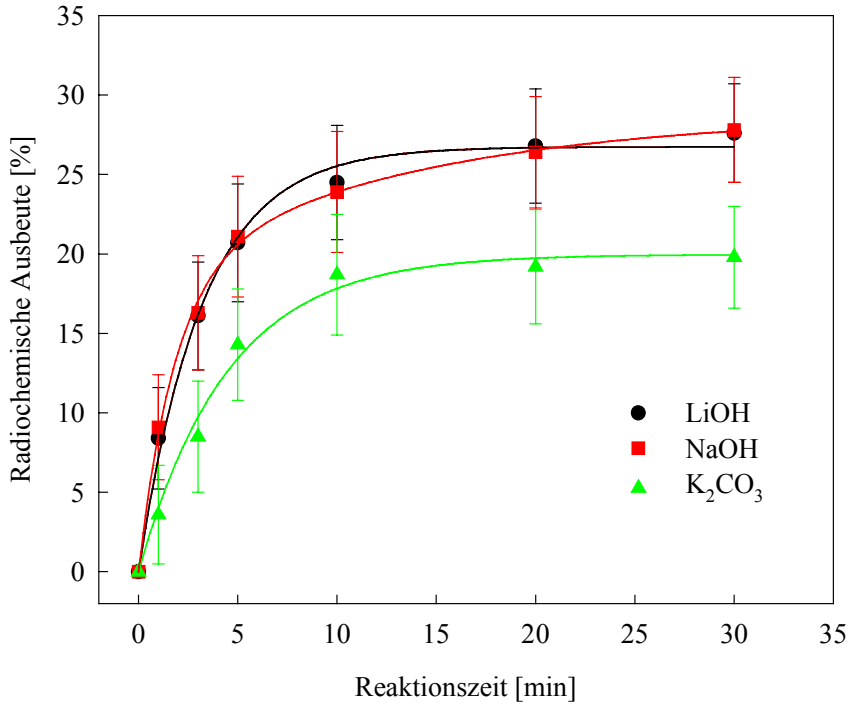


Abb. 78: Abhängigkeit der RCA an [^{18}F]**25** aus Fenoterol von der verwendeten Hilfsbase
(1 Eqiv. Base, DMF, T= 120°C, Präcursorkonzentration 15 mmol/l)

Auf das Testen noch schwächerer Basen wurde verzichtet, da es bei der Verwendung von Fenoterol als Markierungsvorläufer von besonderer Bedeutung ist, dass das phenolische Proton abstrahiert wird. Im Gegensatz zum anderen getesteten Markierungsvorläufer **9**, bei dem alle anderen aciden Protonen durch Benzylgruppen geschützt waren, existieren beim Markierungsvorläufer **1** noch zwei weitere ^{18}F-fluoralkylierbare Funktionen, nämlich an der Aminofunktion sowie an einer der Resorcinol-artigen Hydroxyfunktionen.

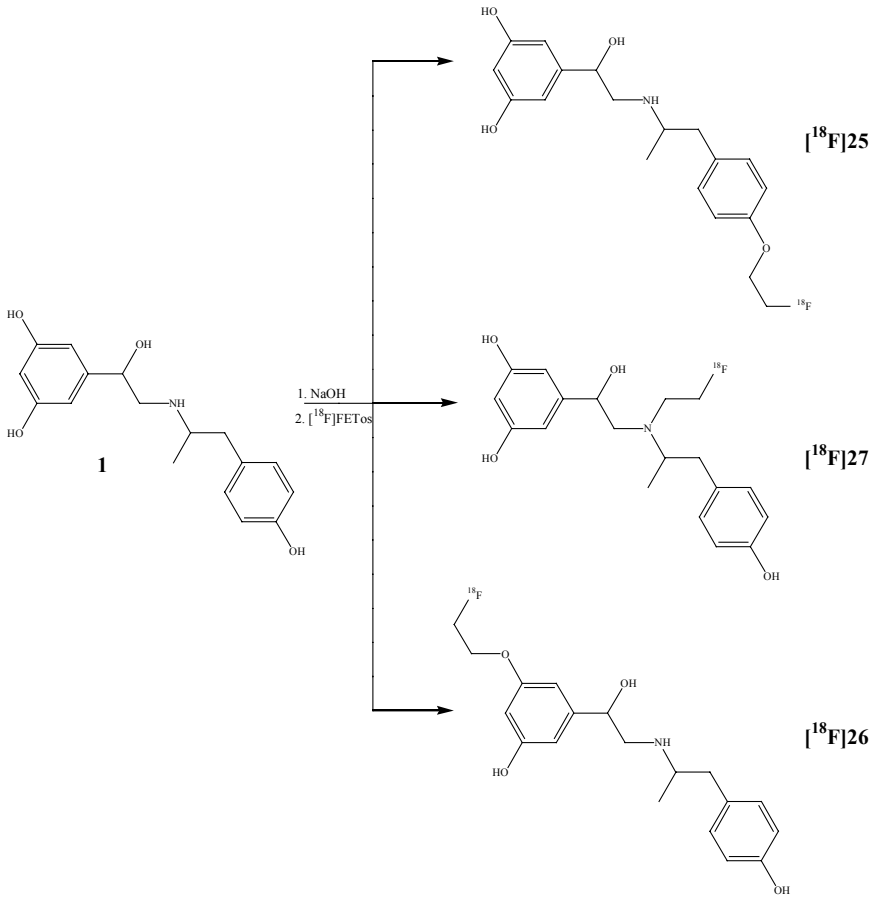


Abb. 79: mögliche Produkte bei der ^{18}F-Fluorethylierung von Fenoterol (**1**): 5-(2-(2-[4-(2-[^{18}F]Fluorethoxy)phenyl]-1-methylethylamino)-1-hydroxyethyl)benzen-1,3-diol ([^{18}F]**25**), 5-(2-((2-[^{18}F]Fluorethyl)-[2-(4-hydroxyphenyl)-1-methylethyl]amino)-1-hydroxyethyl)benzen-1,3-diol ([^{18}F]**27**) und 3-(2-[18F]Fluorethoxy)-5-(1-hydroxy-2-((2-(4-hydroxyphenyl)isopropyl)amino)ethyl)phenol ([^{18}F]**26**)

Für die Optimierung der Reaktionsparameter ist nicht nur die Art der zugesetzten Base, sondern auch deren Konzentration von Bedeutung. Untersucht wurde der Umsatz der Reaktion bei Verwendung von 0.5, 1, 1.5 und 2 Equivalenten Base sowie ohne Basenzusatz. Die Ausbeute-Kurven in Abbildung 80 zeigen den zu erwartenden Verlauf. Die radiochemischen Ausbeuten steigen von 0 über 0.5 auf 1 Equivalent Basenzusatz an, bei einem mehr als equimolaren Basenzusatz sinken die radiochemischen Ausbeuten nach einem Maximum bei 3 Minuten wieder ab. Dies deutet auf eine Basenlabilität des gebildeten Produktes hin. Interessant ist auch, dass sich mit höherer Basenkonzentration auch in zunehmenden Masse ein radioaktives Nebenprodukt bildet, welches als an der Resorcinolstruktur ^{18}F-fluorethyliertes Fenoterol [^{18}F]**26** identifiziert werden konnte.

Je höher der Basenüberschuss, desto höher auch die radiochemischen Ausbeuten an [^{18}F]**26**, welche bei einem doppelten Überschuss an Natriumhydroxid bereits 50% betragen. Das an der Amin-Struktur ^{18}F-fluorethylierte Fenoterol ([^{18}F]**27**) dagegen bildet sich unabhängig von der Basenkonzentration mit radiochemischen Ausbeuten von etwa 30% (vgl. Abb. 79).

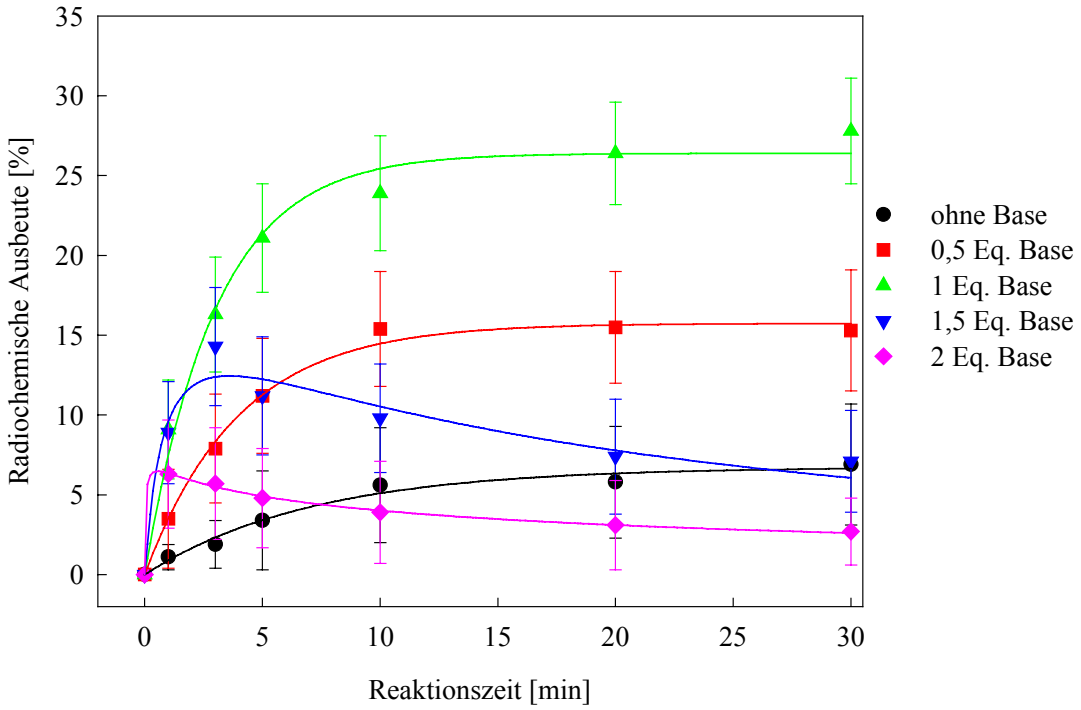


Abb. 80: Abhängigkeit der RCA an [^{18}F]**25** aus Fenoterol von der Basenkonzentration
(NaOH, T= 120°C, DMF, Präcursorkonzentration 15 mmol/L)

4.6.3 Abhängigkeit der RCA an [^{18}F]25 von der Reaktionstemperatur

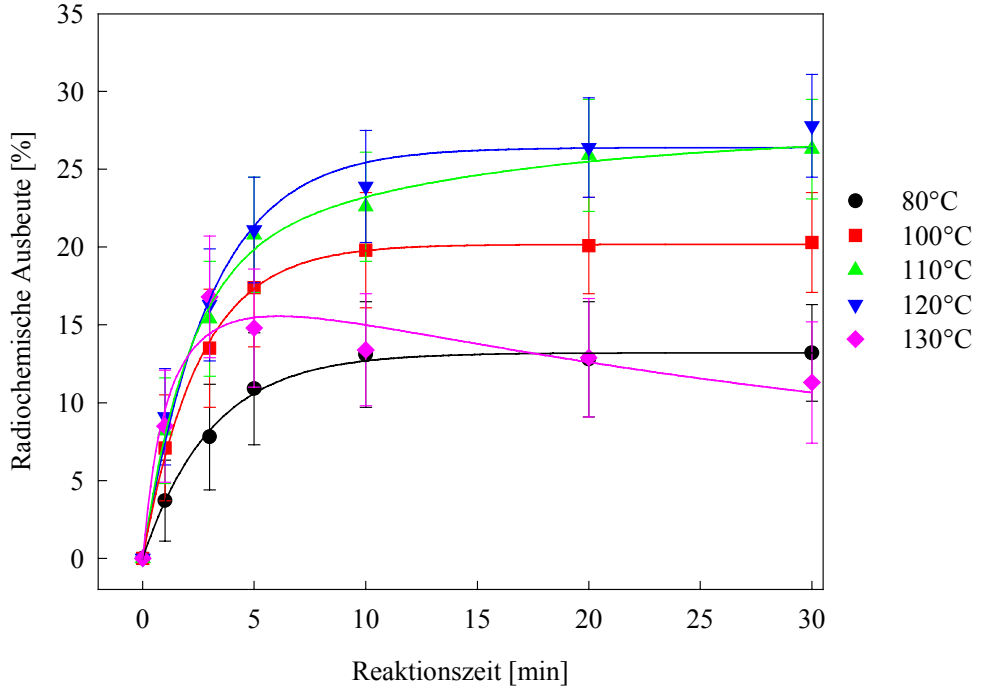


Abb. 81: Abhängigkeit der RCA an [^{18}F]**25** aus Fenoterol von der Reaktionstemperatur
(1 Eqiv. NaOH, DMF, Präcursorkonzentration 15 mmol/l)

Abbildung 81 zeigt die Reaktionskinetiken für die Reaktionstemperaturen von 80 bis 130°C. Wie erwartet steigt die radiochemische Ausbeute an [^{18}F]**25** mit zunehmender Reaktionstemperatur. Die maximale radiochemische Ausbeute von 30% wird bei einer Reaktionstemperatur von 120°C nach 10 Minuten erreicht, bei höheren Temperaturen kommt es zu einer Zersetzung des Markierungsvorläufers Fenoterol (**1**) und zu einem Absinken der radiochemischen Ausbeute auf 12%.

4.6.4 Abhängigkeit der RCA an [^{18}F]25 von der Eduktkonzentration

Abbildung 82 zeigt den Verlauf der radiochemischen Ausbeuten an [^{18}F]**25** von der Eduktkonzentration nach 10 Minuten Reaktionszeit. Ab einer Sättigungskonzentration von ca. 15 mmol/L am Markierungsvorläufer Fenoterol bleibt die maximale radiochemische Ausbeute konstant bei 30% (10 Minuten Reaktionszeit). Mit dieser Eduktkonzentration wurden alle weiteren Experimente durchgeführt.

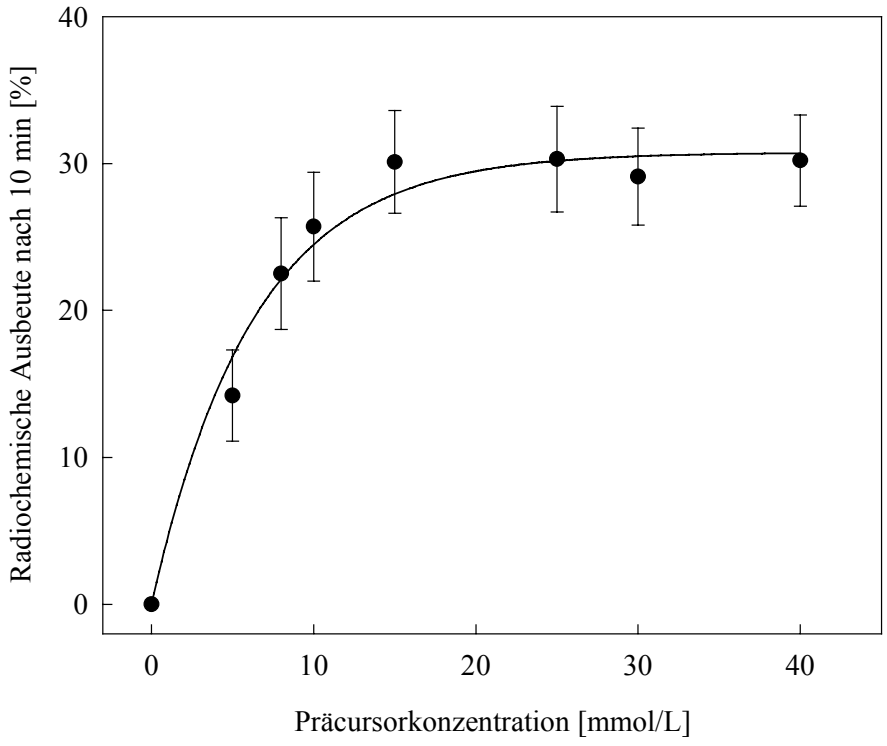


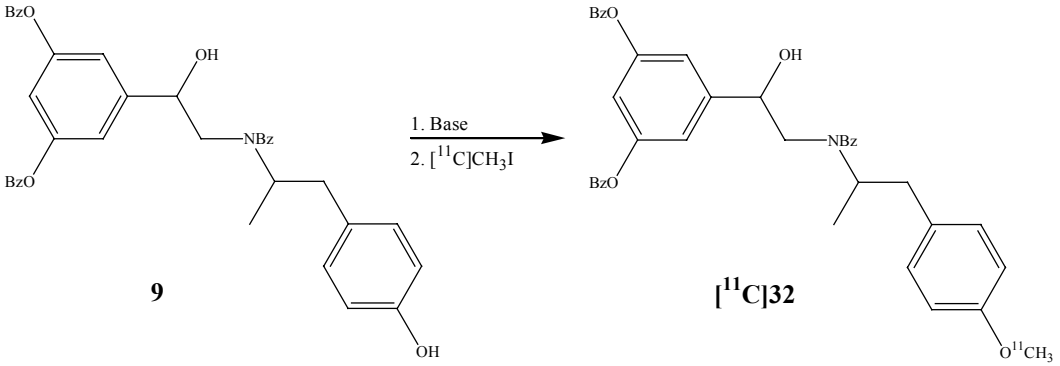
Abb. 82: Abhängigkeit der RCA an [^{18}F]**25** aus Fenoterol von der Eduktkonzentration (1 Eqiv. NaOH, DMF, T= 120°C, Reaktionszeit 10 Minuten)

4.6.5 Optimierte Reaktionsparameter zur Darstellung von [(R,R),(S,S)]-5-(2-(2-[4-(2-[^{18}F]Fluorethoxy)phenyl]-1-methylethylamino)-1-hydroxyethyl)benzen-1,3-diol ([^{18}F]25)

Die optimalen radiochemischen Ausbeuten an [^{18}F]**25** lassen sich erzielen, wenn mit einer Markierungsvorläuferkonzentration von 15 mmol/L Fenoterol in DMF bei einem equimolaren Basenzusatz von Lithium- oder Natriumhydroxid (1 N) gearbeitet wird. Bei einer Reaktionstemperatur von 120°C lassen sich nach 10 Minuten Reaktionszeit mit [^{18}F]FETos radiochemische Ausbeuten von 30% erhalten.

Das von Boehringer Ingelheim zur Verfügung gestellte Fenoterol ist ein Enantiomeren-Gemisch aus (R,R)- und (S,S)-Fenoterol. Daher ist auch das ^{18}F-fluorethylierte Fenoterol [^{18}F]**25** ein Gemisch aus diesen beiden Enantiomeren. Es entfällt die bei der Verwendung von **9** als Markierungsvorläufer notwendige Trennung der Diastereomerenpaare per HPLC. Das Reaktionsgemisch kann direkt im Laufmittel n-Hexan/1,2-Dichlorethan/Methanol/Trifluoressigsäure (230/140/30/1) aufgenommen werden und über eine Chirex 3022-HPLC-Säule der Firma Phenomenex in seine beiden Enantiomere aufgetrennt werden. Die Retentionszeiten betragen 14,5 und 16,9 Minuten (Chromatogramme siehe Anhang B). Allerdings liegen die maximal zu erhaltenden radiochemischen Ausbeuten an [^{18}F]**25** bei der Verwendung von Fenoterol als Markierungsvorläufer immer noch deutlich unter den Ausbeuten, die mit dem benzylgeschützten Markierungsvorläufer **9** auch nach der Entschützung erhalten werden können.

4.7 Radioaktive Markierung von 4-(2-(Benzyl-[2-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)-2-hydroxyethyl]amino)propyl)phenol (9) mit [^{11}C]Methyliodid zu 2-(Benzyl-[2-(4-[^{11}C]methoxyphenyl)-1-methylethyl]amino)-1-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)ethanol ([^{11}C]32)



9 **[^{11}C]32**

Abb. 83: Synthese von 2-(Benzyl-[2-(4-[^{11}C]methoxyphenyl)-1-methylethyl]amino)-1-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)ethanol ([^{11}C]**32**) durch Methylierung von 4-(2-(Benzyl-[2-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)-2-hydroxyethyl]amino)propyl)phenol (**9**)

4.7.1 Abhängigkeit der RCA an [^{11}C]32 vom verwendeten Lösungsmittel

Es wurden die bei der radioaktiven Markierung mit [^{18}F]FETos bewährten Lösungsmittel DMF und DMSO verwendet. Bei einer Reaktionszeit von 7 Minuten in den Solventien waren maximale radiochemische Ausbeuten von 80% sowohl in DMSO als auch in DMF realisierbar. Dieser Wert entsprach auch der radiochemischen Reinheit des [^{11}C]Methyliodids, so dass eigentlich radiochemische Ausbeuten von 99% vorlagen. Die Wahl des Lösungsmittels fiel auf DMF, da die Trennwirkung der HPLC-Säule bei Verwendung von DMSO durch teilweise extreme Peakverbreiterung der Reaktionskomponenten stark herabgesetzt wurde. Dieser unerwünschte Umstand war bei Verwendung von DMF nicht zu beobachten.

4.7.2 Abhängigkeit der RCA an [^{11}C]32 von der verwendeten Hilfsbase

Bei der ^{11}C-Methylierung wurden ausschließlich die bei der ^{18}F-Fluorethylierung bewährten Basen Natriumhydroxid und Lithiumhydroxid verwendet, da es sich bei beiden Reaktionen um den selben Markierungenvorläufer **9** handelt. Abbildung 84 zeigt, dass die radiochemischen Ausbeuten im Rahmen der Messgenauigkeiten bei der Verwendung dieser beiden Basen identisch sind.

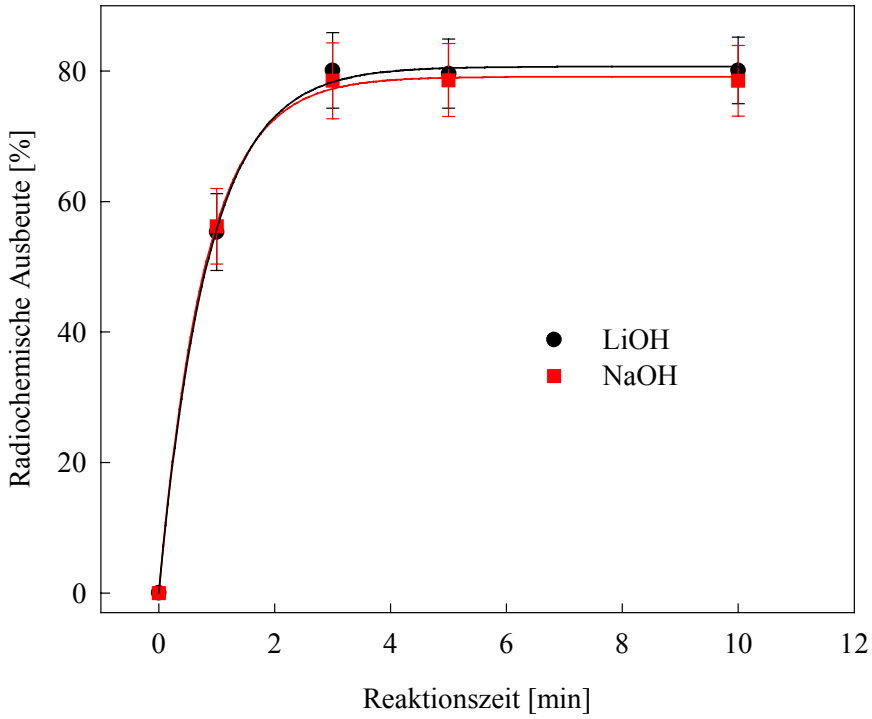


Abb. 84: Abhängigkeit der RCA an [^{11}C]**32** aus **9** von der verwendeten Base
(1 Eqiv. Base 1 N, DMF, T= 130°C, Präcursorkonzentration 18 mmol/L)

Da bei der Verwendung eines Equivalentes Base der Umsatz mit [^{11}C]Methyliodid bereits quantitativ verläuft, wurde auf Experimente mit anderen Basenkonzentrationen verzichtet.

4.7.3 Abhängigkeit der RCA an [^{11}C]32 von der Reaktionstemperatur

Abbildung 85 zeigt den Verlauf der radiochemischen Ausbeute an [^{11}C]**32** in DMF bei den Reaktionstemperaturen 100, 120 und 130°C. Die Kurven zeigen erwartungsgemäß eine Kinetik pseudo-erster Ordnung. Die maximale radiochemische Ausbeute von 80% (bei einer radiochemischen Reinheit des [^{11}C]Methyliodid von nur 80%!) wird bei Temperaturen oberhalb von 110°C nach 5 Minuten Reaktionszeit erreicht. Bei niedrigeren Temperaturen verläuft die Reaktion deutlich langsamer. Hier wird die maximale radiochemische Ausbeute erst nach 12 bis 15 Minuten erreicht.

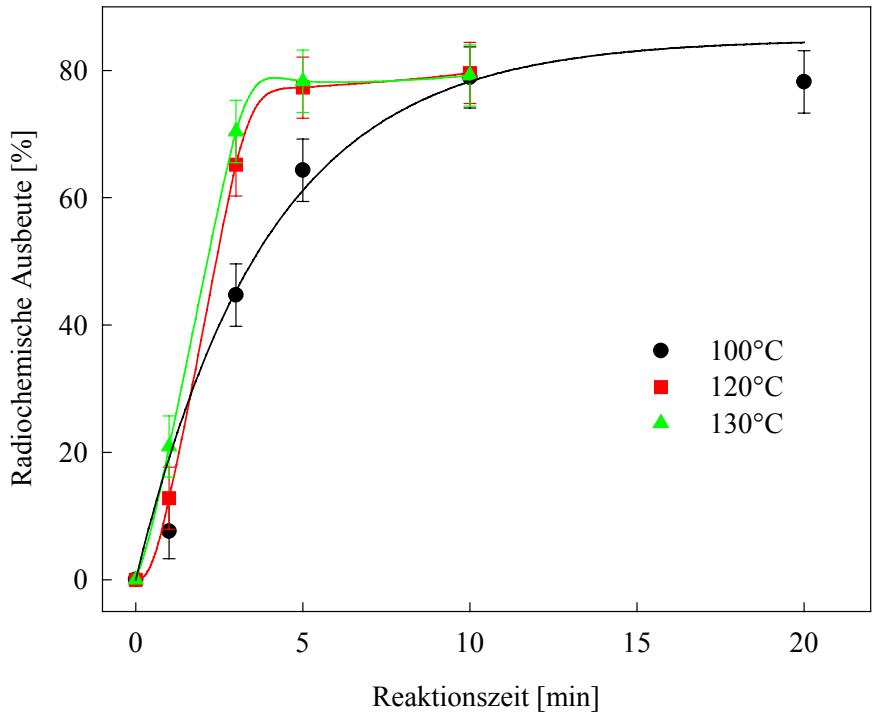


Abb. 85: Abhängigkeit der RCA an [^{11}C]**32** aus **9** von der Reaktionstemperatur
(1 Eqiv. NaOH, DMF, Präcursorkonzentration 18 mmol/L)

4.7.4 Abhängigkeit der RCA an [^{11}C]32 von der Eduktkonzentration

Wie aus Abbildung 86 ersichtlich, führt eine Präcursorkonzentration von 7 mmol/L in DMF zu maximalen radiochemischen Ausbeuten von 60% nach 8 bis 10 Minuten. Wird die Markierungsvorläuferkonzentration auf 18 mmol/L erhöht, so erfolgt innerhalb von 5 Minuten ein quantitativer Umsatz des [^{11}C]Methyliodids zum gewünschten [^{11}C]**32**. Aus diesem Grunde wurden keine weiteren Experimente mit noch höheren Markierungsvorläuferkonzentrationen durchgeführt, auch wenn bei der ^{18}F-Fluorethylierung dieses Markierungsvorläufers Eduktkonzentrationen von 30 mmol/L notwendig waren, um maximale radiochemische Ausbeuten zu erzielen (s. Abschnitt 4.1.7).

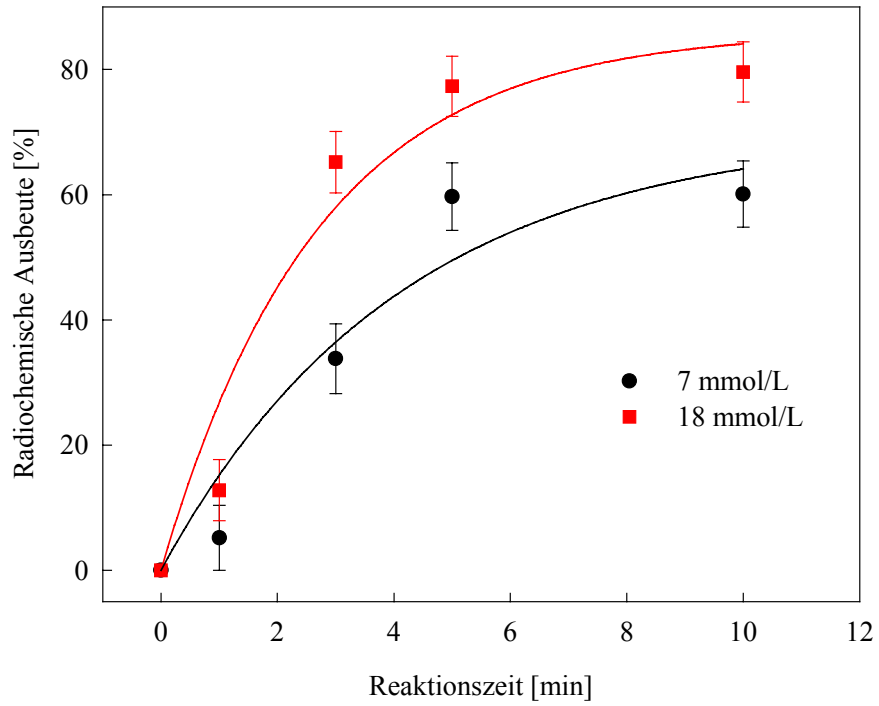
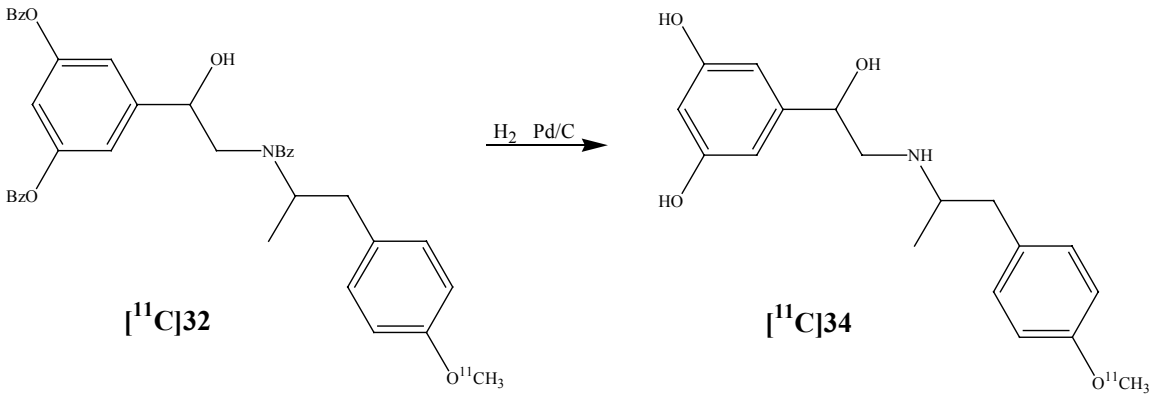


Abb. 86: Abhängigkeit der RCA an [^{11}C]**32** von der Eduktkonzentration an **9**
(1 Eqiv. NaOH, DMF, T= 130°C)

4.8 Synthese von 5-(2-(2-[4-(2-[^{11}C]Methoxy)phenyl]-1-methylethylamino)-1-hydroxy-ethyl)benzen-1,3-diol ([^{11}C]34)



[^{11}C]**32** [^{11}C]**34**

Abb. 87: Synthese von 5-(2-(2-[4-(2-[^{11}C]Methoxy)phenyl]-1-methylethylamino)-1-hydroxy-ethyl)benzen-1,3-diol ([^{11}C]**34**) durch Debenzylierung von [^{11}C]**32**

Die Abspaltung der Benzyl-Schutzgruppen mit Wasserstoff am Palladium-Aktivkohle-Katalysator erfolgt analog zur Synthese von [^{18}F]**25** (Abschnitt 4.4). Auch hier erfolgt die Benzylether-Spaltung

innerhalb von 5 Minuten quantitativ mit 5 bis 10% Verlust an radiochemischer Ausbeute durch Adsorptionsverluste an der Aktivkohle.

