

DIPLOMARBEIT

Titel der Diplomarbeit

„Herstellung von PET-tauglichen MCH-Rezeptor-
Antagonisten“

verfasst von

Tuba Simsek

angestrebter akademischer Grad

Magistra der Pharmazie (Mag.pharm.)

Wien, 2014

Studienkennzahl lt. Studienblatt: A 449

Studienrichtung lt. Studienblatt: Diplomstudium Pharmazie

Betreut von: Ao. Univ.-Prof. Mag. Dr. Helmut Spreitzer

Vorwort

Die vorliegende Diplomarbeit wurde am Department für Arznei- und Naturstoffsynthese der Universität Wien im Zeitraum von Oktober 2013 bis Februar 2014 unter Leitung von ao. Univ.-Prof. Mag. Dr. Helmut Spreitzer durchgeführt.

Zu aller erst möchte ich mich von ganzem Herzen bei ao. Univ.-Prof. Mag. Dr. Helmut Spreitzer für sein persönliches Engagement, seine Geduld und für die aufmunternden Worte in schwierigen Phasen sowie für die Ermöglichung dieser Diplomarbeit an seinem Department bedanken.

Ebenfalls bedanke ich mich bei meinem Betreuer Mag. Dr. Karem Shanab für die Führung und für seine Hilfestellung während meiner praktischen Arbeit.

Ein besonderer Dank gebührt Mag. Thomas Nagel für seine Ratschläge und die hilfreiche Unterstützung bei der Erarbeitung dieser Diplomarbeit.

Der wichtigste Dank gilt meinen Eltern und Geschwistern, da sie immer für mich da waren, mich in jeder Stimmungslage verständnisvoll unterstützt und mir in schweren Zeiten Kraft und Mut gegeben haben. Ebenso bedanke ich mich für ihre finanzielle Unterstützung während meiner Studienzeit.

Bei meinen Freundinnen und Studienkolleginnen Aygül Armakan und Amila Becirovic möchte ich mich herzlich bedanken, die mich während des gesamten Studiums begleitet haben. Sowohl die Höhen als auch die Tiefen des Studiums haben wir gemeinsam durchlebt, uns gegenseitig immer unterstützt und motiviert. Für mich waren sie durch ihre Hilfsbereitschaft eine wichtige Stütze und insbesondere eine moralische Hilfe in jeder Situation während der Zusammenarbeit im Rahmen dieser Diplomarbeit. Bestimmt wird diese Zeit für uns alle unvergesslich sein.

Schließlich möchte ich mich auch bei Mag. Markus Tarnai und Mag. Catharina Neudorfer für die Hilfestellung während dieser Zeit bedanken.

Inhalt

1	EINLEITUNG	1
1.1	Melanin-konzentrierendes Hormon (MCH)	1
1.2	MCH und Adipositas	2
1.2.1	Adipositas	2
1.2.2	Gewichtsregulation durch den Hypothalamus.....	3
1.3	Der MCH-Rezeptor	5
1.4	Der MCH ₁ -Rezeptorantagonist <i>rac</i> SNAP-7941	7
1.5	Positronen-Emissions-Tomographie (PET)	8
1.5.1	Nuklearmedizin ³⁴	8
1.5.2	PET und PET-Tracer	8
1.5.3	2-Fluor-2-deoxy-D-glucose ⁴⁰	9
1.5.4	Das Prinzip der PET	10
1.5.5	PET/CT-Gerät	11
1.5.6	Anwendung der PET	12
1.6	Radioaktivität	14
1.6.1	Grundlagen	14
1.6.2	Strahlungsarten	14
1.6.2.1	α -Strahlung ^{43, 51}	14
1.6.2.2	β -Strahlung	15
1.6.2.3	γ -Strahlung ^{43, 51, 56, 57}	17
1.6.3	Radioaktive Nuklide.....	19
1.6.3.1	Natürliche Nuklide ^{58, 59, 60}	19
1.6.3.2	Künstliche Nuklide ^{60, 61}	19
1.6.4	Herstellung radioaktiver Nuklide	20
1.6.4.1	Produktion im Zyklotron ^{43, 61, 62}	20
1.6.4.2	Produktion im Reaktor ^{43, 60, 61}	21
1.6.4.3	Produktion im Generator ^{43, 51, 61}	21
1.6.5	Radiopharmaka ^{64, 65}	22
2	EIGENE UNTERSUCHUNGEN.....	24
2.1	Zielsetzung.....	24
2.1.1	Formelschema	25
2.2	Synthese von N-(3-(Piperidin-4-yl)phenyl)acetamid ²² (5)	30

2.2.1	Synthese von tert-Butyl-4-(trifluormethylsulfonyloxy)-5,6-dihydropyridin-1(2H)-carbonsäureester ²² (1)	30
2.2.2	Synthese von tert-Butyl-4-(3-aminophenyl)-5,6-dihydropyridin-1(2H)-carbonsäureester ²² (2)	30
2.2.3	Synthese von tert-Butyl-4-(3-acetamidophenyl)-5,6-dihydropyridin-1(2H)-carbonsäureester ²² (3)	31
2.2.4	Synthese von tert-Butyl-4-(3-acetamidophenyl)piperidin-1-carbonsäureester ²² (4).....	32
2.2.5	Synthese von N-(3-(Piperidin-4-yl)phenyl)acetamid ²² (5)	32
2.3	Synthese von TOE@SNAP (12): 2-(Tosyloxy)ethyl-3-(3-(4-(3-acetamidophenyl)piperidin-1-yl)propyl-carbamoyl)-4-(3,4-difluorphenyl)-6-(methoxymethyl)-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidin-5-carbonsäureester ²²	33
2.3.1	Synthese von 2-((tert-butyldiphenylsilyl)oxy)ethyl-4-(3,4-difluorphenyl)-6-(methoxymethyl)-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidin-5-carbonsäureester ²² (7)	33
2.3.2	Synthese von 2-((tert-Butyldiphenylsilyl)oxy)ethyl-3-(3- brompropylcarbamoyl)-4-(3,4-difluorphenyl)-6-(methoxymethyl)-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidin-5-carbonsäureester ²² (9).....	34
2.3.3	Synthese von 2-((tert-Butyldiphenylsilyl)oxy)ethyl-3-(3-(4-(3-acetamidophenyl)piperidin-1-yl)propylcarbamoyl)-4-(3,4-difluorphenyl)-6-(methoxymethyl)-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidin-5-carbonsäureester ²² (10)	35
2.3.4	Synthese von 2-Hydroxyethyl-3-(3-(4-(3-acetamidophenyl)piperidin-1-yl)propylcarbamoyl)-4-(3,4-difluorphenyl)-6-(methoxymethyl)-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidin-5-carbonsäureester ²² (11)	36
2.3.5	Synthese von TOE@SNAP (12): 2-(Tosyloxy)ethyl-3-(3-(4-(3-acetamidophenyl)piperidin-1-yl)propyl-carbamoyl)-4-(3,4-difluorphenyl)-6-(methoxymethyl)-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidin-5-carbonsäureester ²²	37
2.3.6	Synthese von 5-(2-Methoxyacetyl)-2,2-dimethyl-1,3-dioxan-4,6-dion ²² (13).....	38
2.3.7	Synthese von 2-Hydroxyethyl-4-methoxy-3-oxobutansäureester ²² (14).....	38
2.3.8	Synthese von 2-Hydroxyethyl-4-(3,4-difluorphenyl)-6-(methoxymethyl)-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidin-5-carbonsäureester ²² (6).....	39
2.3.9	Synthese von 2-Hydroxyethyl-3-(3-brompropylcarbamoyl)-4-(3,4-difluorphenyl)-6-(methoxymethyl)-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidin-5-carbonsäureester ²² (16).....	40
2.3.10	Synthese von 2-Hydroxyethyl-3-(3-(4-(3-acetamidophenyl)piperidin-1-yl)propylcarbamoyl)-4-(3,4-difluorphenyl)-6-(methoxymethyl)-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidin-5-carbonsäureester ²² (11)	41
2.4	Zusammenfassung.....	42
3	EXPERIMENTELLER TEIL.....	43
3.1	Allgemeines	43
3.2	Synthese von N-(3-(Piperidin-4-yl)phenyl)acetamid ²² (5)	44

3.2.1	Synthese von tert-Butyl-4-(trifluormethylsulfonyloxy)-5,6-dihydropyridin-1(2H)-carbonsäureester ²² (1)	44
3.2.2	Synthese von tert-Butyl-4-(3-aminophenyl)-5,6-dihydropyridin-1(2H)-carbonsäureester ²² (2)	44
3.2.3	Synthese von tert-Butyl-4-(3-acetamidophenyl)-5,6-dihydropyridin-1(2H)-carbonsäureester ²² (3)	45
3.2.4	Synthese von tert-Butyl-4-(3-acetamidophenyl)piperidin-1-carbonsäureester ²² (4).....	46
3.2.5	Synthese von N-(3-(Piperidin-4-yl)phenyl)acetamid ²² (5)	46
3.3	Synthese von TOE@SNAP (12): 2-(Tosyloxy)ethyl-3-(3-(4-(3-acetamidophenyl)piperidin-1-yl)propyl-carbamoyl)-4-(3,4-difluorphenyl)-6-(methoxymethyl)-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidin-5-carbonsäureester ²²	47
3.3.1	Synthese von 2-((tert-butyldiphenylsilyl)oxy)ethyl-4-(3,4-difluorphenyl)-6-(methoxymethyl)-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidin-5-carbonsäureester ²² (7)	47
3.3.2	Synthese von 2-((tert-Butyldiphenylsilyl)oxy)ethyl-3-(3-brompropylcarbamoyl)-4-(3,4-difluorphenyl)-6-(methoxymethyl)-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidin-5-carbonsäureester ²² (9)	48
3.3.3	Synthese von 2-((tert-Butyldiphenylsilyl)oxy)ethyl-3-(3-(4-(3-acetamidophenyl)piperidin-1-yl)propylcarbamoyl)-4-(3,4-difluorphenyl)-6-(methoxymethyl)-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidin-5-carbonsäureester ²² (10)	49
3.3.4	Synthese von 2-Hydroxyethyl-3-(3-(4-(3-acetamidophenyl)piperidin-1-yl)propylcarbamoyl)-4-(3,4-difluorphenyl)-6-(methoxymethyl)-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidin-5-carbonsäureester ²² (11)	50
3.3.5	Synthese von TOE@SNAP (12): 2-(Tosyloxy)ethyl-3-(3-(4-(3-acetamidophenyl)piperidin-1-yl)propyl-carbamoyl)-4-(3,4-difluorphenyl)-6-(methoxymethyl)-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidin-5-carbonsäureester ²²	51
3.3.6	Synthese von 5-(2-Methoxyacetyl)-2,2-dimethyl-1,3-dioxan-4,6-dion ²² (13).....	52
3.3.7	Synthese von 2-Hydroxyethyl-4-methoxy-3-oxobutansäureester ²² (14).....	52
3.3.8	Synthese von 2-Hydroxyethyl-4-(3,4-difluorphenyl)-6-(methoxymethyl)-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidin-5-carbonsäureester ²² (6).....	53
3.3.9	Synthese von 2-Hydroxyethyl-3-(3-brompropylcarbamoyl)-4-(3,4-difluorphenyl)-6-(methoxymethyl)-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidin-5-carbonsäureester ²² (16).....	54
3.3.10	Synthese von 2-Hydroxyethyl-3-(3-(4-(3-acetamidophenyl)piperidin-1-yl)propylcarbamoyl)-4-(3,4-difluorphenyl)-6-(methoxymethyl)-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidin-5-carbonsäureester ²² (11)	55
4	LITERATURVERZEICHNIS	56
5	ANHANG	60
5.1	Zusammenfassung.....	60
5.2	Abstract	61

5.3	Curriculum Vitae.....	62
-----	-----------------------	----

1 EINLEITUNG

1.1 Melanin-konzentrierendes Hormon (MCH)

Das melaninkonzentrierende Hormon ist ein zyklisches Neuropeptid bestehend aus 19 Aminosäuren, das vorwiegend von den Neuronen des lateralen Hypothalamus und der Zona incerta gebildet wird.^{1,2} Es kommt aber auch in peripheren Organen und Geweben wie die Bauchspeicheldrüse³, Kolonepithelzellen⁴ oder Adipozyten^{5,6} vor. Aufgrund seiner orexigenen (appetitanregenden) Wirkung spielt dieses Hormon eine wichtige Rolle bei der Regulation der Energiehomöostase, des Körpergewichts und beim Metabolismus.⁷

MCH wurde ursprünglich aus der Hypophyse von Knochenfischen (Ketalachsen) isoliert. Durch dieses MCH sind die Knochenfische in der Lage ihre Farbe zu ändern, um sich an einen helleren Hintergrund anzupassen, da es zur Aggregation von Melanophoren (Pigmentzellen, die Melanin enthalten) führt.^{8,9} Durch diese Aggregation wird der α -MSH (α -Melanocyten stimulierendes Hormon) verteilende Effekt von Melanin inhibiert, was zur Aufhellung der Haut führt.^{10,11}

Das MCH der Säugetiere unterscheidet sich strukturell von dem des Lachses. Lachs-MCH weist nur 17 Aminosäuren statt 19 auf und hat eine unterschiedliche Aminosäure-Sequenz im Vergleich zum MCH von Mensch, Maus und Ratte. Die komplette Übereinstimmung der Aminosäure-Sequenz bei Mensch, Maus und Ratte lässt auf eine hohe evolutionäre Konservierung des Nonadecapeptids schließen.^{11, 12}

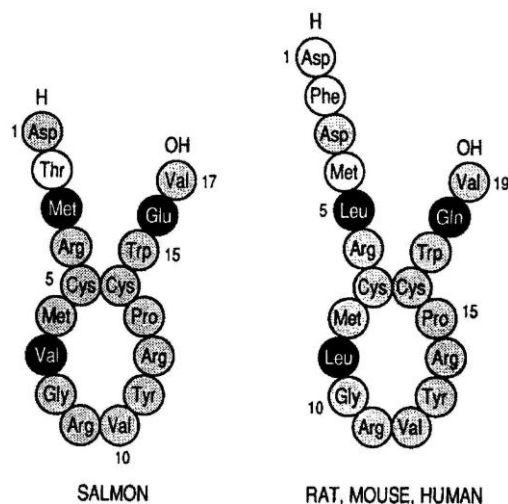


Abbildung 1:¹² Vergleich der AS-Sequenz von Lachs-MCH & MCH bei Ratte, Maus und Mensch

1.2 MCH und Adipositas

1.2.1 Adipositas

Die WHO¹³ (World Health Organization) definiert Adipositas, auch Fettsucht oder Fettleibigkeit genannt, und Übergewicht als über das Normalmaß hinaus gehende Vermehrung des Körperfettes. Die Klassifizierung der Adipositas und die Unterscheidung zwischen Adipositas und Übergewicht erfolgt mit Hilfe des Body-Mass-Index (BMI), der sich aus dem Körpergewicht in Kilogramm geteilt durch die Körpergröße in Meter zum Quadrat ergibt. Ein BMI über 25 kg/m² gilt per Definition als Übergewicht, ein BMI von 30 kg/m² und höher als Adipositas.

Klassifikation	BMI (kg/m ²)
Normalgewicht	18,5-24,9
Übergewicht	25-29,9
Adipositas Grad I	30-34,9
Adipositas Grad II	35-39,9
Adipositas Grad III	≥ 40

Tabelle 1: ¹³Einteilung der Gewichtsklassen nach WHO

Eine weitere Hilfsgröße für die Klassifizierung der Adipositas ist die Taille-Hüft-Relation (Waist-hip-ratio, WHR), die das Verhältnis zwischen Taillen- und Hüftumfang beschreibt. Es wird im Bereich der Taille auf Nabelhöhe und die Hüfte an der breitesten Stelle gemessen. Laut WHO sollte die WHR bei Frauen nicht über 0,85 und bei Männern nicht über 1 liegen. Ein Risiko liegt laut WHO vor, wenn der Taillenumfang bei Frauen über 80 cm und bei Männern über 94 cm liegt.^{13, 14}

Man unterscheidet zwischen zwei verschiedenen Fettverteilungsmustern, nämlich der androgenen und der gynoiden Adipositas. Die gynöide Adipositas ist durch hüft- und Oberschenkelbetonte Fettverteilung (Birnentyp) gekennzeichnet. Sie kommt bei adipösen Frauen häufiger als bei adipösen Männern vor. Eine androide (auch viszeral genannt) Fettverteilung bedeutet, dass das Fett innerhalb des Bauchraums liegt und um die inneren Organe verteilt ist (Apfeltyp). Von dieser Form sind meistens adipöse Männer betroffen. Mit der Zunahme des inneren Bauchfetts steigt auch das Risiko für Folgeerkrankungen. Diese viszerale Form der Adipositas tritt häufig begleitet von Hypertonie, Insulinresistenz und in

deren Folge Diabetes mellitus Typ 2, Dyslipidämie, bei der Triglycerid- und LDL-Cholesterin-Spiegel erhöht und HDL-Cholesterinspiegel erniedrigt sind, Hyperlipoproteinämie in Form des metabolischen Syndroms, Gallenblasenbeschwerden, die zur Cholelithiasis führen können, oder kardiovaskuläre Erkrankungen wie koronare Herzkrankheit und Schlaganfall auf.¹⁵⁻¹⁷

Die fundamentalen Gründe für Adipositas und Übergewicht sind unausgewogener Energiehaushalt und Mangel an Bewegung. Es herrscht eine zu hohe Energiezufuhr. Das Körpergewicht steigt, weil dem Körper mehr Energie in Form von Kalorien zugeführt wird als verbraucht werden kann.¹³

Genetische Prädispositionen können auch ein weiterer Grund für Adipositas sein. Meist liegt eine polygenetische Erkrankung vor.¹⁴ Zu den Adipositas-assoziierten Syndromen gehören Prader-Willi- und Bardet-Biedl-Syndrom.¹⁹

Adipositas kann auch sekundär durch andere Krankheiten oder Medikamente verursacht sein. Zu diesen Erkrankungen zählen die Hypothyreose, bei der ein reduzierter Grundumsatz zur Gewichtszunahme führt,¹⁸ das polyzystische Ovar-Syndrom (PCO-Syndrom), bei dem die Lipogenese durch erhöhte Androgenspiegel gesteigert ist, Morbus Cushing, bei dem der erhöhte Kortisolspiegel die Lipogenese begünstigt, und der hypothalamische Symptomenkomplex, bei dem die Zentren für Sättigung und Hunger durch eine Störung im Hypothalamus geschädigt sind. Einige Medikamente wie Antidepressiva, Neuroleptika, Kontrazeptiva, einige Antidiabetika und einige Hormone wie Kortisol, Insulin und Androgene führen ebenfalls zur Gewichtszunahme.¹⁴

Die Risiken für Folge- und Begleiterkrankungen steigen direkt proportional zum BMI-Wert an: Kardiovaskuläre Erkrankungen, Diabetes, skelettmuskelspezifische Erkrankungen wie Osteoarthritis und einige Karzinome (Endometrium, Brust, Darm).¹³

1.2.2 Gewichtsregulation durch den Hypothalamus

Die Untersuchungen haben den Zusammenhang zwischen lateralem Hypothalamus (lateral hypothalamic area, LHA), sensorischer Information und der somatomotorischen Antwort in Bezug auf Hunger und Durst gezeigt.²⁰

Der Nucleus arcuatus (ARC) des Hypothalamus reguliert die Energiehomöostase. Er wird von hormonellen und nahrungsspezifischen Signalen aus der Peripherie und auch vom neuronalen Feedback der Nuclei tractus solitarii (NTS) des Hypothalamus beeinflusst. So

wird durch den Nucleus arcuatus über zwei als Gegenspieler arbeitende Neuronenpopulationen ein Gleichgewicht zwischen Hunger und Appetit hergestellt: das Neuropeptid Y (NPY) und Agouti-related Peptid (AgRP) wirken appetitsteigernd und die Ausschüttung von α -MSH und anorexigener Amphetamine reduziert Hunger.²¹