4.9 Radioaktive Markierung von [(R,R),(S,S)]-5-(1-Hydroxy-2-[2-(4-hydroxyphenyl)-1-methylethylamino]ethyl)benzen-1,3-diol (Fenoterol, 1) mit [^{11}C]Methyliodid zu 5-(2-(2-[4-(2-[^{11}C]Methoxy)phenyl]-1-methylethylamino)-1-hydroxyethyl)benzen-1,3-diol ([^{11}C]-34)

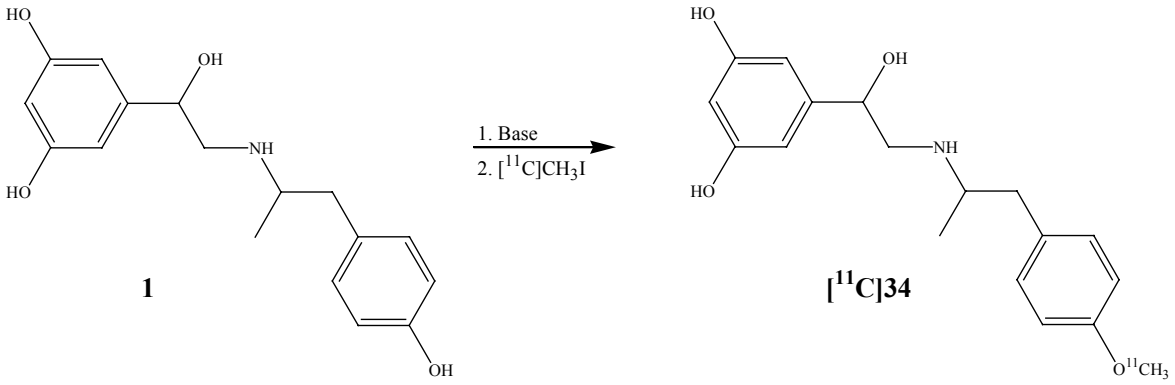


Abb. 88: Darstellung von 5-(2-(2-[4-(2-[^{11}C]Methoxy)phenyl]-1-methylethylamino)-1-hydroxyethyl)benzen-1,3-diol ([^{11}C]**34**) aus Fenoterol (**1**)

Das von Boehringer Ingelheim zur Verfügung gestellte Fenoterol lag in Form seines Hydrobromides vor. Bei direkter Verwendung des Hydrobromides unter Verwendung eines zusätzlichen Basenequivalentes konnten keinerlei radiochemische Ausbeuten an [^{11}C]**34** erzielt werden. Erst nach vorheriger Freisetzung des Hydrobromides konnte mit der freien Base das gewünschte Produkt [^{11}C]**34** dargestellt werden.

4.9.1 Abhängigkeit der RCA an [^{11}C]34 vom verwendeten Lösungsmittel

Es wurden auch beim Markierungsvorläufer Fenoterol die bei der radioaktiven Markierung von **9** mit [^{11}C]Methyliodid bewährten Lösungsmittel DMF und DMSO verwendet. Bei einer Reaktionszeit von 5 Minuten in den Solventien waren maximale radiochemische Ausbeuten von 80% sowohl in DMSO als auch in DMF realisierbar. Dieser Wert entsprach auch der radiochemischen Reinheit des [^{11}C]Methyliodids, so dass eigentlich radiochemische Ausbeuten von >99% vorlagen. Die Wahl des Lösungsmittels fiel auf DMF, da die Trennwirkung der HPLC-Säule bei Verwendung von DMSO stark herabgesetzt wird.

4.9.2 Abhängigkeit der RCA an [^{11}C]34 von der verwendeten Base

Bei der ^{11}C-Methylierung von Fenoterol wurden ausschließlich die bei der ^{18}F-Fluorethylierung von Fenoterol bewährten Basen Natriumhydroxid und Lithiumhydroxid verwendet, da es sich bei beiden Reaktionen um denselben Markierungsvorläufer **1** handelt. Abbildung 89 zeigt, dass die radiochemischen Ausbeuten im Rahmen der Messgenauigkeiten bei der Verwendung dieser beiden Basen identisch sind.

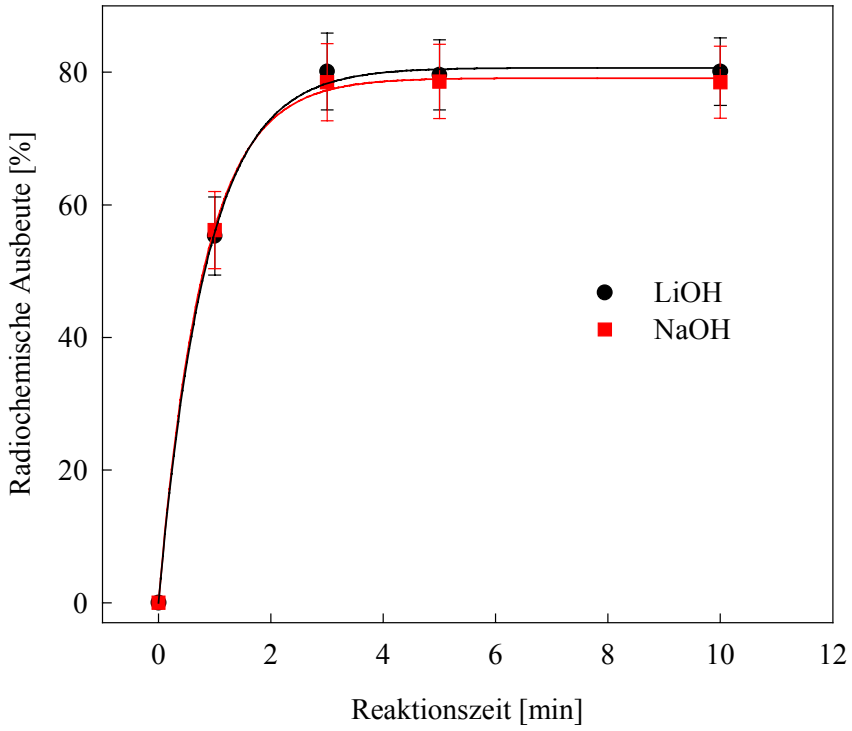


Abb. 89: Abhängigkeit der RCA an [^{11}C]**34** aus Fenoterol von der verwendeten Base
(1 Eqiv. Base, DMF, T= 125°C, Präcursorkonzentration 13 mmol/L)

Da bei einer radiochemischen Reinheit des eingesetzten [^{11}C]Methyliodids von 80% eine radiochemische Ausbeute an [^{11}C]**34** von 80% ein quantitativer Umsatz bedeutet, wurde auf die Untersuchung einer Abhängigkeit der RCA an [^{11}C]**34** von der Basenkonzentration verzichtet.

4.9.3 Abhängigkeit der RCA an [^{11}C]34 von der Reaktionstemperatur

Abbildung 90 zeigt den Verlauf der radiochemischen Ausbeuten an [^{11}C]**34** bei Reaktionstemperaturen von 100 bis 130°C. Das Maximum an radiochemischer Ausbeute von 80% (bei einer radiochemischen Reinheit des eingesetzten [^{11}C]Methyliodids von 80%) wird bei Temperaturen zwischen 110 und 125°C erzielt. Erwartungsgemäß verläuft die Reaktionskinetik bei 125°C schneller, so dass hier die Reaktion bereits nach 3 Minuten quantitativ abgelaufen ist, während bei 110°C das Ausbeutemaximum erst nach 10 Minuten erreicht wird. Dies führt besonders im Hinblick auf die Halbwertszeit von ^{11}C (20 min) zu einem erheblichen

Ausbeutegewinn an [^{11}C]**34.** Bei einer Reaktionstemperatur von 130°C sinkt die maximale RCA auf 60%, da es zu einer thermischen Zersetzung des Markierungsvorläufers Fenoterol kommt (vgl. Abschnitt 4.5.3).

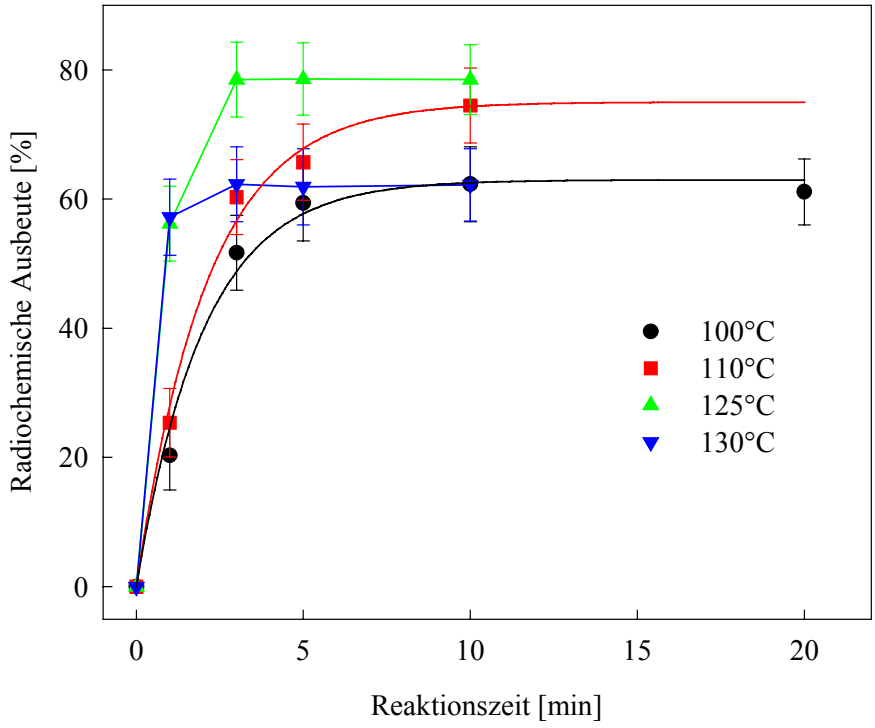


Abb. 90: Abhängigkeit der RCA an [^{11}C]**34** aus Fenoterol von der Reaktionstemperatur (1 Eqiv. NaOH, DMF, Präcursorkonzentration 13 mmol/L)

4.9.4 Abhängigkeit der RCA an [^{11}C]34 von der Eduktkonzentration

Wie aus Abbildung 91 ersichtlich, verläuft die Methylierung von Fenoterol (**1**) mit [^{11}C]Methyliodid bei einer Markierungsvorläuferkonzentration von 13 mmol/L innerhalb von 3 Minuten quantitativ. Eine Erniedrigung der Eduktkonzentration auf 8 mmol/L führt einerseits zu einer deutlichen Verlangsamung der Reaktionskinetik, andererseits zu einem Absinken der radiochemischen Ausbeute auf 65%.

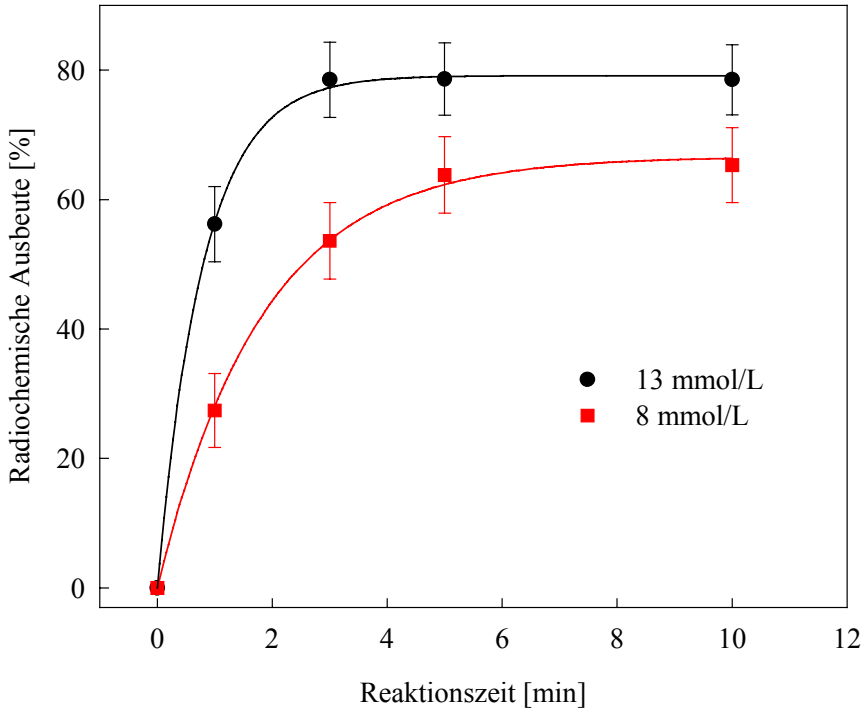


Abb. 91: Abhängigkeit der RCA an [^{11}C]**34** von der Eduktkonzentration (1 Eqiv. NaOH, DMF, T= 125°C)

4.9.5 Optimierte Reaktionsparameter zur Synthese von [(R,R),(S,S)]-5-(2-(2-[4-(2-[^{11}C]Methoxy)phenyl]-1-methylethylamino)-1-hydroxyethyl)benzen-1,3-diol ([^{11}C]34)

Im Gegensatz zur ^{18}F-Fluorethylierung von Fenoterol (**1**) erfolgt bei der Reaktion von [^{11}C]Methyliodid mit Fenoterol überraschenderweise keine Nebenreaktion wie z.B. die Methylierung der Aminofunktion oder der Resorcinol-Struktur. Dies könnte in der Qualität der Abgangsgruppen von [^{18}F]FETos und [^{11}C]Methyliodid begründet sein: das Iodid ist in dipolar aprotischen Lösungsmitteln wie DMF die bessere Abgangsgruppe, was jedoch zu einer erhöhten Selektivität führt. Da es bei der Verwendung des benzylgeschützen Markierungsvorläufers **9** längerer Reaktionszeiten bedarf, und anschließend noch die Schutzgruppen abgespalten werden müssen, kommt es hierbei zu Nachteilen im Vergleich zum Fenoterol (**1**) als Markierungsvorläufer. Einerseits kommt es aufgrund von Adsorptionsverlusten an der Aktivkohle zu radiochemischen Ausbeuteverlusten bei der Entschützung, andererseits erfordert die Synthese, nicht zuletzt aufgrund der notwendigen zwei HPLC-Aufreinigungen einen erheblich größeren Zeitaufwand, was besonders bei Arbeiten mit ^{11}C die radiochemischen Ausbeuten erniedrigt. Andererseits entstehen analog zur ^{18}F-Fluorethylierung bei der Verwendung des benzylgeschützten Markierungsvorläufers **9** 4 Stereoisomere des gewünschten Produktes [^{11}C]**34**, die zwar mittels 2 HPLC-Trennungen enantiomerenrein aufgetrennt werden können, was aber zusätzlich Zeit erfordert. Bei der Verwendung von Fenoterol als Markierungsvorläufer dagegen entstehen nur 2 Enantiomere, die

mittels eines HPLC-Schrittes erheblich rascher getrennt werden können. Aus diesen Gründen erscheint es im Gegensatz zur Darstellung von [^{18}F]**25** bei der Synthese von [^{11}C]**34** sinnvoller, vom Fenoterol (**1**) als Markierungsvorläufer auszugehen.

5 Bestimmung der logD-Werte

Wie in der Einleitung bereits erwähnt, existieren nicht nur membranständige β2-Adrenozeptoren, sondern intakte β2-adrenerge Rezeptoren können sich auch im Inneren der Zelle befinden, wo sie jedoch nicht G-Protein-gekoppelt sind. Deshalb ist es von Interesse, ob ein Ligand des β2-adrenergen Systems die Zellmembran durchdringen kann oder nicht. Ein wichtiges Kriterium hierfür ist die Lipophilie einer Substanz. Im allgemeinen müssen Substanzen durch passiven Transport oder Diffusion biologische Lipidmembranen durchqueren. Die Effizienz dieses Transportprozesses wird wesentlich durch die Lipophilie des zu transportierenden Moleküls bestimmt. Die experimentelle Bestimmung der Lipophilie einer Verbindung erfolgt durch Bestimmung ihres logP. Es handelt sich hierbei um den Logarithmus des Verteilungskoeffizienten (engl.: **p**artition coefficient) der Verbindung in einem Octanol/Wasser-System. Für die Definition des logP gilt:

$$\log P = \log \frac{[\text{Molekül}]_{\text{Octanol}}}{[\text{Molekül}]_{\text{Wasser}}}$$

Bei [Molekül] handelt es sich im Falle saurer oder basischer Verbindungen um die Konzentration einer Spezies des Moleküls. Da für Aussagen zu biochemischen Prozessen insbesondere die Lipophilie bei einem pH-Wert von 7,4 von Interesse ist und die zu untersuchenden Verbindungen **25** und **34** in diesem pH-Bereich in mehreren Ladungszuständen vorliegen können, wurde anstatt des logP-Wertes der logD-Wert bei einem pH-Wert von 7,4 bestimmt. Der logD (engl.: **d**istribution coefficient) stellt im Gegensatz zum logP nicht den Logarithmus des Verteilungskoeffizienten über eine Molekülspezies dar, sondern über alle vorkommenden Spezies. Da der logD bei ionisierbaren Molekülen stark vom pH abhängig ist und das Vorkommen mehrerer Ladungszustände der zu untersuchenden Substanzen bei einem pH-Wert berücksichtigt, bietet er einen wesentlich aussagekräftigeren Wert. Für die Definition des logD gilt:

$$\log D = \log \frac{\Sigma[\text{Molekül}]^{x}_{\text{Octanol}}}{\Sigma[\text{Molekül}]^{x}_{\text{Wasser}}} \qquad \text{mit } x = \text{Ladung}$$

Im Rahmen dieser Arbeit sollte der logD der Verbindungen **25** und **34** mit Hilfe der Titrationsmethode bestimmt werden. Basierend auf den Arbeiten von Dyrssen et al. [137-139] und Rydberg [140] existiert ein Verfahren, die Lipophilie ionisierbarer Moleküle durch Titration zu bestimmen. Diese Vorgehensweise wird durch eine Beziehung zwischen der Lipophilie und dem pK-Wert einer Substanz ermöglicht, die am Beispiel einer einprotonigen schwachen Säure aufgezeigt werden soll. Titriert man diese schwache Säure von einem niedrigen zu einem hohen pH-Wert, gibt dann ein der wässrigen Phase equivalentes Volumen Octanol dazu und titriert dieses Zweiphasensystem wieder auf den niedrigen pH-Wert zurück, so unterscheiden sich die beiden Titrationskurven am deutlichsten im Pufferbereich der Säure, falls die protonierte Säure in Octanol

löslich ist. Abbildung 92 veranschaulicht diesen Sachverhalt, wobei die Anzahl der pro Säuremolekül gebundenen Protonen gegen den pH-Wert aufgetragen wurde (Bjerrum-Differenz-Auftragung).

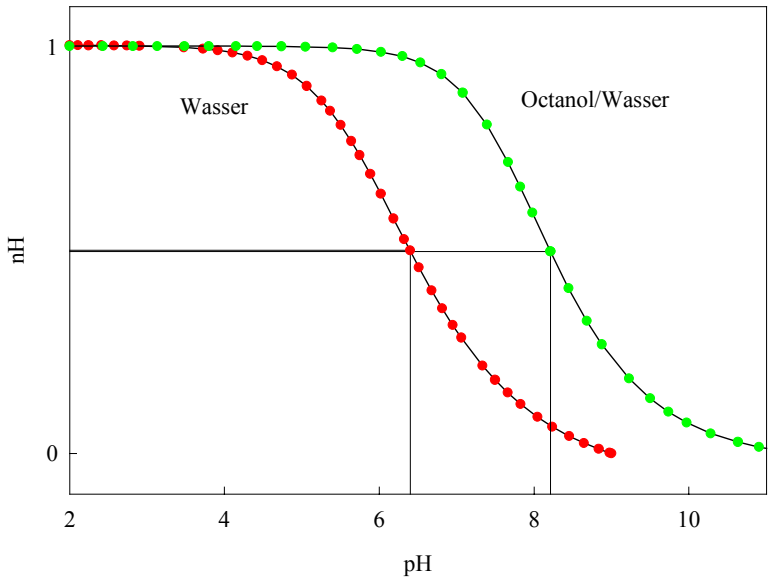


Abb. 92: Differenzkurve einer schwachen Säure in Wasser und in einem Octanol/Wasser-System

Man erhält für beide Titrationen unterschiedliche pK_a-Werte für die Säure, den pK_a-Wert im wässrigen System und einen „scheinbaren“ pK-Wert, genannt p_oK_a, für die Titration im Zweiphasensystem. Die Differenz zwischen diesen beiden Werten ist ein Maß für die Lipophilie der Säure, denn je höher diese Differenz, desto lipophiler ist die Verbindung. Für den Verteilungskoeffizient dieser Säure gilt:

$$P_{HA} = \frac{[HA]_{Octanol}}{[HA]_{Wasser}} \qquad \text{mit [HA] = Konzentration Säure}$$

Daraus folgt für die Beziehung zwischen P und den beiden pK-Werten:

$$P_{HA} = \frac{10^{(poKa - pKa)} - 1}{r} \qquad \text{mit } r = Volumen_{Octanol}/Volumen_{Wasser}$$

Somit lässt sich durch Titration einer Verbindung im wässrigen und anschließend im Zweiphasen-System Octanol/Wasser die Lipophilie der Verbindung ermitteln. Analoge Beziehungen gelten auch für Basen und mehrfach ionisierbare Substanzen. Dabei gilt, dass der p_oK_a-Wert einer Säure stets höher und der p_oK_a-Wert einer Base stets niedriger sind als der pK_a-Wert. Es kommt also in einem Zweiphasen-System zu einer Verminderung der sauren bzw. basischen Eigenschaften einer Verbindung.
Da die beiden untersuchten Substanzen **25** und **34** keine ausreichend hohe Löslichkeit in Wasser besitzen, musste die Bestimmung ihrer pK_a-Werte in einem Dioxan/Wasser-Gemisch durchgeführt

werden. Bei den erhaltenen Werten handelt es sich dann ebenfalls um „scheinbare“ pK_a-Werte, genannt p_sK_a. Um aus diesen p_sK_a-Werten die pK-Werte der Substanzen zu ermitteln, wurde ein in der Literatur beschriebenes Verfahren verwendet [141]. Nach Yasuda [142] und Shedlovsky [151] gilt für Lösungsmittelsysteme folgende annähernd lineare Beziehung:

$$p_sK_a + \log[H_2O] = A/\varepsilon + B$$

wobei ε die Dielektrizitätskonstante des Co-Solvens ist, A die Steigung der Geraden und B der Ordinatenabschnitt der Geraden im Yasuda-Shedlovsky-Plot.
Bei Kenntnis der p_sK_a-Werte in Lösungsmittelgemischen mit verschiedenem Wasseranteil lässt sich also durch Auftragung von $p_sK_a + \log[H_2O]$ gegen $1/\varepsilon$ der pK_a-Wert der Substanz in reinem Wasser extrapolieren.
Die nun folgenden Untersuchungen wurden mit Hilfe der Titrationsapparatur PCA 200 der Firma Sirius Analytical Instruments Ltd. und des zugehörigen Software-Pakets derselben Firma durchgeführt. Dazu wurde eine ca. 1 mM Lösung der Substanzen **25** bzw. **34** bei drei verschiedenen Konzentrationen an Cosolvens (Dioxan, w ≈ 20, 30 und 40%) über einen pH-Bereich von 2-13 titriert, um die entsprechenden p_sK_a-Werte zu ermitteln. Mit Hilfe einer Yasuda-Shedlovsky-Auftragung wurden dann aus den p_sK_a-Werten die entsprechenden pK_a-Werte bestimmt. Tabelle 6 listet die erhaltenen pK_a-Werte für **25** und **34** auf.

Tabelle 6: pK_a-Werte der Verbindungen **25** und **34**

Verbindung	pK_a1	pK_a2	pK_a3
25 (Fluorethyl-Fenoterol)	11,563	11,139	8,566
34 (Methoxy-Fenoterol)	11,909	11,293	8,880

Trägt man die erhaltenen Titrationskurven in einer Bjerrum-Differenz-Auftragung auf, lassen sich die Verteilungen der Molekülspezies in Abhängigkeit vom pH-Wert berechnen. Abbildung 93 zeigt diese Verteilung für die ^{19}F-Referenzverbindung **25**. Für die Substanz **34** ist der Verlauf der Molekülspezies in Abhängigkeit vom pH-Wert identisch, jedoch um 0.3 pH-Einheiten nach rechts verschoben, wie auch die Differenz der pK_a-Werte (Tab. 6) verdeutlicht. Bei einem physiologischen pH von 7,4 liegt also Fluorethyl-Fenoterol zu 75% in der am Amin protonierten Form vor, Methoxy-Fenoterol ist nahezu vollständig protoniert.
In Analogie zur Ermittlung der p_sK_a-Werte wurde auch bei der Lipophilieuntersuchung eine ca. 1 mM Lösung der Substanzen bei drei verschiedenen Volumina an Octanol über einen pH-Bereich von 2-13 titriert. Damit bei diesem Verfahren korrekte Messergebnisse erzielt werden, sollte die Testsubstanz in beiden Lösungsmitteln, Wasser und Octanol, zumindest eine geringe Löslichkeit besitzen. Leider waren sowohl **25** als auch **34** so wenig löslich in Octanol, dass die titrimetrisch bestimmten pK_a-Wert-Differenzen (s. Abb. 92) zu gering waren, um verlässliche Aussagen bezüglich der Lipophilie machen zu können. Deshalb wurde zur Bestimmung des $logD_{7,4}$ auf die klassische Scheidetrichtermethode zurückgegriffen.

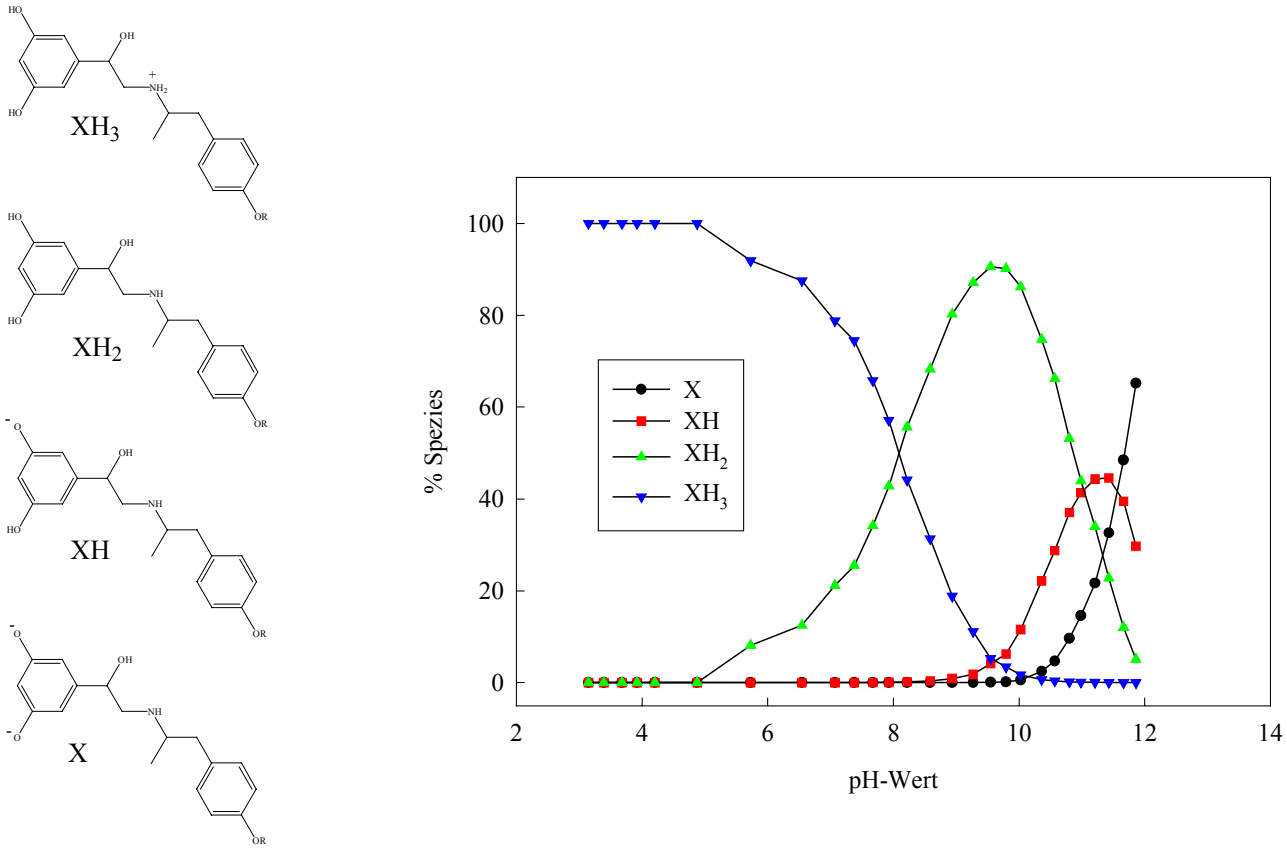


Abb. 93: Verteilung der Molekülspezies der Substanz **25** in Abhängigkeit vom pH-Wert (R = [^{19}F]Fluorethyl)

Bei dieser Methode werden die Testsubstanzen in ein Zweiphasengemisch aus Octanol und Wasser überführt und die beiden Phasen kräftig durchmischt, um eine Einstellung des Gleichgewichtes zu gewährleisten. Die beiden Phasen werden anschließend getrennt und jeweils auf ihren Gehalt an Testsubstanz hin untersucht. Besonders einfach gelingt dies, wenn radioaktiv markierte Verbindungen zur Verfügung stehen, da es in diesem Fall genügt, die Phasen auf ihren Radioaktivitätsgehalt hin zu untersuchen. In diesem Fall wurden n.c.a. [^{18}F]**25** und [^{11}C]**34** jeweils in ein Zweiphasensystem von 500 µL Octanol (mit Wasser gesättigt) und 500 µL Wasser (mit Phosphatpuffer auf pH 7,4 eingestellt) überführt und bei Raumtemperatur drei Minuten in einem Vortex gut durchmischt. Anschließend wurden die Phasen separiert und aus jeder Phase ein Aliquod von 3 µL entnommen und dessen Radioaktivität mittels Radio-DC am Instant Imager bestimmt. Tabelle 7 zeigt die Ergebnisse der logD-Bestimmung. Der logD für Fenoterol wurde nicht bestimmt, sondern aus [147] übernommen.

Tabelle 7: Lipophilie-Werte der Substanzen Fenoterol, Fluorethyl-Fenoterol (**25**) und Methoxy-Fenoterol (**34**)

Verbindung	**$LogD_{7,4}$**
Fenoterol (**1**)	0,74
Fluorethyl-Fenoterol (**25**)	0,5 ± 0,05
Methoxy-Fenoterol (**34**)	0,1 ± 0,05

6 *in vitro*-Evaluierung von [^{19}F]Fluorethyl-Fenoterol (25)

Um zu überprüfen, ob die Affinität von [^{19}F]Fluorethyl-Fenoterol (**25**) zum β2-Adrenozeptor durch die Derivatisierung des Phenol-Restes sich im Vergleich zum originalen Fenoterol verändert hat, wurden *in vitro*-Untersuchungen an Meerschweinchen-Tracheen durchgeführt. Verwendet wurden Dunkin-Hartley-Meerschweinchen beiderlei Geschlechts mit einem Lebendgewicht von 400-500 g. Nach Betäubung durch Genickschlag wurden die Tiere entblutet und die Trachea entfernt.

Es wurden nur Tracheen mit erhaltenem Oberflächenepithel verwendet. Während der gesamten Präparation wurde die Trachea ständig mit begaster physiologischer Kochsalzlösung befeuchtet. Begast wurde mit Carbogen, einer Mischung aus 5% CO_2 in O_2. Für die Messung der tonischen Kontraktion des Musculus trachealis wurde die Trachea ventral in Längsrichtung aufgeschnitten und halbiert. Die aufgeschnittene und halbierte Trachea wurde mit Hilfe eines Elektrodenhalters (unten) und einer feinen Zackenhalterung (oben) horizontal in einem Organbad aufgehängt und mit 10 mN vorgespannt. Die isometrische Kontraktion des Muskels konnte so durch Veränderung des Abstandes zwischen Elektrodenhalter und Zackenhalterung mit einem Dehnungsstreifen gemessen werden. Geeicht wurde die Versuchsapparatur mit definierten Gewichten. Ein Umlaufthermostat durchspülte den Mantel des Organbades mit 37°C warmen Wasser, das Organbad selbst wurde permanent mit Carbogen durchperlt. Während eines Versuches wurde im Abstand von 10 min die auf 37°C vorgewärmte, oxygenierte physiologische Kochsalzlösung des Organbades gewechselt. Durch die Zugabe von 100 nM Oxotremorin, einem muscarinischen Acetylcholin-Rezeptorliganden, der für die Kontraktion der glatten Muskelzellen der Bronchien verantwortlich ist, wurden die Tracheen vorkontrahiert und der Ausgangswert registriert. Diese Prozedur wurde mehrmals wiederholt. Dieser Ausgangswert wurde als 100% Bezugswert angesehen und alle späteren Kontraktionen wurden zu diesem Wert in Relation gesetzt.

Für die Erstellung der Konzentrations-Wirkungs-Kurven wurden im Abstand von 3 Minuten Fenoterol (**1**) bzw. das [^{19}F]Fluorethyl-Fenoterol (**25**) in steigenden Konzentrationen kumulativ appliziert (1 nM – 1000 nM). Abbildung 94 zeigt den relaxierenden Effekt von Fenoterol und [^{19}F]Fluorethyl-Fenoterol im Vergleich. Im Rahmen der Messgenauigkeiten ergaben sich keine Unterschiede für die beiden Substanzen, was bedeutet, dass durch die Einführung einer Fluorethyl-Gruppe in das Fenoterol die Affinität zum β2-Adrenozeptor nicht beeinflusst wurde. Die IC_{50}-Werte sowohl für Fenoterol (**1**) als auch für [^{19}F]Fluorethyl-Fenoterol (**25**) liegen bei etwa 60 nM.

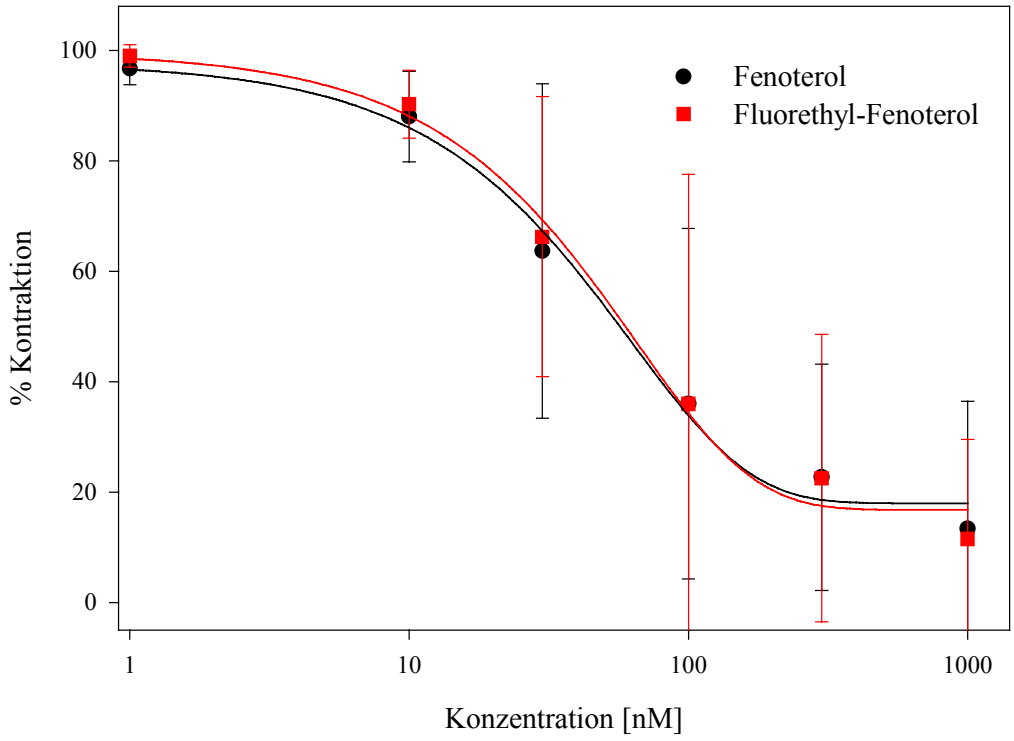


Abb. 94: relaxierende Wirkung von Fenoterol (**1**) und Fluorethyl-Fenoterol (**25**) auf vorkontrahierte Meerschweinchen-Tracheen

Für die Erstellung der Kurven wurden 5 Meerschweinchen-Tracheen verwendet, von denen drei zunächst mit Fenoterol relaxiert und nach Auswaschung und erneuter Vorkontraktion anschließend mit Fluorethyl-Fenoterol relaxiert wurden. Bei zwei der Präparate wurde der umgekehrte Weg beschritten, sie wurden zuerst mit Fluorethyl-Fenoterol relaxiert. Dies ist insofern von Bedeutung, als die Präparate „altern“, d.h. sie werden mit zunehmender Zeit und Behandlung zunächst unsensibler, bis sie schließlich absterben. Daher werden auch die Fehler mit zunehmenden Konzentrationen an Fenoterol bzw. Fluorethyl-Fenoterol größer. Um diese Fehler zu minimieren, müssten einerseits noch mehr Experimente durchgeführt werden, andererseits wäre es auch sinnvoll, einige Präparate direkt mit relativ hohen Konzentrationen an Fenoterol/Fluorethyl-Fenoterol zu behandeln. Da jedoch diese Experimente nur einer ersten Orientierung dienten, ob die Bindung des Fenoterol-Derivates an den β2-Adrenozeptor durch die Fluorethylierung wesentlich verändert wird, wurde auf weitere Experimente verzichtet.

7 Experimenteller Teil

7.1 Verwendete Chemikalien und Geräte

Die verwendeten Chemikalien und Lösungsmittel sind in Tab. 8 aufgeführt. Falls erforderlich, wurden Chemikalien und Lösungsmittel nach Standardmethoden gereinigt und getrocknet [130].

Tab. 8: Bezugsquelle und Reinheitsgrad der Chemikalien

CHEMIKALIEN	*GEHALT/QUALITÄT*	*FIRMA*
LiChrolutEN	200 mg	Merck
AluminaB	Sep-Pak Light	Waters
Accell Plus QMA	Sep-Pak Light	Waters
C-18	Sep-Pak Plus	Waters
(1R,2S)-Aminoindanol	99 %	Aldrich
1,2-Dichlorethan	LiChrosolv, >99,8%	Merck
1-Brom-2-Fluorethan	99 % +	Avocado
3,5-Bisbenzyloxybenzaldehyd	98 %	Aldrich
3,5-Bishydroxy-phenylethanon	97 %	Aldrich
3,5-Dibenzyloxyacetophenon	98 %	Avocado
4-Hydroxyphenylaceton	98 %	Avocado
4-Methoxyphenylaceton	98 %	Avocado
4-Toluolsulfonsäurechlorid	zur Synthese	Merck
Aceton	puriss. über Molsieb	Fluka
Acetonitril	puriss. über Molsieb	Fluka
Benzylamin	zur Synthese	Avocado
Benzylchlorid	puriss.	Fluka
Boran-Dimethylsulfid-Komplexlösung	2,0 M in THF	Aldrich
Boran-THF-Komplex	1,0 M in THF	Aldrich
Brom	99,5 %	Aldrich
Chloroform	absolut	Merck
Dichlormethan	puriss. über Molsieb	Fluka
Diethylether	puriss. über Molsieb	Fluka
Dimethylsulfoxid	puriss. über Molsieb	Fluka
Dioxan	puriss. über Molsieb	Fluka
Essigsäureanhydrid	99 %	Merck
Essigsäureethylester	purum.	Fluka
Ethanol	absolut, reinst	Merck
Gadoliniumtrifluormethan-sulfonat	98 %	Aldrich

Kaliumcarbonat	zur Analyse	Merck
Kaliumiodid	zur Analyse	Merck
Kaliummethanolat	zur Synthese	Merck
Kryptofix 2.2.2.	zur Synthese	Merck
Lithiumaluminiumhydridlösung	1,0 M in THF	Aldrich
Lithiumperchlorat	99,99 %	Aldrich
Lithiumtrifluormethansulfonat	99,995 %	Aldrich
Methanol	LiChrosolv	Fluka
N,N-Dimethylformamid	puriss. über Molsieb	Fluka
Natriumhydrid	zur Synthese	Merck
Natriumsulfat	reinst	Merck
n-Hexan	LiChrosolv	Merck
Palladium/Kohlenstoff	10 % zur Synthese	Merck
Platin/Kohlenstoff	5 % zur Synthese	Merck
Tetrahydrofuran	puriss. über Molsieb	Fluka
Toluol	wasserfrei 99,8 %	Aldrich
Trifluoressigsäure	Uvasol	Merck
Trimethylsulfoniumiodid	98 %	Aldrich
Ytterbiumtoluolsulfonat	polymer	ICN Biochemicals
Ytterbiumtrifluormethansulfonat	99,99 %	Aldrich

Für die Dünnschichtchromatographie (DC) wurden die kieselgelbeschichteten Aluminiumfolien 60 F_{254} der Firma Merck benutzt. Die Detektion der Chromatographiezonen erfolgte durch Frequenzlöschung bei 254 nm. Die Flashchromatographie wurde mit Kieselgel 60 der Firma ICN durchgeführt, der verwendete Sand von Riedl-de-Haen bezogen.

Die Charakterisierung der einzelnen synthetisierten Substanzen erfolgte je nach Substanz mit ^{1}H-, ^{13}C- sowie ^{19}F-NMR, Massenspektroskopie und IR-Spektroskopie. Folgende Geräte wurden verwendet:

NMR-Spektroskopie:	200-MHz-FT-NMR-Spektrometer AC200 der Fa. Bruker 400-MHz-FT-NMR-Spektrometer ARX400 der Fa. Bruker
Massenspektroskopie:	MAT 90-Spektrometer für FD-Spektren der Fa. Finnigan
IR-Spektrometer:	FT-IR Spektrometer 1760X der Fa. Perkin Elmer
Schmelzpunktbest.:	Elektrothermal A9100 der Fa. Kleinfeld GmbH
Radioaktivitätsdetektion:	Instant Imager der Fa. Packard Canberra

Titrationsapparatur: PCA 200 der Fa. Sirius Analytical Instruments Ltd.

HPLC-Systeme:

A: Pumpe: Sykam Solvent Delivery System S1121
UV: Knauer UV Detektor K-2501
Aktivitätsdetektor: Berthold LB 506 C-1
Probenaufgabeventil: Rheodyne, Typ 8125

B: Pumpe: Sykam Solvent Delivery System S1121
UV: Linear UVIS 200
Aktivitätsdetektor: IsoMed (Nuklearmedizin Technik Dresden)
Probenaufgabeventil: Rheodyne, Typ 8125

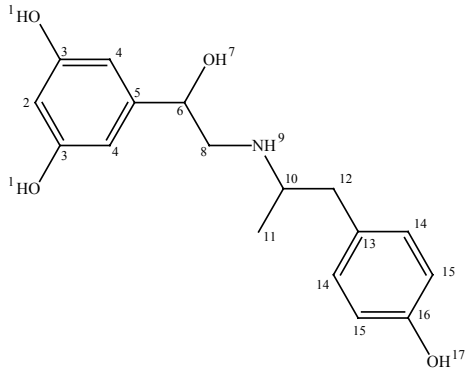
C: Pumpe: Waters 1525 Binary HPLC Pump
UV: Waters 2487 Dual λ Absorbance Detector
Probenaufgabeventil: Rheodyne, Typ 8125

D: Pumpe: Gynkothek Model 480
UV: Gynkothek UVD 1705
Aktivitätsdetektor: NaI-Kristall mit Hochspannungsquelle
Probenaufgabeventil: Rheodyne, Typ 8125

E: Pumpe: Knauer K500
UV: Knauer K2500
Aktivitätsdetektor: BGO-Kristall
Probenaufgabeventil: Rheodyne, Typ 8125

7.2 Darstellung der inaktiven Standardverbindungen und Markierungsvorläufer

5-(1-Hydroxy-2-[2-(4-hydroxyphenyl)-1-methylethylamino]ethyl)benzen-1,3-diol (**1**)

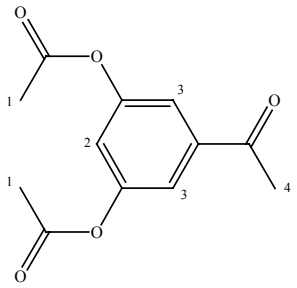


1,5 g (3,5 mmol) 5-(1-Hydroxy-2-[2-(4-hydroxyphenyl)-1-methylethylamino]ethyl)benzen-1,3-diol Hydrobromid (Boehringer Ingelheim) werden in 5 mL Methanol gelöst. Nach Zugabe von 1,75 mL 2 N Natronlauge wird 5 Minuten gerührt. Anschließend wird mit Diethylether extrahiert. Die organische Phase wird mit Wasser gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum verbleiben 970 mg der gewünschten Substanz als farblose Kristalle (90%).

^{1}H-NMR (400MHz, DMSO-d6) δ [ppm]: 9,0 (s, 3H, *1,17*); 6,9 (d, 2H, 15); 6,7 (d, 2H, 14); 6,2 (s, 2H, *4*); 6,0 (s, 1H, *2*); 5,0 (s, 1H, *7*); 4,3 (t, 1H, *6*); 3,4 (d, 2H, *12*); 2,7 (m, 1H, *10*); 2,6 (m, 2H, *8*); 2,2 (m, 1H, *9*); 0,8 (d, 3H, *11*).
^{13}C-NMR (400MHz, DMSO-d6) δ [ppm]: 159,8 (*3*); 156,3 (*16*); 147,9 (*5*); 130,1 (*14*); 129,7 (*13*); 116,5 (*15*); 104,8 (*4*); 102,3 (*2*); 71,4 (*6*); 56,1 (*8*); 55,8 (*10*); 48,5 (*12*); 19,8 (*11*).
MS (FD): m/z (% rel. Int.) 304,7 (100, $[M+1]^{+}$).
Anal. ($C_{17}H_{21}NO_4$): C, H, N.
^{1}H-^{1}H- sowie ^{1}H-^{13}C-Correlations-NMR-Spektren:

Proton	^{1}H-Korrelation	^{13}C-Korelation
1		
2		2
4		4
6	7, 8	6
7	6	
8	6, 9	8
9	8, 10	
10	11, 12	10
11	10	11
12	10	12
14	15	14
15	14	15
17		

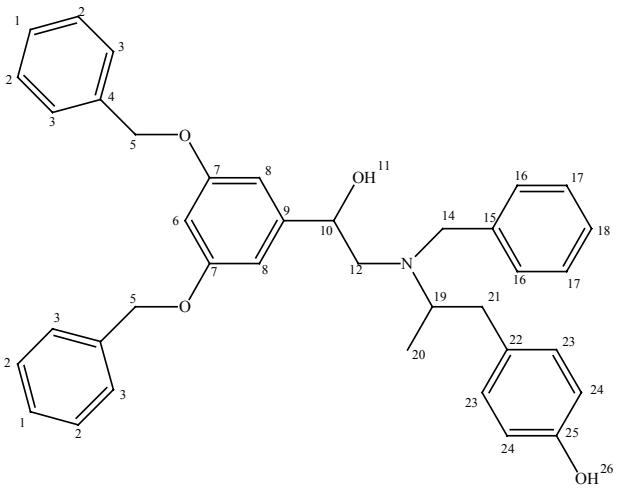
1-(3,5-Bisacetoxy-phenyl)ethanon (**3**)



250 mg (1,6 mmol) 3,5-Bishydroxyphenylethanon, Essigsäureanhydrid (5 ml) und 325 mg (4 mmol) wasserfreies Natriumacetat werden drei Stunden unter Rückfluß gekocht. Das überschüssige Essigsäureanhydrid wird unter reduziertem Druck weitgehend abdestilliert. Der Rückstand wird mit Wasser aufgenommen und mit Diethylether extrahiert. Die organische Phase wird über Natriumsulfat getrocknet, das Lösungsmittel wird unter Vakuum entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch an Kieselgel mit Ethylacetat/n-Hexan (75/25) aufgereinigt. Man erhält 245 mg des gewünschten Produktes (65%, R_f =0,5).

^{1}H-NMR (200MHz, DMSO-d6) δ [ppm]: 7,5 (s, 2H, *3*); 7,1 (s, 1H, *2*); 2,7 (s, 3H, *4*); 2,1 (s, 6H, *1*).

4-(2-(Benzyl-[2-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)-2-hydroxyethyl]amino)propyl)phenol (**9**)



Variante A:
Zu 400 mg (0,7 mmol) 2-(Benzyl-[2-(4-hydroxyphenyl)-1-methylethyl]amino)-1-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)ethanon in 4 ml THF werden 360 µl einer 1 M Lithiumaluminiumhydridlösung in THF bei Raumtemperatur zugetropft. 10 Minuten nach Ende der Zugabe wird das Reaktionsgemisch in eine Mischung aus 40 ml Wasser, 40 ml THF und 20 ml Essigsäure gegeben. Die organische Phase wird mit Wasser gewaschen und getrocknet. Das Lösungsmittel wird im Vakuum entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch mit

Ethylacetat/n-Hexan (5/9) aufgereinigt. Man erhält 290 mg eines farblosen, kristallinen Produktes (83%, R_f =0,45).

Variante B:

300 mg (0,73 mmol) 1-(3,5-Bisbenzyloxy-phenyl)-2-bromethanol, 175 mg (0,73 mmol) 4-(2-Benzylaminopropyl)phenol und 127,5 mg (0,9 mmol) Kaliumcarbonat werden in 1,7 ml THF und 1,7 ml Methanol gelöst und bei Raumtemperatur 2 Stunden gerührt. Nach Entfernen des Lösungsmittelgemisches im Vakuum werden zunächst 3 ml Toluol und anschließend 3 ml Wasser zugegeben. Die organische Phase wird über Natriumsulfat getrocknet und auf ein Volumen von etwa 1,5 ml eingeengt. Die Reaktionsmischung wird dann unter Argonatmosphäre 24 Stunden bei 130°C gerührt. Nach Kühlung fällt das restliche 4-(2-Benzylaminopropyl)phenol als Hydrobromid aus und wird abfiltriert. Das restliche Lösungsmittel wird im Vakuum entfernt und der Rückstand wird säulenchromatographisch an Kieselgel mit Chloroform/n-Hexan (3/1) aufgereinigt. Man erhält 70 mg farblose Kristalle (20%, R_f =0,1).

Variante C:

366 mg (1,1 mmol) 2-(3,5-Bisbenzyloxy-phenyl)oxiran und 531 mg (2,2 mmol) 4-(2-Benzylamino-propyl)phenol werden in 4 ml Toluol gelöst und bei 130°C unter Argon-Atmosphäre 24 Stunden gerührt. Nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum wird der Rückstand säulenchromatographisch an Kieselgel mit Ethylacetat/n-Hexan (5/9) aufgereinigt. Man erhält 350 mg des farblosen, kristallinen Produktes (60%, R_f =0,45).

Variante D:

332 mg (1 mmol) 2-(3,5-Bisbenzyloxy-phenyl)oxiran und 290 mg (1,2 mmol) 4-(2-Benzylamino-propyl)phenol werden in 2 ml Acetonitril gelöst. Anschließend werden 104 mg (1 mmol) Lithiumperchlorat zugegeben und die Reaktionsmischung wird bei Raumtemperatur 72 Stunden gerührt. Anschließend wird das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch an Kieselgel mit Ethylacetat/n-Hexan (5/9) aufgereinigt. Man erhält 85 mg des farblosen, kristallinen Produktes (15%, R_f =0,45).

Variante E:

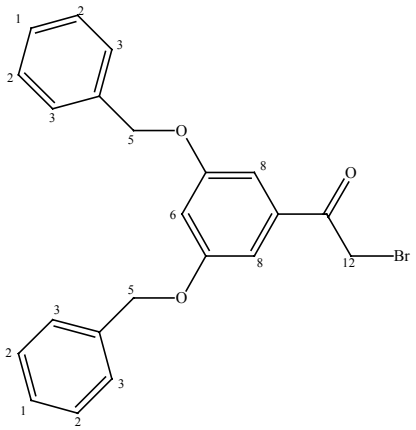
332 mg (1 mmol) 2-(3,5-Bisbenzyloxy-phenyl)oxiran werden in 1 ml Acetonitril gelöst. Es werden 76 mg (0,5 mmol) Lithiumtrifluormethansulfonat zugegeben und 15 min gerührt. Anschließend werden 290 mg (1,2 mmol) 4-(2-Benzylaminopropyl)phenol zugegeben und die Reaktionsmischung wird bei Raumtemperatur 8 Stunden gerührt. Nach Ende der Reaktion werden 0,5 ml einer gesättigten Ammoniumchlorid-Lösung zugegeben und das Reaktionsgemisch mit Ethylacetat extrahiert. Nach Trocknung der organischen Phase mit Natriumsulfat und Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum wird der Rückstand säulenchromatographisch an Kieselgel mit Ethylacetat/n-Hexan (5/9) aufgereinigt. Man erhält 115 mg des farblosen, kristallinen Produktes (20%, R_f =0,45).

Variante F:
332 mg (1 mmol) 2-(3,5-Bisbenzyloxy-phenyl)oxiran und 290 mg (1,2 mmol) 4-(2-Benzylamino-propyl)phenol werden in 1 ml Dichlormethan gelöst. Anschließend werden 31 mg (0,1 mmol) Gadoliniumtrifluormethansulfonsäuresalz zugegeben und die Reaktionsmischung wird bei Raumtemperatur etwa 3 Stunden gerührt. Anschließend wird das Reaktionsgemisch mit Wasser verdünnt und mit Diethylether extrahiert. Nach Trocknen der organischen Phase über Magnesiumsulfat wird das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch an Kieselgel mit Ethylacetat/n-Hexan (5/9) aufgereinigt. Man erhält 200 mg des farblosen, kristallinen Produktes (35%, R_f =0,45).

Variante G:
332 mg (1 mmol) 2-(3,5-Bisbenzyloxy-phenyl)oxiran und 290 mg (1,2 mmol) 4-(2-Benzylamino-propyl)phenol werden in 1 ml Dichlorethan gelöst. Anschließend werden 124 mg (0,2 mmol) Ytterbiumtrifluormethansulfonat zugegeben und die Reaktionsmischung wird bei Raumtemperatur etwa 2 Stunden gerührt. Anschließend wird das Ytterbiumtriflat abfiltriert, das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch an Kieselgel mit Ethylacetat/n-Hexan (5/9) aufgereinigt. Man erhält 390 mg des farblosen, kristallinen Produktes (70%, R_f =0,45).

^{1}H-NMR (400MHz, $CDCl_3$) δ [ppm]: 9,1 (s, 1H, *26*); 7,3 (m, 15H, *1,2,3,16,17,18*); 7,1 (s, 2H, *8*); 6,9 (s, 1H, *6*); 6,7 (d, 2H, *24*); 6,5 (d, 2H, *23*); 5,1 (s, 4H, *5*);4,7 (dd, 1H, *10*); 3,9 (s, 2H, *14*); 3,2 (m, 2H, *12*); 2,8 (m, 2H, *21*); 2,6 (m, 1H, *19*); 1,0 (m, 3H, *20*).
^{13}C-NMR (400MHz, DMSO-d6) δ [ppm]: 160,0 (*7*); 156,4 (*25*); 141,8 (*9*); 138,6 (*4*); 132,0 (*15*); 131,8 (*22*); 131,5-127,1 (*1,2,3,16,17,18,23*); 116,5 (*24*); 106,9 (*8*); 100,7 (*6*); 72,3 (*5*); 69,6 (*10*); 58,1 (*12*); 55,8 (*14*); 42,3 (*19,21*); 19,5 (*20*).
MS (FD): m/z (% rel. Int.) 575,2 (100, $[M+1]^+$).
Anal. ($C_{38}H_{39}NO_4$): C, H, N.

1-(3,5-Bisbenzyloxy-phenyl)-2-bromethanon (**11**)

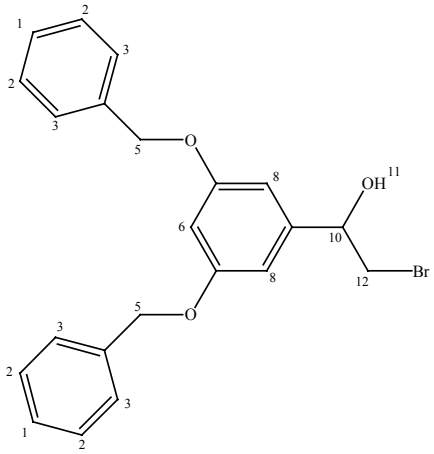


Variante A:
1 g (3 mmol) 3,5-Dibenzyloxyacetophenon werden in 5 ml Chloroform gelöst. Anschließend werden 512 mg (3,2 mmol) Brom in 9 ml Chloroform innerhalb 10 min zugetropft. Nach Beenden der Zugabe wird 10 min nachgerührt und anschließend 1,7 g Natriumhydrogencarbonat zugegeben. Nach Abklingen des Aufschäumens wird das überschüssige Natriumhydrogencarbonat abfiltriert und das Lösungsmittel unter Vakuum entfernt. Das zurückbleibende gelbe Öl wird säulenchromatographisch mit Chloroform/n-Hexan (3/1) aufgereinigt. Man erhält 530 mg eines farblosen Öls (40%, R_f =0,1).

Variante B:
5 g (15,1 mmol) 3,5-Dibenzyloxyacetophenon werden in 20 ml eines 10/1 Gemisches von Diethylether und Dioxan gelöst. Anschließend werden 2,41 g (15,1 mmol) Brom, gelöst in 2 ml des Löungsmittelgemisches, über einen Zeitraum von 30 min unter Lichtausschluß zugetropft. Nach Beenden der Zugabe wird noch 30 min weitergerührt. Das Reaktionsgemisch wird dreimal mit je 10 ml Wasser gewaschen, die organische Phase mit Natriumsulfat getrocknet und anschließend das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wird säulenchromatographisch mit Chloroform/n-Hexan (1/1) aufgereinigt. Man erhält 3 g Produkt in Form farbloser Kristalle (50%, R_f =0,4).

^{1}H-NMR (200MHz, DMSO-d6) δ [ppm]: 7,5 (m, 10H, *1,2,3*); 7,3 (s, 2H, *8*); 7,1 (s, 1H, *6*); 5,2 (s, 4H, *5*); 4,9 (s, 2H, *12*).

1-(3,5-Bisbenzyloxy-phenyl)-2-bromethanol (**12**)



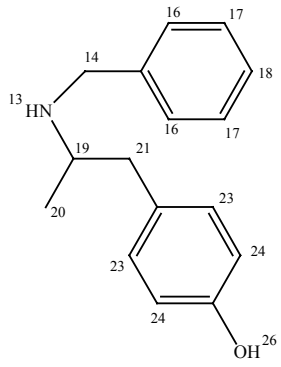
Variante A:
Zu 3 ml einer 1 M Boran–THF-Lösung wird unter Eiskühlung im Stickstoffgegenstrom eine Lösung von 700 mg (1,7 mmol) 1-(3,5-Bisbenzyloxy-phenyl)-2-bromethanon zugetropft. Nach Beenden der Zugabe wird die Reaktionsmischung für 1 Stunde unter Rückfluss erhitzt. Nicht umgesetztes Boran wird anschließend durch die wiederholte Zugabe von HCl in Methanol zerstört,

bis keine weitere Reaktion mehr eintritt. Das Reaktionsgemisch wird zur Trockene eingeengt, mit Wasser aufgenommen und anschließend mit Diethylether extrahiert. Nach Trocknen der organischen Phase über Magnesiumsulfat wird das Lösungsmittel unter Vakuum entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch an Kieselgel mit Chloroform/n-Hexan (3/1) aufgereinigt. Man erhält 380 mg farblose Kristalle (55%, R_f =0,55).

Variante B:
7,14 mg (0,05 mmol) (1R,2S)-Aminoindanol werden unter Argonatmosphäre in 0,4 ml THF gelöst. Anschließend werden 46 µL einer 2 N Boran-Dimethylsulfid-Komplexlösung zugetropft und für 10 min gerührt. Dann werden gleichzeitig 400 mg (0,98 mmol) 1-(3,5-Bis-benzyloxy-phenyl)-2-brom-ethanon in 2 ml THF und 687µL der Boran-Dimethylsulfid-Komplexlösung über einen Zeitraum von 3 Stunden zugegeben. Anschließend wird die Reaktionsmischung mit einem Eisbad gekühlt, während 700 µL Methanol zugegeben werden. Nach Aufkonzentration des Gemisches unter Vakuum und Zugabe von 1 ml Toluol werden 300 µL einer Lösung von HCl in Ethanol zugegeben und die Reaktionsmischung gut durchmischt. Die organische Phase wird mit Natriumsulfat getrocknet, das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand wird säulenchromatographisch an Kieselgel mit Chloroform/n-Hexan (3/1) aufgereinigt. Man erhält 50 mg farblose Kristalle (15%, R_f =0,55). Das NMR zeigt, dass es sich zwar um die gewünschte Verbindung handelt, dass aber kein Einfluss auf die Stereochemie ausgeübt wurde. Beim isolierten Produkt handelt es sich um den Racemat.

^{1}H-NMR (200MHz, DMSO-d6) δ [ppm]: 7,4 (m, 10H, *1,2,3*); 6,7 (d, 2H, *8*); 6,5 (d, 1H, *6*); 5,5 (d, 1H, *11*); 5,1 (s, 4H, *5*); 4,7 (m, 1H, *10*); 3,5 (m, 2H, *12*).

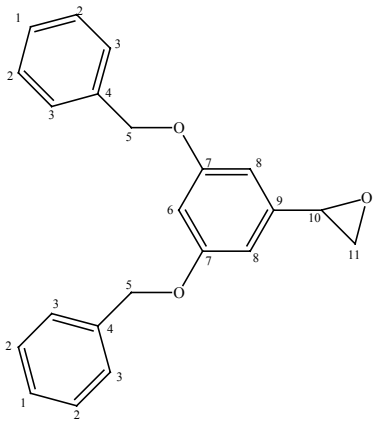
4-(2-Benzylaminopropyl)phenol (**13**)



10 g (66 mmol) 4-Hydroxyphenylaceton und 7,06 g (66 mmol) Benzylamin werden in 50 ml absolutem Ethanol gelöst und mit 960 mg Platin auf Kohlenstoff (5%) versetzt. Diese Lösung wird im Autoklaven für 12 h bei 5 bar hydriert. Nach Abschluß der Reaktion wird der Katalysator abfiltriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Nach einer säulenchromatographischen Auftrennung (Essigsäureethylester/n-Hexan 75/25) erhält man 12 g des gewünschten Produktes als farblose Kristalle (80%, R_f =0,25).