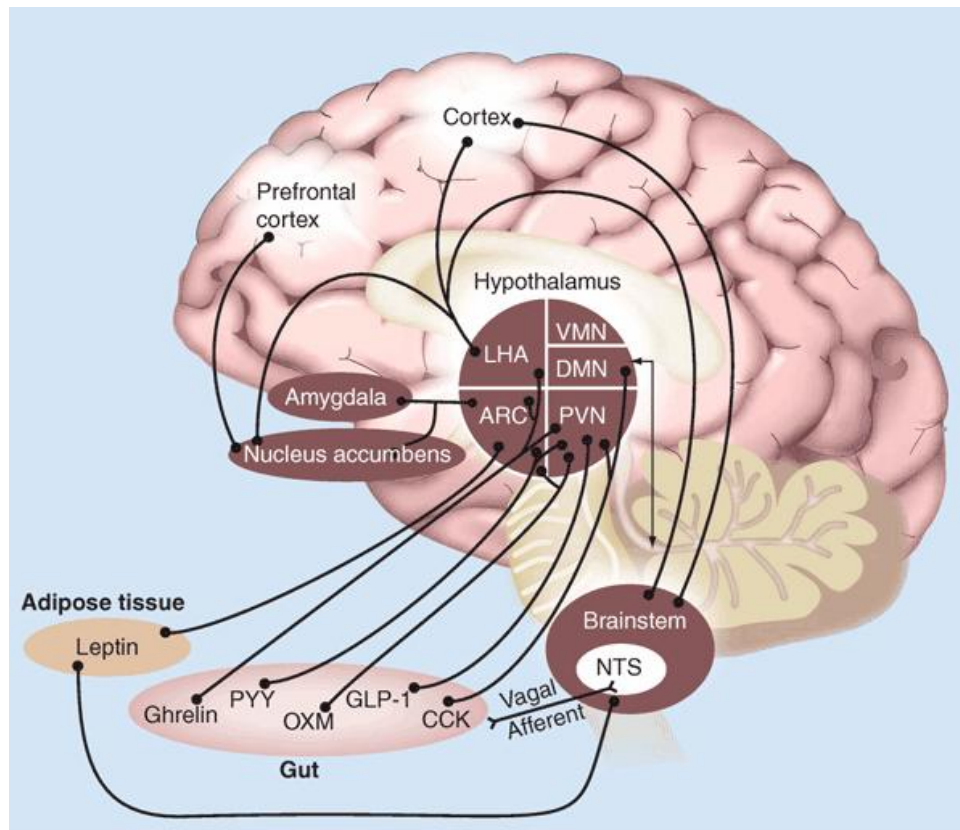


Abbildung 2:⁶⁶ Hypothalamische Regulation der Nahrungsaufnahme: kurzzeitige Regulation des Energiestatus wird durch Faktoren wie Ghrelin (Magen), ein Hormon, das bei akutem Hunger ausgeschüttet wird und im ARC die vermehrte Ausschüttung von NPY und AgRP induziert, das Sättigungshormon Peptid YY (PPY) oder Oxyntomodulin (OXM) signalisiert.²² Langfristige Regulation der Nahrungsaufnahme erfolgt über periphere Faktoren wie Leptin (appetithemmend), das von Adipozyten produziert und proportional zur Körperfettmasse in den Blutkreislauf sezerniert wird, und Insulin. Insulin wird aus Pankreas proportional zur Körperfettmasse freigesetzt, gelangt über Blutkreislauf ins ZNS und vermittelt ein anorexigenes Signal. Es stimuliert die Leptinfreisetzung und inhibiert die Ausschüttung von NPY und AgRP und induziert die Synthese von α -MSH.²⁵ Weiters sind die im Gastrointestinaltrakt vorhandenen Dehnungs- und Chemorezeptoren von Bedeutung, da sie über afferente Nervenfasern des Vagus und des Sympathikus an den NTS im Hirnstamm Rückmeldungen senden.²²

Es wurden Untersuchungen durchgeführt, die gezeigt haben, dass MCH in direktem Zusammenhang mit der hypothalamischen Regulation des Körpergewichts steht und dass es durch Nahrungsentzug zur Überexprimierung von MCH kommt.²³

Eine gesteigerte Nahrungsaufnahme konnte an Mäusen, die einen Mangel an Leptin aufwiesen, beobachtet werden, da es bei ihnen zu einer erhöhten Expression von MCH kam.²⁰ Das bedeutet, dass leptindefiziente Mäuse wie auch Mäuse unter Nahrungsentzug einen erhöhten MCH-Spiegel haben.²⁴ Transgene MCH-überexprimierende Mäuse entwickelten eine Esssucht, Adipositas und hatten erhöhte Blutglukosespiegel mit der Folge einer Insulinresistenz. Sie wiesen auch eine Hyperinsulinämie mit reduziertem Ansprechen auf Insulingabe auf.^{23, 24}

1.3 Der MCH-Rezeptor

Der MCH-Rezeptor ist ein G-Protein gekoppelter Rezeptor (GPCR), der zur Rhodopsin-Familie (90% der Rezeptoren) gehört. MCH entfaltet seine Wirkung über diesen Rezeptor.²⁶ Der MCH-R wurde erstmalig aufgrund seiner strukturellen Ähnlichkeit zu den Somatostatin-Rezeptoren als Somatostatin-like Rezeptor (SLC)-1 oder als GRP24 benannt.²⁷ Es handelt sich hier um einen Rezeptor, der aus 402 Aminosäuren besteht und sieben transmembranäre α -Helices als typisches Merkmal aller GPCR besitzt, die über sechs Schleifen verschiedener Länge miteinander verbunden sind. G-Proteine bestehen aus je einer α -, β -, γ - Untereinheit und werden in vier Klassen eingeteilt: G_s , $G_{i/o}$, G_q und $G_{12/13}$. GPCRs spielen in der Signaltransduktion eine sehr wichtige Rolle. Spezifische Liganden an der extrazellulären oder intrazellulären Domäne führen durch die Interaktion mit heterotrimeren G-Proteinen (aus 3 Untereinheiten) zunächst zu Konformationsänderungen und aktivieren somit das G-Protein, und in weiterer Folge weitere Signaltransduktionswege.^{11, 28, 29}

Die Bindung von MCH an den MCH-R ist hoch selektiv. MCH hat keine Affinität zu Melanocortin-Rezeptoren und bindet daher nicht an diesen. MSH bindet auch nicht an den MCH-R.^{28, 30} Man differenziert zwischen MCH-Rezeptor 1 (MCH-R₁) und MCH-Rezeptor 2 (MCH-R₂). Der MCH-R₁ wurde aus Nagetieren und Menschen isoliert^{28, 31} und besteht aus 353 Aminosäuren. Er ist mit einer Sequenzübereinstimmung von 96 % in diversen Spezies wie Mensch, Maus, Hund, Affe und Ratte hoch konserviert.³² Im Gegensatz dazu konnte der MCH-R₂ nur beim Menschen identifiziert werden.⁷ Der MCH-R₂ weist eine Übereinstimmung von 38% in der Aminosäuresequenz zum MCH-R₁ auf. Trotzdem zeigt er aber eine starke Bindungsaffinität zu MCH, welche in Inositoltriphosphat (IP₃)-Umsetzung und Freisetzung von intrazellulärem Ca²⁺ resultiert. Er wird in Hirnregionen wie dem Nucleus arcuatus (ARC)

und dem ventromedialen Hypothalamus (VMH) exprimiert, die bei der Regulation des Körpergewichtes von großer Bedeutung sind.³²

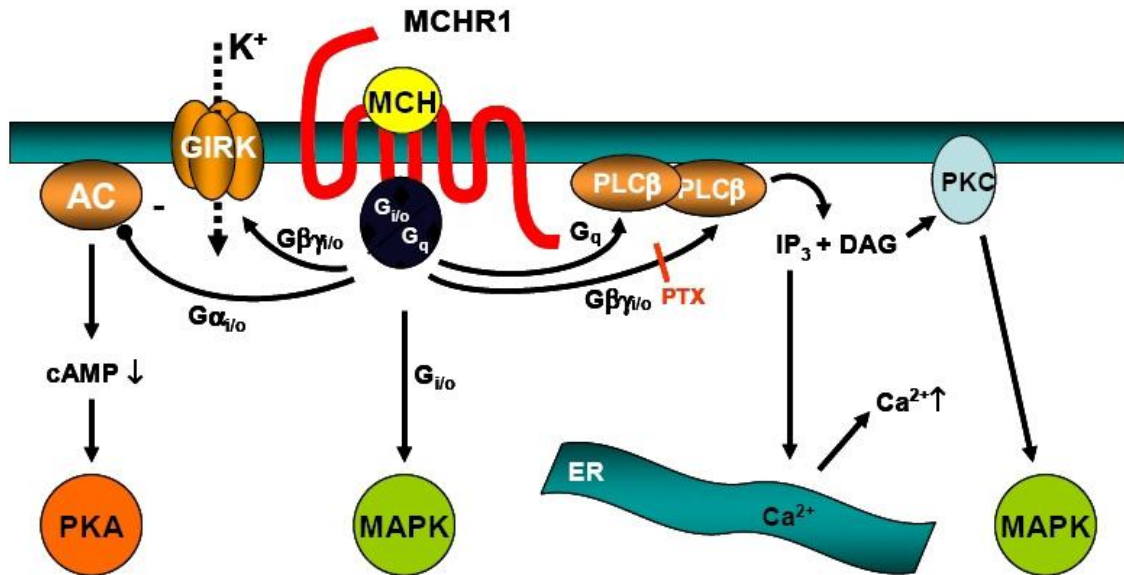
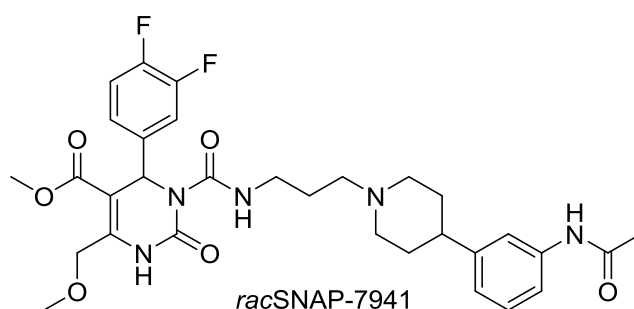


Abbildung 3:¹¹ Signaltransduktion des MCH-R₁: Der MCH-R₁ koppelt über G_{i/o}- und G_q-Proteine. Über G_{i/o} wird die Adenylat-Cyclase (AC) inhibiert, was zur Absenkung des cAMP-Spiegels und Hemmung der Proteinkinase A (PKA) führt. Der GIRK-Kanal (G-Protein-gekoppelter-Kaliumkanal) und die Signalwege der MAP-Kinase (MAPK) werden auch aktiviert. G_{i/o} wird durch Pertussissintoxin (PTX) inhibiert. Über G_q-Proteine wird die Phospholipase C aktiviert, was zur Spaltung von Phosphatidylinositolbiphosphat (PIP₂) zu Inositoltriphosphat (IP₃) und Diacylglycerin (DAG) führt. Dadurch wird intrazelluläres Ca²⁺ aus dem endoplasmatischen Retikulum (ER) freigesetzt und die Proteinkinase C (PKC) aktiviert.

Zusammenfassend kann man sagen, dass MCH-Rezeptoren sowohl mit dem PTX-sensitiven G_i-Protein als auch mit dem PTX-insensitiven G_q-Protein interagieren und somit verschiedene intrazelluläre Signalwege aktivieren können.³⁰

1.4 Der MCH₁-Rezeptorantagonist *rac*SNAP-7941

Der von der Firma **Synaptic Pharmaceutical** synthetisierte und patentierte *rac*SNAP-7941 ist ein kompetitiver Antagonist des MCH-R₁. In Studien an Mäusen wurde bewiesen, dass die orexigene Wirkung von MCH über den MCH-Rezeptor 1 vermittelt wird. In einer Studie von Borowsky et al⁷ wurde den Mäusen zuerst *rac*SNAP-7941 und dann intracerebroventrikulär (i.c.v) MCH injiziert. Die Vorbehandlung mit *rac*SNAP-7941 verhinderte die durch MCH stimulierte, erhöhte Nahrungsaufnahme und führte somit zur geringeren Zunahme des Körpergewichts (26 %) im Vergleich zu unbehandelten Mäusen. Sogar die Aufnahme gesüßter Nahrung konnte bei Mäusen nach einmaliger Verabreichung des Antagonisten direkt proportional zu dessen Dosis gesenkt werden. Die langfristige Gabe von *rac*SNAP-7941 erzielte eine deutliche und nachhaltige Reduktion des Körpergewichtes. Diese beruht auf Hemmung des Konsums von Nahrung und auf Steigerung der Metabolisierung. Durch diese Wirkungen lässt sich *rac*SNAP-7941 als Therapeutikum zur Behandlung von Adipositas einsetzen. Weiters konnte auch eine anxiolytische und antidepressive Wirkung beobachtet werden.⁷ Jedoch widersprechen die Ergebnisse der Studie von Basso et al³³ dieser Hypothese und macht somit diese Wirkungen fraglich.



1.5 Positronen-Emissions-Tomographie (PET)

1.5.1 Nuklearmedizin³⁴

Die Nuklearmedizin beschäftigt sich mit der Anwendung von radioaktiven Stoffen zur Therapie und Diagnose von verschiedenen Krankheiten. Das erste Grundprinzip der Nuklearmedizin ist, dass der Organismus verschiedene Isotope eines Elementes von natürlich vorkommenden Elementen nicht unterscheiden kann. Somit nehmen diese Isotope auch an Stoffwechselvorgängen teil. Das zweite Prinzip ist, dass die radioaktiven Substanzen in so geringer Menge eingesetzt werden, dass es dadurch zu keiner Beeinflussung dieser Stoffwechselvorgänge kommt. Die Nuklearmedizin kann die Funktionen der verschiedenen Organe überprüfen und Stoffwechselvorgänge im Körper abbilden, während beispielsweise die Röntgenuntersuchungen nur Bilder des menschlichen Körpers liefern.

Zur Diagnostik werden meist Isotope mit kurzer Halbwertszeit (Stunden bis Tage) verwendet. Die vom Isotop abgegebene Gammastrahlung kann mit einer Gammakamera detektiert werden, die ein Funktionsbild vom gewünschten Organ erzeugt. Da die benötigten Mengen sehr gering sind und die Strahlendauer der radioaktiven Substanzen kurz ist, kommt es nur zu einer geringen Strahlenbelastung für den Organismus. Technetium-99m (Tc-99m) ist das am häufigsten verwendete Isotop. Weitere verwendete Isotope sind Jod-123, Thallium-201 und Indium-111, vereinzelt auch Jod-131. Die Strahlenbelastung bei diagnostischen nuklearmedizinischen Verfahren ist meist geringer oder vergleichbar mit einer Computertomographie.

Bei der Therapie werden höherenergetische Radiopharmaka als bei der Diagnostik verabreicht. Diese akkumulieren im betreffenden Organ und bestrahlen dieses von innen.

Neben den Gammastrahlern gewinnt in letzter Zeit die Positronen-Emissions-Tomographie (PET) immer mehr an Bedeutung in der bildgebenden Diagnostik.

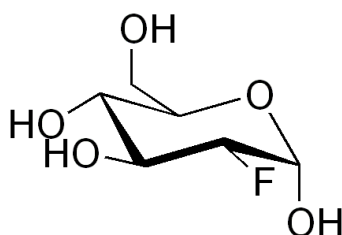
1.5.2 PET und PET-Tracer

Die Positronen-Emissions-Tomographie (PET) ist eine nicht-invasive, bildgebende Methode der Nuklearmedizin, die Schnittbilder von lebenden Organismen erzeugt. Diese Technik beruht auf einer Verteilung einer radioaktiv markierten Substanz im Organismus, welche sichtbar gemacht wird und damit biochemische und physiologische Funktionen auf molekularer Ebene quantitativ in-vivo analysiert wird (funktionelle Bildgebung). Dazu

werden Positronen-emittierende Radiopharmaka, sogenannte PET-Radiotracer, die biologisch aktive Verbindungen sind, und möglichst ohne strukturelle Änderung mit Radionukliden markiert werden, zu Beginn einer PET-Untersuchung den Patient/Innen injiziert. Die Wahl des Isotops und der richtigen Markierungsposition spielt beim Designen der PET- Radiotracer eine wichtige Rolle, da die Halbwertszeit des Isotops in das Zeitfenster der biochemischen Prozesse passen muss, um eine Detektion zu ermöglichen. Die am häufigsten verwendeten Positronen-emittierenden Radioisotope sind [^{18}F]Fluor und [^{11}C]Kohlenstoff mit relativ kurzen Halbwertszeiten von 109,7 bzw. 20,4 Minuten, sowie [^{13}N]Stickstoff (10 Minuten) und [^{15}O]Sauerstoff (2 Minuten). Da die injizierten Dosen an PET-Tracern im nano- oder picomolaren Bereich liegen, hat die Tracer-Verabreichung keine pharmakologischen Konsequenzen.³⁵⁻³⁸

PET-Tracer müssen eine hohe Affinität für das zu untersuchende Target aufweisen und gleichzeitig eine sehr niedrige für Non-Targets. Sie sollten genug lipophil sein oder durch ein Carrier-System transportiert werden können, um die Zellmembran durchdringen zu können. Die Voraussetzung für eine optimale Bindung von Radiopharmaka an Rezeptoren bzw. Enzyme ist eine vollständige und schnelle Passage der Blut-Hirn-Schranke. Außerdem sind polare Eigenschaften erwünscht, um einen schnellen Abtransport aus dem Hirn zu bewirken. PET-Tracer müssen in ausreichenden Mengen produzierbar sein. Die Markierung mit Radionukliden muss ebenfalls problemlos erfolgen.³⁹

1.5.3 2-Fluor-2-deoxy-D-glucose⁴⁰



Der gebräuchlichste PET-Tracer ist die radioaktiv markierte 2-Fluor-2-desoxy-D-glucose [^{18}F]FDG. Es handelt sich hier um ein Glucose-Analogon, dessen Hydroxygruppe in Position 2 durch ein radioaktives ^{18}F -Atom ausgetauscht wurde. Das Isotop Fluor-18 wird mit Hilfe eines Zyklotrons gewonnen. Es wird zur Messung des regionalen Glucoseverbrauches mittels PET in der Onkologie, Neurologie und Kardiologie eingesetzt. [^{18}F]FDG wird mittels Glucosetransporter aus dem Blut in die Zellen aufgenommen und durch das Enzym

Hexokinase phosphoryliert. Die Rückreaktion, also die Dephosphorylierung von FDG-6-Phosphat zu FDG, erfolgt in allen Organen (außer in Leber) und im Tumorgewebe aber sehr langsam. Dadurch kommt es zu einer Anreicherung von FDG-6-Phosphat in den Geweben mit erhöhtem Glucosebedarf v. a. in den Tumorzellen, was sowohl eine Lokalisation des Tumors als auch eine Therapieüberwachung ermöglicht. FDG kann von außen durch den Zerfall von ^{18}F detektiert werden. So kann man sogar eine frühe Diagnose von Krebserkrankungen stellen.