^{1}H-NMR (200MHz, DMSO-d6) δ [ppm]: 9,1 (s, 1H, *26*); 7,3 (m, 5H, *16,17,18*); 6,9 (d, 2H, *24*); 6,7 (d, 2H, *23*); 3,8 (d, 2H, *21*); 3,4 (s, 2H, *14*); 2,7 (m, 1H, *13*); 2,3 (m, 1H, *19*); 0,9 (d, 3H, *20*).

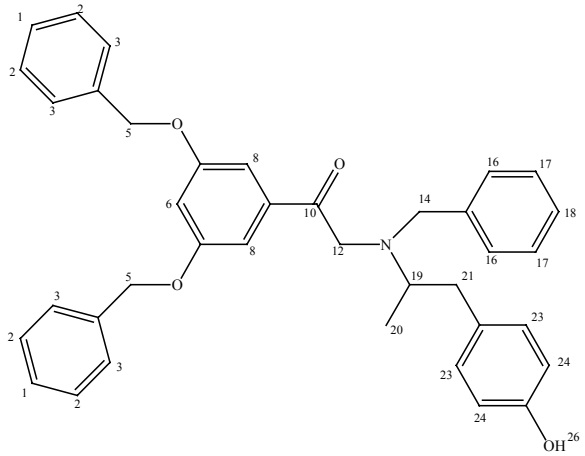
2-(3,5-Bisbenzyloxy-phenyl)oxiran (**14**) [126]



Zu 4,8 g (15 mmol) 3,5-Bisbenzyloxybenzaldehyd und 4,3 g (21 mmol) Trimethylsulfoniumiodid in 25 ml DMF gibt man im Stickstoff-Gegenstrom 840 mg (21 mmol) Natriumhydrid (60% auf Mineralöl). Nachdem 1 Stunde unter Stickstoff-Atmosphäre bei Zimmertemperatur gerührt wurde, gibt man vorsichtig solange Wasser zu, bis alles überschüssige Natriumhydrid abreagiert hat. Die Reaktionsmischung wird 3 mal mit je 10 ml Diethylether ausgeschüttelt, und die organische Phase getrocknet. Nach Abdestillation des Lösungsmittels im Vakuum verbleibt ein gelber Rückstand, der destillativ mittels einer Kugelrohrdestille aufgearbeitet wird. Das farblose Produkt wird bei einem Druck von 10^{-3} bar und einer Temperatur von 245°C abdestilliert (74%, 3,7 g).

^{1}H-NMR (400MHz, $CDCl_3$) δ [ppm]: 7,3 (m, 10H, *1,2,3*); 6,6 (s, 2H, *8*); 6,5 (s, 1H, *6*); 5,0 (s, 4H, *5*); 3,8 (t, 1H, *10*); 3,1 (t, 1H); 2,7 (t, 1H, *11*).
^{13}C-NMR (400MHz, $CDCl_3$) δ [ppm]: 160,3 (*7*); 140,8 (*4*); 137,2 (*9*); 128,7 (*2*); 127,9 (*1*); 126,2 (*3*); 105,4 (*8*); 101,8 (*6*); 70,5 (*5*); 53,2 (*10*); 51,6 (*11*).

2-(Benzyl-[2-(4-hydroxyphenyl)-1-methylethyl]amino)-1-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)ethanon (**15**)

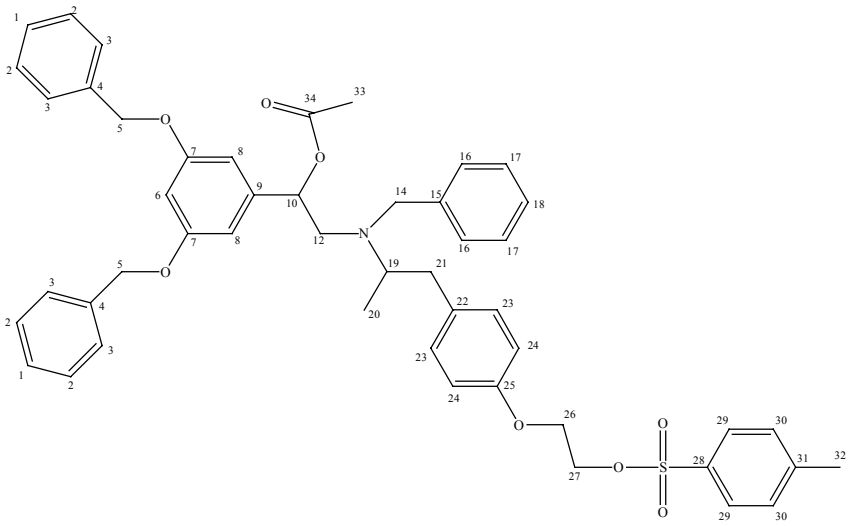


Variante A:
300 mg (0,7 mmol) 1-(3,5-Bisbenzyloxy-phenyl)-2-bromethanon, 341 mg (1,5 mmol) 4-(2-Benzylaminopropyl)phenol und 151,7 mg (1,5 mmol) Triethylamin werden in 4 mL Acetonitril gelöst und 3 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Nach Filtrieren und Evaporieren des Lösungsmittels im Vakuum wird der Rückstand säulenchromatographisch mit Ethylacetat/n-Hexan (5/9) aufgereinigt. Man erhält 18 mg der gewünschten Substanz als gelbes Öl (5%, R_f =0,5).

Variante B:
642,9 mg (1,56 mmol) 1-(3,5-Bisbenzyloxy-phenyl)-2-bromethanon und 377 mg (1,56 mmol) 4-(2-Benzylaminopropyl)phenol werden in 20 ml THF gelöst und 24 Stunden unter Rückfluss erhitzt, wobei Teile des Amins als Hydrobromid ausfallen. Nach Filtrieren und Evaporieren des Lösungsmittels im Vakuum wird der Rückstand säulenchromatographisch mit Ethylacetat/n-Hexan (5/9) aufgereinigt. Man erhält 290 mg als gelbes Öl (38%, R_f =0,5).

^{1}H-NMR (200MHz, DMSO-d6) δ [ppm]: 9,1 (s, 1H, *26*); 7,3 (m, 15H, *1,2,3,16,17,18*); 7,1 (s, 2H, *8*); 6,9 (s, 1H, *6*); 6,7 (d, 2H, *24*); 6,5 (d, 2H, *23*); 5,1 (s, 4H, *5*); 3,9 (s, 2H, *12*); 3,8 (s, 2H, *14*); 3,2 (m, 1H, *19*); 2,8 (d, 2H, *21*); 1,0 (d, 3H, *20*).

Essigsäure-2-[benzyl-(1-methyl-2-(4-[2-(toluol-4-sulfonyloxy)ethoxy]phenyl)ethyl)amino]-1-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)ethylester (**17**)



500 mg (0,65 mmol) Toluol-4-sulfonsäure 2-[4-(2-(benzyl-[2-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)-2-hydroxyethyl]amino)propyl)phenoxy]ethylester und 10 Kügelchen Ytterbiumtoluolsulfonat (polymer gebunden an Polystyrol) werden in 3 mL Essigsäureanhydrid gelöst und 7 Stunden beim Raumtemperatur gerührt. Anschließend wird der Katalysator abfiltriert, das Reaktionsgemisch mit 3 mL Wasser verdünnt und mit Ethylacetat ausgeschüttelt. Die vereinigten organischen Phasen werden mit gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung gewaschen und mit Natriumsulfat getrocknet. Nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum wird der Rückstand

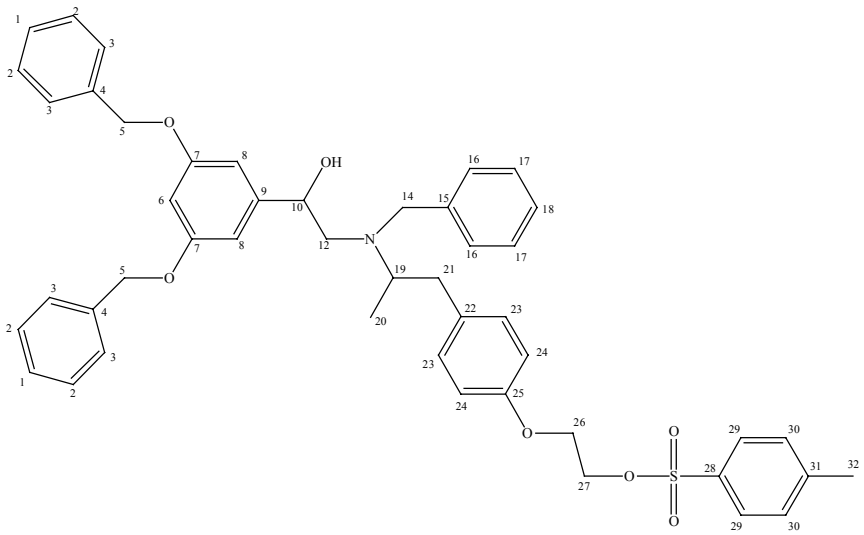
säulenchromatographisch an Kieselgel mit Ethylacetat/n-Hexan (5/4) aufgereinigt. Man erhält 370 mg farblose Kristalle (70%, $R_f = 0,35$).

^{1}H-NMR (400MHz, $CDCl_3$) δ [ppm]: 7,9 (d, 2H, *29*); 7,5 (d, 2H, *30*); 7,3 (m, 15H, *1,2,3,16,17,18*); 7,1 (s, 2H, *8*); 6,9 (s, 1H, *6*); 6,7 (d, 2H, *24*); 6,5 (d, 2H, *23*); 5,1 (s, 4H, *5*); 5,0 (dd, 1H, *10*);4,1 (t, 2H, *26*); 3,9 (s, 2H, *14*); 3,7 (t, 2H, *27*); 3,2 (m, 2H, *12*); 2,8 (m, 2H, *21*); 2,6 (m, 1H, *19*); 2,4 (s, 3H, *32*); 2,0 (s, 3H, *33*); 1,0 (m, 3H, *20*).
^{13}C-NMR (400MHz, DMSO-d6) δ [ppm]: 170,4 (*34*); 160,0 (*7*); 156,4 (*25*); 143,7 (*31*); 141,8 (*9*); 138,6 (*4*); 132,0 (*15*); 131,8 (*22*); 131,5-127,1 (*1,2,3,16,17,18,23,28,29,30*); 116,5 (*24*); 106,9 (*8*); 100,7 (*6*); 79,2 (*10*); 76,1 (*26*); 72,3 (*5*); 63,3 (*27*); 58,1 (*12*); 55,8 (*14*); 42,3 (*19,21*); 22,1 (*32*); 19,5 (*20*); 17,6 (*33*).
MS (FD): m/z (% rel. Int.) 814,7 (100, $[M+1]^+$).

^{1}H-^{1}H- sowie ^{1}H-^{13}C-Correlations-NMR-Spektren:

Proton	^{1}H-Korrelation	^{13}C-Korelation
1	2	1
2	1, 3	2
3	2	3
5		5
6		6
8		8
10	12	10
12	10	12
14		14
16	17	16
17	16, 18	17
18	17	18
19	20, 21	19
20	19	20
21	19	21
23	24	23
24	23	24
26	27	26
27	26	27
29	30	29
30	29	30
32		32

Toluol-4-sulfonsäure 2-[4-(2-(benzyl-[2-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)-2-hydroxyethyl]amino)propyl)-phenoxy]ethylester (**18**)



Zu einer Lösung von 190 mg (1 mmol) 4-Toluolsulfonsäurechlorid und 620 mg (1,1 mmol) 2-(Benzyl-(2-[4-(2-hydroxyethoxy)phenyl]-1-methylethyl)amino)-1-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)-ethanol in 10 mL Chloroform werden bei 0°C absolutes 158 mg (2 mmol) Pyridin (161 µL) unter Rühren und Ausschluß von Luftfeuchtigkeit zugetropft. Man rührt anschließend noch 1 Stunde und gibt dann eine Mischung aus 5 g Eis und 2 mL konz. Salzsäure zu. Die organische Phase wird abgetrennt, mit Wasser gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum erhält man 380 mg farblose Kristalle (50%).

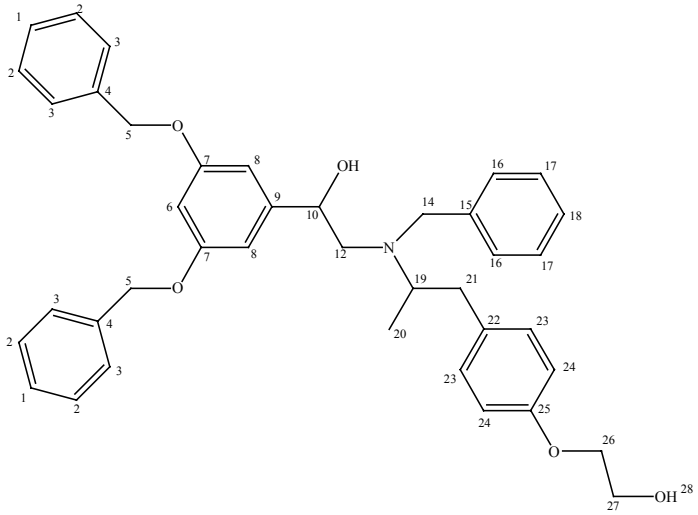
^{1}H-NMR (400MHz, $CDCl_3$) δ [ppm]: 7,9 (d, 2H, *29*); 7,5 (d, 2H, *30*); 7,3 (m, 15H, *1,2,3,16,17,18*); 7,1 (s, 2H, *8*); 6,9 (s, 1H, *6*); 6,7 (d, 2H, *24*); 6,5 (d, 2H, *23*); 5,1 (s, 4H, *5*);4,7 (dd, 1H, *10*);4,1 (t, 2H, *26*); 3,9 (s, 2H, *14*); 3,7 (t, 2H, *27*); 3,2 (m, 2H, *12*); 2,8 (m, 2H, *21*); 2,6 (m, 1H, *19*); 2,4 (s, 3H, *32*); 1,0 (m, 3H, *20*).
^{13}C-NMR (400MHz, DMSO-d6) δ [ppm]: 160,0 (*7*); 156,4 (*25*); 143,7 (*31*); 141,8 (*9*); 138,6 (*4*); 132,0 (*15*); 131,8 (*22*); 131,5-127,1 (*1,2,3,16,17,18,23,28,29,30*); 116,5 (*24*); 106,9 (*8*); 100,7 (*6*); 76,1 (*26*); 72,3 (*5*); 69,6 (*10*); 63,3 (*27*); 58,1 (*12*); 55,8 (*14*); 42,3 (*19,21*); 22,1 (*32*); 19,5 (*20*).
MS (FD): m/z (% rel. Int.) 772,3 (100, $[M+1]^+$).

^{1}H-^{1}H- sowie ^{1}H-^{13}C-Correlations-NMR-Spektren:

Proton	^{1}H-Korrelation	^{13}C-Korelation
1	2	1
2	1, 3	2
3	2	3
5		5
6		6
8		8

10	11, 12	10
11	10	
12	10	12
14		14
16	17	16
17	16, 18	17
18	17	18
19	20, 21	19
20	19	20
21	19	21
23	24	23
24	23	24
26	27	26
27	26	27
29	30	29
30	29	30
32		32

2-(Benzyl-(2-[4-(2-hydroxyethoxy)phenyl]-1-methylethyl)amino)-1-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)ethanol (**19**)

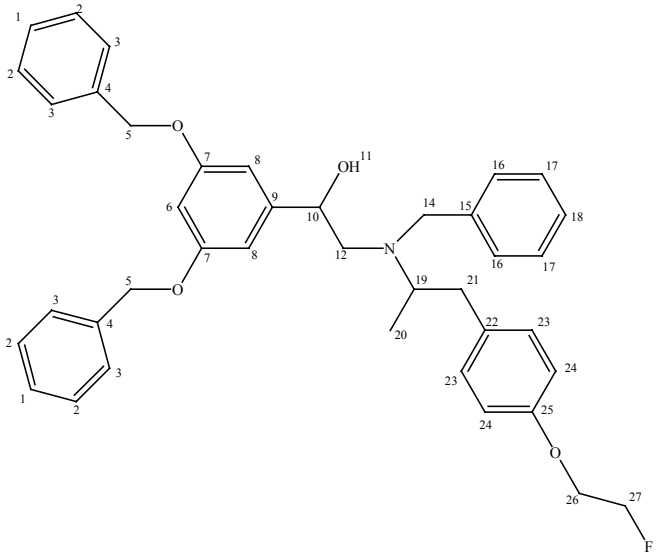


Zu einer Lösung von 600 mg (1,1 mmol) (4-(2-(Benzyl-[2-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)-2-hydroxy-ethyl]amino)propyl)phenol in 5 mL DMF und 140 mg (1 mmol) Kaliumcarbonat gibt man eine Spatelspitze Natriumiodid und 136 mg (1,1 mmol) 2-Bromethanol und lässt 24 Stunden bei 100°C rühren. Das Reaktionsgemisch wird mit Wasser aufgenommen und mit Diethylether extrahiert. Die organische Phase wird über Natriumsulfat getrocknet und säulenchromatographisch an Kieselgel

mit Ethylacetat/n-Hexan (1/2) aufgereinigt. Man erhält 410 mg des gewünschten Produktes als farblose Kristalle (60%, R_f = 0,1).

^{1}H-NMR (400MHz, $CDCl_3$) δ [ppm]: 7,3 (m, 15H, *1,2,3,16,17,18*); 7,1 (s, 2H, *8*); 6,9 (s, 1H, *6*); 6,7 (d, 2H, *24*); 6,5 (d, 2H, *23*); 5,1 (s, 4H, *5*);4,7 (dd, 1H, *10*);4,1 (t, 2H, *26*); 3,9 (s, 2H, *14*); 3,7 (t, 2H, *27*); 3,2 (m, 2H, *12*); 2,8 (m, 2H, *21*); 2,6 (m, 1H, *19*); 1,0 (m, 3H, *20*).
^{13}C-NMR (400MHz, DMSO-d6) δ [ppm]: 160,0 (*7*); 156,4 (*25*); 141,8 (*9*); 138,6 (*4*); 132,0 (*15*); 131,8 (*22*); 131,5-127,1 (*1,2,3,16,17,18,23*); 116,5 (*24*); 106,9 (*8*); 100,7 (*6*); 76,1 (*26*); 72,3 (*5*); 69,6 (*10*); 63,3 (*27*); 58,1 (*12*); 55,8 (*14*); 42,3 (*19,21*); 19,5 (*20*).

2-(Benzyl-(2-[4-(2-fluorethoxy)phenyl]-1-methylethyl)amino)-1-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)ethanol (**20**)



Variante A:
210 mg (0,34 mmol) 2-(Benzyl-(2-[4-(2-fluorethoxy)phenyl]-1-methylethyl)amino)-1-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)ethanon werden in 5 ml THF gelöst. Unter Rühren werden 150 µl einer 1 M Lithiumaluminiumhydridlösung in THF, verdünnt mit 2 ml THF, bei Raumtemperatur zugetropft. 10 Minuten nach Beenden der Zugabe wird das Reaktionsgemisch in eine Mischung von Essigsäure/Wasser/THF (1/1/2) gegeben und anschließend ausgeethert. Nach Trocknung mit Natriumsulfat wird das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch mit Ethylacetat/n-Hexan (1/1) aufgereinigt. Man erhält 60 mg farblose Kristalle (28%, R_f =0,6).

Variante B:
300 mg (0,73 mmol) 1-(3,5-Bisbenzyloxy-phenyl)-2-bromethanol, 127 mg Kaliumcarbonat und 210 mg (0,73 mmol) Benzyl-(2-[4-(2-fluoroethoxy)phenyl]-1-methylethyl)amin werden in 5 mL DMSO gelöst und 4 Tage bei 160°C gerührt. Nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum wird der

Rückstand säulenchromatographisch an Kieselgel mit n-Hexan/Ethylacetat (7/3) aufgereinigt. Man erhält 90 mg farblose Kristalle (20%, R_f =0,6).

Variante C:
50 mg (0,15 mmol) 2-(3,5-Bisbenzyloxy-phenyl)oxiran und 86 mg (0,3 mmol) Benzyl-(2-[4-(2-fluoroethoxy)phenyl]-1-methylethyl)amin werden in 2 mL DMSO gelöst und unter Argon für 48 Stunden bei 160°C gerührt. Nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum wird der Rückstand säulenchromatographisch an Kieselgel mit n-Hexan/Ethylacetat (7/3) aufgereinigt. Man erhält 23 mg farblose Kristalle (25%, R_f =0,6).

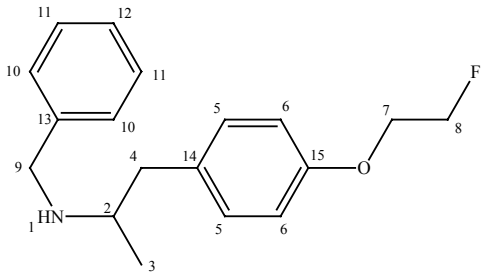
Variante D:
332 mg (1 mmol) 2-(3,5-Bisbenzyloxy-phenyl)oxiran und 344 mg (1,2 mmol) Benzyl-(2-[4-(2-fluoroethoxy)phenyl]-1-methylethyl)amin werden in 2 ml Dichlormethan gelöst. Unter Argonatmosphäre werden anschließend 124 mg (0,2 mmol) Ytterbiumtriflat zugegeben und die Reaktionsmischung wird 1 Stunde bei Raumtemperatur gerührt. Nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum wird der Rückstand säulenchromatographisch an Kieselgel mit n-Hexan/Ethylacetat (7/3) aufgereinigt. Man erhält 300 mg farblose Kristalle (50%, R_f =0,6).

^{1}H-NMR (400MHz, $CDCl_3$) δ [ppm]: 7,4 (m, 15H, *1,2,3,16,17,18*); 7,2 (d, 2H, *24*); 7,1 (d, 2H, *25*); 6,9 (s, 1H, *8*); 6,8 (s, 2H, *6*); 5,1 (s, 4H, *5*); 4,8 (dd, 1H, *26*); 4,7 (ds, 1H, *10*); 4,6 (dd, 1H, *26*); 4,3 (dd, 1H, *27*); 4,1 (dd, 1H, *27*); 3,8 (m, 1H, *14*); 3,7 (m, 1H, *21*); 3,5 (m, 1H, *14*); 3,1 (m,0,5H, *19*); 3,0 (M, 1H, *21*); 2,7 (m, 1H, *11*); 2,5 (m, 2H, *12*); 2,3 (m, 0,5H, *19*); 1,0 (dt, 3H, *20*).
^{13}C-NMR (400MHz, $CDCl_3$) δ [ppm]: 160,3 (*7*); 156,4 (*25*); 145,9 (*9*); 139,1 (*15*); 138,6 (*4*); 132,0 (*22*); 130,8 (*23*); 129,5-127,2 (*1,2,3,16,17,18*); 115,7 (*24*); 105,4 (*8*); 100,9 (*6*); 83,5 (*27*); 78,1 (*5*); 72,3 (*10*); 72,1 (*10*); 71,8 (*26*); 60,2 (*12*); 60,0 (*12*); 57,4 (*14*); 56,9 (*19*); 56,7 (*19*); 39,2 (*21*); 18,5 (*20*); 18,1 (*20*).
^{19}F-NMR (400MHz, $CDCl_3$) δ [ppm]: -224,2 (m, F).

^{1}H-^{1}H- sowie ^{1}H-^{13}C-Correlations-NMR-Spektren:

Proton	^{1}H-Korrelation	^{13}C-Korelation
1	2	1
2	1, 3	2
3	2	3
5		5
6		6
8		8
10	11, 12	10
11	10	
12	10	12
14		14
16	17	16
17	16, 18	17
18	17	18
19	20, 21	19
20	19, 21	20
21	19, 20	21
23	24	23
24	23	24
26	27	26
27	26	27

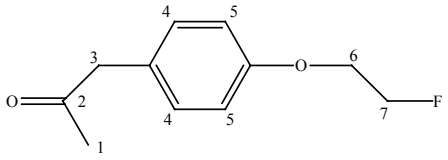
Benzyl-(2-[4-(2-fluorethoxy)phenyl]-1-methylethyl)amin (**21**)



4 g (20,4 mmol) 1-[4-(2-Fluorethoxy)phenyl]propan-2-on, 2,4 g (21 mmol) Benzylamin und 156 mg Platin auf Kohlenstoff (5%) werden in 40 ml abs. Ethanol gelöst und im Autoklaven bei 5 bar für 24 Stunden mit Wasserstoff hydriert. Nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum wird der Rest säulenchromatographisch mit n-Hexan/Ethylacetat (7/3) aufgereinigt. Man erhält 4,7 g schwach gelblicher Kristalle (80%, R_f =0,1).

^{1}H-NMR (200MHz, DMSO-d6) δ [ppm]: 7,3 (m, 5H, *10,11,12*); 7,1 (d, 2H, *6*); 6,9 (d, 2H, *7*); 4,8 (dd, 1H, *7*); 4,6 (dd, 1H, *7*); 4,3 (dd, 1H, *8*); 4,1 (dd, 1H, *8*); 3,8 (dd, 2H, *9*); 2,9 (m, 1H, *2*); 2,8 (dd, 2H, *4*); 2,3 (m, 1H, *1*); 1,0 (d, 3H, *3*).
^{13}C-NMR (400MHz, DMSO-d6) δ [ppm]: 156,1 (*15*); 140,8 (*13*); 131,9 (*14*); 130,4 (*5*); 129,5 (*10*); 128,9 (*11*); 128,3 (*12*); 114,2 (*6*); 82,0 (*8*); 81,6 (*7*); 54,3 (*2*); 52,1 (*9*); 43,8 (*4*); 20,7 (*3*).
^{19}F-NMR (400MHz, DMSO-d6) δ [ppm]: -224,2 (m, F)

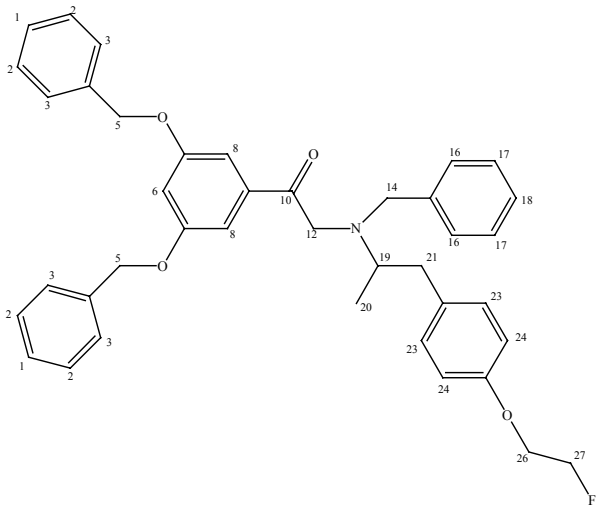
1-[4-(2-Fluorethoxy)phenyl]propan-2-on (**22**)



5 g (31,8 mmol) 4-Hydroxyphenylaceton, 4,1 g (31,8 mmol) 1-Brom-2-fluorethan und 4,4 g (31,8 mmol) Kaliumcarbonat werden in 50 ml Aceton gelöst und unter Rückfluss für 12 Stunden erhitzt. Anschließend wird das Reaktionsgemisch filtriert und das Lösungsmittel unter Vakuum entfernt. Der Rückstand wird säulenchromatographisch mit Chloroform/n-Hexan (3/1) aufgereinigt. Man erhält 4 g leicht gelbliche Kristalle (80%, R_f =0,1).

^{1}H-NMR (200MHz, $CDCl_3$) δ [ppm]: 7,1 (d, 2H, *5*); 6,8 (d, 2H, *4*); 4,9 (dd, 1H, *6*); 4,7 (dd, 1H, *6*); 4,3 (dd, 1H, *7*); 4,1 (dd, 1H, *7*); 3,6 (s, 2H, *3*); 2,1 (s, 3H, *1*).

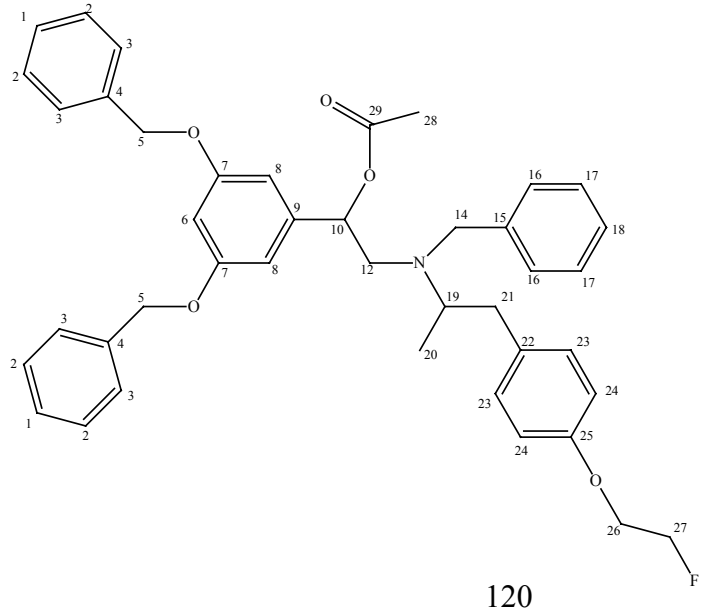
2-(Benzyl-(2-[4-(2-fluorethoxy)phenyl]-1-methylethyl)amino)-1-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)ethanon (**23**)



642,9 mg (1,56 mmol) 1-(3,5-Bisbenzyloxy-phenyl)-2-bromethanon und 450 mg (1,56 mmol) Benzyl-(2-[4-(2-fluorethoxy)phenyl]-1-methylethyl)amin werden in 20 ml THF gelöst und 24 Stunden unter Rückfluss erhitzt. Das Lösungsmittel wird im Vakuum entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch mit Ethylacetat/n-Hexan (1/1) aufgearbeitet. Man erhält 250 mg leicht gelbliche Kristalle (26%, R_f =0,35).

^{1}H-NMR (200MHz, DMSO-d6) δ [ppm]: 7,4 (m, 15H, *1,2,3,16,17,18*); 7,2 (d, 2H, *24*); 7,1 (d, 2H, *23*); 6,9 (s, 1H, *6*); 6,8 (s, 2H, *8*); 5,1 (s, 6H, *5,14*); 4,8 (dd, 1H, *26*); 4,6 (dd, 1H, *26*); 4,4 (ds, 1H, *10*); 4,2 (dd, 1H, *27*); 4,1 (dd, 1H, *27*); 3,6 (dd, 2H, *12*); 2,9 (m, 1H, *19*); 2,7 (m, 2H, *21*), 1,0 (d, 3H, *20*).

Essigsäure-2-(benzyl-(2-[4-(2-fluorethoxy)phenyl]-1-methylethyl)amino)-1-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)ethylester (**24**)



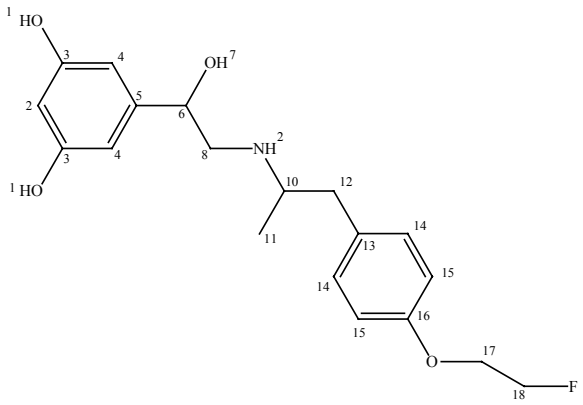
500 mg (0,8 mmol) 2-(Benzyl-(2-[4-(2-fluorethoxy)phenyl]-1-methylethyl)amino)-1-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)ethanol werden in 4 mL Essigsäureanhydrid gelöst und mit 10 Kügelchen Ytterbiumtoluolsulfonat (auf Polystyrol) versetzt. Das Reaktionsgemisch wird bei Raumtemperatur 8 Stunden gerührt. Anschließend wird der Katalysator abfiltriert, die Reaktionslösung mit 4 mL Wasser verdünnt und mit Ethylacetat ausgeschüttelt. Die vereinigten organischen Phasen werden mit gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung gewaschen und mit Natriumsulfat getrocknet. Nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum wird der Rückstand säulenchromatographisch an Kieselgel mit Ethylacetat/n-Hexan (4/5) aufgereinigt. Man erhält 400 mg farblose Kristalle (75%, R_f =0,8).