1.5.4 Das Prinzip der PET

Für die PET werden Radionuklide verwendet, die Positronen aussenden (β^+ -Strahlung). Ein Positron ist ein Antiteilchen eines Elektrons mit identischer Masse und mit positiver Ladung (+1). Diese β^+ -Strahlung entsteht, wenn beim β^+ -Zerfall, welcher in protonenreichen Nukliden auftritt, im Kern des Nuklids ein Proton in ein Neutron und ein Positron zerfällt. Das Positron und ein in der Umgebung befindliches Elektron treffen nach kurzer Distanz aufeinander, wobei die emittierten Positronen an kinetischer Energie verlieren, und sich das sogenannte Positronium bildet, ein Elektron-Positron-System (Abb. 4²²).^{41,42}

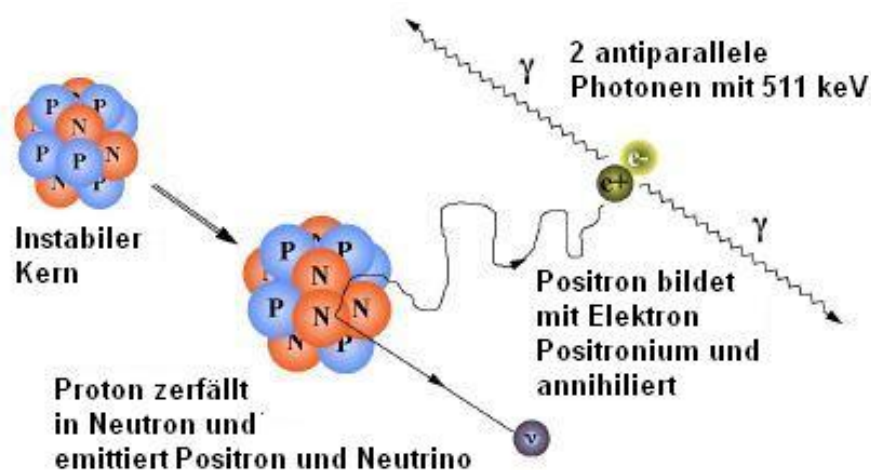


Abb. 4:²² Positronen-Emission und Annihilation

Dieses System zerfällt sofort und die Massen des Positrons und des Elektrons annihilieren (vernichten) in Form von zwei γ -Quanten (Vernichtungsstrahlen), die in einem Winkel von annähernd 180 Grad emittiert werden. Diese antiparallelen Photonen besitzen eine Energie von 511 keV und werden koinzident detektiert.⁴²

Die PET beruht daher auf Detektion der beiden entstehenden γ -Quanten nach Koinzidenzprinzip mittels PET-Scanner, da diese γ -Quanten das Gewebe durchdringen und außerhalb des Körpers nachweisbar sind, wobei der Ort der Positronen-Annihilation gemessen wird. Heutzutage enthält ein PET-Scanner viele ringförmig um den Patienten angeordnete Detektoren. Wenn zwei Vernichtungsstrahlen gleichzeitig innerhalb von 6-12 Nanosekunden in zwei gegenüberliegenden Detektoren registriert werden, so kann man feststellen, dass das Annihilationsereignis entlang einer Verbindungslinie der zwei Detektoren (line of response) stattgefunden hat, d.h. man kann dessen Position lokalisieren. Jedes Paar paralleler und gegenüberliegender Detektoren liefert eine Koinzidenzlinie. Die Verteilung des positronenemittierenden Radiopharmakons kann man über die Schnittpunkte dieser Linien errechnen. Je mehr Linien einen solchen Schnittpunkt durchlaufen, desto höher ist die Konzentration des Radiopharmakons.^{43, 44, 45}

1.5.5 PET/CT-Gerät

PET ermöglicht v. a. Stoffwechselprozesse oder Zellfunktionen im Körper dreidimensional darzustellen, hat aber eine begrenzte Ortsauflösung. Um dieses Problem zu umgehen, entwickelte man das PET/CT-Kombinationsgerät. Einerseits kombiniert es die Anatomiedarstellung des CT-Geräts mit den hochselektiven Stoffwechselinformationen aus der PET und andererseits besitzt es eine höhere Ortsauflösung. Hier erhält der Patient neben dem meist intravenös verabreichten PET-Tracer auch Röntgenkontrastmittel, da Computertomographie (CT) eine Röntgenuntersuchung ist, die dreidimensionale Schnittbilder durch den Körper liefert. Dann wird der Patient unmittelbar hintereinander durch zwei Detektorringe gefahren und dadurch können Probleme, die die Überlagerung getrennt aufgenommener PET- und CT-Bilder mit sich bringen würden, minimiert werden. Da die Aufnahme des CT-Scans schneller erfolgt, führt dies zur Verkürzung der Messungsdauer. Diese anatomischen Referenzen ermöglichen eine präzise Definition von Tumoren. Die onkologischen PET-Untersuchungen haben das Ziel, die Tumorgewebe so genau wie möglich vom gesunden Gewebe abzugrenzen, um ein optimales Tumor/Non-Tumor-Verhältnis der anschließend verabreichten Therapeutika zu erzielen und den geringsten Gewebeschäden bei Tumorvernichtung zu verursachen.^{22, 46, 47}

1.5.6 Anwendung der PET

Das größte Anwendungsgebiet der PET ist die Onkologie. Mittels PET können maligne Krankheiten bereits im Frühstadium erkannt werden. Außerdem kann man schon bei geringer Tumorgröße zwischen benigner und maligner Art unterscheiden. Da Tumorzellen aufgrund der verstärkten Teilungsrate einen erhöhten Energiestoffwechsel und somit auch eine erhöhte Aufnahme von energieliefernden Substanzen wie Glucose besitzen, wird wie bereits schon erwähnt, am häufigsten das Radiopharmakon [^{18}F]Fluor-2-desoxyglucose ([^{18}F]FDG) für ihren diagnostischen Nachweis eingesetzt. Da aber nicht nur Krebszellen, sondern auch entzündete, verletzte oder abheilende Gewebeareale einen erhöhten Glucosebedarf aufweisen und daher auch eine erhöhte Anreicherung von [^{18}F]FDG zeigen, ist es mit PET nicht möglich zwischen Tumoren und Entzündungen zu unterscheiden. Aus diesem Grund muss eine PET-Untersuchung mit [^{18}F]FDG auf Krebs mit anderen diagnostischen Verfahren kombiniert werden.

In der Neurologie können mittels PET-Tracer der zerebrale Stoffwechsel und die synaptische Neurotransmitter-Übertragung dargestellt und über Veränderungen der Rezeptorendichte Krankheiten des ZNS wie Morbus Alzheimer, Parkinson, Chorea Huntington oder Epilepsie untersucht und diagnostiziert werden. Beispielsweise lässt [^{18}F]Fluor-DOPA bei Morbus Parkinson-Patienten eine verminderte Dopamin-Synthese im Corpus striatum erkennen, während [^{18}F]FDG bei Epilepsie einen pathologisch veränderten Stoffwechsel im Hirn und bei Morbus Alzheimer einen Verlust von Neuronen in der Hirnrinde zeigt.^{43, 48}

In der Kardiologie ist PET einerseits für die nicht-invasive Erkennung und Beurteilung des Schweregrades der KHK und andererseits für die Identifikation von vitalem Myokard bei Patienten mit fortgeschrittener KHK und eingeschränkter Ventrikelfunktion indiziert. Die Vitalitätsdiagnostik beruht auf Nachweis der Stoffwechselaktivität. Das nicht-ischämische Myokard deckt seinen Energiebedarf hauptsächlich über Oxidation freier Fettsäuren. Jedoch kommt es bei Hypoxämie zur Verwertung von Glucose als hauptsächlichem Substrat, da der Sauerstoffmangel im Ischämieareal zur Störung der β -Oxidation der Fettsäuren führt. Im Vergleich zum normalen Herzmuskel nimmt ischämisches Myokard Glucose auf, was höchstwahrscheinlich durch vermehrte Synthese von Glucosetransportern bedingt ist. [^{18}F]FDG wird wie Glucose in die Zelle aufgenommen und zu FDG-6-Phosphat phosphoryliert. Die Akkumulation von diesem PET-Tracer ist proportional der Glucoseaufnahme. Eine

fehlende [^{18}F]FDG-Aufnahme weist auf eine irreversible Schädigung und eine normale oder erhöhte Aufnahme auf hypofunktionelles, aber vitales Myokard hin. Da [^{18}F]FDG eine längere HWZ (109 Minuten) besitzt, ist es möglich, die Substanz von einem Zyklotronstandort zur PET-Anlage zu transportieren, d. h. hier ist also ein Zyklotron vor Ort nicht unbedingt eine Voraussetzung für die PET-Diagnostik. Mittels PET kann also zwischen einer irreversiblen Schädigung, die keinerlei Stoffwechselaktivität mehr zeigt, und funktionsgestörtem, aber noch vitalem Myokard, unterschieden werden, um über die Notwendigkeit einer Revaskularisation in Form eines Bypasses oder einer Angioplastie entscheiden zu können.⁴⁹

PET wird wie bereits erwähnt auch zur Untersuchung der Myokardperfusion bei Patienten mit koronarer Herzerkrankung bzw. bei Patienten mit koronaren Risikofaktoren eingesetzt, um so Aufschluss über eventuelle Stenosen zu geben. Durch Injektion eines Perfusionstracers wird die Durchblutung des Myokards beurteilt. Als Perfusionstracer werden am häufigsten ^{15}O -markiertes Wasser (HWZ 2 Minuten), ^{13}N -markierter Ammoniak (HWZ 10 Minuten) und ^{82}Rb (HWZ 76 Sekunden) verwendet, die der reinen Flussmessung dienen. Aufgrund der Kurzlebigkeit der Nuklide ist die unmittelbare räumliche Nähe eines Zyklotrons hier eine Voraussetzung für die Durchführung der Untersuchung. Rb-82 wird aus einem Sr-Rb-Generator gewonnen. Hohe Kosten und limitierte Verfügbarkeit beschränken jedoch den Einsatz im klinischen Bereich als Routine bei der Diagnostik einer KHK.⁴⁹

1.6 Radioaktivität

1.6.1 Grundlagen

Unter Radioaktivität versteht man die Eigenschaft instabiler Atomkerne, sich ohne äußeren Einfluss unter Aussendung von α -, β -, und/oder γ -Strahlung in andere Atomkerne umzuwandeln. Dieser Umwandlungsprozess wird auch als radioaktiver Zerfall benannt.⁵⁰

Jeder Atomkern besteht aus Protonen und Neutronen, die zusammen als Nukleonen bezeichnet werden. Zwischen diesen treten verschiedene Wechselwirkungskräfte auf, nämlich anziehende Kernkräfte zwischen allen Nukleonen und abstoßende elektromagnetische Kräfte zwischen Protonen.⁵¹

Radioaktivität beruht auf instabile Atomkerne, weil sie ein ungünstiges Verhältnis von Protonenzahl/Neutronenzahl haben, also einen Überschuss an Protonen oder Neutronen, und somit unter Energieabgabe zerfallen, bis ein stabiler Atomkern mit normalem Protonen-Neutronen-Verhältnis entstanden ist und dadurch ein energetisch stabiler Endzustand erreicht wird.^{50, 51}

1.6.2 Strahlungsarten

1.6.2.1 α -Strahlung^{43, 51}

Die α -Strahlung besteht aus zwei Neutronen und zwei Protonen, also aus zweifach positiv geladenem Heliumkern. Daher nimmt beim α -Zerfall die Ordnungszahl des Mutterkerns um zwei Einheiten und die Massenzahl um vier Einheiten ab. Die Austrittsgeschwindigkeit, mit der die ionisierende α -Strahlung aus dem Kern emittiert wird, beträgt 15000 bis 20000 km/s. Diese Strahlungsart tritt bei Nukliden mit Ordnungszahl > 83 auf.

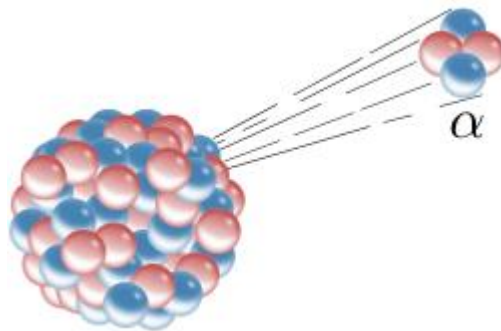


Abb. 5:⁵² Emission eines α -Teilchens
(2 Neutronen + 2 Protonen)

Natürlich vorkommende Alphastrahler sind Uran und Thorium sowie deren Zerfallsprodukte Radium und Radon. Aufgrund der hohen Masse der α -Teilchen ist ihre Reichweite sehr gering. In der Luft beträgt diese bei Normaldruck etwa 10 cm. Je niedriger der Luftdruck wird, desto größer ist ihre Reichweite, da die Anzahl der Stoßpartner abnimmt. Die Eindringtiefe in das menschliche Gewebe beträgt nur einige Mikrometer und somit reicht schon ein Blatt Papier oder einige Zentimeter Luft zur völligen Abschirmung der α -Teilchen aus. Die α -Strahlung, die von außen auf den Körper wirkt, ist relativ ungefährlich, da diese nur in die oberen, toten Hautschichten eindringen. Aber die α -Teilchen, die durch Einatmen oder über Nahrung im Organismus aufgenommen werden, sind sehr gefährlich, da diese eine sehr hohe Ionisationswirkung, lange Halbwertszeiten und meist knochenaffine Eigenschaften haben und somit lebende Zellen schädigen. Daraus ergibt sich eine hohe Strahlenbelastung und wird daher nicht zu diagnostischen Zwecken eingesetzt.

1.6.2.2 β -Strahlung

Bei dieser Strahlung unterscheidet man zwischen β^- -Strahlung, die aus Elektronen besteht, und der β^+ -Strahlung, bei deren Teilchen es sich um Positronen handelt.

Die β^- -Strahlung tritt bei Kernen mit Neutronenüberschuss auf. Beim β^- -Zerfall wird im Kern ein Neutron (n) in ein Proton (p) umgewandelt und es kommt zur Emission eines Elektrons (e^-), des sogenannten β^- -Teilchens, und eines masse- und ladungslosen Antineutrinos ($\bar{\nu}_e$). Nun befinden sich ein Neutron weniger und ein Proton mehr im Kern, daher bleibt die Massenzahl gleich und die Ordnungszahl erhöht sich um eins. Das Elektron und das Antineutrino übernehmen die beim Zerfall freiwerdende Energie.

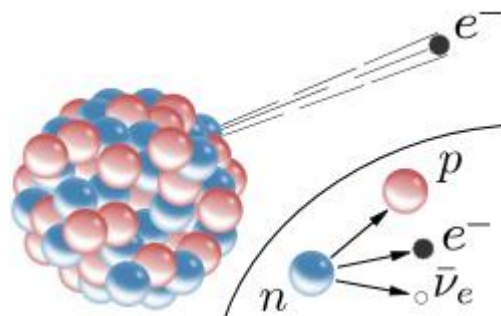


Abb. 6: $^{53}\beta^-$ -Strahlung

Die β -Strahlung hat weniger Energie als die α -Strahlung und wirkt daher auch weniger ionisierend als diese. Da es sich hier aber um Elektronen, also leichtere und kleinere Teilchen als bei α -Strahlen, handelt, ist die Reichweite von β -Strahlen auch dementsprechend größer. In der Luft beträgt sie mehrere Zentimeter bis Meter und im menschlichen Gewebe mehrere Zentimeter. Deshalb sollte hier im Gegensatz zu α -Strahlen auf eine geeignete Abschirmung geachtet werden, um sich vor äußerer Bestrahlung zu schützen. Als Absorber für β -Strahlen werden etwas dickere Materialien wie Glas oder Aluminium eingesetzt. Ist der Körper β -Strahlung ausgesetzt, werden nur äußerste Hautschichten geschädigt. An diesen Stellen kann es zu intensiven Verbrennungen und daraus resultierenden Spätfolgen wie Hautkrebs kommen. Wenn die Augen der Strahlung ausgesetzt werden, kann es zur Linsentrübung kommen. Wird die Strahlung in den Körper inkorporiert, führt es zu einer hohen Strahlenbelastung in der Umgebung des Strahlers. Weitere Folgen der Inkorporation können Schilddrüsenkarzinome durch Anreicherung von radioaktivem Iod-131 in der Schilddrüse sein und auch Krebs oder Leukämie durch Anreicherung von Strontium-90 in den Knochen. ^{43, 51, 53}

Beim β^+ -Zerfall, der bei Nukliden mit Protonenüberschuss auftritt, wird ein Proton unter Emission eines Positrons und eines Neutrinos in ein Neutron umgewandelt. Die beim Zerfall frei werdende Energie wird gleichermaßen auf das Neutrino und das Positron verteilt. Die Massenzahl bleibt gleich, wobei sich die Ordnungszahl im Vergleich zu β^- -Zerfall um eins verringert. ^{43, 51}

Trifft das Positron auf ein Elektron, wird das kurzlebige Positronium gebildet und die Folge ist eine Annihilation, d.h. die Ruheenergien der beiden Teilchen werden unter Zerfall des Positroniums in elektromagnetische Strahlung umgewandelt und die Annihilationsstrahlung wird in Form von zwei γ -Quanten emittiert, die in entgegengesetzte Richtung unter einem Winkel von annähernd 180 Grad auftreten. Diese γ -Quanten werden vor allem in der Positronen-Emissions-Tomographie (PET) eingesetzt. ^{41, 42, 43,44}

Der Elektroneneinfang ist ein Konkurrenzprozess zum β^+ -Zerfall. Ein Proton des Kerns wird dabei durch Einfangen eines Elektrons aus einer kernnahen Schale (meist die K-Schale) in ein Neutron und ein Neutrino, das den Kern verlässt, umgewandelt. Daraus kann man schließen, dass die sowohl beim Elektroneneinfang als auch beim β^+ -Zerfall entstandenen Nuklide

identisch sind. Die Ordnungszahl wird um eins verringert, die Massenzahl bleibt gleich und die Neutronenzahl wird um eins erhöht. Dieser Prozess tritt immer zusätzlich neben dem β^+ -Zerfall, bei dem kein Elektron eingefangen wird sondern ein Positron gebildet werden muss, auf. Der Elektroneneinfang tritt also bei jedem Positronen-strahlenden Nuklid auf. Nur wenn die Umwandlungsenergie kleiner als die Ruhenergie eines Positrons ist, also wenn nicht genug Energie zur Emission eines Positrons vorhanden ist, tritt diese Zerfallsart alleine auf. Die Aufenthaltswahrscheinlichkeit der Elektronen der K-Schale ist am Ort des Atomkerns am größten, daher wird am häufigsten das Elektron aus dieser Schale eingefangen, wodurch dieser Prozess auch als K-Einfang bezeichnet wird.⁵⁴

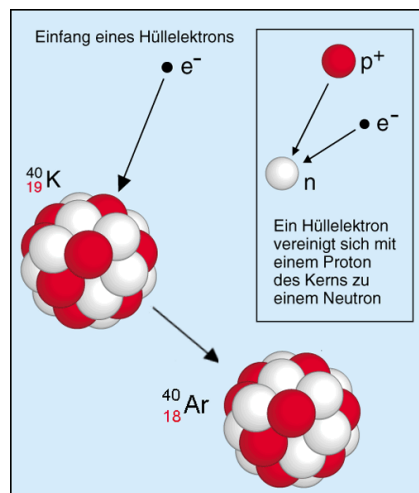


Abb. 7:⁵⁵ Elektroneneinfang, als Beispiel ^{40}K

1.6.2.3 γ -Strahlung^{43, 51, 56, 57}

Die γ -Strahlung ist eine hochenergetische elektromagnetische Strahlung, die ihren Ursprung im Atomkern hat. Nach einem α - oder β -Zerfall befindet sich der Kern (Tochterkern) in einem angeregten Zustand. Beim Übergang in einen energetisch niedrigeren Zustand oder den Grundzustand gibt er die frei werdende Energie in Form von γ -Strahlung ab. Sowohl die Ordnungszahl als auch die Massenzahl bleibt dabei unverändert. Nur die Energie wird verringert. Die Strahlung kann nur bestimmte Energien aufweisen, die den Energiedifferenzen zwischen den beiden Zuständen entspricht. Die γ -Strahlung breitet sich mit Lichtgeschwindigkeit aus.

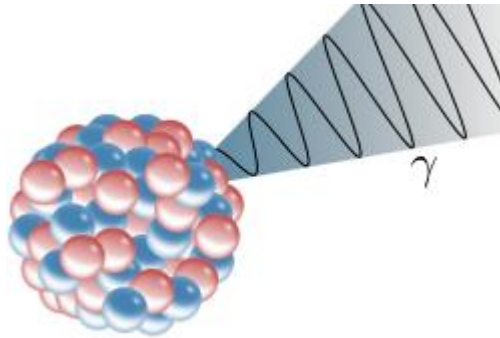


Abb. 8:⁵⁶ Gammastrahlung

Da α - und β -Strahlung aus geladenen Teilchen bestehen und somit viel stärker mit Materie als die ungeladenen Quanten oder Photonen der γ -Strahlung wechselwirken, besitzt die γ -Strahlung eine viel höhere Durchdringbarkeit. Ihre Reichweite beträgt einige Kilometer. Eine vollständige Abschirmung der γ -Strahlen ist nicht möglich, aber deren Intensität nimmt abhängig von der Dicke des zu schützenden Materials exponentiell ab. Mithilfe der Halbwertsdicke kann man die Fähigkeit der Materialien bezüglich der Abschirmung einteilen. Sie gibt an, welche Dicke man benötigt um die Intensität der Strahlung auf die Hälfte herabzusetzen. Je höher die Ordnungszahl ist, desto größer ist die Abschirmwirkung. Zur Abschirmung werden daher dicke Materialien wie z.B. Bleiplatten verwendet. Wenn γ -Strahlung vom menschlichen Körper absorbiert wird, entsteht als Sekundärstrahlung β -Strahlung, was am bestrahlten Organismus erbgutschädigend und daher krebserregend wirkt.

Jedoch kommt die γ -Strahlung in der Strahlentherapie zur Behandlung von Krebs zum Einsatz. Die Wirkung der Strahlentherapie beruht auf einer Hemmung der Zellteilung. Durch die Zellteilung wird die notwendige Erneuerung bestimmter Gewebe gewährleistet. Dabei gehen aus einer Mutterzelle Tochterzellen hervor, die alte und abgestorbene Zellen ersetzen. Bei einer Krebserkrankung teilen sich vor allem die entarteten Krebszellen und dies ermöglicht die Ausbreitung des Tumors. Im Vergleich zu normalen Zellen haben Krebszellen eine hohe Zellteilungsrate. Entscheidend für die Strahlentherapie ist die Fähigkeit der veränderten Zellen, das geschädigte Erbgut zu reparieren. Bei der Therapie wird das Erbgut, die im Zellkern befindliche DNA, zerstört. Da immer wieder Erbgutschäden z.B. durch UV-Strahlung oder durch Fehler beim Verdoppeln der DNA auftreten, die an die Tochterzellen übertragen werden würden, hat jede Zelle ein DNA-Reparatursystem. Im Normalfall werden diese Schäden vom DNA-Reparatursystem erkannt und entsprechend repariert. Das

Reparatursystem der Krebszellen funktioniert wesentlich schlechter als das der gesunden Zellen. Je schlechter die Reparaturmechanismen einer Zelle funktionieren, desto empfindlicher reagiert sie auf die Bestrahlung. Tumorzellen können durch die Bestrahlung sogar soweit geschädigt werden, dass sie ihre Teilungsfähigkeit komplett verlieren und absterben. Auch wenn normale Zellen weniger empfindlich auf Bestrahlung reagieren, werden sie trotzdem durch die Therapie geschädigt. Um diesen Zellen Zeit zur Regeneration (Reparaturmechanismus) zu geben, muss die gesamte Strahlendosis in Fraktionen aufgeteilt werden. Dadurch verringert sich die Zahl der abgetöteten normalen Zellen und die maximal tolerierbare Gesamtdosis des Normalgewebes wird gesteigert.