^{1}H-NMR (400MHz, $CDCl_3$) δ [ppm]: 7,4 (m, 15H, *1,2,3,16,17,18*); 7,2 (d, 2H, *24*); 7,1 (d, 2H, *25*); 6,9 (s, 1H, *8*); 6,8 (s, 2H, *6*); 5,4 (ds, 1H, *10*); 5,1 (s, 4H, *5*); 4,8 (dd, 1H, *26*); 4,6 (dd, 1H, *26*); 4,3 (dd, 1H, *27*); 4,1 (dd, 1H, *27*); 3,8 (m, 1H, *14*); 3,7 (m, 1H, *21*); 3,5 (m, 1H, *14*); 3,1 (m,0,5H, *19*); 3,0 (M, 1H, *21*); 2,7 (m, 1H, *11*); 2,5 (m, 2H, *12*); 2,3 (m, 0,5H, *19*); 2,0 (s, 3H, *28*) 1,0 (dt, 3H, *20*).
^{13}C-NMR (400MHz, $CDCl_3$) δ [ppm]: 171,2 (*29*); 160,3 (*7*); 156,4 (*25*); 145,9 (*9*); 139,1 (*15*); 138,6 (*4*); 132,0 (*22*); 130,8 (*23*); 129,5-127,2 (*1,2,3,16,17,18*); 115,7 (*24*); 105,4 (*8*); 100,9 (*6*); 83,5 (*27*); 79,8 (*10*); 78,1 (*5*); 72,1 (*10*); 71,8 (*26*); 60,2 (*12*); 60,0 (*12*); 57,4 (*14*); 56,9 (*19*); 56,7 (*19*); 39,2 (*21*); 18,5 (*20*); 18,1 (*20*) 17,1 (*28*).
^{19}F-NMR (400MHz, $CDCl_3$) δ [ppm]: -224,2 (m, F).

^{1}H-^{1}H- sowie ^{1}H-^{13}C-Correlations-NMR-Spektren:

Proton	^{1}H-Korrelation	^{13}C-Korelation
1	2	1
2	1, 3	2
3	2	3
5		5
6		6
8		8
10	12	10
12	10	12
14		14
16	17	16
17	16, 18	17
18	17	18
19	20, 21	19
20	19, 21	20
21	19, 20	21
23	24	23
24	23	24
26	27	26
27	26	27

5-(2-(2-[4-(2-Fluoroethoxy)phenyl]-1-methylethylamino)-1-hydroxyethyl)-benzen-1,3-diol (**25**)



Variante A:

500 mg (1,3 mmol) 5-(1-Hydroxy-2-[2-(4-hydroxyphenyl)-1-methylethylamino]ethyl)benzen-1,3-diol Hydrobromid (Boehringer Ingelheim) und 182 mg (2,6 mmol) Kaliummethanolat werden in 3 ml Methanol gelöst. Nach kurzem Rühren wird das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wird mit 20 ml DMF aufgenommen, mit 165 mg (1,3 mmol) 1-Brom-2-fluorethan und einer Spatelspitze Kaliumiodid versetzt und 24 Stunden bei 60°C gerührt. Das Lösungsmittel wird im Vakuum entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch mit Ethylacetat/n-Hexan (1/1) aufgearbeitet. Um letzte Reste von DMF zu entfernen, kann das Produkt in Methanol gelöst werden und über ein SepPak C-18-Kartusche gereinigt werden. Man erhält 200 mg eines gelblichen Öls (44%, R_f =0,1). Das NMR zeigt Verunreinigungen, die mit den gängigen chromatographischen Methoden nicht entfernt werden können.

Variante B:

2 g (3,2 mmol) 2-(Benzyl-(2-[4-(2-fluorethoxy)phenyl]-1-methylethyl)amino)-1-(3,5-bisbenzyloxyphenyl)ethanol werden in 20 ml absolutem Methanol gelöst. Nach Zugabe von 10 Spatelspitzen Palladium auf Kohlenstoff (10%) wird für 3 Stunden Wasserstoff durch die Reaktionsmischung geperlt. Anschließend wird der Katalysator über eine Fritte abfiltriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wird säulenchromatographisch an Kieselgel mit Ethylacetat/Methanol (9/1) gereinigt. Man erhält das gewünschte Produkt als farblose Kristalle in zwei Fraktionen, die aus je zwei Enantiomerenpaaren bestehen, die sich diastereomer zueinander verhalten (Fraktion 1: 450 mg; Fraktion 2: 440 mg) (80%, R_f (1) = 0,15; R_f (2) = 0,1).

Schmelzpunkt: 107°C

^{1}H-NMR (400MHz, DMSO-d6) δ [ppm]: 9,2 (s, 2H, *1*); 6,9 (d, 2H, *15*); 6,7 (d, 2H, *14*); 6,3 (s, 2H, *4*); 6,0 (s, 1H, *2*); 4,6 (dd, 1H, *17*); 4,5 (dd, 1H, *17*); 4,4 (m, 1H, *6*); 4,2 (dd, 1H, *18*); 4,1 (dd, 1H, *18*); 3,3 (m, 1H, *10*); 3,0 (m, 2H, *8*); 2,7 (m, 1H, *7*); 2,5 (d, 2H, *12*); 1,1 (d, 3H, *11*).

^{13}C-NMR (400MHz, DMSO-d6) δ [ppm]: 159,5 (*3*); 158,1 (*16*); 131,7 (*5*); 130,2 (*13*); 129,8 (*15*); 115,4 (*14*); 104,9 (*4*); 102,7 (*2*); 81,6 (*18*); 72,3 (*6*); 67,8 (*17*); 55,3 (*8*); 55,1 (*10*); 41,0 (*12*); 20,4 (*11*).

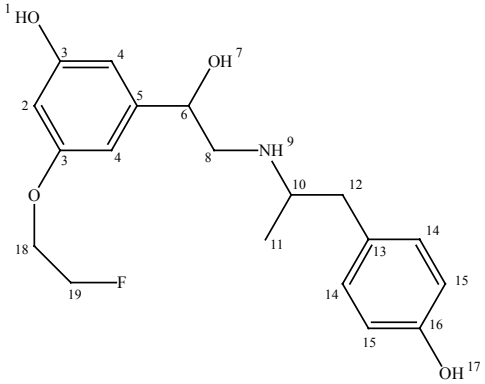
^{19}F-NMR (400MHz, $CDCl_3$) δ [ppm]: -224,2 (m, F).

MS (FD): m/z (% rel. Int.) 350,7 (100, $[M+1]^+$).

^{1}H-^{1}H- sowie ^{1}H-^{13}C-Correlations-NMR-Spektren:

Proton	^{1}H-Korrelation	^{13}C-Korelation
1		
2		2
4		4
6	7, 8	6
7	6	
8	6	8
10	11, 12	10
11	10	11
12	10	12
14	15	14
15	14	15
17	18	17
18	17	18

3-(2-Fluorethoxy)-5-(1-hydroxy-2-((2-(4-hydroxyphenyl)isopropyl)amino)ethyl)phenol (**26**)



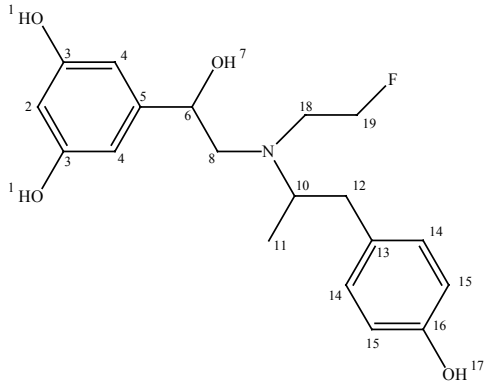
500 mg (1,3 mmol) 5-(1-Hydroxy-2-[2-(4-hydroxyphenyl)-1-methylethylamino]ethyl)benzene-1,3-diol Hydrobromid (Boehringer Ingelheim) und 182 mg (2,6 mmol) Kaliummethanolat werden in 3 ml Methanol gelöst. Nach kurzem Rühren wird das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wird mit 20 ml DMF aufgenommen, mit 165 mg (1,3 mmol) 1-Brom-2-fluorethan und einer Spatelspitze Kaliumiodid versetzt und 24 Stunden bei 60°C gerührt. Das Lösungsmittel wird im Vakuum entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch mit Ethylacetat/n-Hexan (1/1) aufgearbeitet. Man erhält 50 mg eines leicht gelblichen Öls (10%, $R_f = 0,5$).

^{1}H-NMR (400MHz, DMSO-d6) δ [ppm]: 9,2 (s, 1H, *1*); 9,1 (s, 1H, *17*); 6,9 (d, 2H, *15*); 6,7 (d, 2H, *14*); 6,3 (s, 2H, *4*); 6,0 (s, 1H, *2*); 4,6 (dd, 1H, *19*); 4,5 (dd, 1H, *19*); 4,4 (m, 1H, *6*); 4,2 (dd, 1H, *18*); 4,1 (dd, 1H, *18*); 3,3 (m, 1H, *10*); 3,0 (m, 2H, *8*); 2,7 (m, 1H, *7*); 2,5 (d, 2H, *12*); 1,1 (d, 3H, *11*).
^{13}C-NMR (400MHz, DMSO-d6) δ [ppm]: 159,5 (*3*); 158,1 (*16*); 131,7 (*5*); 130,2 (*13*); 129,8 (*15*); 115,4 (*14*); 104,9 (*4*); 102,7 (*2*); 81,6 (*19*); 72,3 (*6*); 67,8 (*18*); 55,3 (*8*); 55,1 (*10*); 41,0 (*12*); 20,4 (*11*).
^{19}F-NMR (400MHz, $CDCl_3$) δ [ppm]: -224,2 (m, F).
MS (FD): m/z (% rel. Int.) 350,7 (100, $[M+1]^+$).

^{1}H-^{1}H- sowie ^{1}H-^{13}C-Correlations-NMR-Spektren:

Proton	^{1}H-Korrelation	^{13}C-Korelation
1		
2		2
4		4
6	7, 8	6
7	6	
8	6	8
10	11, 12	10
11	10	11
12	10	12
14	15	14
15	14	15
17		
18	19	18
19	18	19

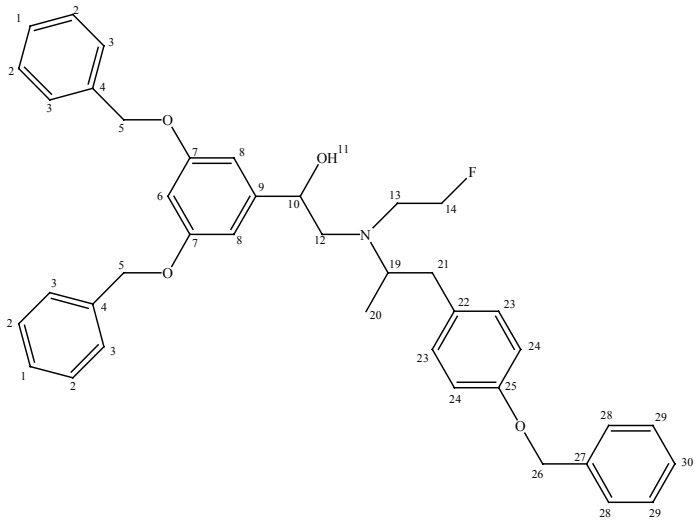
5-(2-((2-Fluorethyl)-[2-(4-hydroxyphenyl)-1-methylethyl]amino)-1-hydroxyethyl)benzen-1,3-diol (**27**)



800 mg (1,3 mmol) 2-[[2-(4-Benzyloxy-phenyl)-1-methylethyl]-(2-fluorethyl)amino]-1-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)-ethanol und 5 Spatelspitzen Palladium auf Kohlenstoff (10%) werden in 10 mL absolutem Methanol gelöst. Durch diese Reaktionsmischung lässt man 3 Stunden Wasserstoff bei 1 bar durchperlen. Anschließend wird der Katalysator abfiltriert, das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch an Kieselgel mit Ethylacetat/Methanol (9/1) aufgereinigt. Man erhält 110 mg farblose Kristalle (25%, R_f =0,1).

^{1}H-NMR (400MHz, DMSO-d6) δ [ppm]: 9,0 (s, 3H, *1,17*); 6,9 (d, 2H, 15); 6,7 (d, 2H, 14); 6,2 (s, 2H, *4*); 6,0 (s, 1H, *2*); 5,0 (s, 1H, *7*); 4,5 (dd, 1H, *19*); 4,4 (dd, 1H, *19*); 4,3 (t, 1H, *6*); 3,4 (d, 2H, *12*); 2,7 (m, 1H, *10*); 2,6 (m, 2H, *8*); 2,5 (dd, 1H, *18*); 2,4 (dd, 1H, *18*); 0,8 (d, 3H, *11*).
^{13}C-NMR (400MHz, DMSO-d6) δ [ppm]: 159,8 (*3*); 156,3 (*16*); 147,9 (*5*); 130,1 (*14*); 129,7 (*13*); 116,5 (*15*); 104,8 (*4*); 102,3 (*2*); 84,2 (*19*); 71,4 (*6*); 56,1 (*8*); 55,8 (*10*); 52,6 (*18*); 48,5 (*12*); 19,8 (*11*).
MS (FD): m/z (% rel. Int.) 350,2 (100, $[M+1]^+$).
Anal. ($C_{19}H_{24}FNO_4$): C, H, N.

2-[[2-(4-Benzyloxy-phenyl)-1-methylethyl]-(2-fluorethyl)amino]-1-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)ethanol (**28**)

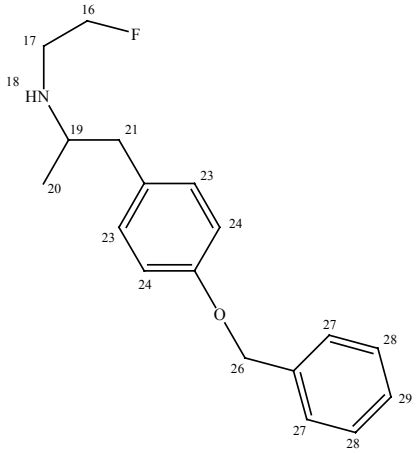


332 mg (1 mmol) 2-(3,5-Bisbenzyloxy-phenyl)oxiran, 350 mg (1,2 mmol) [2-(4-Benzyloxy-phenyl)-1-methylethyl]-2-fluorethylamin und 124 mg (0,2 mmol) Ytterbiumtrifluormethansulfonat werden in 2 mL Dichlormethan gelöst und bei Raumtemperatur 2 Stunden gerührt. Anschließend wird das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch an Kieselgel mit n-Hexan/Ethylacetat (7/3) aufgereinigt. Man erhält 150 mg eines leicht gelblichen Öls (25%, R_f =0,6).

^{1}H-NMR (400MHz, DMSO-d6) δ [ppm]: 7,2 (m, 15H, *1,2,3,28,29,30*); 7,0 (dd, 2H, *23*); 6,8 (dd, 2H, *24*); 6,4 (s, 2H, *8*); 6,2 (s, 1H, *6*); 5,1 (s, 6H, *5,26*); 4,7 (m, 1H, *10*); 4,2 (dd, 1H, *14*); 4,1 (dd,

1H, *14*); 3,2 (m, 1H, *19*); 2,9 (dd, 2H, *12*); 2,6 (m, 2H, *21*); 2,4 (dd, 1H, *13*); 2,3 (dd, 1H, *13*); 0,9 (dd, 3H, *20*).
^{13}C-NMR (400MHz, DMSO-d6) δ [ppm]: 160,3 (*7*); 159,7 (*25*); 142,9 (*9*); 140,1 (*4,27*); 128,5-127,2 (*1,2,3,23,28,29,30*); 114,6 (*24*); 105,0 (*8*); 99,4 (*6*); 84,3 (*14*); 77,2 (*5,26*); 74,8 (*10*); 61,7 (*12*); 55,3 (*19*); 52,6 (*13*); 41,9 (*21*); 19,6 (*20*).
MS (FD): m/z (% rel. Int.) 620,3 (100, $[M+1]^+$).

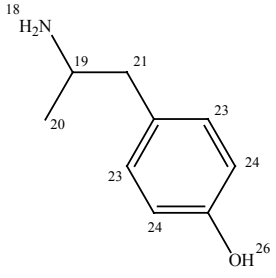
[2-(4-Benzyloxy-phenyl)-1-methylethyl]-2-(fluorethyl)amin (**29**)



200 mg (0,8 mmol) 2-(4-Benzyloxy-phenyl)-1-methylethylamin, 100 mg (0,8 mmol) 1-Brom-2-fluorethan, 1 Spatelspitze Kaliumiodid und 110 mg (0,8 mmol) Kaliumcarbonat werden in 7 mL Aceton gelöst und 24 Stunden unter Rückfluß gekocht. Anschließend wird das Kaliumcarbonat abfiltriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wird säulenchromatographisch an Kieselgel mit Chloroform/n-Hexan (3/1) aufgereinigt. Man erhält 172 mg leicht gelbliche Kristalle (75%, R_f =0,4).

^{1}H-NMR (200MHz, DMSO-d6) δ [ppm]: 7,2 (m, 5H, *27,28,29*); 7,0 (d, 2H, *24*); 6,8 (d, 2H, *23*); 5,1 (s, 2H, *26*); 4,4 (dd, 1H, *16*); 4,3 (dd, 1H, *16*); 3,3 (m, 1H, *19*); 2,8 (dd, 1H, *17*); 2,7 (dd, 1H, *17*); 2,6 (d, 2H, *21*); 2,3 (s, 1H, *18*); 1,0 (d, 3H, *20*).

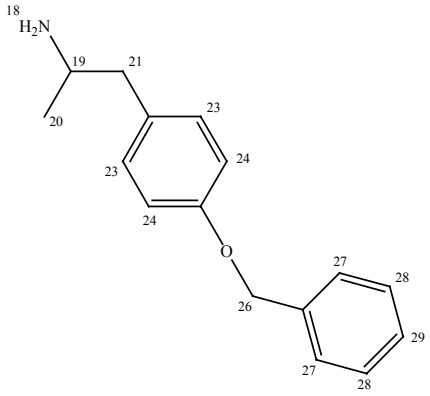
4-(2-Aminopropyl)phenol (**30**)



500 mg (1 mmol) 4-(2-Benzylaminopropyl)phenol werden in 5 mL absolutem Ethanol gelöst, mit einer Spatelspitze Palladium auf Kohlenstoff (10%) und 50 µL konz. Ameisensäure versetzt und im Autoklaven mit Wasserstoff bei 3 bar gerührt. Nach Abfiltrieren des Katalysators wird das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch an Kieselgel mit Essigsäureethylester/n-Hexan (75/25) aufgereinigt. Man erhält 90 mg farblose Kristalle (60%, R_f =0,05).

^{1}H-NMR (200MHz, DMSO-d6) δ [ppm]: 6,9 (d, 2H, *23*); 6,7 (d, 2H, *24*); 6,2 (s, 1H, *26*); 3,3 (m, 1H, *19*); 2,8 (d, 2H, *21*); 2,4 (s, 2H, *18*); 1,0 (d, 3H, *20*).

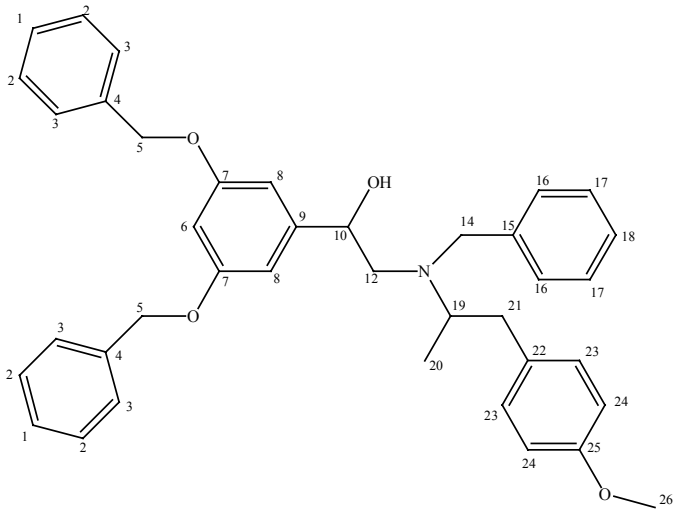
2-(4-Benzyloxy-phenyl)-1-methylethylamin (**31**)



150 mg (1 mmol) 4-(2-Aminopropyl)phenol, 140 mg (1 mmol) Benzylchlorid, 110 µL 50% Kaliumhydroxid-Lösung und 10 mg Natriumiodid werden in 1 mL Wasser und 3 mL Ethanol gelöst und 48 Stunden unter Rückfluß gekocht. Das Reaktionsgemisch wird mit 2 N HCl auf pH 7 eingestellt und mit Diethylether extrahiert. Die organische Phase wird über Natriumsulfat getrocknet, das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch an Kieselgel mit Ethylacetat/Methanol (9/1) aufgereinigt. Man erhält 100 mg farblose Kristalle (40%, R_f =0,1).

^{1}H-NMR (200MHz, DMSO-d6) δ [ppm]: 7,2 (m, 5H, *27,28,29*); 7,0 (d, 2H, *24*); 6,8 (d, 2H, *23*); 5,1 (s, 2H, *26*); 3,2 (m, 1H, *19*); 2,8 (d, 2H, *21*); 2,4 (s, 2H, *18*); 1,0 (d, 3H, *20*).

2-(Benzyl-[2-(4-methoxyphenyl)-1-methylethyl]amino)-1-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)ethanol (**32**)



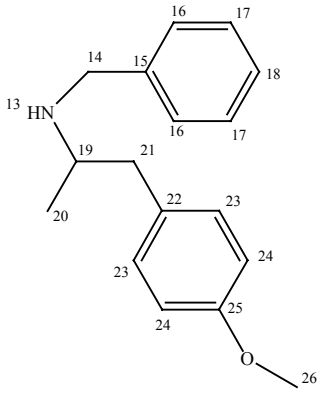
2,3 g (6,9 mmol) 2-(3,5-Bisbenzyloxy-phenyl)oxiran, 1,4 g (8,3 mmol) Benzyl-[2-(4-methoxy-phenyl)-1-methylethyl]amin und 434 mg (0,7 mmol) Ytterbiumtrifluormethansulfonsäuresalz werden in 7 ml Dichlormethan gelöst. Die Reaktionsmischung wird nicht länger als 30 min bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wird der Katalysator abfiltriert, das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch an Kieselgel mit n-Hexan/Ethylacetat (7/3) aufgereinigt. Man erhält 2,3 g des gewünschten Produktes als farbloses, viskoses Öl (57%, $R_f = 0,65$).

^{1}H-NMR (400MHz, DMSO-d6) δ [ppm]: 7,4 (m, 15H, *1,2,3,16,17,18*); 7,0 (d, 2H, *24*); 6,8 (d, 2H, *23*); 6,6 (s, 2H, *8*); 6,5 (s, 1H, *6*); 5,0 (s, 4H, *5*); 4,4 (t, 1H, *10*); 3,8 (d, 1H, *14*); 3,7 (ds, 3H, *26*); 3,6 (d, 1H, *14*); 2,8 (m, 2H, *21*); 2,7 (m, 1H, *12*); 2,6 (m, 1H, *11*); 2,5 (m, 1H, *12*); 2,3 (dm, 1H, *19*); 0,9 (dd, 3H, *20*).
^{13}C-NMR (400MHz, DMSO-d6) δ [ppm]: 160,2 (*7*); 158,9 (*25*); 140,1 (*14*); 138,5 (*9*); 132,6 (*4*); 130,3 (*22*); 129,1-128,5 (*1,2,3,16,17,18,23*); 113,8 (*24*); 106,4 (*8*); 100,9 (*6*); 71,2 (*10*); 69,7 (*5*); 58,8 (*12*); 58,4 (*21*); 56,1 (*26*); 55,4 (*19*); 17,4 (*20*); 17,2 (*20*).
MS (FD): m/z (% rel. Int.) 588,7 (100, $[M+1]^+$).
^{1}H-^{1}H- sowie ^{1}H-^{13}C-Correlations-NMR-Spektren:

Proton	^{1}H-Korrelation	^{13}C-Korelation
1	2	1
2	1, 3	2
3	2	3
5		5
6		6
8		8
10	11, 12	10
11	10	
12	10	12

14		14
16	17	16
17	16, 18	17
18	17	18
19	20, 21	19
20	19, 21	20
21	19, 20	21
23	24	23
24	23	24
26		26

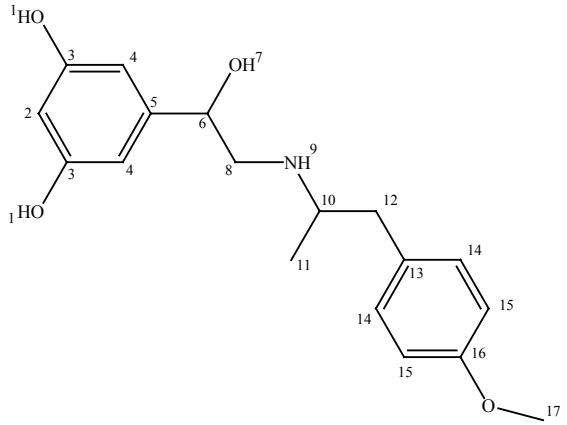
Benzyl-[2-(4-methoxyphenyl)-1-methylethyl]amin (**33**)



7 g (42,6 mmol) 4-Methoxyphenylaceton, 4,56 g (42,6 mmol) Benzylamin und 620 mg Platin auf Kohlenstoff (5%) werden in 20 ml absolutem Ethanol suspendiert und im Autoklaven mit Wasserstoff bei 5 bar für 24 Stunden hydriert. Anschließend wird der Katalysator abfiltriert, das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch an Kieselgel mit Ethylacetat/n-Hexan (75/25) aufgereinigt. Man erhält 7,6 g des gewünschten Produktes als farblose Kristalle (70%, $R_f = 0,2$).

^{1}H-NMR (400MHz, DMSO-d6) δ [ppm]: 7,3 (m, 5H, *16,17,18*); 7,1 (d, 2H, *24*); 6,9 (d, 2H, *23*); 3,8 (d, 2H, *14*); 3,7 (s, 3H, *26*); 3,2 (m, 1H, *19*); 2,7 (m, 2H, *21*); 2,3 (m, 1H, *13*); 0,9 (dd, 3H, *20*).
^{13}C-NMR (400MHz, DMSO-d6) δ [ppm]: 158,3 (*25*); 135,4 (*15*); 131,6 (*22*); 129,1-126,8 (*23,16,17,18*); 112,7 (*24*); 52,9 (*19*); 52,4 (*14*); 43,5 (*21*); 20,6 (*20*).

5-(1-Hydroxy-2-[2-(4-methoxyphenyl)-1-methylethylamino]ethyl)benzen-1,3-diol (**34**)



2,3 g (3,9 mmol) 2-(Benzyl-[2-(4-methoxyphenyl)-1-methylethyl]amino)-1-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)ethanol werden mit 10 Spatelspitzen Palladium auf Kohlenstoff (10%) in 25 ml absolutem Methanol gelöst. Hierzu muß das Methanol auf 40°C erwärmt werden. Anschließend wird für 4 Stunden Wasserstoff durch das Reaktionsgemisch geperlt. Nach Abfiltrieren des Katalysators wird das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch an Kieselgel mit Ethylacetat/Methanol (9/1) aufgereinigt. Man erhält 2 Fraktionen, die aus je 2 Enantiomeren

bestehen, und die sich zueinander diastereomer verhalten. (Fraktion 1: 280 mg, R_f = 0,1; Fraktion 2: 50 mg, R_f = 0,05; Mischfraktion 200 mg) (45%).

Enantiomerenpaar 1:

^{1}H-NMR (400MHz, DMSO-d6) δ [ppm]: 9,2 (s, 2H, *1*); 7,1 (d, 2H, *15*); 6,8 (d, 2H, *14*); 6,3 (s, 2H, *4*); 6,2 (s, 1H, *2*); 4,7 (m, 1H, *6*); 3,6 (s, 3H, *17*); 3,2 (m, 1H, *10*); 2,9 (m, 2H, *8*); 2,7 (m, 1H, *7*); 2,6 (m, 2H, *12*); 1,0 (t, 3H, *11*).

Enantiomerenpaar 2:

^{1}H-NMR (400MHz, DMSO-d6) δ [ppm]: 9,2 (s, 2H, *1*); 7,1 (d, 2H, *15*); 6,8 (d, 2H, *14*); 6,3 (s, 2H, *4*); 6,2 (s, 1H, *2*); 4,4 (m, 1H, *6*); 3,6 (s, 3H, *17*); 3,2 (m, 1H, *10*); 2,9 (m, 2H, *8*); 2,7 (m, 1H, *7*); 2,6 (m, 2H, *12*); 0,9 (t, 3H, *11*).

^{13}C-NMR (400MHz, DMSO-d6) δ [ppm]: 159,6 (*3*); 145,9 (*5*); 131,1 (*14*); 130,5 (*13*); 114,7 (*15*); 105,2 (*4*); 102,4 (*2*); 70,0 (*6*); 56,1 (*17*); 55,8 (*10*); 53,2 (*8*), 18,3 (*11*).

MS (FD): m/z (% rel. Int.) 318,6 (100, $[M+1]^+$).

^{1}H-^{1}H- sowie ^{1}H-^{13}C-Correlations-NMR-Spektren:

Proton	^{1}H-Korrelation	^{13}C-Korelation
1		
2		2
4		4
6	7, 8	6
7	6	
8	6	8
10	11, 12	10
11	10	11
12	10	12
14	15	14
15	14	15
17		17

7.3 Bestimmung der pK_a – und logP-Werte

Die pK_a–Werte von 5-(1-Hydroxy-2-[2-(4-methoxyphenyl)-1-methylethylamino]ethyl)benzen-1,3-diol (**34**) und 5-(2-(2-[4-(2-Fluoroethoxy)phenyl]-1-methylethylamino)-1-hydroxyethyl)benzen-1,3-diol (**25**) werden mittels Titration an der Titrationsapparatur PCA 200 der Firma Sirius Analytical Instruments Ltd. und des zugehörigen Softwarepakets Refine 200 und Control 200, ebenfalls der Fa. Sirius, durchgeführt. Da beide Substanzen nicht ausreichend wasserlöslich sind, werden die Titrationen mit einem Co-Solvens, hier Dioxan, durchgeführt. Dazu wird eine 1 mM Lösung der Substanz bei drei verschiedenen Konzentrationen an Co-Solvens (Dioxan, w = 20, 30 und 40 %) über einen pH-Bereich von 2-12 titriert, um die entsprechenden p_sK_a-Werte zu ermitteln. Mit Hilfe einer Yasuda-Shedlovsky-Auftragung können dann aus den entsprechenden p_sK_a-Werten die korrespondierenden pK_a-Werte bestimmt werden [143].

Für die Bestimmung der logP-Werte war diese Methode ungeeignet, da die Löslichkeit der protonierten bzw. deprotonierten Molekülspezies beider Verbindungen nicht ausreichend in Octanol löslich sind. Deshalb wird auf die klassische Scheidetrichter-Methode zurückgegriffen. Hierfür werden die Analoga n.c.a. 5-(2-(2-[4-(2-[^{18}F]Fluoroethoxy)phenyl]-1-methylethylamino)-1-hydroxyethyl)-benzen-1,3-diol ([^{18}F]**25**) und 5-(2-(2-[4-(2-[^{11}C]Methoxy)phenyl]-1-methylethylamino)-1-hydroxyethyl)benzen-1,3-diol ([^{11}C]**34**) in jeweils 500 µL Octanol und 500 µL Wasser (mit Phosphatpuffer auf pH 7,4 eingestellt) überführt und jeweils drei Minuten bei Raumtemperatur mit Hilfe eines Vortex gut durchmischt. Anschließend werden die beiden Phasen getrennt, aus jeder Phase ein Aliquod von 3 µL entnommen und dessen Radioaktivität mittels Radio-DC bestimmt.