1.6.3 Radioaktive Nuklide

1.6.3.1 *Natürliche Nuklide*^{58, 59, 60}

Natürliche Radionuklide kommen in der Biosphäre und in der Erde vor. Einige langlebige Nuklide wie Uran-238, Uran-235 oder Thorium-232 existieren bereits seit der Entstehung der Erde. Diese sogenannten primordialen (seit der Entstehung der Erde existierenden, aber noch nicht vollständig zerfallenen) Nuklide durchlaufen natürliche Zerfallsreihen: die Thorium-, die Uran-Radium- und die Uran-Actinium-Reihe. Aus den oben aufgezählten Mutternukliden entsteht nach mehreren α - und β -Zerfällen am Ende jeder Zerfallsreihe ein stabiles nicht-radioaktives Isotop des Elementes Blei.

Natürliche Nuklide werden außerdem kontinuierlich durch Wechselwirkung der kosmischen Strahlung mit der Erdatmosphäre gebildet, die auch kosmogen bezeichnet werden. Ein Beispiel dafür wäre Kohlenstoff-14.

1.6.3.2 *Künstliche Nuklide*^{60, 61}

Künstliche Radionuklide entstehen durch die vom Menschen herbeigeführten Kernreaktionen. Die radioaktiven Isotope entstehen durch Beschuss von Atomkernen mit α -Teilchen, Neutronen, Protonen, anderen Atomkernen oder auch mit γ -Strahlung, wodurch es zu künstlichen Kernumwandlungen kommt. Bei solchen Kernumwandlungen entstehen Nuklide, die relativ kurze Halbwertszeiten haben und auf der Erde nicht vorkommen. Daher müssen diese kurzlebigen Nuklide kurz vor jeder Anwendung extra hergestellt werden. Neutronenreiche Radionuklide werden überwiegend in Kernreaktoren hergestellt, wo sie

entweder bei der Kernspaltung direkt als radioaktive Zerfallsprodukte oder durch Bestrahlung entsprechender Ausgangsnuklide mit Neutronen entstehen. Neutronenarme, protonenreiche Nuklide werden mittels Zyklotron oder Generator hergestellt.

1.6.4 Herstellung radioaktiver Nuklide

1.6.4.1 Produktion im Zyklotron^{43, 61, 62}

Das Zyklotron ist ein Teilchenbeschleuniger (Kreisbeschleuniger), wobei die zu beschleunigenden Teilchen mithilfe eines Magnetfelds in eine spiralähnliche Bahn gebracht werden, sodass die Beschleunigungsstrecken mehrfach durchlaufen werden. Diese positiv geladenen Teilchen erhalten dabei hohe kinetische Energie und können somit die positive Ladungsbarriere des Atomkerns überwinden und so in den Kern eindringen. Durch Beschuss eines Targetmaterials mit den beschleunigten Teilchen kommt es zur Kernreaktion. Nur neutronenarme Nuklide werden im Zyklotron produziert, die aufgrund ihrer Neutronendefizienz unter Elektroneneinfang oder β^+ -Emission zerfallen. Zyklotrone werden bei der Herstellung der PET-Radionuklide für diagnostische Zwecke eingesetzt.⁶¹

Das Zyklotron besteht aus einem Elektromagneten und zwischen dessen Polen befindet sich eine flache runde Vakuumkammer. Die Elektromagneten erzeugen starkes homogenes Magnetfeld. In dieser Vakuumkammer befinden sich zwei D-förmige Metallkammer, die auch als Duanten oder Dees bezeichnet werden. Zwischen diesen Duanten liegen der Beschleunigungsspalt und in der Mitte die Ionenquelle. Am Rand ist ein Ablenkkondensator angebracht, um den Teilchenstrahl der Kammer auszuleiten. Die Ionenquelle erzeugt durch Elektronenstoßionisierung, also durch Elektronenbeschuss eines Gasstrahls (Wasserstoff- oder Deuteriumgas), positiv geladene Ionen. Durch eine angelegte Wechselspannung in den Dees werden diese Ionen zu dem negativ geladenen Dee beschleunigt. Sobald sie in den negativ geladenen Dee eingedrungen sind, wirkt nicht mehr das elektrische Feld auf sie, sondern werden nur mehr von der Lorentzkraft beeinflusst. Die Ionen durchlaufen nun einen Halbkreis bis sie das Dee wieder verlassen und schließlich wieder in den Spalt zurückkommen, wo sie in Richtung auf das andere Dee beschleunigt werden. Mittlerweile ist dieses Dee negativ geladen und der ganze Prozess wiederholt sich. Da es sich um eine Spiralbahn handelt, wird der Kreisradius immer größer, jedoch bleibt die Umlaufzeit durch steigende Geschwindigkeit der Ionen konstant. Somit kann auch die Frequenz konstant

gehalten werden. Auf diese Weise können die Ionen auf sehr hohe Energien beschleunigt werden.

1.6.4.2 Produktion im Reaktor^{43, 60, 61}

Unter Kernspaltung versteht man einen Prozess bei dem hochangeregte und instabile Nuklide großer relativer Atommassen unter Energiefreisetzung in zwei oder mehrere Bestandteile mittlerer relativer Atommasse zerlegt werden. Eine in einem Kernreaktor verlaufende Kernspaltung kann einerseits spontan ohne äußere Einwirkung ablaufen und ist eine Art radioaktiver Zerfall, oder andererseits kann sie durch Teilchen induziert werden. Dabei werden natürlich vorkommende Materialien mit Neutronen bestrahlt, wobei die Bindungsenergien der Neutronen auf diese Teilchen übertragen werden, somit sich im angeregten Zustand befinden und gespalten werden. Es wird eine Kernreaktion ausgelöst. Durch Einfang der Neutronen entstehen Reaktorradionuklide, die ihren Neutronenüberschuss nun wiederum durch β^- -Zerfall stabilisieren.

1.6.4.3 Produktion im Generator^{43, 51, 61}

Die Radionuklide werden aus langlebigen Mutternukliden, die in einem Generator durch Elution das kurzlebige Tochternuklid abgeben, gewonnen.

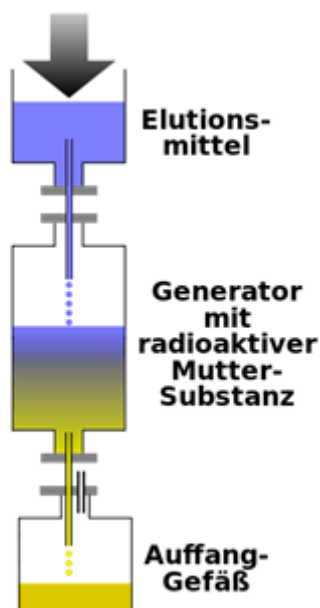


Abb. 9-63 Generator

Das Mutternuklid befindet sich in einer durch Blei abgeschirmten Säule und ist auf einem Trägermaterial gebunden. Dort bildet es aufgrund seines Zerfalls ständig neue Tochternuklide. Diese werden dann aufgrund der durch den Zerfall ändernden physikalisch-chemischen Eigenschaften mittels geeigneter Elutionsmittel aus dem Generator eluiert. Radioaktives Gleichgewicht zwischen Mutter- und Tochternuklid baut sich nach jeder Elution neu auf. Anschließend erfolgt die chromatographische Trennung der beiden Fraktionen auf den Generatorsäulen. Bei der Entnahme des Tochternuklids muss noch die Strahlenenergie des Eluates spektroskopisch bestimmt werden, um zu

überprüfen, ob zusätzlich auch Mutternuklid von der Säule eluiert wurde. Dieser sogenannte

„break-through“ des Mutternuklids hätte nämlich eine erhöhte, gesundheitsschädliche Strahlenbelastung des Patienten als Folge. Das restliche, noch nicht zerfallene Mutternuklid bleibt auf der Säule zurück und zerfällt weiter, sodass nach einer gewissen Zeit erneut Tochternuklide gewonnen werden können. Man kann so lange entnehmen, bis die Menge des Mutternuklids einen kritischen Wert unterschritten ist und damit die Aktivität des Tochternuklids zu gering ist. Die am häufigsten verwendeten Generator-Systeme sind $^{99}\text{Mo}/^{99\text{m}}\text{Tc}$ -, $^{81}\text{Rb}/^{81\text{m}}\text{Kr}$ - und $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ - Systeme.

Die Nuklidproduktion im Generator hat wesentliche Vorteile im Vergleich zu den anderen Produktionsmethoden wie die längere Nutzbarkeit des Generatorsystems und Erzielung hoher Ausbeuten beim minimalen Durchbruch des Mutternuklids. Somit stellt sich die Methode auch ökonomisch dar.

1.6.5 Radiopharmaka^{64, 65}

Bei einer nuklearmedizinischen Untersuchung wird dem Patient ein mit einem radioaktiven Isotop markiertes Arzneimittel, ein Radiopharmakon, appliziert. In den meisten Fällen werden Radiopharmaka in die Armvene injiziert. Die häufig verwendeten radioaktiven Isotope sind Technetium-99m ($^{99\text{m}}\text{Tc}$), Iod-123 (^{123}I), Thallium-201 (^{201}Tl), Indium-111 (^{111}In) und Fluor-18 (^{18}F). Radiopharmaka werden nach zwei Anwendungsgebieten klassifiziert, nämlich Diagnostik und Therapie.

Für die nuklearmedizinische Therapie werden Radiopharmaka, die β^- - oder α -Strahlung emittieren, eingesetzt, da diese aufgrund ihrer kurzen Reichweite nur lokal wirken und umliegendes gesundes Gewebe nicht schädigen. Die am häufigsten eingesetzte Therapie ist die Radioiodtherapie benigner und maligner Schilddrüsenerkrankungen. Hier wird der β^- -Strahler ^{131}I (HWZ: 8d) als Kapsel peroral verabreicht und dann gemessen, welcher Anteil davon in der Schilddrüse gespeichert wird. Daneben gibt es mehrere Anwendungen für Skelett- und Gelenkerkrankungen.

Bei der nuklearmedizinischen Diagnostik werden β^+ - oder γ -Strahler mit kurzer Halbwertszeit verwendet. Nach dem Applizieren der Radiodiagnostika kann man sie von außen ohne Beeinflussung der beobachteten biologischen oder biochemischen Abläufe verfolgen. Damit lassen sich physiologische und pathophysiologische Vorgänge im Körper beobachten. Für diagnostische Zwecke wird am häufigsten das Radionuklid Technetium-99m verwendet und ist für die Szintigraphie sehr gut geeignet, da es eine kurze physikalische Halbwertszeit von 6

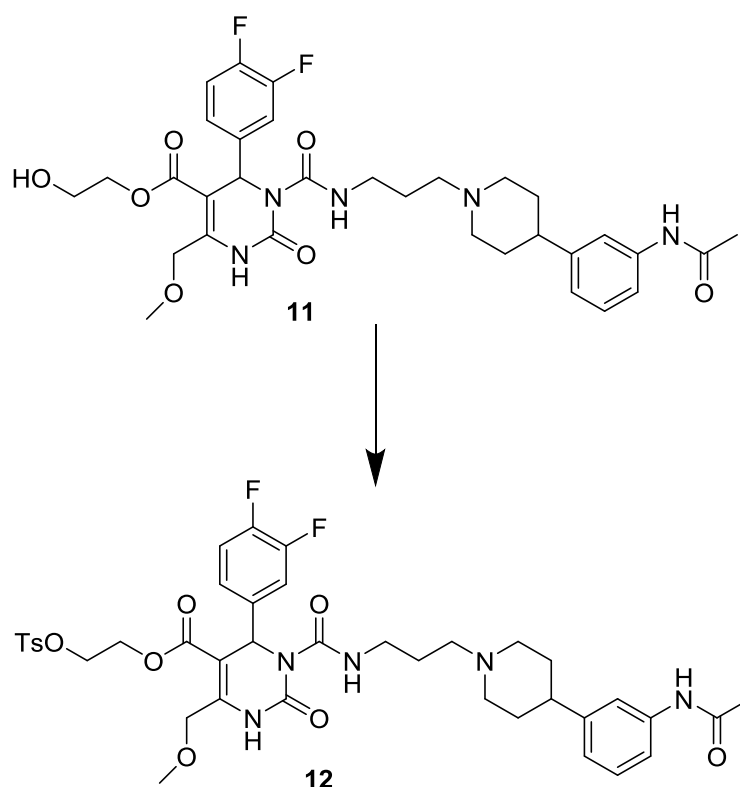
Stunden hat. Weitere Vorteile von Tc-99m sind die Abwesenheit gewebeschädigender Korpusskularstrahlung sowie dessen geringer Preis und gute Verfügbarkeit, da Tc-99m als Generatorkern an Ort und Stelle produziert werden kann. Es gibt auch mehrere Radiodiagnostika als Fertigpräparate, von denen insbesondere der PET-Tracer ^{18}F -FDG in der Routinediagnostik von großer Bedeutung ist.

Das Radiopharmakon verbleibt über einen kurzen Zeitraum im Körper und wird dann mittels normaler Körperfunktionen (meistens über den Harn) ausgeschieden.

2 EIGENE UNTERSUCHUNGEN

2.1 Zielsetzung

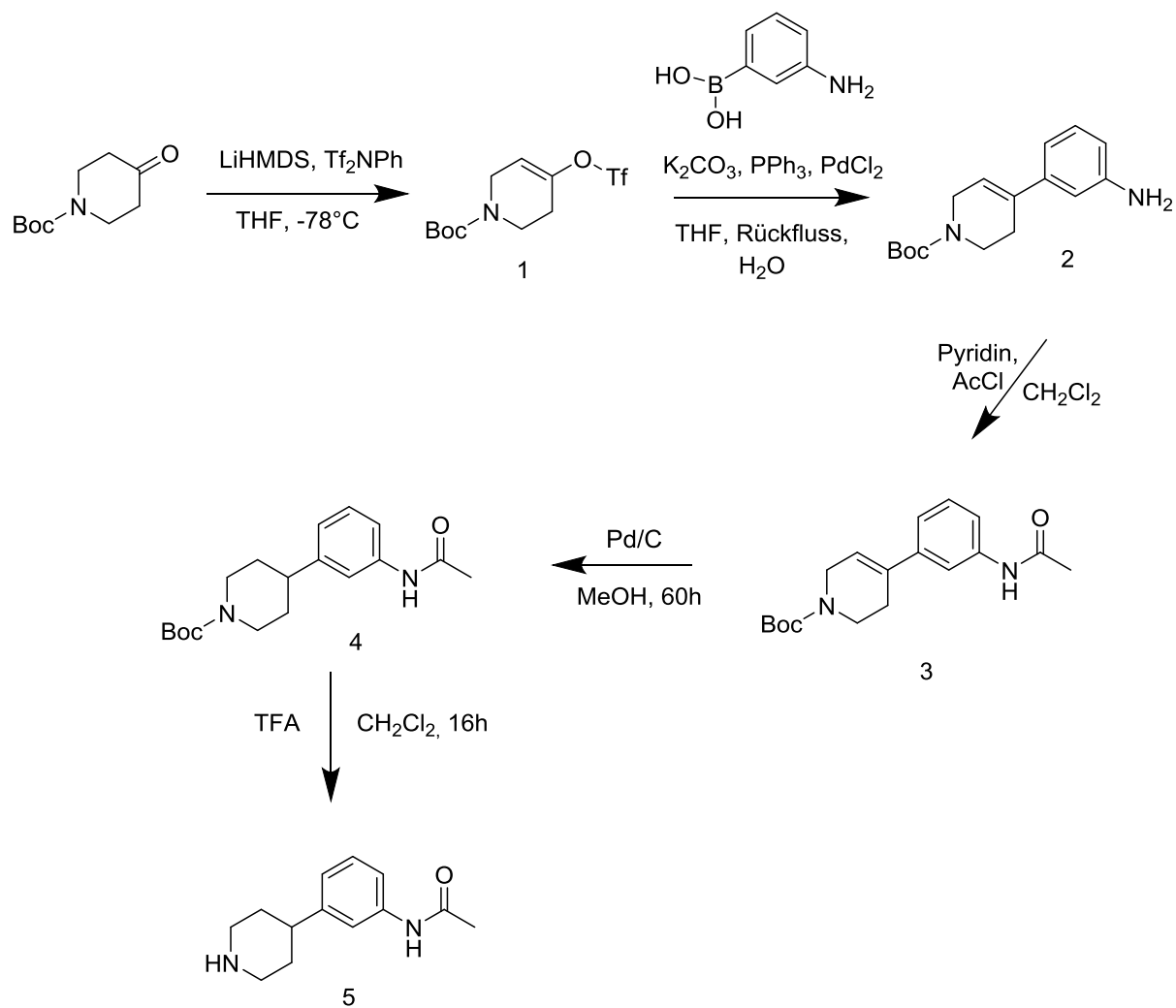
Das Ziel der vorliegenden Diplomarbeit war die Herstellung von Hydroxyethyl-SNAP (**11**) (HE@SNAP), ein dem *rac*SNAP-7941 verwandtes Derivat, über zwei alternative Synthesewege, um ausgehend von dieser Verbindung den Precursor Tosyloxyethyl-SNAP (**12**) (TOE@SNAP) synthetisieren zu können. Die bereits durchgeführten Synthesewege²² sollten optimiert werden, um die Ausbeuten zu verbessern und Reaktionszeiten zu verkürzen.



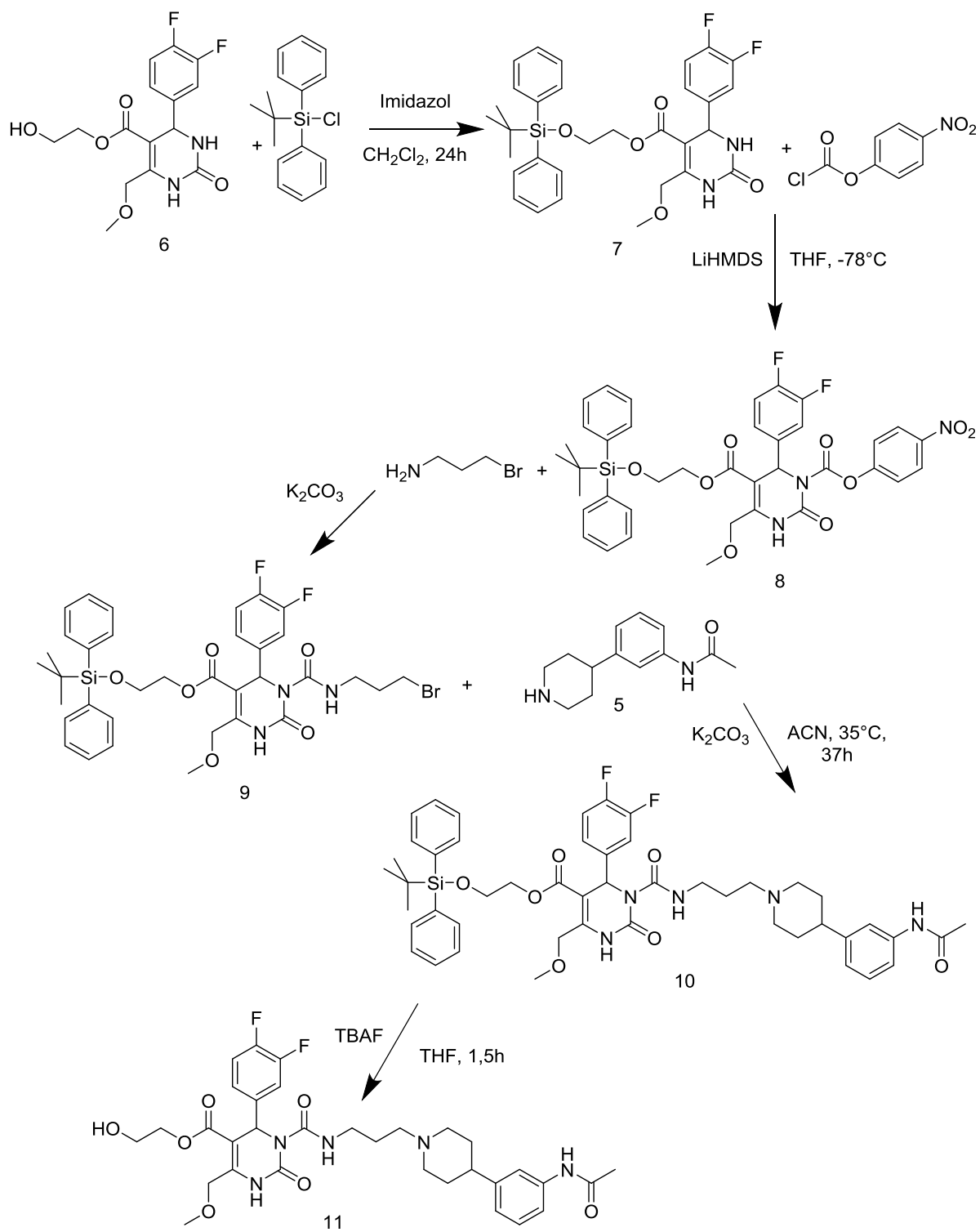
Das Tosylat (**12**) sollte mittels ^{18}F -Fluorierung zum Fluorethylester [^{18}F]FE@SNAP umgesetzt werden, das als PET-Tracer für diagnostische Untersuchungen am MCH_1 -Rezeptor eingesetzt werden könnte und somit Erkenntnisse über Stoffwechselprozesse und physiologische Vorgänge auf molekularer Ebene liefern sollte.