7.4 HPLC-Trennung der Enantiomere

Bei ausreichenden Mengen an racemischem 5-(2-(2-[4-(2-Fluoroethoxy)phenyl]-1-methylethylamino)-1-hydroxyethyl)benzen-1,3-diol (**25**) können die beiden Diastereomerenpaare (R,R)- und (S,S)- sowie (R,S)- und (S,R)-5-(2-(2-[4-(2-Fluoroethoxy)phenyl]-1-methylethylamino)-1-hydroxyethyl)-benzen-1,3-diol makroskopisch säulenchromatographisch an Kieselgel mit Ethylacetat/Methanol (9/1) (R_f (1) = 0,15; R_f (2) = 0,1) getrennt werden. Allerdings verläuft die Trennung nicht vollständig, da die R_f–Werte sich nur gering voneinander unterscheiden, man erhält immer eine Mischfraktion.
Nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum bleiben farblose Kristalle. Diese können zur Durchführung von chiraler HPLC in einem Laufmittelgemisch von n-Hexan/1,2-Dichlorethan/Methanol/Trifluoressigsäure (240/130/30/1) aufgenommen und mittels HPLC in ihre Enantiomere aufgereinigt werden. Hierzu wurde ein HPLC-System von Waters verwendet (HPLC-System C, 200µL Loop). Bei einer Flußrate von 4 mL/min und einer Chirex 3022 Säule von Phenomenex ((S)-ICA and (R)-NEA, 10 x 250 mm) betrugen die Retentionszeiten der Enatiomere

jeweils 14,6 bzw. 17,2 Minuten. Um eine gute Trennung zu erzielen, sollten nicht mehr als 5 mg Substanz pro HPLC-Lauf aufgegeben werden.
Analog dazu kann auch das racemische Gemisch von **34** (Methoxy-Fenoterol) in seine 4 Enantiomere aufgetrennt werden. Die R_f-Werte für die makroskopische Trennung mit einer Kieselgel-Schwerkraftsäule sind identisch zu denen für Verbindung **25**, die Retentionszeiten auf der Chirex 3022-HPLC-Säule betragen 13 und 14,5 Minuten.

7.5 Radiosynthesen

7.5.1 Radioaktive Markierungssynthesen mit [^{18}F]Fluorid

7.5.1.1 Herstellung einer [^{18}F]Fluoridlösung

Das [^{18}F]Fluorid fällt in angereichertem [^{18}O]Wasser an. Um dieses Wasser wiedergewinnen zu können, wird die [^{18}F]Fluorid-haltige Löung über eine QMA-Kartusche, die zuvor mit 5 mL einer 1 M Kaliumcarbonatlösung und 10 mL Wasser konditioniert wurde, gegeben. Anschließend wird das [^{18}F]Fluorid mittels einer Lösung von 15 mg Kryptofix 2.2.2., 15µL 1 M Kaliumcarbonatlösung und 800 µL Acetonitril eluiert. Da nukleophile ^{18}F-Fluorierungen unter wasserfreien Bedingungen durchgeführt werden müssen, erfolgt zunächst eine mehrfache azeotrope Trocknung mittels Acetonitril. Durch die Zugabe des Kaliumcarbonats zum Reaktionsgemisch wird die Bildung des flüchtigen [^{18}F]HF vermieden. Dieses Trocknungsverfahren dient außerdem dazu, die Löslichkeit des [^{18}F]Fluorids in dipolar aprotischen Lösungsmitteln durch Zugabe von Phasentransferkatalysatoren zu erhöhen. Bei der Verwendung von Kryptofix 2.2.2. ist auf die Trocknungstemperatur zu achten, da es bei Temperaturen über 90°C zur Thermolyse kommt.
Das wasserhaltige Reaktionsgemisch, das etwa 30-100 MBq [^{18}F]Fluorid enthält, wird in ein konisch zulaufendes Reaktionsgefäß der Fa. Wheaton mit Magnetrührkern gegeben. Diese Reaktoren werden mit einem Silikonseptum verschlossen, durch das zwei Kanülen für den Vakuum- und Argonanschluss gestochen werden. Die Lösung wird bei 80°C unter einem Argonstrom von 400 ml/min und einem Druck von 700 mbar zur Trockene eingedampft. Durch erneute Zugabe von 1 mL Acetonitril wird dieser Trocknungsschritt noch zweimal wiederholt, bevor zur vollständigen Trocknung der Argonstrom eingestellt und das Vakuum auf 100 mbar erhöht wird. Anschließend wird der Reaktor mit Argon begast, 1-2 mL Lösungsmittel (DMF, DMSO, Acetonitril) hinzugegeben, 250 µL dieser Lösung auf eine Spritze aufgezogen und in die entsprechenden Reaktionsansätze injiziert.

7.5.1.2 Radioaktive Direktfluorierungen

Essigsäure-2-(benzyl-(2-[4-(2-[^{18}F]fluorethoxy)phenyl]-1-methylethyl)amino)-1-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)ethylester ([^{18}F]**24**)

Die ^{18}F-Fluorierungen werden in einem 2,5 mL Wheaton-Reaktionsgefäß, welches durch eine Schraubkappe mit Silicon-Septum verschlossen wird, durchgeführt. 16,5 mg (0,02 mmol) Essigsäure-2-[benzyl-(1-methyl-2-(4-[2-toluol-4-sulfonyloxy)ethoxy]phenyl)ethyl)amino]-1-(3,5-bisbenzyl-oxy-phenyl)ethylester werden in 0,75 mL Acetonitril gelöst und bei 80°C für 2 Minuten vortemperiert. Die Reaktion erfolgt durch Zugabe von ca. 250 µL einer [^{18}F]Fluorid/Krytofix-Komplexlösung. Zu den entsprechenden Reaktionszeiten werden Aliquots von 50 µL entnommen und in einem Eppendorf-Gefäß mit 100 µL Wasser gequencht. Die Lösungen werden mittels Radio-HPLC und Radio-DC analysiert. Zur präparativen Darstellung wird das Reaktionsgemisch über Radio-HPLC aufgetrennt. Hierbei wird das Gemisch mittels Spritze in einen 1 mL Loop eines Probenaufgabeventils überführt und bei einem Fluss von 4 mL/min von Methanol/Wasser (92/8) über eine LiChrospher RP18 5EC (250 x 10 mm) getrennt (HPLC-System B). Die Retentionszeit des gewünschten Produktes beträgt 8 min, wobei nach 10 min das zweite Enantiomerenpaar eluiert. Die entsprechende Fraktion wird mit dem fünffachen Volumen Wasser verdünnt, auf einer festen Phase fixiert (C-18, Waters), mit Argon getrocknet und mit 1 mL Ethanol eluiert.

5-(2-(2-[4-(2-[^{18}F]Fluorethoxy)phenyl]-1-methylethylamino)-1-hydroxyethyl)benzen-1,3-diol ([^{18}F]**25**)

Die ethanolische Essigsäure-2-(benzyl-(2-[4-(2-[^{18}F]fluorethoxy)phenyl]-1-methylethyl)amino)-1-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)ethylester-Lösung wird mit einer Spatelspitze Palladium auf Kohlenstoff (10%) versetzt und 3 min mit Wasserstoff bei 1 bar durchperlt. Anschließend wird das Reaktionsgemisch mit 200 µL 1 N NaOH versetzt und bei 60°C für 5 Minuten gerührt. Anschließend wird mit 6 mL Wasser verdünnt, durch einen Spritzenfilter der Porengröße 1 µm (aus PTFE) gegeben und das 5-(2-(2-[4-(2-[^{18}F]Fluorethoxy)phenyl]-1-methylethylamino)-1-hydroxyethyl)benzen-1,3-diol auf fester Phase (C-18, Waters) fixiert. Nach Trocknung im Argonstrom wird mit 1 mL Ethanol eluiert.

7.5.1.3 Synthese von 2-[^{18}F]Fluorethyltosylat

Zur manuellen n.c.a. Synthese von 2-[^{18}F]Fluorethyltosylat wird in das Reaktionsgefäß mit dem zur Trockene eingedampften [^{18}F]Fluorid/Kryptofix-Komplex eine Lösung von 4 mg (10 µmol) Ethylenglycol-1,2-ditosylat in 1 ml Acetonitril gegeben. Das Vial wird verschlossen und bei einer Ölbadtemperatur von 80°C 3 min gerührt. Die Aufarbeitung des Reaktionsgemisches erfolgt mittels Radio-HPLC. Die Lösung wird mittels einer Spritze in eine 1 mL Probenschleife eines Rheodyne Probenaufgabeventils (Typ 8125) injiziert, und bei einem Fluss von 5 mL/min über eine LiChrospher RP-18 EC 5 Säule (250 x 10 mm) mit dem Eluens Acetonitril/Wasser (50/50) aufgereinigt (HPLC-System E). Die Retentionszeit beträgt 17 min. Die zerfallskorrigierte radiochemische Ausbeute bei 2-[^{18}F]Fluorethyltosylat beträgt 50-80% nach 40 Minuten.

Bei der semi-automatischen 2-[^{18}F]Fluorethyltosylat-Synthese wird eine am Institut für Kernchemie der Universität Mainz gebaute Apparatur verwendet (s. Abb. 95). Dabei wird die [^{18}F]Fluoridlösung analog zum oben beschriebenen Weg getrocknet, das Acetonitril zur azeotropen Trocknung wird auf eine Spritze aufgezogen und über das Zugabeventil bei einem leichten Unterdruck von 800 mbar in das Reaktionsgefäß gesaugt. Nach dem Trocknungsprozess wird 4 mg (10 µmol) Ethylenglycol-1,2-ditosylat in 1 ml Acetonitril gelöst und ebenfalls über das Zugabeventil zugegeben. Nach einer Reaktionszeit von 3 Minuten werden 4 mL Wasser zugegeben und mit einen Stickstoffstrom über eine C-18-Kartusche der Fa. Waters, die zuvor mit 5 mL Ethanol und 10 mL Wasser konditioniert wurde, gegeben. Nachdem die Kartusche 7 min im Stickstoffstrom getrocknet wurde, wird das 2-[^{18}F]Fluorethyltosylat gemeinsam mit dem nicht abreagierten [^{18}F]Fluorid und Ethylenglycol-1,2-ditosylat durch 2 mL Acetonitril, DMF oder DMSO in ein Vial eluiert. Falls mit den Lösungsmitteln DMF oder DMSO gearbeitet werden soll, muss das Eluens im Ölbad auf ca. 80°C erwärmt werden, um eine vollständige Eluierung von der Kartusche zu gewährleisten. Die üblicherweise erreichten radiochemischen Reinheiten der so erhaltenen 2-[^{18}F]Fluorethyltosylat-Lösung lagen bei 92-95%, die radiochemischen Ausbeuten typischerweise bei 50-60%.

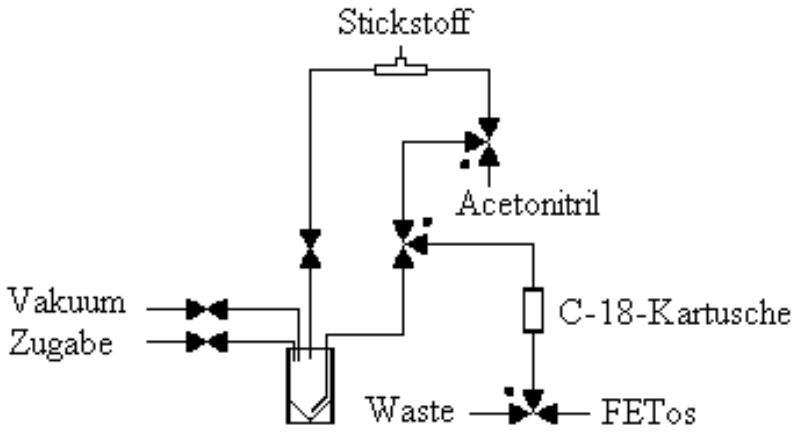


Abb. 95: schematische Darstellung der semi-automatischen Apparatur zur 2-[^{18}F]Fluorethyl-tosylat-Synthese

7.5.1.4 Synthese von 1-Brom-2-[^{18}F]Fluorethan [144]

Zur Synthese von n.c.a. 1-Brom-2-[^{18}F]Fluorethan wird in das Reaktionsgefäß mit dem zur Trockene eingedampften [^{18}F]Fluorid/Kryptofix-Komplex eine Lösung von 2,5 mg (19 µmol) 1,2-Dibromethan in 1 mL Acetonitril gegeben. Das Reaktionsgefäß wird verschlossen und 2 Minuten bei 75°C gerührt. Anschließend wird die Reaktionsmischung auf Raumtemperatur abgekühlt, in 20 mL Wasser aufgenommen und auf einer LiChrolute EN-Kartusche (Merck) fixiert. Die Kartusche wird dann im Stickstoffstrom getrocknet, mit einer Alumina B-Kartusche (Waters) kombiniert und das 1-Brom-2-[^{18}F]Fluorethan mittels 1,5 mL Acetonitril oder auf 70°C temperiertem DMF

langsam eluiert. Die radiochemische Reinheit des 1-Brom-2-[^{18}F]Fluorethan liegt typischerweise bei 96-98%, die radiochemische Ausbeute bei 50%.

7.5.1.5 Radioaktive Markierungssynthesen mit 2-[^{18}F]Fluorethyltosylat

2-(Benzyl-(2-[4-(2-[^{18}F]fluorethoxy)phenyl]-1-methylethyl)amino-1-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)-ethanol ([^{18}F]**20**)

10 mg (17,5 µmol) 4-(2-(Benzyl-[2-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)-2-hydroxyethyl]amino)propyl)-phenol werden in 0,7 mL DMF oder DMSO gelöst, mit 17 µL 1 N Natronlauge versetzt und 3 Minuten im Ölbad auf 130°C temperiert. Anschließend werden 300 µL einer Lösung von 2-[^{18}F]Fluorethyltosylat in DMF oder DMSO zugegeben. Das Reaktionsgemisch wird bei 130°C 3-5 Minuten gerührt. Die radiochemische Ausbeute kann mittels Radio-DC bestimmt werden. Zur präparativen Darstellung wird das Reaktionsgemisch über Radio-HPLC aufgetrennt. Hierbei wird das Gemisch mittels Spritze in einen 1 mL Loop eines Probenaufgabeventils (Rheodyne 3725) überführt und bei einem Fluss von 4 mL/min von Methanol/Wasser (92/8) über eine LiChrospher RP18 5EC (250 x 10 mm) getrennt (HPLC-System B). Die Retentionszeit des gewünschten Produktes beträgt 10 min, wobei nach 12 min das zweite Enantiomerenpaar eluiert. Die entsprechende Fraktion wird mit dem fünffachen Volumen Wasser verdünnt, auf einer festen Phase fixiert (C-18, Waters), mit Argon getrocknet und mit 1 mL Ethanol eluiert.

5-(2-(2-[4-(2-[^{18}F]Fluorethoxy)phenyl]-1-methylethylamino)-1-hydroxyethyl)benzen-1,3-diol ([^{18}F]**25**) durch Entschützung von [^{18}F]**20**

Die ethanolische 2-(Benzyl-(2-[4-(2-[^{18}F]fluorethoxy)phenyl]-1-methylethyl)amino-1-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)ethanol–Lösung wird mit einer Spatelspitze Palladium auf Kohlenstoff (10%) versetzt und 3 min mit Wasserstoff bei 1 bar durchperlt. Anschließend wird mit 6 mL Wasser verdünnt, durch einen Spritzenfilter der Porengröße 1 µm (aus PTFE) gegeben und das 5-(2-(2-[4-(2-[^{18}F]Fluorethoxy)phenyl]-1-methylethylamino)-1-hydroxyethyl)benzen-1,3-diol auf fester Phase (C-18, Waters) fixiert. Nach Trocknung im Argonstrom wird mit 1 mL Ethanol eluiert.

5-(2-(2-[4-(2-[^{18}F]Fluorethoxy)phenyl]-1-methylethylamino)-1-hydroxyethyl)benzen-1,3-diol ([^{18}F]**25**) durch radioaktive Markierung von **1**

2,2 mg (7,2 µmol) 5-(1-Hydroxy-2-[2-(4-hydroxyphenyl)-1-methylethylamino]ethyl)benzen-1,3-diol werden in 700 µL DMF gelöst, mit 7,1 µL 1 N Lithiumhydroxidlösung versetzt und 2 Minuten bei 120°C temperiert. Anschließend werden 300 µL einer Lösung von 2-[^{18}F]Fluorethyltosylat in DMF zugegeben. Man läßt 10 min bei 120°C rühren und verdünnt anschließend mit 10 mL Wasser. Das Reaktionsgemisch wird auf einer festen Phase (C-18, Waters) fixiert, mit Argon getrocknet und mit 1 mL Methanol eluiert. Die Aufreinigung erfolgt über HPLC mit einer Waters Symmetrie 5 µm C-18 Säule (4,6 x 150 mm) mit dem Eluens Methanol/Wasser (mit 1% Natriumdihydrogenphosphat-Puffer) (30/70) (HPLC-System A). Bei einem Fluss von 1 mL/min beträgt die Retentionszeit 14 Minuten. Die entsprechende Fraktion kann mit der fünffachen Menge an Wasser verdünnt werden und auf einer festen Phase (C-18, Waters) fixiert werden. Nach

Trocknung im Argonstrom wird 5-(2-(2-[4-(2-[^{18}F]Fluorethoxy)phenyl]-1-methylethylamino)-1-hydroxyethyl)benzen-1,3-diol mit 1 mL Ethanol eluiert.

7.5.1.6 Radioaktive Markierungssynthesen mit 1-Brom-2-[^{18}F]Fluorethan

2-(Benzyl-(2-[4-(2-[^{18}F]fluorethoxy)phenyl]-1-methylethyl)amino-1-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)-ethanol ([^{18}F]**20**)

10 mg (17,5 µmol) 4-(2-(Benzyl-[2-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)-2-hydroxyethyl]amino)propyl)-phenol werden in 0,7 mL DMF oder DMSO gelöst, mit 17 µL 1 N Natronlauge versetzt und 3 Minuten im Ölbad auf 130°C temperiert. Anschließend werden 300 µL einer Lösung von 1-Brom-2-[^{18}F]Fluorethan in DMF zugegeben. Man läßt 10 min bei 130°C rühren. Die Trennung mittels HPLC verläuft analog zur Darstellung von 5-(2-(2-[4-(2-[^{18}F]Fluorethoxy)phenyl]-1-methylethylamino)-1-hydroxyethyl)benzen-1,3-diol ([^{18}F]**20**) über 2-[^{18}F]Fluorethyltosylat.

7.5.1.7 Synthese von (R,R)- 5-(2-(2-[4-(2-[^{18}F]Fluorethoxy)phenyl]-1-methylethylamino)-1-hydroxyethyl)benzen-1,3-diol ((R,R)-[^{18}F]25)

Für die Synthese von enantiomerenreinem 5-(2-(2-[4-(2-[^{18}F]Fluorethoxy)phenyl]-1-methylethyl-amino)-1-hydroxyethyl)benzen-1,3-diol wird zunächst analog zur Darstellung von [^{18}F]**20** vorgegangen (s. Abschnitt 7.5.1.5). Das Reaktionsgemisch wird anschließend über eine HPLC-Trennung aufgereinigt. Hierbei wird das Gemisch mittels Spritze in einen 1 mL Loop eines Probenaufgabeventils (Rheodyne 3725) überführt und bei einem Fluss von 4 mL/min von Methanol/Wasser (92/8) über eine LiChrospher RP18 5EC (250 x 10 mm) getrennt (HPLC-System B). Die Retentionszeit des gewünschten Produktes beträgt 10 min, wobei nach 12 min das zweite Enantiomerenpaar eluiert. (Eine bessere Auflösung wird mit einer Luna-HPLC-Säule der Firma Phenomenex erreicht. Bei identischen Bedingungen wie oben ergeben sich Retentionszeiten von 10,5 min und 14 min). Soll enantiomerenreines Produkt erhalten werden, so wird nur einer der beiden Diastereomerenpeaks aufgefangen. Die entsprechende Fraktion wird mit dem fünffachen Volumen Wasser verdünnt, auf einer festen Phase fixiert (C-18, Waters), mit Argon getrocknet und mit 1 mL Ethanol eluiert. Die Entschützung verläuft analog zum Racemat (Abschnitt 4.5.1.5). Das Ethanol wird im Argonstrom entfernt und das n.c.a. Enantiomerenpaar in einem Laufmittelgemisch von n-Hexan/1,2-Dichlorethan/Methanol/Trifluoressigsäure (240/130/30/1) aufgenommen und mittels HPLC in seine Enantiomere aufgereinigt (HPLC-System B). Bei einer Flußrate von 0,2 mL/min und einer Chirex 3022 Säule von Phenomenex ((S)-ICA and (R)-NEA, 4,6 x 50 mm) betragen die Retentionszeiten der Enantiomere jeweils 14,6 bzw. 17,2 Minuten. Nach erneuter Verdünnung mit dem 5fachen Volumen Wasser wird das enantiomerenreine n.c.a. [^{18}F]Fluorethyl-Fenoterol ([^{18}F]**25**) auf einer C-18-Kartusche von Waters fixiert und getrocknet. Es kann anschließend mit isotonischer Kochsalzlösung mit einem Ethanolanteil von 3-5% quantitativ eluiert werden. Die radiochemische Gesamtausbeute beläuft sich auf 10-15% nach 105 Minuten.

7.5.2 Radioaktive Markierungssynthesen mit [^{11}C]CH_3I

Die radioaktiven Markierungssynthesen mit ^{11}C wurden in der Sektion Radiopharmazie am PET-Zentrum Tübingen durchgeführt.

7.5.2.1 Synthese von [^{11}C]Methyliodid

Die Darstellung des [^{11}C]Methyliodids erfolgt durch katalytische Reduktion von [^{11}C]CO_2 mit Wasserstoff an Nickel und nachfolgende Umsetzung mit elementarem Iod bei 760°C in einer automatisierten Apparatur (MeI MicroLab, GE Medical Systems).

7.5.2.2 Synthese von 2-(Benzyl-[2-(4-[^{11}C]methoxyphenyl)-1-methylethyl]amino)-1-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)ethanol ([^{11}C]32)

5 mg (8,75 µmol) 4-(2-(Benzyl-[2-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)-2-hydroxyethyl]amino)propyl)-phenol werden in 400 µL DMF gelöst, mit 8,7 µL 1 N Natronlauge versetzt und 2 Minuten im Ölbad auf 130°C temperiert. Anschließend werden 100 µL einer Lösung von [^{11}C]Methyliodid in DMF zugegeben. Man läßt 4 min bei 130°C rühren, verdünnt mit 500 µL Methanol und trennt das Gemisch anschließend über Radio-HPLC (HPLC-System D). Hierbei wird das Gemisch mittels Spritze in einen 1 mL Loop eines Probenaufgabeventils (Rheodyne 3725) überführt und bei einem Fluss von 1 mL/min von Methanol/Wasser (93/7) über eine Luna C18 5EC (250 x 4,6 mm) getrennt. Die Retentionszeit des gewünschten Produktes beträgt 9,1 min, wobei nach 10,2 min das zweite Enantiomerenpaar eluiert. Die entsprechende Fraktion wird mit dem fünffachen Volumen Wasser verdünnt, auf einer festen Phase fixiert (C-18, Waters), mit Argon getrocknet und mit 1 mL Ethanol eluiert.

7.5.2.3 Synthese von 5-(1-Hydroxy-2-[2-(4-[^{11}C]methoxyphenyl)-1-methylethylamino]-ethyl)benzen-1,3-diol ([^{11}C]34) über 2-(Benzyl-[2-(4-[^{11}C]methoxyphenyl)-1-methylethyl]amino)-1-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)ethanol ([^{11}C]32)

Die ethanolische 2-(Benzyl-(2-[4-(2-[^{11}C]methoxy)phenyl]-1-methylethyl)amino-1-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)ethanol–Lösung wird mit einer Spatelspitze Palladium auf Kohlenstoff (10%) versetzt und 3 min mit Wasserstoff bei 1 bar durchperlt. Anschließend wird mit 6 mL Wasser verdünnt, über einen Spritzenfilter der Porengröße 1 µm (aus PTFE) gegeben und das 5-(2-(2-[4-(2-[^{11}C]Methoxy)phenyl]-1-methylethylamino)-1-hydroxyethyl)benzen-1,3-diol auf fester Phase (C-18, Waters) fixiert. Nach Trocknung im Argonstrom wird mit 1 mL Ethanol eluiert.

7.5.2.4 Synthese von 5-(1-Hydroxy-2-[2-(4-[^{11}C]methoxyphenyl)-1-methylethylamino]-ethyl)benzen-1,3-diol ([^{11}C]34) durch radioaktive Markierung von 1

2,2 mg (7,2 µmol) 5-(1-Hydoxy-2-[2-(4-hydroxyphenyl)-1-methylethylamino]ethyl)benzen-1,3-diol werden in 400 µL DMF gelöst, mit 7,1 µL 1 N Lithiumhydroxidlösung versetzt und 2 Minuten bei 130°C temperiert. Anschließend werden 100 µL einer Lösung von [^{11}C]Methyliodid in DMF zugegeben. Man läßt 4 min bei 130°C rühren und verdünnt anschließend mit 10 mL Wasser. Das Reaktionsgemisch wird auf einer festen Phase (C-18, Waters) fixiert, mit Argon getrocknet und mit 1 mL Methanol eluiert. Die Trennung mittels HPLC verläuft analog zur Darstellung von 5-(2-(2-[4-(2-[^{18}F]Fluoroethoxy)phenyl]-1-methylethylamino)-1-hydroxyethyl)benzen-1,3-diol. Das gewünschte Produkt hat eine Retentionszeit von 14,9 min.

7.6 in vitro-*Evaluierung*

Verwendet wurden Dunkin-Hartley-Meerschweinchen beiderlei Geschlechts mit einem Lebendgewicht von 400-500 g. Die Tiere hatten freien Zugang zu Wasser und Futter und wurden bei künstlichem Tag-Nacht-Rhythmus (6.30-19.30 Uhr Tag) und einer Raumtemperatur von 21°C im Tierstall des Pharmakologischen Instituts gehalten. Nach Betäubung durch Genickschlag wurden die Tiere entblutet und die Trachea entfernt.. Durch die Zugabe von 100 nM Oxotremorin wurden die Tracheen vorkontrahiert und der Ausgangswert registriert. Dieser Ausgangswert wurde als 100% Bezugswert angesehen und alle späteren Kontraktionen wurden zu diesem Wert in Relation gesetzt. Für die Erstellung der Konzentrations-Wirkungs-Kurven wurden im Abstand von 3 Minuten (R,R)- und (S,S)-Fenoterol (**1**) bzw. das (R,R)- und (S,S)-[^{19}F]Fluorethyl-Fenoterol (**25**) in steigenden Konzentrationen kumulativ appliziert (1 nM – 1000 nM).

8 Zusammenfassung

Der β2-adrenerge Rezeptor in der Lunge wird seit langem im Zusammenhang mit Erkrankungen wie Asthma und chronisch obstruktiver Bronchitis gesehen. Trotz einiger vielversprechender Ansätze in den vergangenen Jahren gibt es noch keine Möglichkeit, den high affinity-Zustand des membranständigen β2-Adrenozeptors *in vivo* quantitativ zu erfassen. Ein vielversprechender Ansatz besteht in der radioaktiven Markierung eines hoch-selektiven, hoch-affinen sowie hydrophilen Agonisten des β2-Adrenozeptors. Ein in der Asthma-Therapie seit Jahren häufig verwendeter Agonist mit diesen Eigenschaften ist das Fenoterol.

Ziel dieser Arbeit war es deshalb, Fenoterol durch Einführung der Isotope ^{18}F und ^{11}C dahingehend zu derivatisieren, dass die Affinität, die Selektivität und die Hydrophilie des originalen Fenoterols möglichst erhalten bleiben. Aufgrund dessen, was über die pharmakophoren Gruppen des Fenoterols in der Literatur bekannt ist, ist eine Derivatisierung ausschliesslich am Phenylrest des Moleküls erfolgsversprechend.

Standardverbindungen:
Die nicht-radioaktive Verbindung für die Fluoralkylierung mittels 2-[^{18}F]Fluorethyltosylat bzw. 1-Brom-2-[^{18}F]Fluorethan 2-(Benzyl-(2-[4-(2-fluorethoxy)phenyl]-1-methylethyl)amino)-1-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)ethanol (**20**) konnte in einer mehrstufigen konvergenten Synthese mit einer Gesamtausbeute von 37% dargestellt werden. Ausgangspunkt der Synthese war einerseits der 3,5-Bisbenzyloxybenzaldehyd, der mittels Trimethylsulfoniumiodid und Natriumhydrid zum 3,5-Bisbenzyloxyphenyloxiran (**14**) umgesetzt wurde. Dieses Epoxid wurde mit Benzyl-(2-[4-(2-fluorethoxy)phenyl]-1-methylethyl)amin (**21**) geöffnet. **21** wurde ausgehend vom 4-Hydroxy-phenylaceton, welches mit 1-Brom-2-fluorethan fluorethyliert wurde, durch reduktive Aminierung mit Benzylamin im Autoklaven dargestellt.
Die nicht-radioaktive Verbindung zur Direktfluorierung mittels [^{18}F]Fluorid, Essigsäure-2-(benzyl-(2-[4-(2-fluorethoxy)phenyl]-1-methylethyl)amino)-1-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)ethylester (**24**), wurde aus Verbindung **20** mit einer Ausbeute von 75% durch Umsetzung mit Essigsäureanhydrid und katalytischen Mengen von Ytterbiumtoluolsulfonat dargestellt.
Der nicht-radioaktive ^{19}F-Standard 5-(2-(2-[4-(2-Fluoroethoxy)phenyl]-1-methylethylamino)-1-hydroxyethyl)benzen-1,3-diol (**25**) wurde durch Debenzylierung von **20** mittels Wasserstoff am Palladium-Katalysator bei 5 bar im Autoklaven in Ausbeuten von 80% erhalten.

Die nicht-radioaktive Verbindung zur Methylierung mittels [^{11}C]Methyliodid, 2-(Benzyl-[2-(4-methoxyphenyl)-1-methylethyl]amino)-1-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)ethanol (**32**) wurde analog zum ^{19}F-Standard **20** in einer mehrstufigen konvergenten Synthese mit der Gesamtausbeute von 30% dargestellt.

Der nicht-radioaktive ^{12}C-Standard 5-(1-Hydroxy-2-[2-(4-methoxyphenyl)-1-methylethylamino]-ethyl)benzen-1,3-diol wurde durch Debenzylierung von **32** mit Wasserstoff am Palladiumkatalysator in Ausbeuten von 45% synthetisiert.

Markierungsvorläufer:

Die Synthese des Markierungsvorläufers 4-(2-(Benzyl-[2-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)-2-hydroxyethyl]amino)propyl)phenol (**9**) zur radioaktiven Markierung mittels 2-[^{18}F]Fluorethyltosylat, 1-Brom-2-[^{18}F]Fluorethan und [^{11}C]Methyliodid erfolgte in Analogie zur Synthese von **20** in einer Gesamtausbeute von 40%. Hierzu wurde 3,5-Bisbenzyloxybenzaldehyd, welcher mittels Trimethylsulfoniumiodid und Natriumhydrid zum 3,5-Bisbenzyloxyphenyloxiran (**14**) umgesetzt wurde, dargestellt. Dieses Epoxid wurde anschließend durch das Amin 4-(2-Benzylaminopropyl)phenol (**13**), welches selbst durch reduktive Aminierung von 4-Hydroxyphenylaceton synthetisiert wurde, geöffnet.