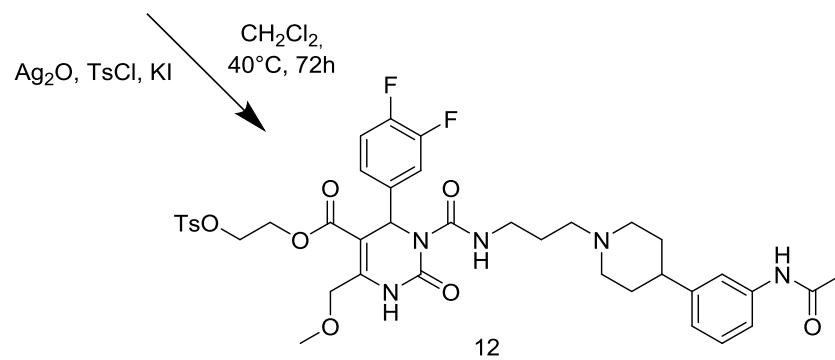
2.1.1 Formelschema

Schema 1:

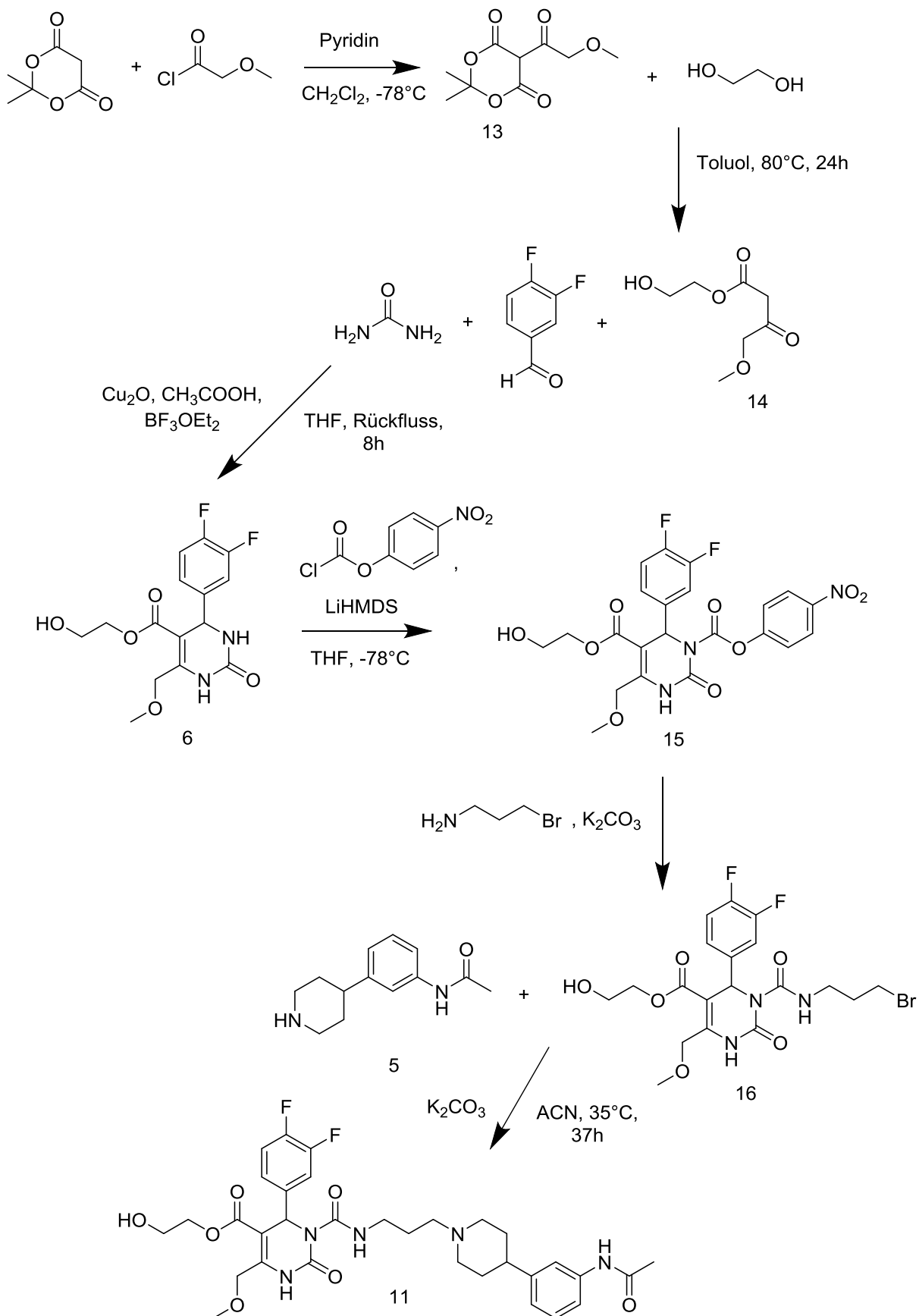


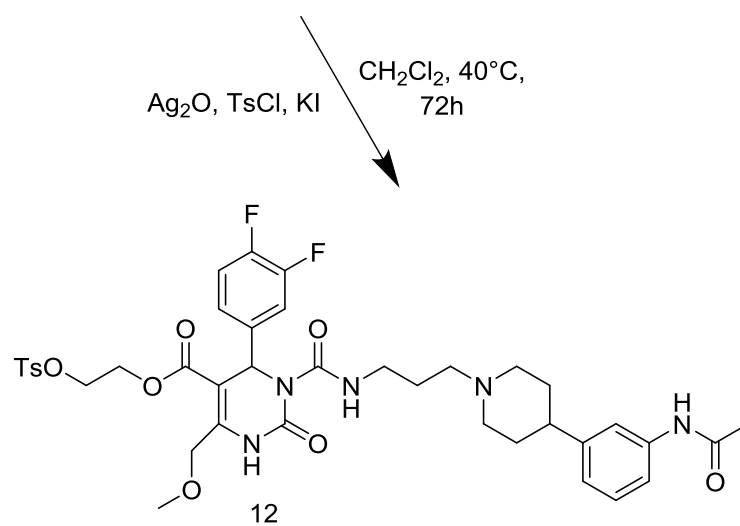
Schema 2:





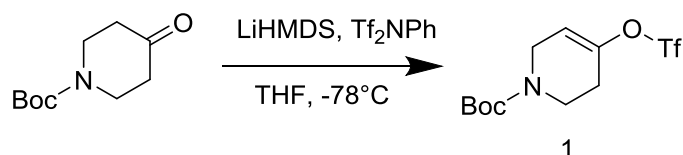
Schema 3:





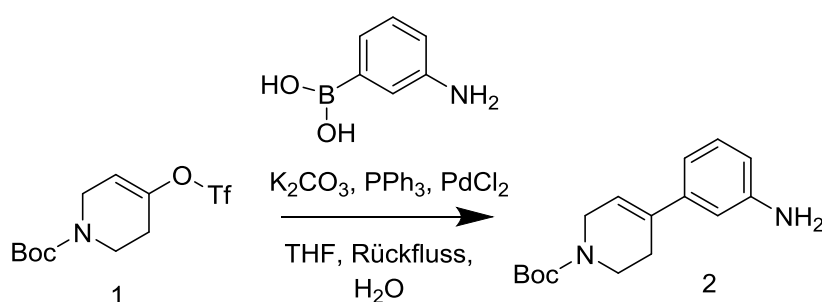
2.2 Synthese von N-(3-(Piperidin-4-yl)phenyl)acetamid²² (5)

2.2.1 Synthese von tert-Butyl-4-(trifluormethylsulfonyloxy)-5,6-dihydropyridin-1(2H)-carbonsäureester²² (1)



Das Enoltriflat (**1**) wurde durch Umsetzung von 4-N-Boc-Piperidinon mit N-Phenylbis(trifluormethansulfonimid) in Gegenwart von Lithium-bis(trimethylsilyl)amid (LiHMDS) synthetisiert, das in der darauf folgenden Suzuki-Kupplung ohne weiteren Reinigungsschritt eingesetzt wurde.

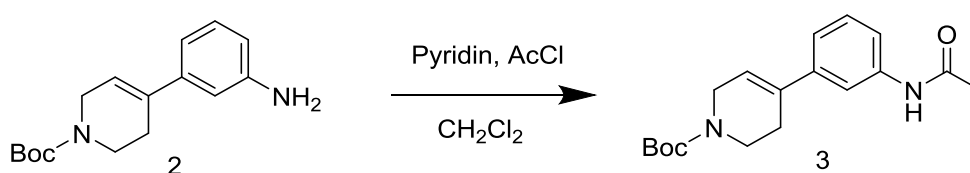
2.2.2 Synthese von tert-Butyl-4-(3-aminophenyl)-5,6-dihydropyridin-1(2H)-carbonsäureester²² (2)



Für die Darstellung des Amins (**2**) wurde das Boc-geschützte Enoltriflat (**1**) im Sinne einer Suzuki-Kupplung mit 3-Aminophenylboronsäure in Gegenwart von Kaliumcarbonat, Triphenylphosphin und Palladium(II)chlorid in Tetrahydrofuran/Wasser unter Inertgasatmosphäre über Nacht umgesetzt. Nach mehrfacher Extraktion mit Ethylacetat und

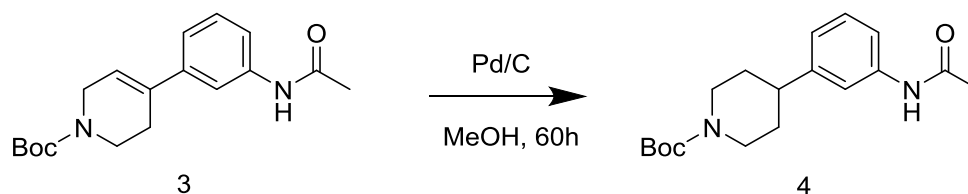
Reinigung mittels Säulenchromatographie (Kieselgel, Ethylacetat/Ligroin 1+2) erhielt man Produkt **(2)** in moderater Ausbeute.

2.2.3 Synthese von tert-Butyl-4-(3-acetamidophenyl)-5,6-dihydropyridin-1(2H)-carbonsäureester²² (**3**)



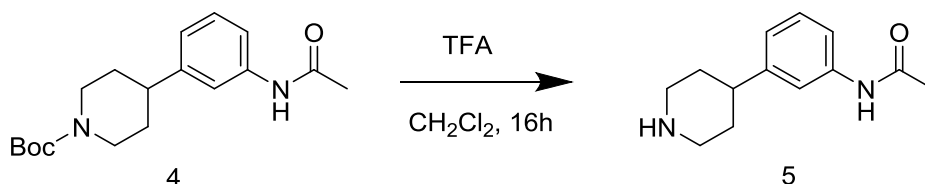
Für die Umsetzung zu Acetamid (**3**) wurde Amin (**2**) mit Acetylchlorid in Gegenwart von Pyridin im Sinne einer S_N2t-Reaktion umgesetzt. Zu diesem Zweck wurde (**2**) in Dichlormethan gelöst und mit Pyridin versetzt. Mittels Eisbad wurde die Reaktionsmischung auf 0 °C gekühlt und anschließend mit Acetylchlorid versetzt. Nach 20 Minuten Rühren wurde sie auf Raumtemperatur erwärmt. Nach 1.5 Stunden Rühren wurde die Reaktion durch die Zugabe von gesättigter Ammoniumchlorid-Lösung beendet. Nach dem Entfernen des Lösungsmittels unter vermindertem Druck wurde der Rückstand in Ethylacetat aufgenommen und jeweils zweimal mit gesättigter Ammoniumchlorid- und Natriumhydrogencarbonat-Lösung gewaschen. Danach wurden die Phasen getrennt, die wässrigen Phasen mit Ethylacetat extrahiert und die vereinigten organischen Phasen über MgSO₄ getrocknet. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und das entstandene Rohprodukt (**3**) mittels Säulenfiltration (Kieselgel, Ethylacetat/Ligroin 2+1) ausreichend gereinigt, um im nächsten Schritt weiterverarbeitet zu werden.

2.2.4 Synthese von tert-Butyl-4-(3-acetamidophenyl)piperidin-1-carbonsäureester²² (**4**)



Das erhaltene Öl wurde in Methanol gelöst und nach der Zugabe von Palladium/Aktivkohle als Katalysator 60 Stunden bei Normaldruck und Raumtemperatur hydriert. Die Suspension wurde über Celite[®] filtriert und mit Methanol nachgewaschen. Nach dem Entfernen des Lösungsmittels unter vermindertem Druck erhält man Acetamid (**4**), was ohne zusätzliche Reinigung im nächsten Reaktionsschritt eingesetzt wurde.

2.2.5 Synthese von N-(3-(Piperidin-4-yl)phenyl)acetamid²² (**5**)

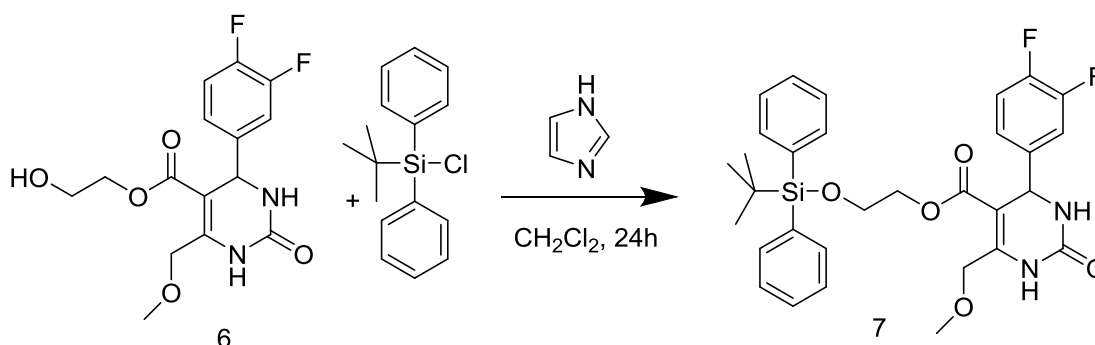


Die Abspaltung der Boc-Schutzgruppe von (**4**) wurde mittels Rühren bei Raumtemperatur für 16 Stunden in einer Mischung aus Dichlormethan und Trifluoressigsäure durchgeführt. Nach Versetzen der Reaktionsmischung mit Toluol wurden die flüchtigen Bestandteile unter vermindertem Druck entfernt und das erhaltene Produkt (**5**) wurde in der Synthese von (**11**) und (**12**) eingesetzt (Schema 1).

2.3 Synthese von TOE@SNAP (12):

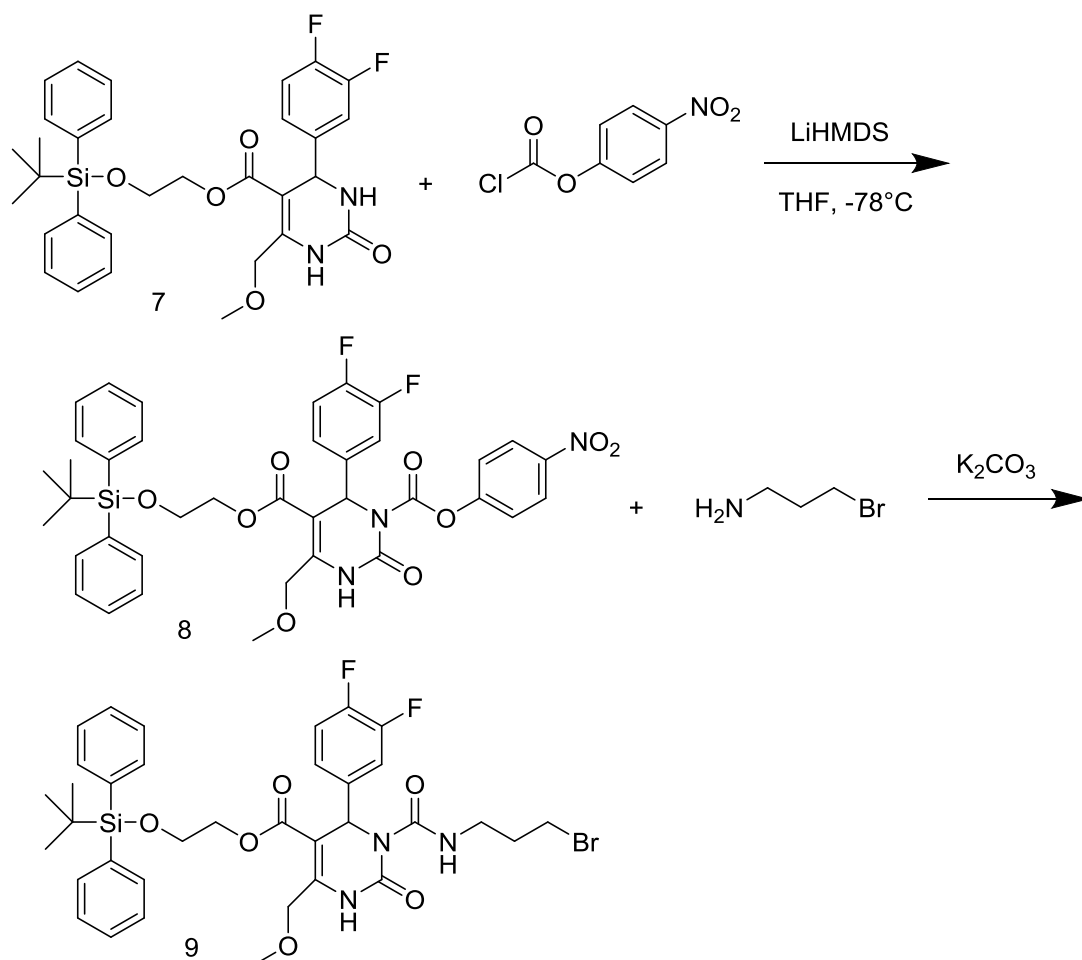
2-(Tosyloxy)ethyl-3-(3-(4-(3-acetamidophenyl)piperidin-1-yl)propyl-carbamoyl)-4-(3,4-difluorophenyl)-6-(methoxymethyl)-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidin-5-carbonsäureester²²

2.3.1 Synthese von 2-((tert-butyldiphenylsilyl)oxy)ethyl-4-(3,4-difluorophenyl)-6-(methoxymethyl)-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidin-5-carbonsäureester²² (7)



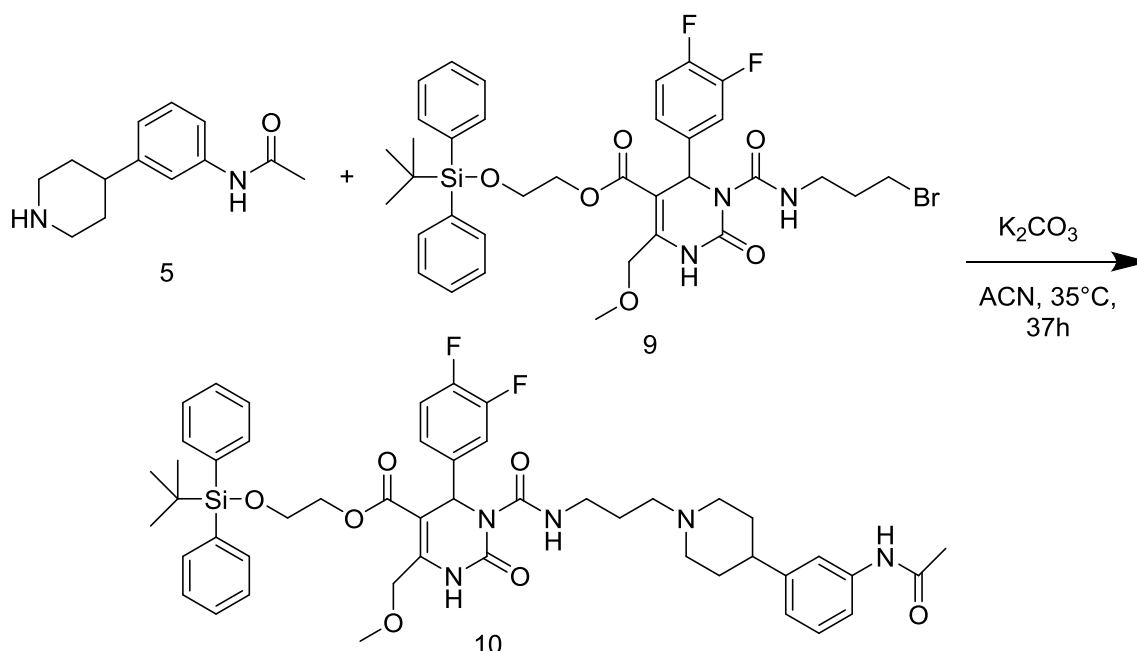
Die freie OH-Gruppe von Hydroxyethylester (**6**) musste vor dem weiteren Umsetzen mit einer tert-Butyldiphenylsilyl-Schutzgruppe versehen werden und wurde zu diesem Zweck mit Imidazol in absolutem Dichlormethan gerührt. Tert-Butyldiphenylsilyloxychlorid wurde bei 0 °C, gelöst in absolutem Dichlormethan, langsam zugetropft. Nach dem Erwärmen der Reaktionslösung auf Raumtemperatur wurde 24 Stunden lang weitergerührt. Danach wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und der rot-gelbliche Rückstand säulenchromatographisch gereinigt (Kieselgel, Dichlormethan/Methanol 95+5).

2.3.2 Synthese von 2-((tert-Butyldiphenylsilyl)oxy)ethyl-3-(3-bromopropylcarbamoyl)-4-(3,4-difluorphenyl)-6-(methoxymethyl)-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidin-5-carbonsäureester **22** (**9**)



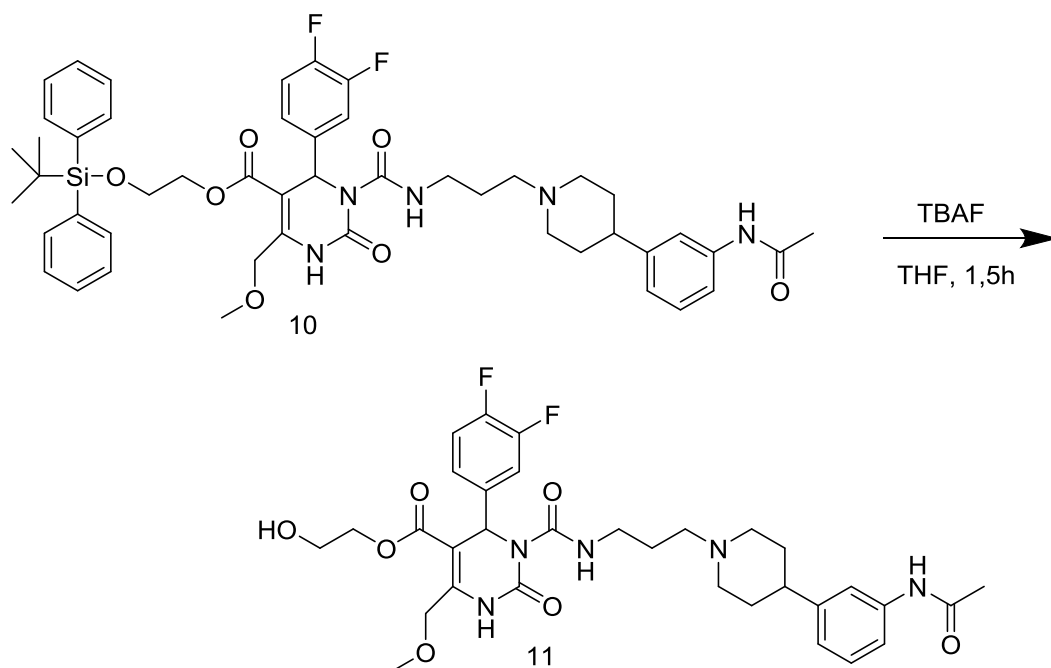
Verbindung **(9)** wurde in einer One-Pot-Synthese ausgehend von Pyrimidinon **(7)** und Chlorameisensäure-4-nitrophenylester in Gegenwart der starken Base Lithium-bis(trimethylsilyl)amid, gefolgt von Zugabe von 3-Aminopropylbromid-Hydrobromid realisiert. Dies erwies sich als notwendig, da Zwischenprodukt **(8)** aufgrund seiner Instabilität nicht zu isolieren war. Man ließ das Reaktionsgemisch auf Raumtemperatur erwärmen und über Nacht weiter rühren. Nach wässriger Aufarbeitung und Extraktion mit Diethylether wurde der Rückstand mittels Säulenchromatographie (Kieselgel, Ethylacetat/Ligroin 1+1) gereinigt. Anschließend wurde **(9)** erneut einer Säulenchromatographie unterzogen (Kieselgel, Dichlormethan/Methanol 95+5), um Bromid **(9)** in hoher Reinheit zu isolieren.

2.3.3 Synthese von 2-((tert-Butyldiphenylsilyl)oxy)ethyl-3-(3-(4-(3-acetamidophenyl)piperidin-1-yl)propylcarbamoyl)-4-(3,4-difluorophenyl)-6-(methoxymethyl)-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidin-5-carbonsäureester²² (**10**)



Die zuvor hergestellten Synthesebausteine, das sekundäre Amin (**5**) und das Bromid (**9**) wurden im folgenden Reaktionsschritt im polar-aprotischen Lösungsmittel Acetonitril aufgenommen und in Gegenwart der Base Kaliumcarbonat einer S_N2 -Reaktion unterworfen. Das Reaktionsgemisch wurde für 37 Stunden bei 35 °C gerührt. Anschließend wurde die gelbe Suspension filtriert, der Filtrerrückstand mit Ethylacetat gut nachgewaschen und das Filtrat unter vermindertem Druck eingedampft. Der ölige Rückstand wurde ein weiteres Mal in Ethylacetat gelöst und zweimal mit gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung gewaschen. Die wässrigen Phasen wurden mit Ethylacetat extrahiert und die vereinigten organischen Phasen über $MgSO_4$ getrocknet, das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und mittels Säulenchromatographie (Kieselgel, Dichlormethan/Methanol 9+1) gereinigt. Man erhielt (**10**) in moderater Ausbeute von 44%.

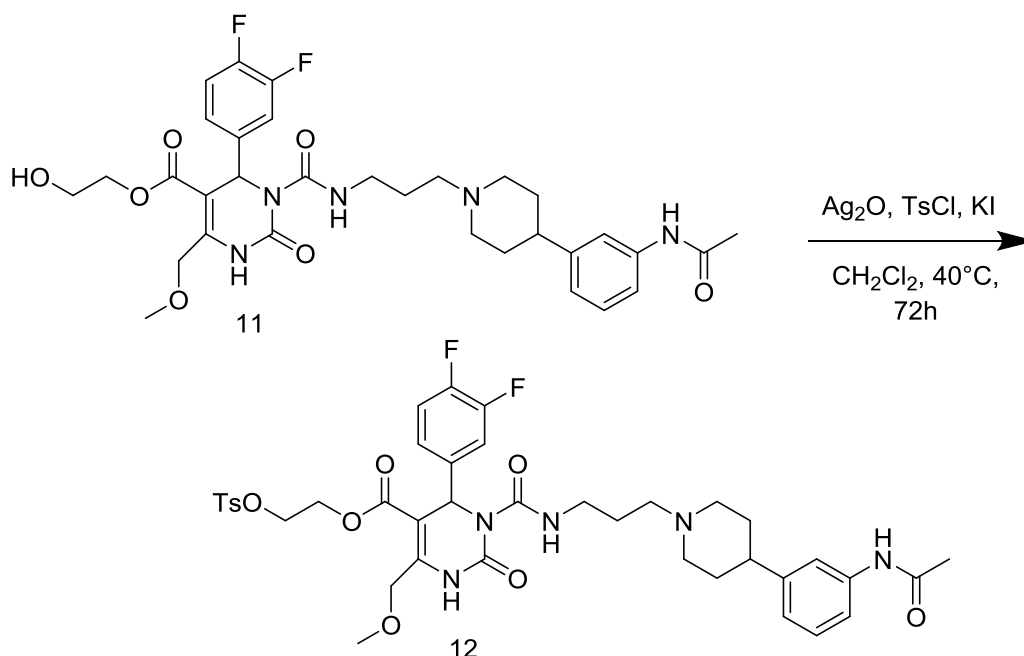
2.3.4 Synthese von 2-Hydroxyethyl-3-(3-(4-(3-acetamidophenyl)piperidin-1-yl)propylcarbamoyl)-4-(3,4-difluorophenyl)-6-(methoxymethyl)-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidin-5-carbonsäureester²² (**11**)



Die Abspaltung der tert-Butyldiphenylsilyl-Schutzgruppe mittels Tetrabutylammoniumfluorid in Tetrahydrofuran unter Eiskühlung verlief problemlos. Dazu wurde TBDPSOE-SNAP (**10**) in Tetrahydrofuran gelöst und TBAF als einmolare Lösung in Tetrahydrofuran langsam zugetropft, wobei auf die Reaktionstemperatur zu achten ist. Nach dem Erwärmen der Reaktionslösung auf Raumtemperatur wurde sie 1.5 Stunden weiter gerührt. Anschließend wurde durch Zufügen von Wasser die Reaktion beendet. Das Lösungsmittel wurde unter reduziertem Druck entfernt und der Rückstand (**11**) mittels Säulenchromatographie (Kieselgel, Gradient Ethylacetat/Methanol 9+1 bis 8+2) gereinigt.

2.3.5 Synthese von TOE@SNAP (12):

2-(Tosyloxy)ethyl-3-(3-(4-(3-acetamidophenyl)piperidin-1-yl)propyl-carbamoyl)-4-(3,4-difluorophenyl)-6-(methoxymethyl)-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidin-5-carbonsäureester²²

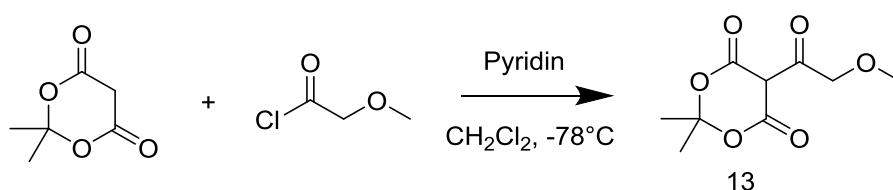


Für die Tosylierung wurde HE@SNAP (**11**) unter Inertgas in absolutem Dichlormethan gelöst und unter Rühren Tosylchlorid, Kaliumiodid und zum Schluss kommerziell erhältliches Silberoxid zugegeben. Da Silberoxid lichtempfindlich ist, wurde der Reaktionskolben ganz mit Alufolie verkleidet. Die Mischung wurde 72 Stunden lang bei 40°C gerührt. Anschließend wurde die vollständige Umsetzung mittels DC-Kontrolle (Kieselgel, Dichlormethan/Methanol 9+1) überprüft. Dann wurde das Reaktionsgemisch über Celite[®] filtriert und mit Dichlormethan gut nachgewaschen. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand mittels Säulenchromatographie (Kieselgel, Dichlormethan/Methanol 9+1) gereinigt. Man erhielt (**12**) in einer geringen Ausbeute von 25%.

Um die absolute Ausbeute zu erhöhen, wurde dieser Reaktionsschritt mehrmals wiederholt. Zunächst wurde das Reaktionsgemisch nur 24 Stunden lang bei 40°C gerührt. Mittels NMR-Spektroskopie konnte festgestellt werden, dass keine Umsetzung zum TOE@SNAP (**12**) erfolgte. Durch säulenchromatographische Trennung (Kieselgel, $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 9+1) konnte

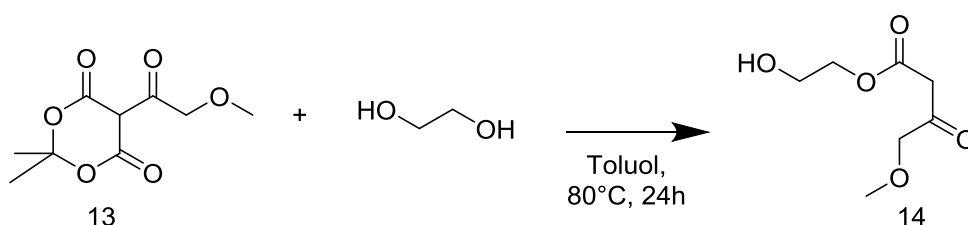
jedoch das Edukt zurückgewonnen und erneut in der Reaktion eingesetzt werden. Trotz mehrfacher Reaktionsansätze (72 Stunden) und Überprüfung mittels DC-Monitoring und anschließendem Zurückgewinnen des Eduktes konnten schlussendlich nur 563 mg des Tosylates **(12)**, welches als hellbraun-rötlicher Feststoff vorlag, gewonnen werden. Der instabile Charakter der Verbindung macht eine kühle und trockene Lagerung erforderlich.

2.3.6 Synthese von 5-(2-Methoxyacetyl)-2,2-dimethyl-1,3-dioxan-4,6-dion²² (**13**)



Zur Darstellung von β -Ketoester **(13)** wurde Meldrumsäure (2,2-Dimethyl-1,3-dioxan-4,6-dion) und Methoxyacetylchlorid in Gegenwart von Pyridin unter Inertgas bei -78°C umgesetzt. Die Reaktionsmischung wurde mit 1N Salzsäure und Wasser gewaschen und die organische Phase über MgSO_4 getrocknet. Nach dem Abfiltrieren des Trocknungsmittels wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und das Rohprodukt **(13)** ohne weitere Reinigung in der folgenden Reaktion eingesetzt.

2.3.7 Synthese von 2-Hydroxyethyl-4-methoxy-3-oxobutansäureester²² (**14**)

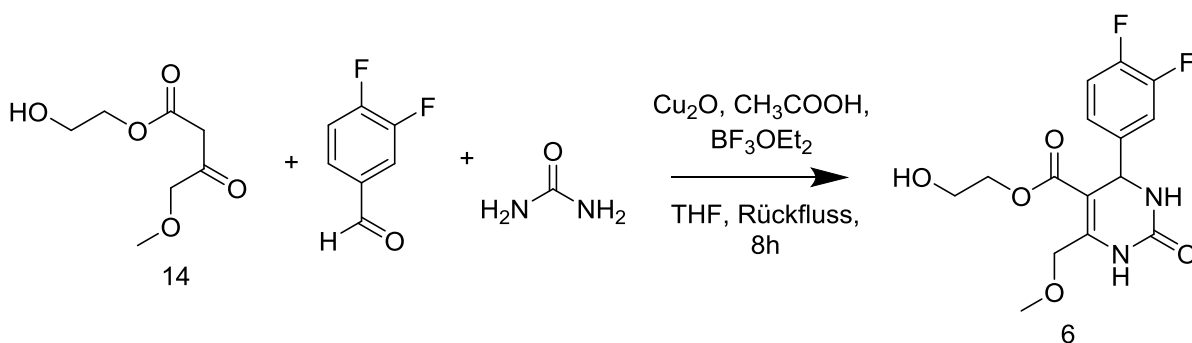


Rohprodukt **(13)** wurde in Toluol aufgenommen und mit Ethylenglykol im Überschuss versetzt. Das Gemisch wurde auf 80°C erhitzt und unter Rückfluss 24 Stunden gerührt. Das Toluol wurde unter vermindertem Druck entfernt. Zur Gewinnung der Reinsubstanz wurden zwei verschiedene Methoden der Aufarbeitung untersucht.

Zunächst wurde durch mehrmalige Extraktion mit Ethylacetat und anschließende Säulenchromatographie (Kieselgel, Ethylacetat/Methanol 9+1) versucht, das Rohprodukt **(14)** zu reinigen. Diese Methode verlief wenig erfolgreich.

Daher wurde nach Entfernen des Toluols eine Vakuumdestillation durchgeführt. Der überschüssige Alkohol wurde bei einer Temperatur von ca. 88 °C abdestilliert. Der Rückstand wurde auf etwas Kieselgel aufgezogen und mittels Säulenchromatographie (Kieselgel, Ethylacetat/Ligroin 9+1) gereinigt. Diese Methode zur Aufreinigung war erfolgreich und man konnte **(14)** rein darstellen.

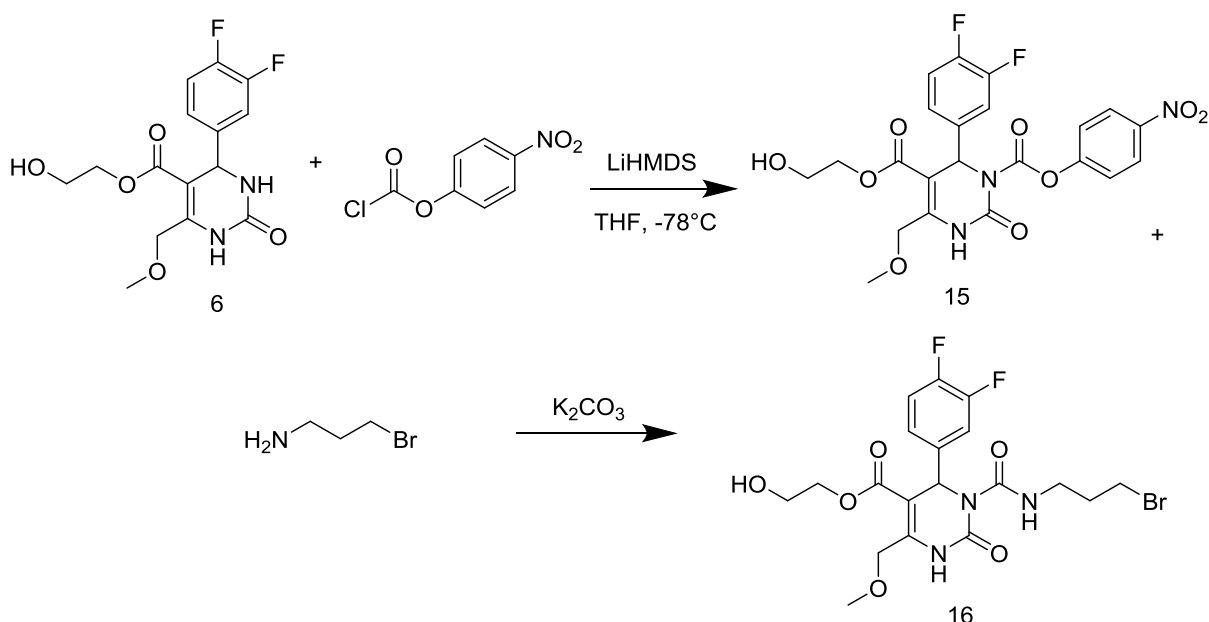
2.3.8 Synthese von 2-Hydroxyethyl-4-(3,4-difluorphenyl)-6-(methoxymethyl)-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidin-5-carbonsäureester²² (**6**)



2-Hydroxyethyl-4-methoxyacetoacetat (**14**), 3,4-Difluorbenzaldehyd und Harnstoff wurden im Sinne einer Biginelli-Zyklisierung unter Inertgas in trockenem Tetrahydrofuran gelöst und bei Raumtemperatur gerührt. Die Mischung wurde mit Kupfer(I)oxid und Essigsäure versetzt und anschließend Bortrifluoriddiethyldietherat langsam zugetropft. Die Lösung wurde für 8 Stunden zum Rückfluss erhitzt. Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur wurde die Reaktion durch Gießen auf eine Mischung aus Eis und Natriumhydrogencarbonat beendet. Das entstandene Gemisch wurde über Celite[®] filtriert und mit Dichlormethan gut nachgewaschen. Die grünliche organische Phase wurde von der blauen wässrigen Phase

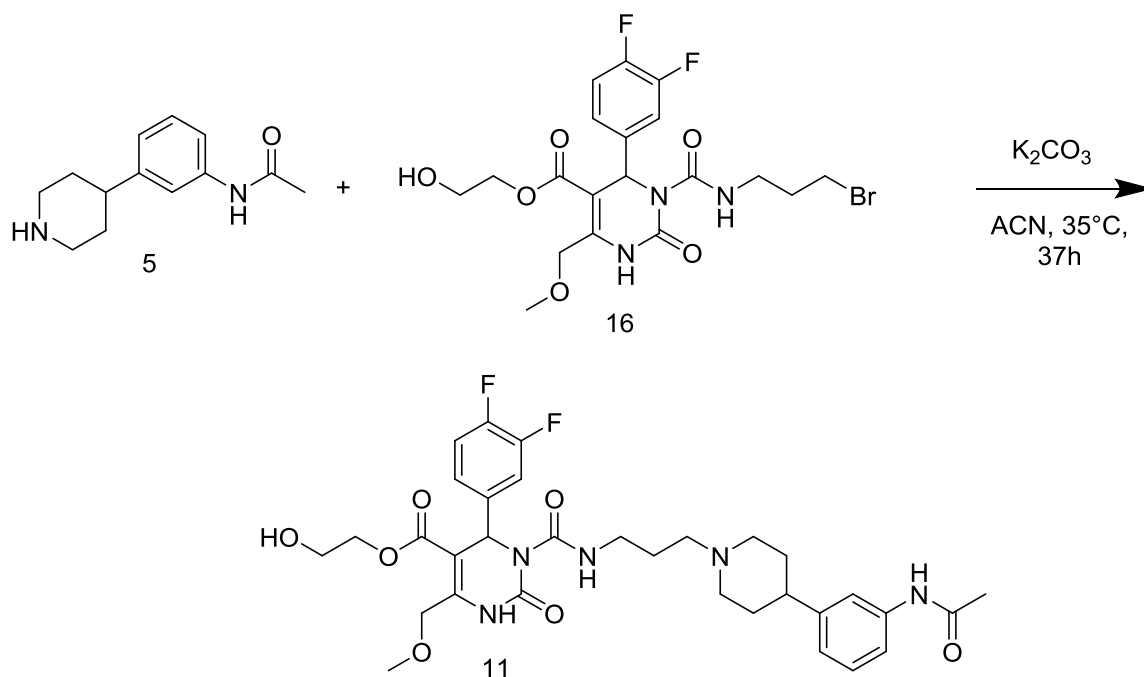
getrennt und die wässrige Phase mehrmals mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Na_2SO_4 getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt **6** (grünes Öl) wurde mittels Säulenchromatographie (Kieselgel, Ethylacetat/Methanol 98+2) gereinigt.