Der ungeschützte Markierungsvorläufer zur ^{18}F-Fluoralkylierung, 5-(1-Hydroxy-2-[2-(4-hydroxyphenyl)-1-methylethylamino]ethyl)benzen-1,3-diol (**1**, Fenoterol), wurde durch Freisetzung aus seinem Hydrobromid erhalten.

Der Markierungsvorläufer zur Direktfluorierung mittels [^{18}F]Fluorid, Essigsäure-2-[benzyl-(1-methyl-2-(4-[2-(toluol-4-sulfonyloxy)ethoxy]phenyl)ethyl)amino]-1-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)-ethylester (**17**), wurde ausgehend vom Markierungsvorläufer **9** in einer mehrstufigen Synthese mit einer Gesamtausbeute von 20% dargestellt. Hierzu wurde zunächst **9** mit 2-Bromethanol zur Verbindung 2-(Benzyl-(2-[4-(2-hydroxyethoxy)phenyl]-1-methylethyl)amino)-1-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)ethanol (**19**) umgesetzt. Anschließend wurde durch Reaktion mit 4-Toluolsulfonsäurechlorid Toluol-4-sulfonsäure 2-[4-(2-(benzyl-[2-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)-2-hydroxyethyl]amino)propyl)-phenoxy]ethylester (**18**) dargestellt. Nach Acetylierung der aliphatischen Hydroxyfunktion mittels Essigsäureanhydrid unter Ytterbiumtoluolsulfonat-Katalyse wurde der Markierungsvorläufer **17** erhalten.

Die folgende Abbildung und Tabelle zeigen eine Übersicht über die dargestellten Markierungsvorläufer und die nicht-radioaktiven Standardverbindungen.

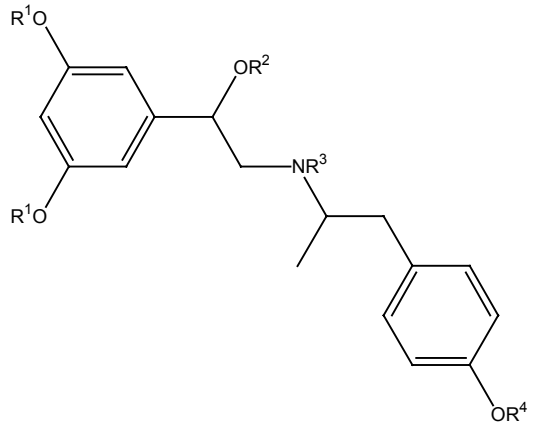


Abb. 95: allgemeines Formelschema der dargestellten Verbindungen

Tab. 9: Zusammenstellung der dargestellten Markierungsvorläufer und Standardverbindungen

Verbindung	R^1	R^2	R^3	R^4
9	$-CH_2-C_6H_5$	H	$-CH_2-C_6H_5$	H
17	$-CH_2-C_6H_5$	$-COCH_3$	$-CH_2-C_6H_5$	$-CH_2CH_2OTos$
1	***H***	H	H	H
20	$-CH_2-C_6H_5$	H	$-CH_2-C_6H_5$	$-CH_2CH_2F$
25	***H***	H	H	$-CH_2CH_2F$
24	$-CH_2-C_6H_5$	$-COCH_3$	$-CH_2-C_6H_5$	$-CH_2CH_2F$
32	$-CH_2-C_6H_5$	H	$-CH_2-C_6H_5$	$-CH_3$
34	***H***	H	H	$-CH_3$

<u>^{18}F-Markierungen:</u>

Die radioaktive Markierung von **9** mittels 2-[^{18}F]Fluorethyltosylat konnte in maximalen radiochemischen Ausbeuten von 99% bezogen auf 2-[^{18}F]Fluorethyltosylat in DMF bei einer Reaktionstemperatur von 130°C innerhalb von 5 Minuten realisiert werden. Die anschließende Debenzylierung zu [^{18}F]**25** erfolgte quantitativ innerhalb von 5 Minuten. Allerdings kam es durch Adsorptionsverluste an der Aktivkohle des Katalysators zu Ausbeuteverlusten von 10–15%. Um ein enantiomerenreines Produkt (R,R)-[^{18}F]**25** zu erhalten, waren zwei HPLC-Trennungen notwendig, eine zur Diastereomerentrennung, eine zur Enantiomerentrennung. Die maximal zu erhaltenden radiochemischen Gesamtausbeuten an (R,R)-[^{18}F]**25** beliefen sich auf 10 bis 15% nach 105 Minuten bezogen auf die Startaktivität [^{18}F]F^-.

Die radioaktive Markierung von **1** mittels 2-[^{18}F]Fluorethyltosylat konnte in maximalen radiochemischen Ausbeuten von 30% bezogen auf 2-[^{18}F]Fluorethyltosylat in DMF bei einer

Reaktionstemperatur von 120°C nach 10 Minuten realisiert werden. Um ein enantiomerenreines Produkt, (R,R)-[^{18}F]**25** zu erhalten, ist eine chirale HPLC-Trennung notwendig. Die maximal zu erhaltenden radiochemischen Gesamtausbeuten an (R,R)-[^{18}F]**25** beliefen sich auf 8-10% nach 85 Minuten.
Die radioaktive Markierung von **17** mittels [^{18}F]Fluorid lieferte in Acetonitril nach 15 Minuten bei einer Reaktionstemperatur von 80°C eine radiochemische Ausbeute von 30%. Das ungeschützte, finale Produkt (R,R)-[^{18}F]**25** konnte nach Debenzylierung und anschließender Deacetylierung sowie nach 2 HPLC-Abtrennungen in radiochemischen Gesamtausbeuten von 3% nach 80 Minuten erhalten werden.

^{11}C-Markierungen:
Die radioaktive Markierung von **9** mit [^{11}C]Methyliodid konnte mit quantitativen radiochemischen Ausbeuten bezogen auf [^{11}C]Methyliodid Im Lösungsmittel DMF bei einer Reaktionstemperatur von 130°C innerhalb von 5 Minuten erreicht werden. Die anschließende Debenzylierung zu [^{11}C]**34** verlief ebenfalls quantitativ, allerdings kam es zu Adsorptionsverlusten durch die Aktivkohle des Katalysators in Höhe von 10-15%.
Die radioaktive Markierung von **1** mit [^{11}C]Methyliodid erfolgte in DMF bei einer Reaktionstemperatur von 120°C innerhalb von 5 Minuten quantitativ. Im Gegensatz zur analogen ^{18}F-Fluorethylierung von **1** konnten keine radioaktiven Nebenprodukte detektiert werden. In diesem Fall war die maximal zu erhaltende radiochemische Gesamtausbeute allein von der radiochemischen Reinheit des verwendeten [^{11}C]Methyliodids abhängig.

Folgende Radioliganden stehen für *in vitro*- bzw. *in vivo*-Evaluierungen zur Verfügung:

Tab. 10: Synthesedaten der zur Verfügung stehenden Radioliganden

radioaktive Verbindung	**Präcursor**	Synthesezeit [min]	RCA[1]
(rac)-[^{18}F]**25**[2]	**9**	75	45%
[(R,R),(S,S)]-[^{18}F]**25**	**1**	65	20%
(R,R)-[^{18}F]**25** (S,S)-[^{18}F]**25** (R,S)-[^{18}F]**25** (S,R)-[^{18}F]**25**	**9**	105	10%
(R,R)- bzw. (S,S) [^{18}F]**25**	**1**	85	8%
[(R,R),(S,S)]-[^{11}C]**34**	**1**	25	85%
(rac)-[^{11}C]**34**[2]	**9**	30	75%

[1] bezogen auf die Startaktivität an [^{18}F]Fluorid bzw. [^{11}C]Methyliodid
[2] (rac) meint das Gemisch aus allen 4 Stereoisomeren

Evaluierungen:

Mit dem fluorethylierten Derivat von Fenoterol, **25**, wurde eine vorläufige *in vitro*-Evaluierung an isolierten Meerschweinchen-Tracheen durchgeführt. Das Resultat, das nahezu identische Dosis-Wirkungs-Beziehungen für das originale Fenoterol und dessen Fluorethyl-Derivat zeigt, belegt, dass durch die Derivatisierung an der phenolischen OH-Funktion keine wesentliche Veränderung der Rezeptor-Ligand-Wechselwirkung verursacht wurde. Daher wurden mit dieser Verbindung auch bereits *in vivo*-Evaluierungen am Meerschweinchen und Biodistributionsstudien vorgenommen (s. Anhang), die jedoch nicht mehr Bestandteil der vorliegenden Arbeit waren. Da diese Ergebnisse nahelegen, dass auch eine Methylierung der phenolischen OH-Funktion keine wesentliche Veränderung der Affinität des Liganden bewirkt, sind keine *in vitro*- sondern nur *in vivo*-Experimente mit der Verbindung [^{11}C]**34** geplant.

9 Literaturverzeichnis

[1] K. Wienhard, R. Wagner, W.-D. Heiss; PET – Grundlagen und Anwendungen der Positronen-Emissions-Tomographie; Springer, Berlin (1989).

[2] H. J. Ache; *Angew. Chem.* **84**, 234 (1972).

[3] G. Stöcklin; *Nachr. Chem. Tech. Lab.* **34**, 1057 (1986).

[4] C. M. Lederer, V. S. Shirley; Tables of Isotopes, 7th Edition, John Wiley, New York (1986).

[5] G. Kabalka, R. M. Lambrecht, M. Sajjad, J. S. Fowler, S. A. Kunda, G. W. McCollum, R. McGregor; *Int. J. Appl. Radiat. Isot.* **36**, 853 (1985).

[6] M. Reivich, D. Kuhl, A. Wolf, J. Greenberg, M. Phelps, T. Ido, V. Casella, J. Fowler, E. Hoffman, A. Alavi, P. Som, L. Sokoloff; *Circ. Res.* **44**, 127-137 (1979).

[7] G. Stöcklin; *Eur. J. Nucl. Med.* **19**, 527-551 (1992).

[8] G. Stöcklin; in: Handbuch der medizinischen Radiologie, Band 15/1B, Emissions-Computertomographie mit kurzlebigen Zyclotron-produzierten Radionukliden, Springer, Berlin (1989).

[9] P. Melon, M. Schwaiger; *Eur. J. Nucl. Med.* **19**, 453-464 (1992).

[10] S. M. Qaim, G. Stöcklin; *Radiochim. Acta* **34**, 25 (1983).

[11] T. Ruth, A.P. Wolf; *Radiochim. Acta* **26**, 21 (1979).

[12] K. Hamacher, G. Blessing, B. Nebeling; *Appl. Radiat. Isot.* **41**, 49-55 (1990).

[13] V. Casalla, T. Ido, A. P. Wolf, J. S. Fowler, R. McGregor, T. J. Ruth; *J. Nucl. Med.* **21**, 750 (1980).

[14] G. Stöcklin, V. W. Pike (Eds.); Radiopharmaceuticals for Positron Emission Tomography. Methodological Aspects, Kluwer Academic Publishers (1993).

[15] G. Firnau, R. Chirakal, E. S. Garnett; *J. Lab. Compds. Radiopharm.* **23**, 1106 (1986).

[16] H. H. Coenen, S. M. Moerlein; *J. Fluor. Chem.* **36**, 63 (1987).

[17] L. Farde, C. Halldin, K. Nagren, P. Karlson, C.-G. Swahn, T. Suhara; *Nucl. Med. Biol.* **22**, 1053 (1995).

[18] A. Luxen, M. Perlmutter, G. T. Bida, G. van Moffaert, J. S. Cook, N. Satyamurthy, M. E. Phelps, J. R. Barrio; *Appl. Radiat. Isot.* **41**, 275 (1990).

[19] S. Mislankar, D. L. Gildersleeve, D. M. Wieland, C. C. Massin, G. K. Mulholland, S. A. Toorongian; *J. Med. Chem.* **31**, 362 (1988).

[20] D. M. Wieland, K. C. Rosenspire, G. D. Hutchins, M. van Dort, J. M. Hothley, S. G. Mislankar, H. T. Lee, C. C. Massin, D. L. Gildersleeve, P. S. Sherman, M. Schwaiger; *J. Med. Chem.* **33**, 956 (1990).

[21] D. Naumann, Fluor und Fluorverbindungen; in: Anorganische Chemie in Einzeldarstellungen, Bd. 2; A. Schneider (Ed.), Darmstadt (1980).

[22] D. Block, H. H. Coenen, G. Stöcklin; *J. Lab. Compds. Radiopharm.* **24**, 1029 (1987).

[23] H. H. Coenen: No-carrier-added ^{18}F-chemistry of radiopharmaceuticals. In: Synthesis and application of isotopically labelled compounds, T. A. Baillie and J. R. Jones (eds.); Elsevier Publ., Amsterdam (1989).

[24] K. Hamacher, H. H. Coenen, G. Stöcklin; *J. Nucl. Med.* **27**, 235-238 (1986).

[25] K. Hamacher, H. H. Coenen, G. Stöcklin; *J. Lab. Compds. Radiopharm.* **23**, 1047 (1986).
[26] A. Katsifis, K. Hamacher, J. Schnitter, G. Stöcklin; *Appl. Radiat. Isot.* **44**, 1015 (1993).
[27] J. R. Beck; *Tetrahedron* **34**, 2057 (1978).
[28] M. S. Haka, M. R. Kilbourn, G. L. Watkins; *J. Lab. Compds. Radiopharm.* **26**, 17 (1989).
[29] R. Gail, H. H. Coenen; *Appl. Radiat. Isot.* **45**, 105 (1993).
[30] J. Ermert, R. Gail, H. H. Coenen; *J. Lab. Compds. Radiopharm.* **37**, 581 (1995).
[31] R. Gail, H. H. Coenen, G. Stöcklin; *J. Lab. Compds. Radiopharm.* **35**, 197 (1994).
[32] R. Gail, C. Hocke, H. H. Coenen; *J. Nucl. Med.* **38**, 431 (1997).
[33] W. R. Banks, M. R. Satter, D. Hwang; *Appl. Radiat. Isot.* **45**, 69 (1994).
[34] A. Plenevaux, C. Lemaire, A. J, Palmer, P. Damhaut, D. Comar; *Appl. Radiat. Isot.* **43**, 1035 (1992).
[35] V. W. Pike, F. I. Aigbirhio; *J. Lab. Compds. Radiopharm.* **37**, 120 (1995).
[36] R. Gail, C. Hocke, H. H. Coenen; 12th International Symposium on Radiopharmaceutical Chemistry, 15.-19.06.1997, Uppsala, Schweden, Symposium Abstract 50-52 (1997).
[37] A. Shah, D. A. Widdowson, V. W. Pike; 12th International Symposium on Radiopharmaceutical Chemistry, 15.-19.06.1997, Uppsala, Schweden, Symposium Abstract 65-67 (1997).
[38] H. L. Atkins, D. R. Christmann, J. S. Fowler, W. Hauser, R. M. Hoyte, J. F. Kloper, S. S. Lin, A. P. Wolf; *J. Nucl. Med.* **13**, 713 (1972).
[39] T. J. Tewson, M. J. Welch; *J. Chem. Soc. Chem. Comm.*, 1149 (1979).
[40] H. H. Coenen: New Radiohalogenation Methods: An overview; in: Progress in Radiopharmacy, P. H. Cox et al (eds); Martinus Nijhof Publishers, Dordrecht, Boston, Lancaster; 196 (1986).
[41] D. Block, H. H. Coenen, G. Stöcklin; *J. Lab. Compds. Radiopharm.* **25**, 201 (1988).
[42] M. R. Kilbourn, C. S. Dence, M. J. Welch, C. J. Mathias; *J. Nucl. Med.* **28**, 462 (1987).
[43] D. Block, H. H. Coenen, G. Stöcklin; *J. Lab. Compds. Radiopharm.* **25**, 185 (1988).
[44] Y. Shai, K. L. Kirk, M. A. Channing, B. B. Dunn, M. A. Lesniak, R. C. Eastman, R. D. Finn, J. Roth, K. A. Jacobson; *Biochem.* **28**, 4801 (1989).
[45] H. H. Coenen, P. Laufer, G. Stöcklin, K. Wienhard, G. Pawlik, H. G. Böcker-Schwarz, W. D. Heiss; *Life Sci.* **40**, 81 (1987).
[46] S. M. Moerlein, J. S. Perlmutter; *Neurosci. Lett.* **123**, 23 (1991).
[47] S. M. Moerlein, J. S. Perlmutter; *J. Lab. Compds. Radiopharm.* **32**, 272 (1993).
[48] H. J. Wester, M. Herz, W. Weber, P.Heiss, R. Senekowitsch-Schmidtke, M. Schwaiger, G. Stöcklin; *J. Nucl. Med.* **40**, 205-212 (1999).
[49] D. S. Wilbour: Radiohalogenation of Proteins: An Overview of Radionuclides, Labeling Methods and Reagents for Conjugate Labeling; *Bioconj. Chem.* **3**, 433 (1992).
[50] S. Guhlke, H. H. Coenen, G. Stöcklin; *J. Nucl. Med.* **32**, 1009 (1991).
[51] S. Guhlke, H.-J. Wester, C. Bruns, G. Stöcklin; *Nucl. Med. Biol.* **21**, 819-825 (1994).
[52] H.-J. Wester, K. Hamacher, G. Stöcklin; *Nucl. Med. Biol.* **23**, 365 (1996).
[53] C. C. Lauritzen, H. R. Crane, W. W. Harper; *Science* **79**, 234 (1934).
[54] C. Crouzel, B. Langström, V. W. Pike, H. H. Coenen; *Appl. Radiat Isot.* **38**, 601 (1987).
[55] H. J. Ache, A. P. Wolf; *J. Phys. Chem.* **72**, 1988 (1968).

[56] R. Wagner, G. Stöcklin, W. Schaak; *J. Lab. Compds. Radiopharm.* **18**, 1557 (1981).
[57] K. O. Schoeps; Dissertation, Universität Stockholm 1992.
[58] W. Vaalburg H. D. Beerling-van der Molen, S. Reiffers, A. Rijskamp, M. G. Woldring, H. Wynberg; *Int. J. Appl. Radiat. Isot.* **27**, 153 (1976).
[59] C. Prenant, F. Himmen; *J. Lab. Compds. Radiopharm.* **33**, 277 (1995).
[60] C. Prenant, C. Crouzel; *J. Lab. Compds. Radiopharm.* **28**, 645 (1990).
[61] M. Tada et al; *J. Lab. Compds. Radiopharm.* **29**, 949 (1991).
[62] D. Roeda, G. Westera; *Int. J. Appl. Radiat. Isot.* **32**, 931 (1981).
[63] D. Roeda, C. Crouzel, B. van Zanten; *Radiochem. Radioanalyt. Letters* **33**, 175 (1978).
[64] C. Marazano, M. Maziere, G. Berger, D. Comar; *Int. J. Appl. Radiat. Isot.* **28**, 49 (1977).
[65] C. Crouzel, B. Langström, V. W. Pike, H. H. Coenen; *Int. J. Appl. Radiat. Isot.* **38**, 601 (1987).
[66] M. Holschbach, M. Schüller; *Int. J. Appl. Radiat. Isot.* **44**, 779 (1993).
[67] M. Patt, Entwicklung von ^{11}C-markierten Amphetaminderivaten als Tracer für die Positronen-Emissions-Tomographie, Dissertation Universität Tübingen (1999).
[68] M. Holschbach, M. Schüller; *Int. J. Appl. Radiat. Isot.* **44**, 897 (1993).
[69] A. Ferieri, A. P. Wolf; *Radiochimica Acta* **34**, 69 (1983).
[71] R. Pauwels; *Life Sci.* **52** (26), 2171-2179 (1993).
[72] P. A. Insel, S. I. Wasserman; *FASEB J.* **4**, 2732-2736 (1990).
[73] J. Corren, A. D. Adinoff, A. D. Buchmeier, C. G. Irvin; *J. Allergy Clin. Immunol.* **90**, 250-256 (1992).
[74] P. J. Barnes; *Am. Rev. Respir. Dis.* **134**, 1289-1314 (1986).
[75] F. Quing, S. U. Rahman, C. C. Rhodes, M. J. Hayes, S. Sriskandan, P. W. Ind, T. Jones, J. M. B. Hughes; *Am. J. Crit. Care Med.* **155**, 1130-1134 (1997).
[76] L. T. Williams, R. Snyderman, R. J. Lefkowitz; *J. Clin. Invest.* **57**, 149 (1976).
[77] K. Kariman, R. J. Lefkowitz; *Clin. Res.* **25**, 503 (1977).
[78] K. Kariman; *Lung* **158**, 41 (1980).
[79] S. M. Brooks, K. McGowan, I. L. Bernstein, P. Altenau, J. Peagler; *J. Allergy Clin. Immunol.* **63**, 401 (1979).
[80] R. W. Hauck, M. Bohm, S. Gengenbach, L. S. Plassmann, G. Fruhmann, E. Erdmann; *Chest* **98**, 376-381 (1990).
[81] D. Spina, P. J. Rigby, J. W. Paterson, R. G. Goldie; *Am. Rev. Respir. Dis.* **140**, 1410-1415 (1989).
[82] C. Berger, C. Prenant, J. Sastre, A. Syrota, D. Comar; *Int. J. Appl. Radiat. Isot.* **34**, 1556-1557 (1983).
[83] C. Prenant, J. Sastre, C. Crouzel, A. Syrota; *J. Lab. Compds. Radiopharm.* **24**, 227-232 (1987).
[84] G. Antoni, J. Ulin, B. Langström; *Appl. Radiat. Isot.* **40**, 561-564 (1989).
[85] T. J. deGroot, A. van Waarde, P. H. Elsinga, G. M. Visser, O.-E. Brodde, W. Vaalburg; *Nucl. Med. Biol.* **20**, 637-642 (1993).
[86] P.H. Elsinga, M. G. Vos, A. van Waarde, A. H. Braker, T. J. deGroot, R. L. Anthonio, A. A. Weemaes, O. E. Brodde, G. M. Visser, W. Vaalburg; *Nucl. Med. Biol*. **23**, 159-167 (1996).

[87] M. Staehelin, C. Hertel; *J. Receptor Res.* **3**, 35 (1983).
[88] G. Seto, A. Syrota, C. Crouzel, P. Charbonneau, J. M. Vallois, J. Cayla, C. Boullais; *J. Nucl. Med.* **27**, 949 (1986).
[89] H. Affolter, C. Hertel, K. Jaeggi, M. Portenier, M. Staehelin; *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **82**, 925 (1985).
[90] G. Sager, D. Sandnes, A. Bessesen, S. Jacobsen; *Biochem. Pharmacol.* **34**, 2812 (1985).
[91] R. Richards, A. E. Tatersfield; *Br. J. Clin. Pharmac.* **20**, 459 (1985).
[92] F. Brady, S. K. Luthra, H.-J. Tochon-Danguy, C. J. Steel, S. L. Waters, M. J. Kensett, P. Landais, F, Shah, K. A. Jaeggi, A. Drake, J. C. Clark, V. W. Pike; *Appl. Radiat. Isot.* **42**, 621-628 (1991).
[93] H. Lüllmann, K. Mohr; Pharmakologie und Toxikologie, 14. Auflage, Georg Thieme Verlag, Stuttgart (1999).
[94] P. J. Barnes; *Am. J. Respir. Crit Care Med.* **152**, 838-860 (1995).
[95] K. Racké, J. Bähring, C. Langer, A. Möhling, M. Bräutigam, I. Wessler; *Am. Rev. Resp. Dis.* **146**, 1182-1186 (1992).
[96] K. Racké, C. Hey, I. Wessler; *Br. J. Pharmacol.* **107**, 3-4 (1992).
[97] I. Wessler, C. Hölz, J. Maclagan, D. Phan, T. Reinheimer, K. Racké; *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* **348**, 14-20 (1993).
[98] G. Brunn, I. Wessler, G. P. Anderson, J. Maclagan, K. Racké; *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* **350**, 459-463 (1994).
[99] C. Hey, I. Wessler, K. Racké; *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* **350**, 464-472 (1994).
[100] M. Isogaya, Y. Sugimoto, R. Tanimura, R. Tanaka, H. Kikkawa, T. Nagao, H. Kurose; *Molecular Pharmacology* **56**, 875-885 (1999).
[101] D. E. Drotar, E. E. Davis, D. W. Cockroft; *Annals of Allergy, Asthma & Immunology* **80**, 31-34 (1998).
[102] F. Quing, C. G. Rhodes, M. J. Hayes, T. Krausz, S. W. Fountain, T. Jones, J. M. Hughes; *J. Nucl. Med.* **37**, 1275-1281 (1996).
[103] J. Ueki; C. G. Rhodes, J. M. Hughes, R. de Silva, D. C. Lefroy, P. W. Ind, F. Quing, F. Brady, S. K. Luthra, C. J. Steel; *J. Appl. Physiol.* **75,** 559-565 (1993).
[104] P. H. Elsinga, A. van Waarde, K. A. Jaeggi, G. Schreiber, M. Heldoorn, W. Vaalburg; *J. Med. Chem.* **40**, 3829-3835 (1997).
[105] T. J. Visser, A. van Waarde, P. Doze, P. H. Elsinga, T. W. van der Mark, J. Kraan, K. Ensing, W. Vaalburg; *Eur. J. Pharmacol.* **361:** 35-41 (1998).
[106] M. Kontoyianni, C. DeWeese, J. E. Penzotti, T. Lybrand; *J. Med. Chem.* **39**, 4406-4420 (1996).
[106] R. Schirrmacher; Diplomarbeit, Köln/Jülich 1996.
[107] P. Braun, G. M. Davies, M. R. Price, P. M. Williams, S. J. Tendler, H. Kunz; *Bioorganic and Medicinal Chemistry*. **6**, 1531-1545 (1998).
[108] K. Horita, T. Yoshioka, O. Yonemitsu; *Tetrahedron*. **42**, 3021 (1986).
[109] Y. Oikawa, T. Tanaka, O. Yonemitsu; *Tetrahedron Lett.* **27**, 3647 (1986).
[110] P. J. Kocienski; Protecting Groups, Thieme Verlag Stuttgart (1994).

[111] T. E. Goodwin, X. Zhou, P. A. Haile, P. Breen, P. J. Anderson, F. C. Hiller, C. M. Compadre; *J. Lab. Compds. Radiopharm.* **43**, 65-75 (2000).
[112] Y. Rival, G. Grassy, G. Michel; *Chem. Pharm. Bull.* **40**(5), 1170-1176 (1992).
[113] J. March; Advanced Organic Chemistry, Wiley Interscience, New York (1985).
[114] F. A. Carey, R. J. Sundberg; Organische Chemie, VCH Weinheim (1995).
[115] H. C. Brown, G. G. Pai; *J. Org. Chem.* **48**, 1784-1786 (1983).
[116] R. Hett, Q. K. Fang, Y. Hong, H. T. Butler, X. Nie, S. A. Wald; *Tetrahedron Lett.* **38**, 1125-1128 (1997).
[117] K. Murase, T. Mase, H. Ida, K. Takahashi, M. Murakami; *Chem. Pharm. Bull.* **26**, 1123 (1978).
[118] M. Freifelder, Y. H. Ng, P. F. Helgren; *J. Med. Chem.*, 381-382 (1964).
[119] M. Meguro, N. Asao, Y. Yamamoto; *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1*, 2597-2601 (1994).
[120] M. Chini, P. Crotti, F. Macchia; *J. Org. Chem.* **56**, 5939-5942 (1991).
[121] Y. Gao, R. Hett, Q. K. Fang, S. A. Wald, C. H. Senanayake; Patent Nr. WO 98/21175 (1998).
[122] A. A. Larsen, W. A. Gould, H. R. Roth, W. T. Comer, R. H. Uloth, K. W. Dungan, P. M. Lish; *J. Med. Chem.* **10**, 462-472 (1967).
[123] R. Noyori, I. Tomino, Y. Tanimoto; *J. Am. Chem. Soc.* **101**, 3129-3131 (1979).
[124] R. Noyori, I. Tomino, Y. Tanimoto, M. Nishizawa; *J. Am. Chem. Soc.* **106**, 6709-6716 (1984).
[125] R. Noyori, I. Tomino, Y. Tanimoto, M. Nishizawa; *J. Am. Chem. Soc.* **106**, 6717-6725 (1984).
[126] R. Albrecht, O. Loge; *Eur. J. Med. Chem.* **20**, 51-55 (1985).
[127] M. Chini, P. Crotti, F. Macchia; *Tetrahedron Lett.* **31**, 4661-4664 (1990).
[128] J. Augé, F. Leroy; *Tetrahedron Lett.* **37**, 7715-7716 (1996).
[129] M. Chini, P. Crotti, L. Favero, F. Macchia, M. Pineschi; *Tetrahedron Lett.* **35**, 433-436 (1994).
[130] Organicum; VEB Deutscher Verlag der Wissenschaften, Berlin (1986).
[131] C. F. H. Allen, J. W. Gates; *Org. Syn. Coll.* **3**, 140-141 (1962).
[132] D. D. Perrin, B. Dempsey, E. P. Serjeant; *pK_a prediction for organic acids and bases.* Chapman and Hall, New York (1981).
[133] K. MaloneyHuss, T. P. Lybrand; *J. Mol. Biol.* **225**, 859-871 (1992).
[134] Solvents and Solvent Effects in Organic Chemistry; second edition, Verlag Chemie Weinheim (1985).
[135] B. ElAmin, G. M. Anantharamaiah, G. P. Royer, G. E. Means; *J. Org. Chem.* **44**, 3442-3444 (1979).
[136] D. S. Noyce, J. A. Virgilio; *J. Org. Chem.* **37**, 2643 (1992).
[137] D. Dyrssen; *Sv. Kem. Tidskr.* **64**, 213 (1952).
[138] D. Dyrssen, M. Dyrssen, E. Johannson; *Acta Chem. Scand.* **10**, 341 (1956).
[139] D. Dyrssen; *Acta Chem. Scand.* **10**, 353 (1957).
[140] J. Rydberg; *Sv. Kem. Tidskr.* **65**, 37 (1953).

[141] A. Avdeef, K. J. Box, J. E. A. Comer, M. Gilges, M. Hadley, C. Hibbert, W. Patterson, K. Y. Tam; *J. Pharmaceut. Biomed. Anal.* **20**, 631 (1999).

[142] M. Yasuda; *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **32**, 429 (1959).

[143] T. Shedlovsky; in Electrolytes, P. Esce (Ed.), Pergamon, New York (1962).

[144] S. Comagic, M. Piel, R. Schirrmacher, S. Höhnemann, F. Rösch; *Appl. Radiat. Isot.* **56**, 847-851 (2002).

[145] R. M. Moresco, M. Matarrese, D. Soloviev, P. Simonelli, M. Rigamonti, C. Gobbo, S. Todde, A. Carpinelli, M. Galli Kienle, F. Fazio; *Int. J. Pharmaceutics* **204**, 101-109 (2000).

[146] T. J. Visser, E. A. van der Wouden, A. van Waarde, P. Doze, P. H. Elsinga, W. Vaalburg; *Appl. Radiat. Isot.* **52**, 857-863 (2000).

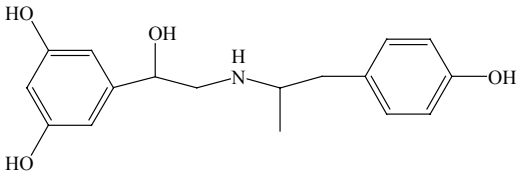
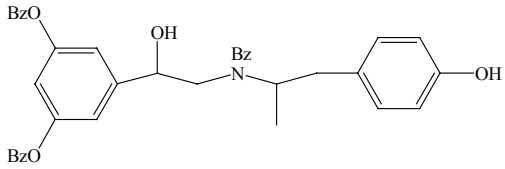
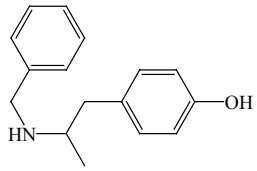
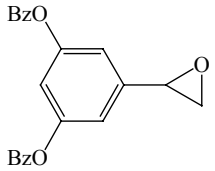
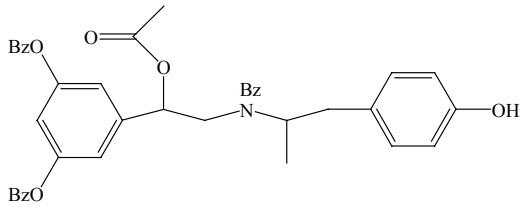
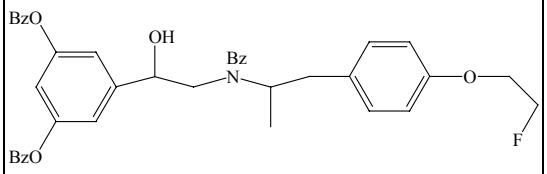
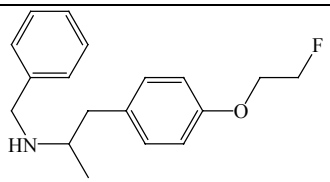
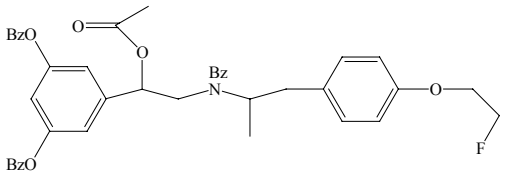
[147] D. Probst, D. Müller; „Asthma bronchiale und Foradil“, G. Thieme Verlag Stuttgart, New York (1997).

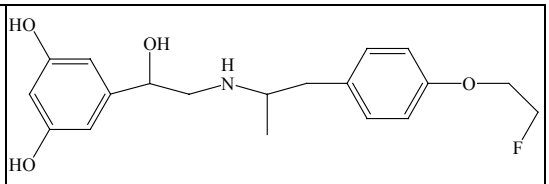
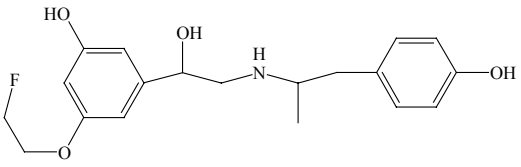
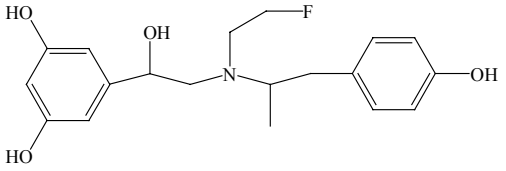
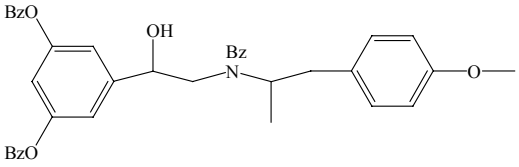
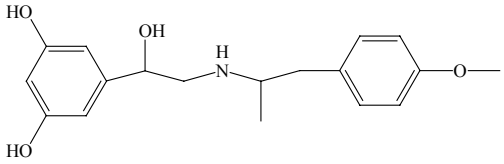
[148] I. Amirav, I. Balanov, M. Gorenberg, A. S. Luder, M. T. Newhouse, D. Groshar; *J. Nucl. Med.* **43**, 487-491 (2002).

[149] A. van Waarde, P. H. Elsinga, P. Doze, P. L. Jager, R. H. Slart, A. W. Frijlink, W. Vaalburg; *49th Annual Meeting, June 15-19,No. 1409, Society of Nuclear Medicine* (2002).

Anhang A

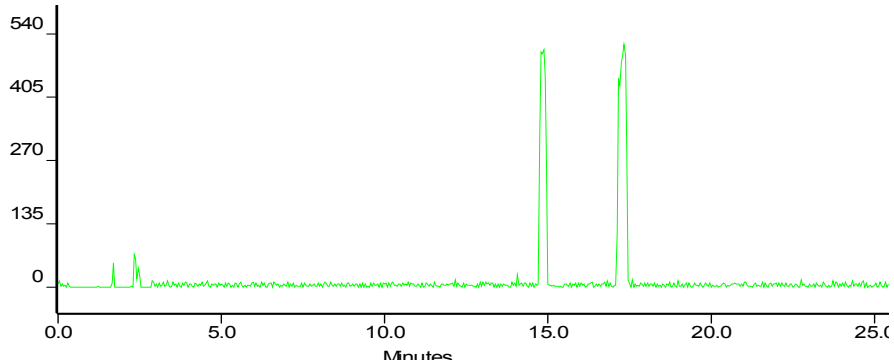
Die folgende Tabelle listet die wichtigsten Verbindungen mit ihrer zugeordneten Nummer, ihrem IUPAC-Namen und ihrer Strukturformel auf.

Nummer	Name	Strukturformel
1	5-(1-Hydroxy-2-[2-(4-hydroxyphenyl)-1-methylethyl-amino]ethyl)benzen-1,3-diol	
9	4-(2-(Benzyl-[2-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)-2-hydroxyethyl]-amino)propyl)phenol	
13	4-(2-Benzylaminopropyl)phenol	
14	2-(3,5-Bisbenzyloxy-phenyl)oxiran	
17	Essigsäure-2-[benzyl-(1-methyl-2-(4-[2-toluol-4-sulfonyloxy)ethoxy]phenyl)-ethyl)amino]-1-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)ethylester	
20	2-(Benzyl-(2-[4-(2-fluorethoxy)phenyl]-1-methylethyl)-amino)-1-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)ethanol	
21	Benzyl-(2-[4-(2-fluorethoxy)phenyl]-1-methylethyl)amin	
24	Essigsäure-2-(benzyl-(2-[4-(2-fluorethoxy)phenyl]-1-methylethyl)amino)-1-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)ethylester	

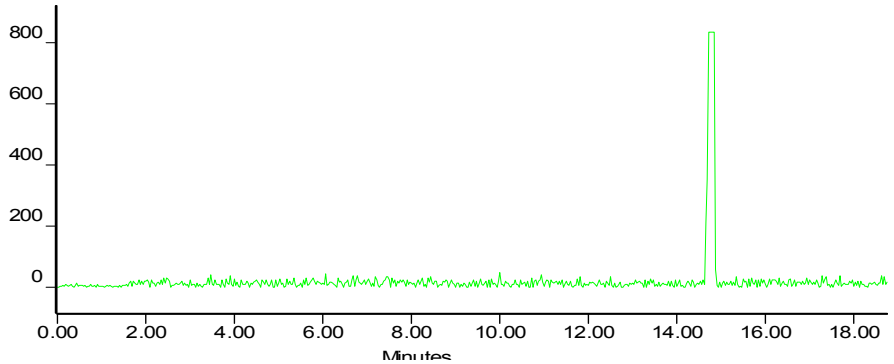
25	5-(2-(2-[4-(2-Fluorethoxy)phenyl]-1-methylethylamino)-1-hydroxyethyl)-benzen-1,3-diol	
26	3-(2-Fluorethoxy)-5-(1-hydroxy-2-((2-(4-hydroxyphenyl)isopropyl)amino)-ethyl)phenol	
27	5-(2-((2-Fluorethyl)-[2-(4-hydroxyphenyl)-1-methylethyl]amino)-1-hydroxyethyl)benzen-1,3-diol	
32	2-(Benzyl-[2-(4-methoxyphenyl)-1-methylethyl]amino-1-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)ethanol	
34	5-(1-Hydroxy-2-[2-(4-methoxyphenyl)-1-methylethylamino]ethylbenzen-1,3-diol	

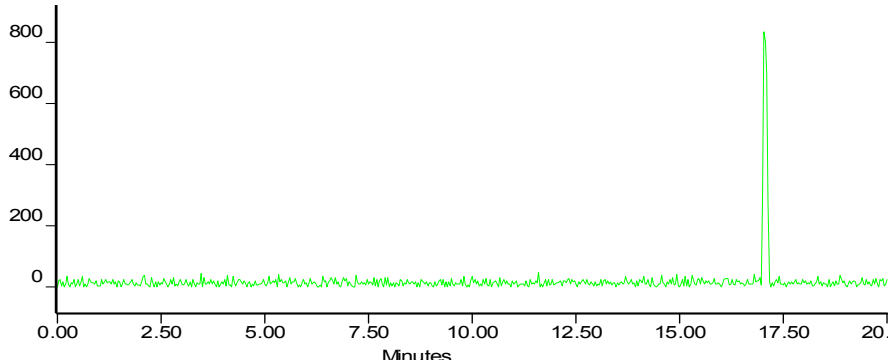
Anhang B

[(R,R),(S,S)]-[^{18}F]Fluorethyl-Fenoterol ([^{18}F]**25**)
HPLC-System B
Chirex 3022, n-Hexan/1,2-Dichlorethan/Methanol/Trifluoressigsäure (240/130/30/1)



enantiomerenreines [^{18}F]Fluorethyl-Fenoterol ([^{18}F]**25**) (Qualitätskontrolle)
HPLC-System B
Chirex 3022, n-Hexan/1,2-Dichlorethan/Methanol/Trifluoressigsäure (240/130/30/1)

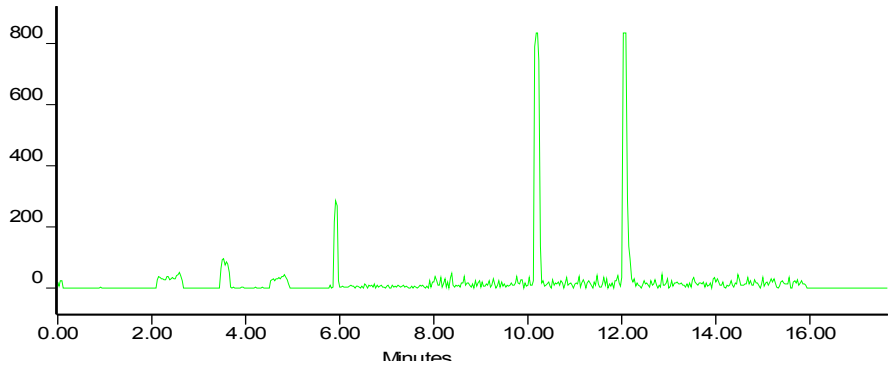




(rac.)- 2-(Benzyl-(2-[4-(2-[^{18}F]fluorethoxy)phenyl]-1-methylethyl)-amino)-1-(3,5-bisbenzyloxy-phenyl)ethanol ([^{18}F]**20**)

HPLC-System B

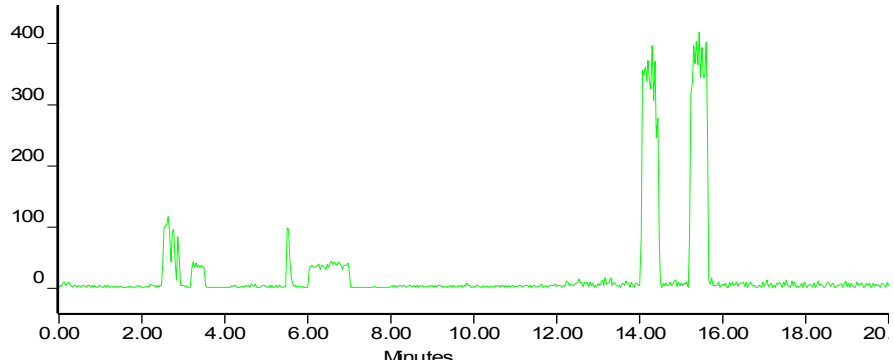
LiChrospher RP18, Methanol/Wasser (93/7)



[(R,R),(S,S)]-[^{18}F]Fluorethyl-Fenoterol ([^{18}F]**25**) (Reaktionsgemisch, mit [^{18}F]**27**)

HPLC-System B

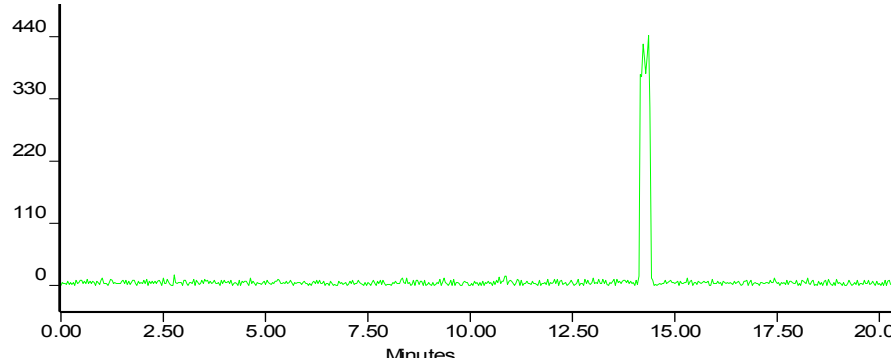
Waters Symmetry, Methanol/Wasser (+1% NaH_2PO_4) (30/70)



[(R,R),(S,S)]-[^{18}F]Fluorethyl-Fenoterol ([^{18}F]**25**) (Qualitätskontrolle)

HPLC-System B

Waters Symmetry, Methanol/Wasser (+1% NaH_2PO_4) (30/70)



Anhang C

Die ersten *in vivo*-Evaluierungen von [(R,R), (S,S)]-[^{18}F]Fluorethyl-Fenoterol wurden von Prof. Dr. O. Thews und seinen Mitarbeitern sowie von Herrn Dr. A. Helisch und Herrn Dipl.-Ing. H. Buchholz des Arbeitskreises von Herrn Prof. Dr. P. Bartenstein durchgeführt.

Verwendet wurden zwei gesunde weibliche Hartley Meerschweinchen mit je ca. 350 g Körpergewicht. Sie erhielten eine subkutane Narkose mit Ketanest (75 mg/kg) und Rompun (4 mg/kg). Bei beiden Tieren wurde ein Katheder in die V. jugularis und die A. carotis gelegt, die Applikation von je 13 MBq [(R,R), (S,S)]-[^{18}F]Fluorethyl-Fenoterol (3% Ethanol in isotonischer Kochsalzlösung) erfolgte i.v. in die V. jugularis.

Für die PET-Aufnahmen wurde ein ECAT EXACT PET-Scanner der Fa. Siemens im 2D-Mode verwendet, die Rekonstruktion der Bilddaten erfolgte iterativ. Es wurden dynamische Messungen bis 60 min p.i. (6 x 10 sec, 4 x 1 min, 11 x 5 min) durchgeführt. Der Exitus der Meerschweinchen erfolgte durch Luftembolie während der Narkose. Anschließend wurden die einzelnen Organe entnommen, gewogen und in einem γ-Counter (Typ 1480) der Fa. Wallac vermessen.

Die folgende Grafik zeigt die Organverteilung von [(R,R), (S,S)]-[^{18}F]Fluorethyl-Fenoterol 1,5 Stunden p.i.. Die angegebenen Werte der injizierten Dosis pro Gramm sind die Mittelwerte von 2 Meerschweinchen (schwarze Balken) bzw. 2 Ratten (weiße Balken).

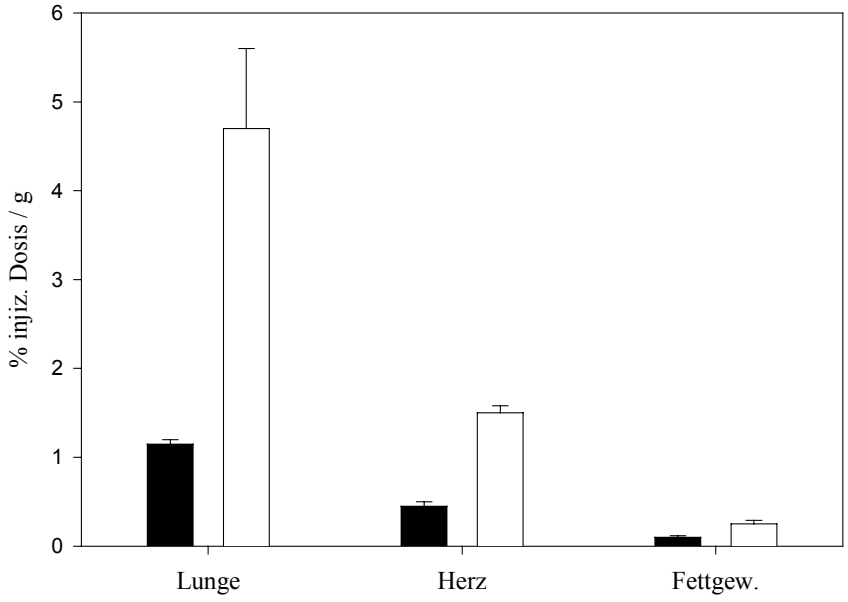


Abb. I: Organverteilungen von [(R,R), (S,S)]-[^{18}F]Fluorethyl-Fenoterol in Meerschweinchen (schwarze Balken) und Ratte (weiße Balken) 1,5 Stunden p.i.

Die folgende Abbildung zeigt exemplarisch die Aktivitätsverteilung in Herz, Lunge und einer Region ohne spezifische β2-Rezeptor-Bindung (Kopf-Hals-Bereich) von 300 bis 3600 Sekunden p.i. für eines der Meerschweinchen.

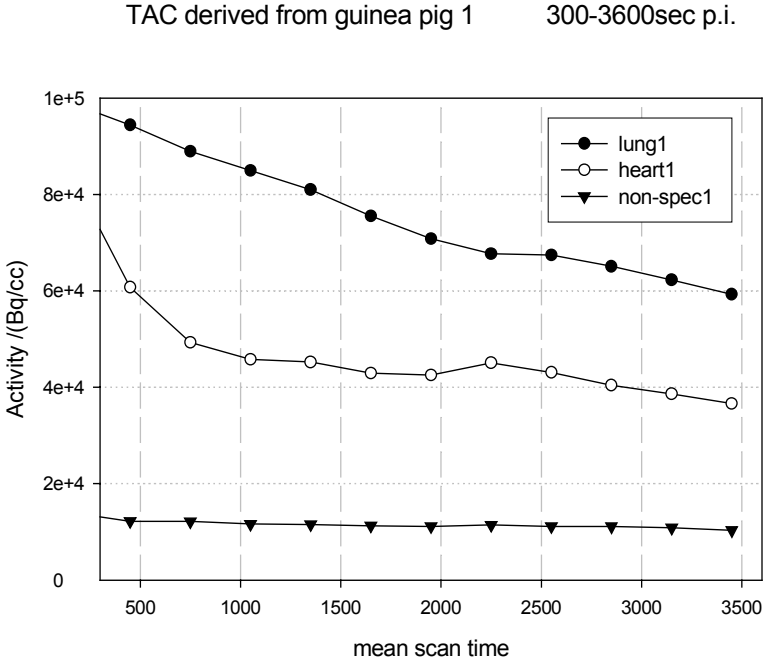
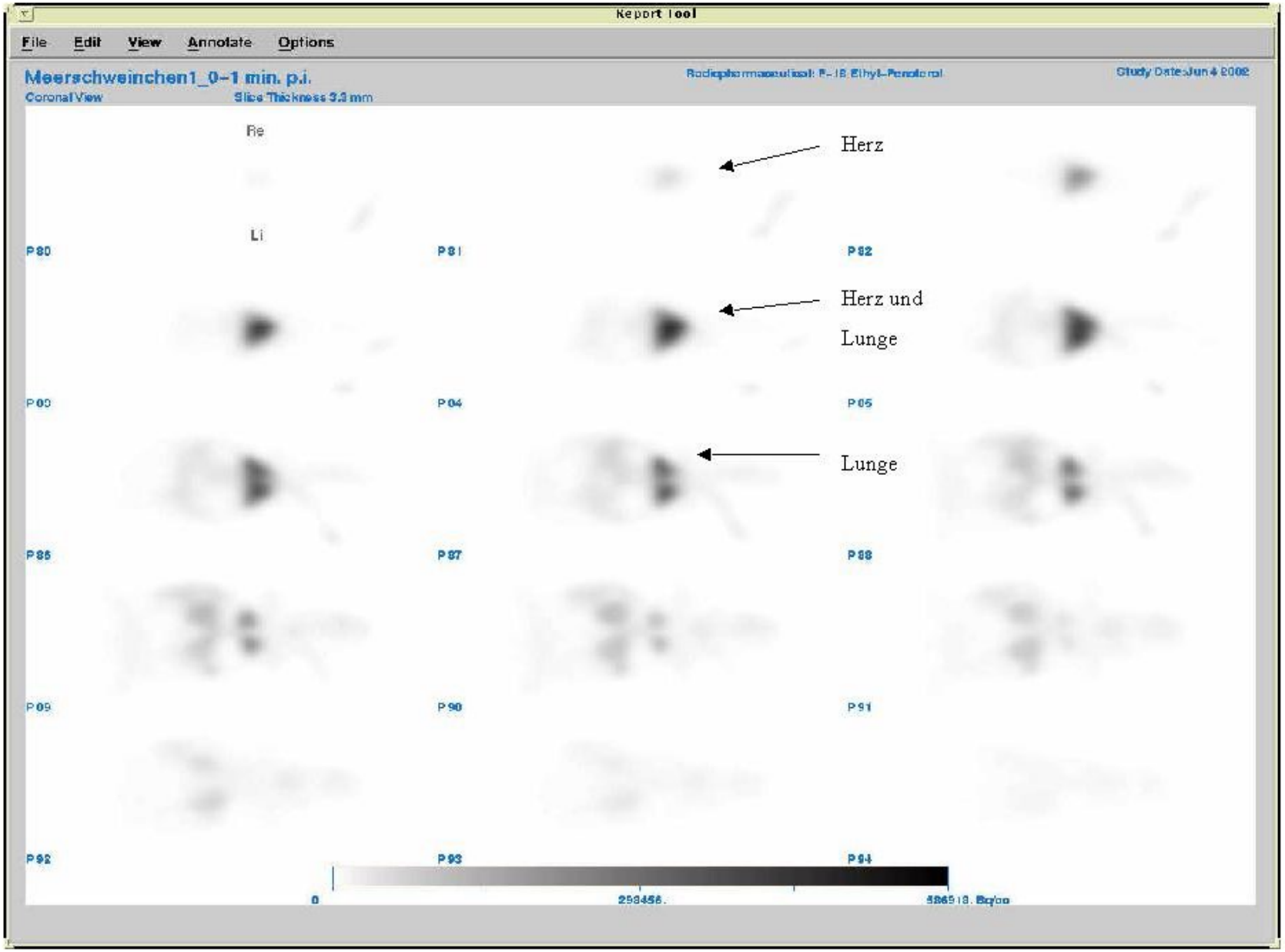
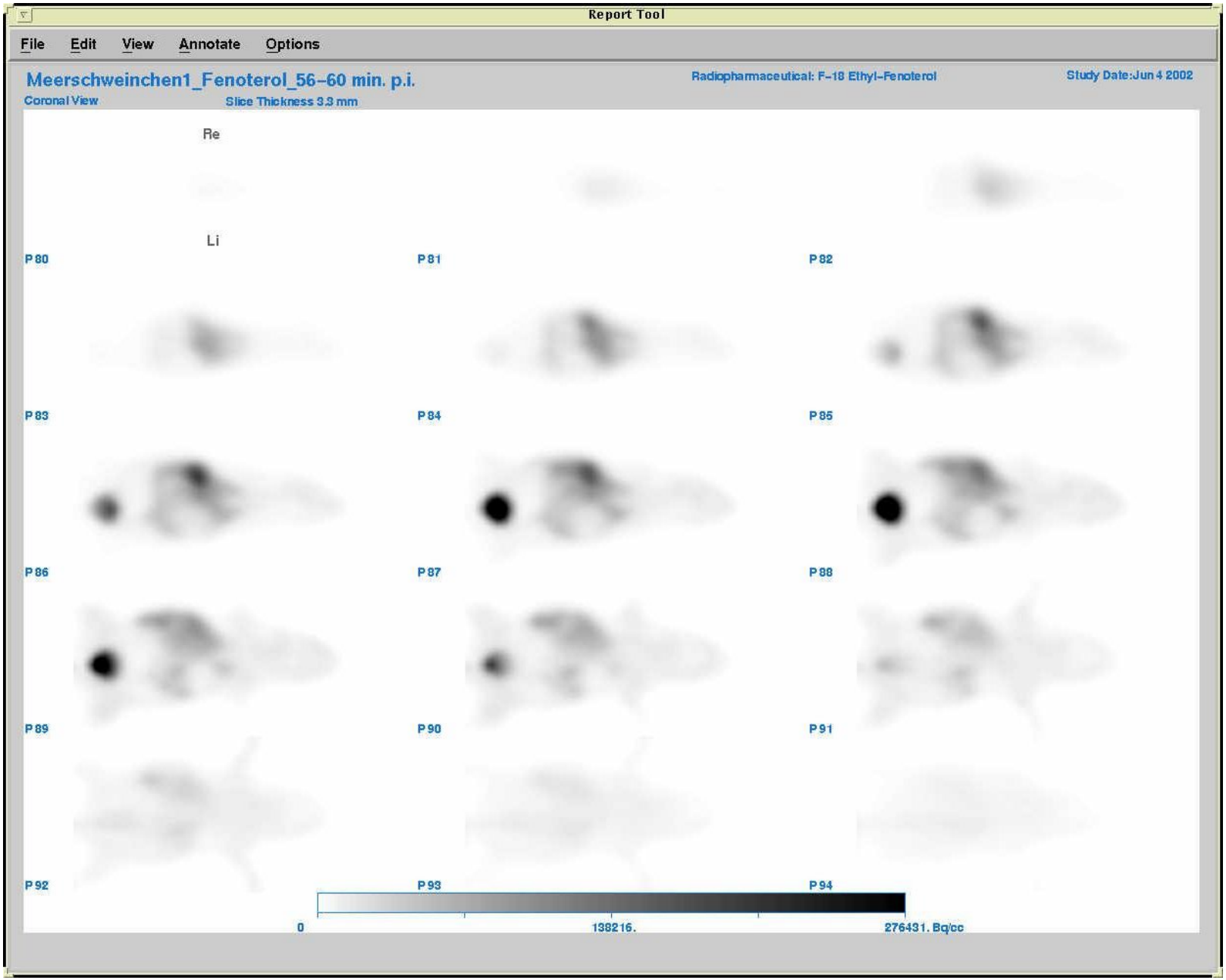


Abb. II: Aktivitätsverteilung im Meerschweinchen zwischen 300 und 3600 p.i. in Lunge, Herz und Kopf-Hals-Bereich

Die summarischen PET-Aufnahmen eines der Meerschweinchen von 0-1 Minute bzw. 56-60 Minuten p.i. befinden sich auf den folgenden 2 Seiten.

Aufgrund der vielversprechenden Ergebnisse sind weitere Biodistributionsstudien mit Meerschweinchen zur statistischen Absicherung geplant. Weitere Studien mit Verdrängungs- bzw. Blockungsexperimenten sollen die spezifische Bindung der Substanz in der Lunge beweisen.


Report Tool
File Edit View Annotate Options
Meerschweinchen1_0-1 min. p.i.
Coronal View
Slice Thickness 3.3 mm
Study Date: Jun 4 2002
Re
Li
Herz
Herz und
Lunge
Lunge
P80
P81
P82
P83
P84
P85
P86
P87
P88
P89
P90
P91
P92
P93
P94
0
253456.


Report Tool
File
Edit
View
Annotate
Options
Meerschweinchen1_Fenoterol_56–60 min. p.i.
Radiopharmaceutical: F-18 Ethyl-Fenoterol
Study Date:Jun 4 2002
Coronal View
Slice Thickness 3.3 mm
Re
Li
P80
P81
P82
P83
P84
P85
P86
P87
P88
P89
P90
P91
P92
P93
P94
0
138216.
276431. Bq/cc

Danksagung

Mein besonderer Dank gilt den Herren Professoren Machulla und Rösch für die interessante Themenstellung, die uneingeschränkte Hilfe und die Unterstützung während der Ausführung dieser Arbeit.

Insbesondere möchte ich mich bei Herrn Dr. R. Schirrmacher für die hilfreiche und kompetente Unterstützung bedanken, ohne die diese Arbeit so nicht möglich gewesen wäre.

Bei Herrn Prof. Dr. I. Wessler möchte ich mich für die Unterstützung und tatkräftige Mitarbeit bei der Durchführung der *in vitro*-Evaluierungen bedanken.

Herrn Prof. Dr. Thews und seinen Mitarbeitern, sowie Herrn Dr. A. Helisch und Herrn Dipl.-Ing. H. Buchholz der Arbeitsgruppe Prof. Dr. Bartenstein gilt mein Dank für die Durchführung der *in vivo*-Experimente.

Für die Hilfestellung bei den ^{18}F-Markierungen zur Durchführung der Tierexperimente bin ich Frau Dipl.-Ing. S. Höhnemann zu Dank verpflichtet.

Weiterhin danke ich den Mitgliedern der Arbeitskreise von Prof. Dr. Rösch und Prof. Dr. Machulla für die gute Zusammenarbeit und Hilfsbereitschaft sowie für die freundliche Unterstützung bei den ^{11}C-Markierungen.

Meine akademischen Lehrer waren die Damen und Herren Professoren und Dozenten:

Bartsch E.	Physikalische Chemie
Basché T.	Physikalische Chemie
Böhmer V.	Physikalische Chemie
Dannhardt G.	Pharmazeutische Chemie
Denschlag J. O.	Kernchemie
Dräger M.	Anorganische Chemie
Epe B.	Toxikologie/Pharmakologie
Essmann R.	Recht für Chemiker
Fahrenholz F.	Biochemie
Gauß J.	Theoretische Chemie
Geyer E.	Organische Chemie
Heumann K.	Analytik
Huber G.	Physik
Kaina B.	Toxikologie
Kirste R.	Physikalische Chemie
Koch-Brandt Cl.	Biochemie
Kratz J.-V.	Kernchemie
Kunz H.	Organische Chemie
Machulla H.-J.	Radiopharmazie
Meier H.	Organische Chemie
Müllen K.	Organische Chemie
Oesch F.	Toxikologie
Okuda J.	Anorganische Chemie
Pindur U.	Pharmazeutische Chemie
Rösch F.	Radiopharmazie/Kernchemie
Seim G.	Mathematik
Singer H.	Anorganische Chemie
Tremel W.	Anorganische Chemie
Unger K.	Analytik
Zentel R.	Makromolekulare Chemie

Lebenslauf

Name	Esther Schirrmacher geb. Nesseler
Anschrift	Lennebergplatz 5
	55124 Mainz
Geburtsdatum/-ort	15.08.1972, Neustadt/Weinstr.
Nationalität	deutsch
Familienstand	verheiratet

Schulausbildung

1978 – 1979	Westschule, Neustadt/Weinstr.
1979 – 1982	Volksschule, Edesheim
1982 – 1991	Käthe-Kollwitz-Gymnasium, Neustadt/Weinstr.
04.06.1991	Abitur

Studium

10/91 – 03/92	Studium der Lebensmittelchemie an der Johann Wolfgang Goethe-Universität, Frankfurt
04/92 – 03/94	Studium Chemie und Mathematik Lehramt (Sekundarstufe II) an der Johannes Gutenberg-Universität, Mainz
04/94 – 03/98	Studium Chemie und Englisch Lehramt (Sekundarstufe II)
28.03.95	Zwischenprüfung in Chemie
16.06.95	Zwischenprüfung in Englisch
04/98 – 01/99	Staatsexamensarbeit am Institut für Kernchemie unter der Anleitung von Prof. Dr. F. Rösch mit dem Thema *„Synthese und ^{18}F-Markierung von O^6-Benzylguanin-Derivaten“*
30.09.99	Abschluss der Staatsexamensprüfung in Chemie und Englisch

Promotion

Jan. 2000-Okt2002	Promotion am PET-Zentrum, Sektion Radiopharmazie der Eberhard-Karls-Universität Tübingen unter Anleitung von Prof. Dr. H.-J. Machulla mit dem Thema *„^{18} F- und ^{11}C-Markierung des β2-adrenergen Agonisten Fenoterol“*