2.3.9 Synthese von 2-Hydroxyethyl-3-(3-brompropylcarbamoyl)-4-(3,4-difluorphenyl)-6-(methoxymethyl)-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidin-5-carbonsäureester²² (**16**)



In dieser Reaktion wurde untersucht, ob die Synthese von (**16**) ohne den Umweg des Schützens/Entschützens der freien OH-Funktion von (**15**) zu realisieren ist. Pyrimidinon (**6**) und Chlorameisensäure-4-nitrophenylester wurden analog der Reaktion in Punkt 2.3.2 als One-Pot-Synthese durchgeführt. Nach Reinigung des Produktes mittels Säulenchromatographie (Kieselgel, Ethylacetat/Ligroin 1+1) konnte das gewünschte Bromid (**16**) in moderater Ausbeute gewonnen werden.

2.3.10 Synthese von 2-Hydroxyethyl-3-(3-(4-(3-acetamidophenyl)piperidin-1-yl)propylcarbamoyl)-4-(3,4-difluorphenyl)-6-(methoxymethyl)-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidin-5-carbonsäureester²² (**11**)



Seitenkette (**5**) wurde wie zuvor in Acetonitril aufgenommen und mit Bromid (**16**) in Gegenwart von Kaliumcarbonat versetzt. Unter Inertgas wurde das Reaktionsgemisch für 37 Stunden bei 35 °C gerührt. Anschließend wurde die gelbe Suspension filtriert, der Filtrerrückstand mit Ethylacetat nachgewaschen und das Filtrat unter vermindertem Druck eingedampft. Der ölige Rückstand wurde in Ethylacetat aufgenommen und zweimal mit gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung gewaschen. Dann wurden die wässrigen Phasen mit Ethylacetat extrahiert. Nach dem Entfernen des Lösungsmittels unter vermindertem Druck erfolgte die Reinigung des Produktes HE@SNAP (**11**) mittels Säulenchromatographie (Kieselgel, Dichlormethan/Methanol 9+1).

2.4 Zusammenfassung

Mithilfe der durchgeführten Arbeiten konnten die Syntheseschritte zur Herstellung des Eduktes HE@SNAP **(11)** um 2 Stufen verkürzt und auch hinsichtlich der Gesamtausbeute verbessert werden. Die bestehende Syntheseroute²² sah vor, das Zwischenprodukt Hydroxyethylester **(6)** mit tert-Butyldiphenylsilylchlorid zu schützen, bevor die anschließende zweistufige Brompropylierung durchgeführt wird. Durch diese Reaktion erhielt man die Verbindung **(9)**, die anschließend mit Seitenkette **(5)** umgesetzt wurde. Schließlich erfolgte die Abspaltung der tert-Butyldiphenylsilyl-Schutzgruppe mittels Tetrabutylammoniumfluorid in THF und man erhielt das Edukt HE@SNAP **(11)** (siehe Schema 2).

Die durchgeführten Synthesearbeiten und NMR-spektroskopische Untersuchungen haben gezeigt, dass Hydroxyethylester **(6)** nicht geschützt werden muss, um erfolgreich über 2 Stufen zu Verbindung **(11)** zu gelangen (siehe Schema 3).

Schließlich kann aus dem Edukt HE@SNAP **(11)** die Zielverbindung TOE@SNAP **(12)** hergestellt werden.

3 EXPERIMENTELLER TEIL

3.1 Allgemeines

Spektren:

Hochauflösende Massenspektren wurden auf einem Finnigan MAT 8230 (EI, 70eV) und einem Finnigan MAT 900 S (ESI, 4 kV, 3 μ A ACN/MeOH) aufgenommen.

^1H -, ^{13}C -NMR-Spektren wurden auf einem Bruker Avance DPX-200 Spektrometer bei 27°C (200.13 MHz für ^1H , 50.32 MHz für ^{13}C) oder einem Varian UnityPlus 300 Spektrometer bei 28°C (299.95 MHz für ^1H , 75.43 für ^{13}C) aufgenommen. Die Lösungsmittelsignale wurden als interner Standard verwendet und die Werte der chemischen Verschiebungen auf TMS bezogen:

CDCl_3 : 7.26 ppm für ^1H - und 77.0 für ^{13}C -Spektren

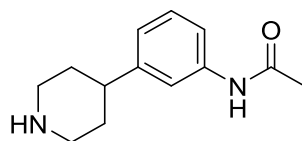
DMSO-d_6 : 2.49 ppm für ^1H - und 39.50 ppm für ^{13}C -Spektren

Chromatographische Trennungen:

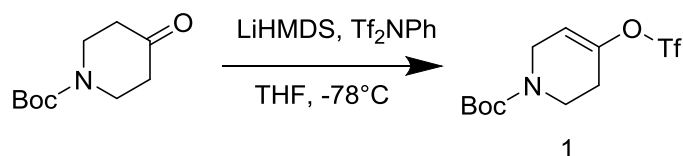
Für die **Dünnschichtchromatographie** wurden Merck DC-Aluminiumfolien (Kieselgel 60 F_{254} , Schichtdicke 0.2 mm; Kieselgel 60 RP-18 F_{254s} , Schichtdicke 0.2 mm) verwendet.

Für die **Säulenchromatographie** wurde Merck Kieselgel 60 F_{254} eingesetzt.

3.2 Synthese von N-(3-(Piperidin-4-yl)phenyl)acetamid²² (5)

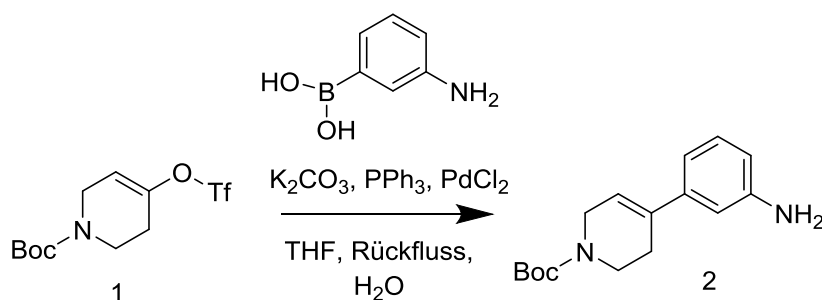


3.2.1 Synthese von tert-Butyl-4-(trifluormethylsulfonyloxy)-5,6-dihydropyridin-1(2H)-carbonsäureester²² (1)



Eine Lösung von 4-N-Boc-Piperidinon (7.0 g, 35.13 mmol) in THF (54.7 ml) wird unter Inertgas auf -78 °C gekühlt und LiHMDS (45.7 ml, 45.67 mmol, 1M in THF) langsam zugetropft. Nach 30 min wird eine Lösung von Tf₂NPh (13.81 g, 38.65 mmol) in THF (41.1 ml) zugetropft und weitere 15 min bei -78 °C gerührt. Anschließend wird das Reaktionsgemisch über Nacht auf Raumtemperatur gebracht. Das Reaktionsgemisch (**1**) wurde ohne weitere Reinigung im nächsten Reaktionsschritt eingesetzt.

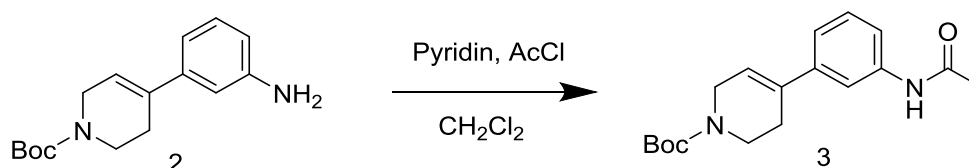
3.2.2 Synthese von tert-Butyl-4-(3-aminophenyl)-5,6-dihydropyridin-1(2H)-carbonsäureester²² (2)



Die Reaktionslösung von Triflat **(1)** (entsprechend 7.0 g, 35.13 mmol 4-N-Boc-Piperidinon) wird mit H₂O (54.7 ml) und THF (136.7 ml) verdünnt. Dann werden K₂CO₃ (13.11 g, 94.86 mmol), 3-Aminophenylboronsäure-Hemisulfat (5.72 g, 31.97 mmol), PPh₃ (839 mg, 3.20 mmol) und PdCl₂ (280 mg, 1.58 mmol) zugesetzt. Anschließend wird unter Inertgasatmosphäre über Nacht unter Rückfluss erhitzt. Die abgekühlte rotbraune Suspension wird in EtOAc aufgenommen, die Phasen getrennt, die wässrige Phase dreimal mit EtOAc extrahiert und die vereinigten organischen Phasen über MgSO₄ getrocknet. Nach Reinigung mittels Säulenchromatographie (Kieselgel, EtOAc/Ligroin 1+2) erhält man Anilin **(2)**.

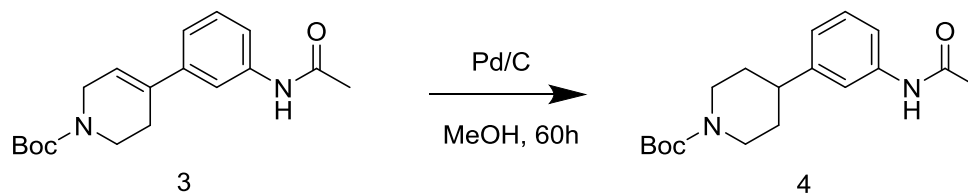
Ausbeute: 5.30 g (55.0 %) gelbes Harz

3.2.3 Synthese von tert-Butyl-4-(3-acetamidophenyl)-5,6-dihydropyridin-1(2H)-carbonsäureester²² **(3)**



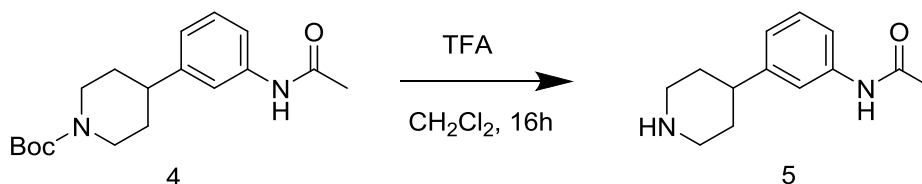
Eine Lösung von Anilin **(2)** (5.30 g, 19.32 mmol) in CH₂Cl₂ (37 ml) wird mit Pyridin (8.4 ml, 8.25 g, 104.32 mmol) versetzt. Dann wird auf 0 °C gekühlt, mit Acetylchlorid (3.7 ml, 4.09 g, 52.16 mmol) versetzt und nach 20 Minuten auf Raumtemperatur erwärmt. Nach 1 h 30 min wird die Reaktion durch Zugabe von gesättigter NH₄Cl-Lösung (ca. 10 ml) beendet. Das Gemisch wird in EtOAc aufgenommen, jeweils zweimal mit gesättigter NH₄Cl - und NaHCO₃-Lösung gewaschen. Anschließend werden die Phasen getrennt, die wässrigen Phasen mit EtOAc extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das nach Säulenfiltration (EtOAc/Ligroin 2+1) erhaltene gelbliche Öl **(3)** wird ohne weitere Reinigung im nächsten Reaktionsschritt umgesetzt.

3.2.4 Synthese von tert-Butyl-4-(3-acetamidophenyl)piperidin-1-carbonsäureester²² (**4**)



Eine Lösung des erhaltenen Öls (**3**) in MeOH (59.8 ml) wird mit Pd/C (10 Gew.-% Pd, 277 mg, 2.6 mmol) versetzt. Anschließend wird 60 h bei Normaldruck und Raumtemperatur hydriert. Die Suspension wird über Celite[®] filtriert, mit MeOH nachgewaschen und man erhält nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum Acetamid (**4**). Dieses Rohprodukt (5.89 g) wird ohne weitere Reinigung im nächsten Schritt weiterverarbeitet.

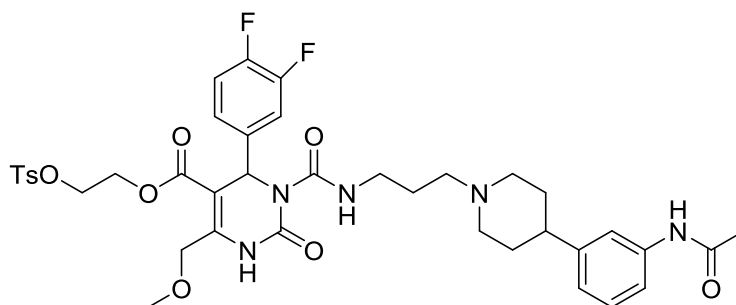
3.2.5 Synthese von N-(3-(Piperidin-4-yl)phenyl)acetamid²² (**5**)



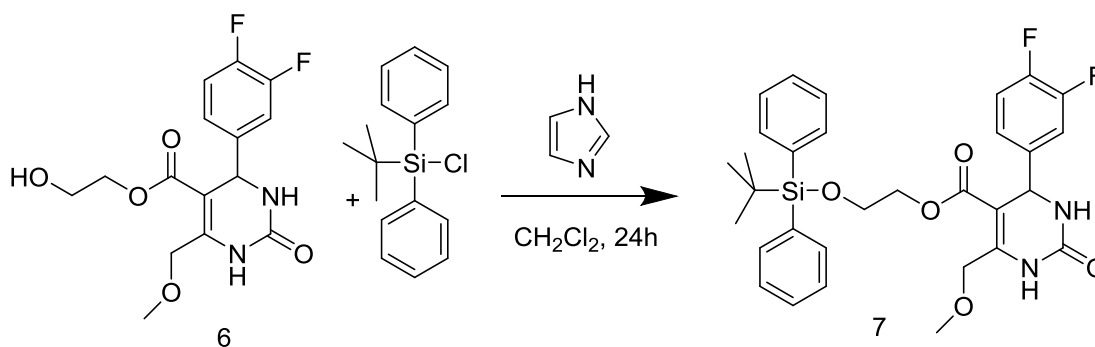
Eine Lösung des geschützten Boc-Amins (**4**) (5.89 g, 18.50 mmol) in CH₂Cl₂ (408.8 ml) wird mit TFA (27.5 ml, 40.92 g, 358.86 mmol) versetzt und für 16 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wird die Lösung mit Toluol (164.2 ml) versetzt und das Lösungsmittel unter reduziertem Druck entfernt. Das Reaktionsprodukt (**5**) wird dann ohne weitere Reinigung in der Herstellung von (**11**) und (**12**) eingesetzt.

3.3 Synthese von TOE@SNAP (12):

2-(Tosyloxy)ethyl-3-(3-(4-(3-acetamidophenyl)piperidin-1-yl)propyl-carbamoyl)-4-(3,4-difluorophenyl)-6-(methoxymethyl)-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidin-5-carbonsäureester²²



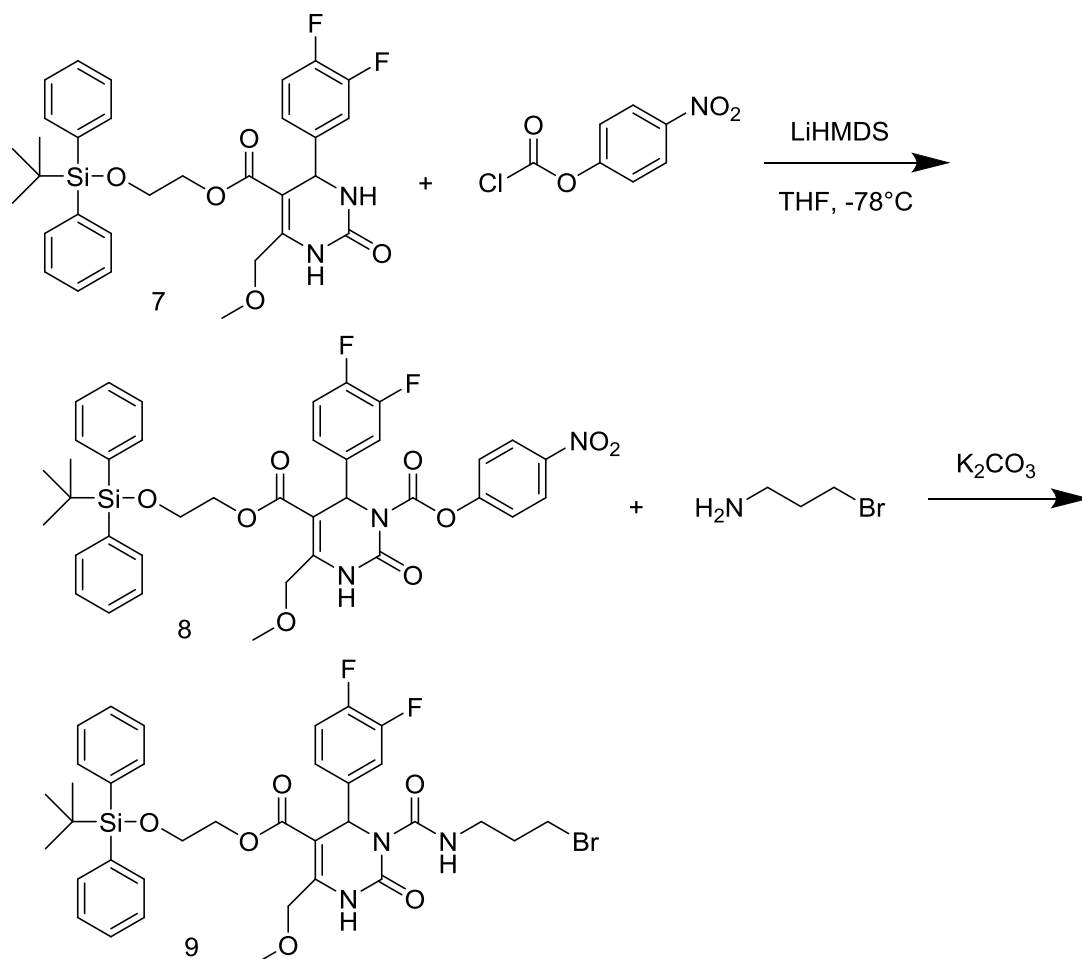
3.3.1 Synthese von 2-((tert-butyldiphenylsilyl)oxy)ethyl-4-(3,4-difluorophenyl)-6-(methoxymethyl)-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidin-5-carbonsäureester²² (7)



Hydroxyethylester (**6**) (6.60 g, 19.28 mmol) und Imidazol (1.31 g, 19.28 mmol) werden in absolutem CH_2Cl_2 (50 ml) gerührt. Die Reaktionstemperatur wird auf 0 °C gesenkt und tert-Butyldiphenylsilyloxylchlorid (5.0 ml, 5.30g, 19.28 mmol), gelöst in absolutem CH_2Cl_2 , langsam zugetropft. 24 h wird bei Raumtemperatur gerührt und anschließend wird das Lösungsmittel unter reduziertem Druck entfernt. Der Rückstand (**7**) wird säulenchromatographisch (Kieselgel, CH_2Cl_2 / MeOH 95+5) gereinigt.

Ausbeute: 6.95 g (62 %)

3.3.2 Synthese von 2-((tert-Butyldiphenylsilyl)oxy)ethyl-3-(3-bromopropylcarbamoyl)-4-(3,4-difluorphenyl)-6-(methoxymethyl)-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidin-5-carbonsäureester²² (**9**)

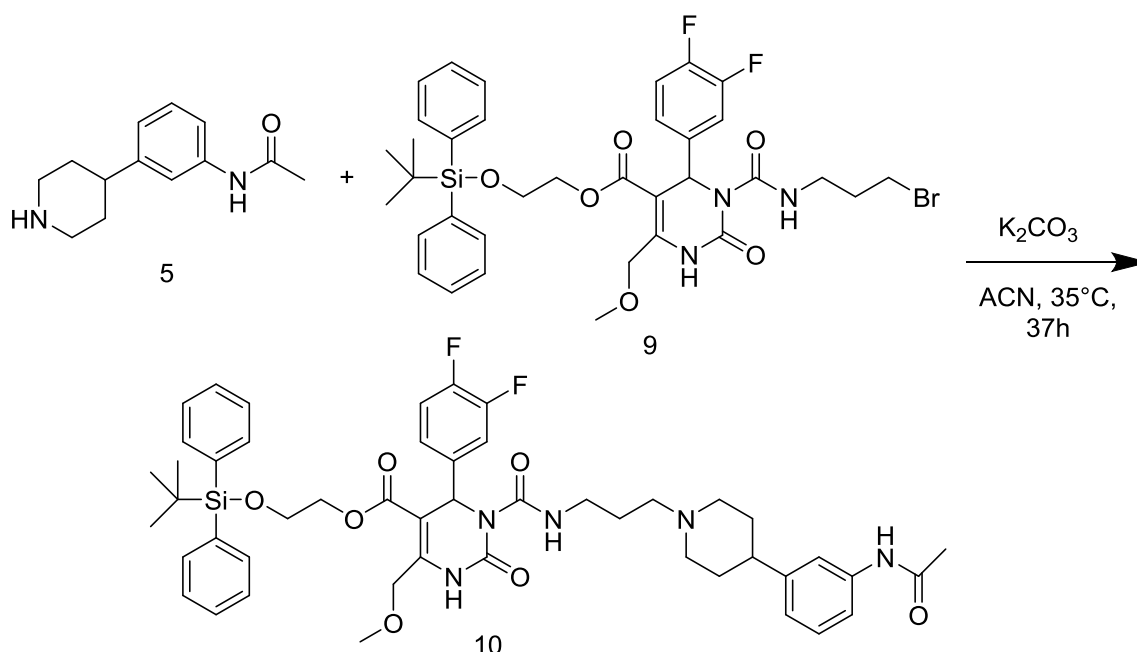


Zu einer Lösung von Pyrimidinon (**7**) (6.95 g, 11.96 mmol) und Chlorameiseinsäure-4-nitrophenylester (8.40 g, 41.86 mmol) in THF (250 ml) wird bei -78 °C langsam LiHMDS (33.5 ml, 5.6 g, 33.49 mmol, 1 M in THF) zugetropft. Nach 10 min wird die Reaktion durch Zugabe von H₂O (6 ml) beendet, auf 0 °C erwärmt, mit K₂CO₃ (6.60 g, 47.84 mmol) und 3-Aminopropylbromid-Hydrobromid (7.90 g, 35.88 mmol) versetzt und über Nacht auf Raumtemperatur erwärmt. Die gelbe Suspension wird fünfmal mit gesättigter NaHCO₃-Lösung gewaschen, die Phasen getrennt, die wässrige Phase mit Et₂O extrahiert und die vereinigten organischen Phasen über Na₂SO₄ getrocknet. Nachdem Entfernen des Lösungsmittels unter reduziertem Druck wird mittels Säulenchromatographie (Kieselgel,

EtOAc/Ligroin 1+1 und CH₂Cl₂/MeOH 95+5) gereinigt und man erhält das Reaktionsprodukt Bromid (**9**).

Ausbeute: 6.38 g (71.7 %) gelbes Öl

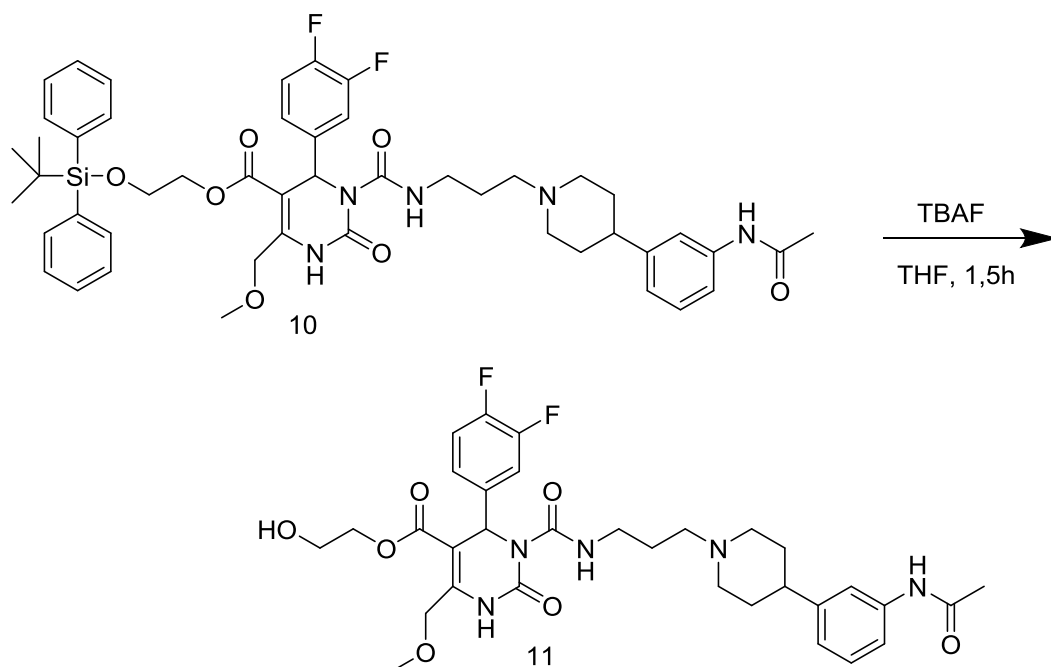
3.3.3 Synthese von 2-((tert-Butyldiphenylsilyl)oxy)ethyl-3-(3-(4-(3-acetamidophenyl)piperidin-1-yl)propylcarbamoyl)-4-(3,4-difluorphenyl)-6-(methoxymethyl)-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidin-5-carbonsäureester²² (**10**)



2.52 g (11.54 mmol) des Rückstandes von (**5**) (siehe Reaktion 3.2.5) werden in ACN (350 ml) gelöst, mit Bromid (**9**) (6.38 g, 8.57 mmol) und K₂CO₃ (12.60 g, 90.85 mmol) versetzt und unter Inertgasatmosphäre für 37 h bei 35 °C gerührt. Die gelbe Suspension wird filtriert, der Filtrerrückstand mit EtOAc gewaschen und das Filtrat im Vakuum von Lösungsmittel befreit. Anschließend wird der ölige Rückstand in EtOAc aufgenommen und zweimal mit gesättigter NaHCO₃-Lösung gewaschen. Die wässrigen Phasen werden mit EtOAc extrahiert und die vereinigten organischen Phasen über MgSO₄ getrocknet. Danach wird das Lösungsmittel unter reduziertem Druck entfernt. Nach Säulenchromatographie (Kieselgel, CH₂Cl₂/MeOH 9+1) des Rohproduktes erhält man (**10**).

Ausbeute: 3.39 g (44.8 %) gelbes Öl

3.3.4 Synthese von 2-Hydroxyethyl-3-(3-(4-(3-acetamidophenyl)piperidin-1-yl)propylcarbamoyl)-4-(3,4-difluorphenyl)-6-(methoxymethyl)-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidin-5-carbonsäureester²² (**11**)

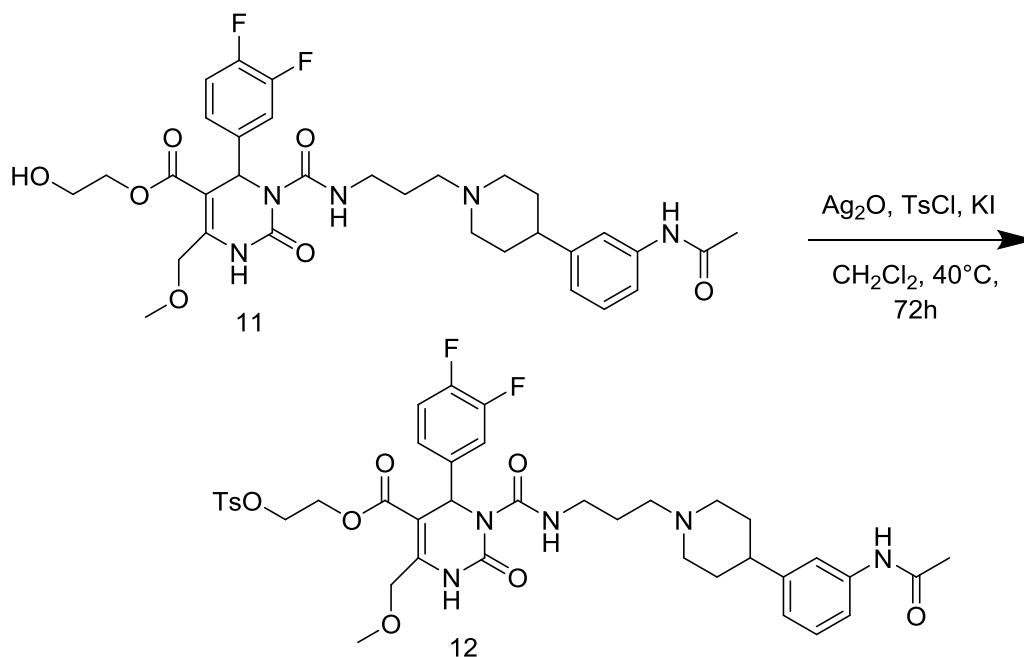


Eine Lösung von (**10**) (3.39 g, 3.84 mmol) in THF (51.5 ml) wird tropfenweise mit TBAF (13.5 ml, 3.52 g, 13.45 mmol, 1M in abs. THF) versetzt. Nach 1.5 h Rühren bei Raumtemperatur wird H₂O (2 ml) zugetropft, um die Reaktion zu beenden. Das Lösungsmittel wird im Vakuum eingedampft und anschließend das Rohprodukt (**11**) mittels Säulenchromatographie (Kieselgel, EtOAc/MeOH 8+2) gereinigt.

Ausbeute: 1.09 g (44.1 %) gelbes Öl

3.3.5 Synthese von TOE@SNAP (12):

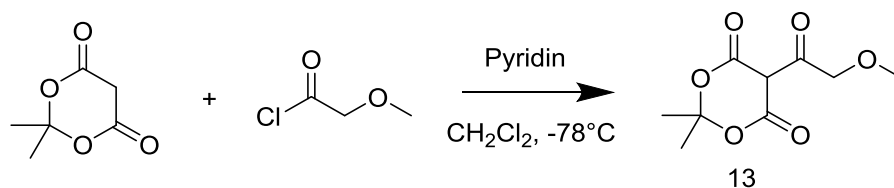
2-(Tosyloxy)ethyl-3-(3-(4-(3-acetamidophenyl)piperidin-1-yl)propyl-carbamoyl)-4-(3,4-difluorophenyl)-6-(methoxymethyl)-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidin-5-carbonsäureester²²



Zu einer Lösung des Alkohols **(11)** (1.09 g, 1.693 mmol) in absolutem CH_2Cl_2 (10.9 ml) wird Tosylchlorid (639 mg, 3.35 mmol), KI (556 mg, 3.35 mmol) und zuletzt Ag_2O (777 mg, 3.35 mmol) unter Rühren zugegeben. Diese Mischung wird 72 h unter Inertgasatmosphäre bei 40°C gerührt. Das Reaktionsgemisch wird über Celite[®] filtriert. Das Lösungsmittel wird unter reduziertem Druck entfernt und der Rückstand **(12)** mittels Säulenchromatographie (Kieselgel, $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 9+1) gereinigt.

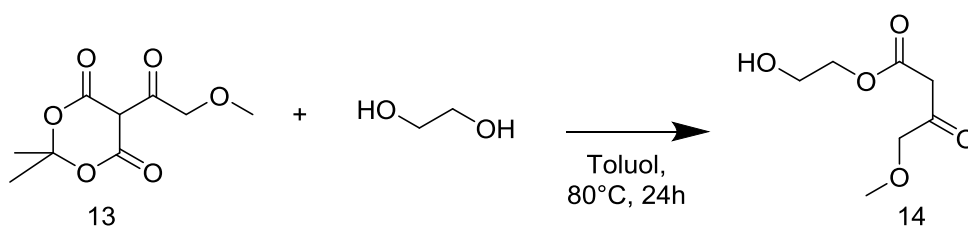
Ausbeute: 342 mg (25.3 %)

3.3.6 Synthese von 5-(2-Methoxyacetyl)-2,2-dimethyl-1,3-dioxan-4,6-dion²² (**13**)



Meldrumsäure (85.28 g, 591.69 mmol) und Methoxyacetylchlorid (70.63 g, 650.86 mmol) werden in absolutem CH_2Cl_2 (1000 ml) gelöst. Danach wird Pyridin (95.5 ml, 93.61 g, 1183.38 mmol) unter Inertgasatmosphäre bei -78°C tropfenweise zugegeben. Die Reaktionstemperatur wird auf 0°C erwärmt und bei dieser Temperatur eine Stunde lang gerührt. Anschließend wird eine weitere Stunde bei Raumtemperatur gerührt. Das Reaktionsgemisch wird mit 1N HCl und mit H_2O gewaschen und die organische Phase über MgSO_4 getrocknet. Nach dem Abfiltrieren wird das Lösungsmittel abgedampft und man erhält 92.45 g des entstandenen Produktes (**6**) als rotbraunes Harz. Dieses wird ohne weitere Reinigung für den nächsten Reaktionsschritt eingesetzt.

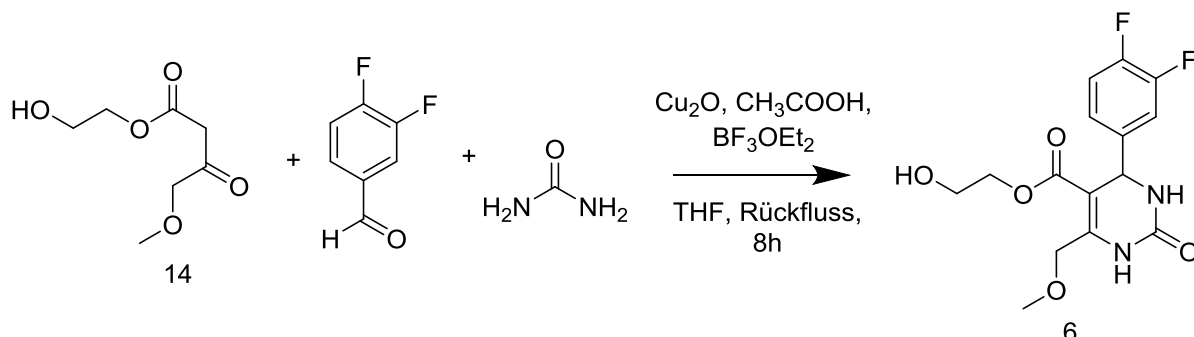
3.3.7 Synthese von 2-Hydroxyethyl-4-methoxy-3-oxobutansäureester²² (**14**)



92.45 g (427.63 mmol) des Reaktionsproduktes (**13**) und Ethylenglykol (im Überschuss) werden mit Toluol (ca. 200 ml) versetzt und die Mischung für 24 h auf 80°C (mit Trockenrohr) erhitzt. Toluol wird unter reduziertem Druck entfernt und überschüssiges Ethylenglykol abdestilliert. Anschließend wird der Rückstand (**14**) mittels Säulenchromatographie (Kieselgel, EtOAc/Ligroin 9+1) gereinigt.

Ausbeute: 48.61 g (64.5 %) gelbes Öl

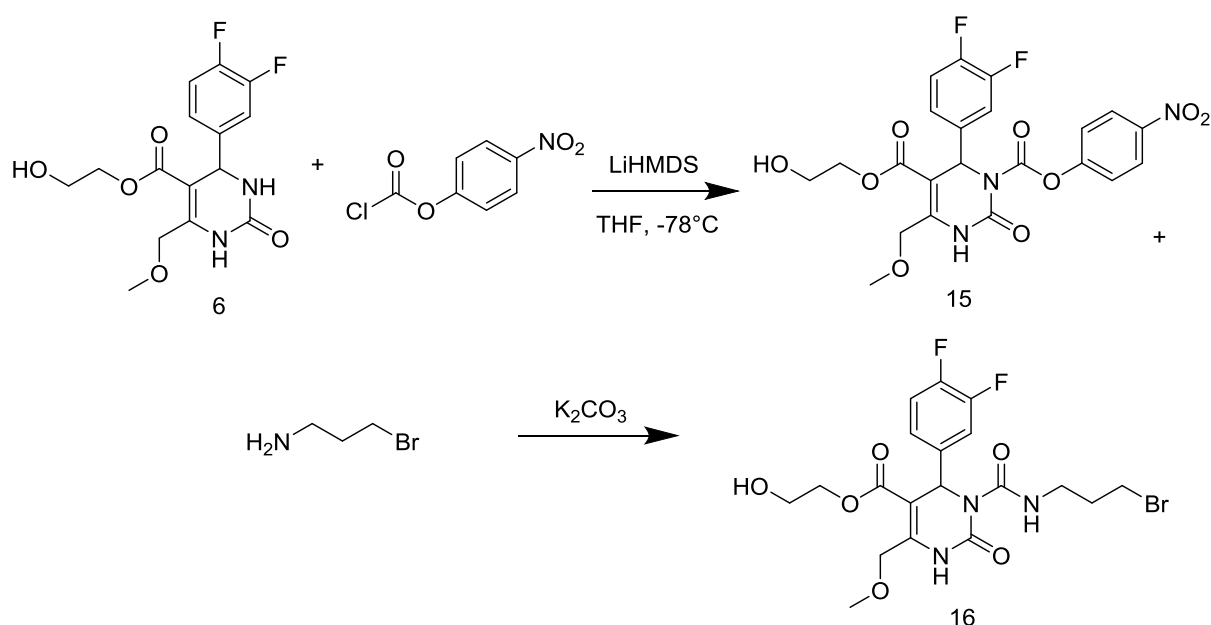
3.3.8 Synthese von 2-Hydroxyethyl-4-(3,4-difluorphenyl)-6-(methoxymethyl)-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidin-5-carbonsäureester²² (**6**)



Eine Lösung von 2-Hydroxyethyl-4-methoxyacetoacetat (**14**) (19.34 g, 109.78 mmol) in THF (96.2 ml) wird mit 3,4-Difluorbenzaldehyd (13.7 ml, 17.65 g, 113.08 mmol) und Harnstoff (9.90 g, 164.67 mmol) versetzt und unter Inertgasatmosphäre gut gerührt. Danach werden zu dieser Mischung bei Raumtemperatur Cu_2O (1.6 g, 10.98 mmol) und CH_3COOH (0.7 ml) zugegeben und anschließend Bortrifluoriddiethyletherat (15.8 ml, 17.76 g, 125.15 mmol) zugetropft. Die Mischung wird für 8 h unter Rückfluss erhitzt. Das Reaktionsgemisch wird abgekühlt und auf eine Mischung aus Eis (160 g) und NaHCO_3 (30 g) gegossen und das entstandene Gemisch über Celite[®] filtriert. Mit CH_2Cl_2 wird gut nachgewaschen. Die organische Phase wird vom Filtrat getrennt und die wässrige Phase dreimal mit CH_2Cl_2 extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Na_2SO_4 getrocknet und das Lösungsmittel unter reduziertem Druck entfernt. Das Rohprodukt (**6**) wird mittels Säulenchromatographie (Kieselgel, EtOAc/MeOH 98+2) gereinigt.

Ausbeute: 14.86 g (39.5 %) gelbes Öl

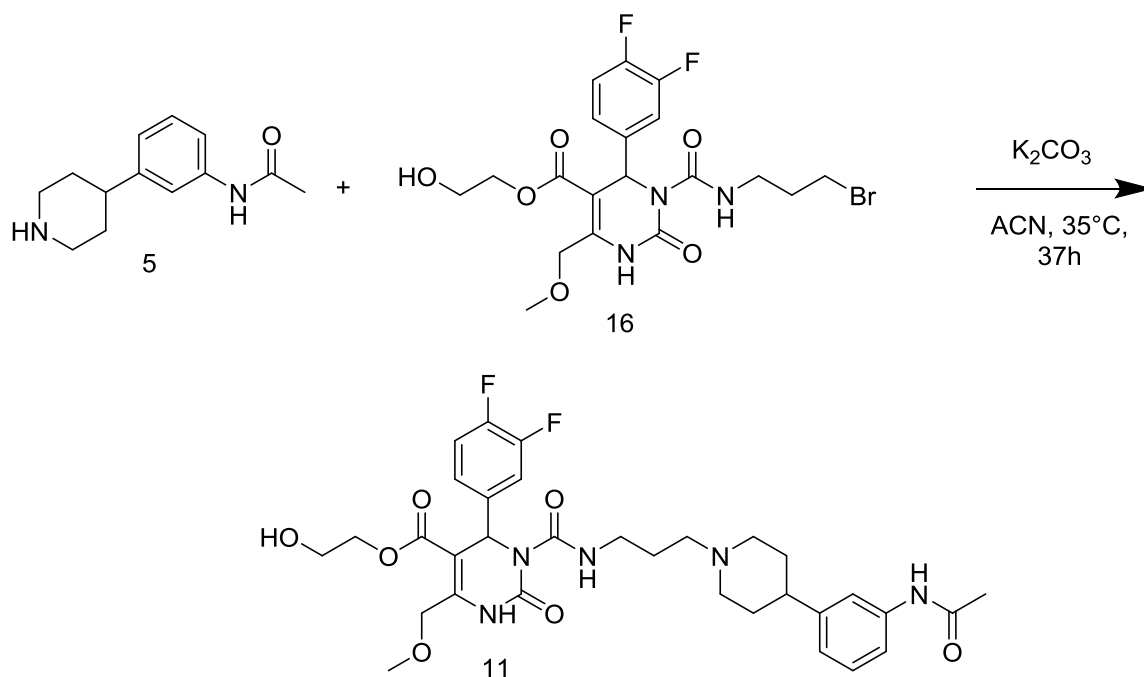
3.3.9 Synthese von 2-Hydroxyethyl-3-(3-brompropylcarbamoyl)-4-(3,4-difluorphenyl)-6-(methoxymethyl)-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidin-5-carbonsäureester²² (**16**)



Zu einer Lösung von Pyrimidinon (**6**) (14.86 g, 43.41 mmol) und Chlorameisensäure-4-nitrophenylester (30.63 g, 151.94 mmol) in THF (550 ml) wird bei -78 °C langsam LiHMDS (121.6 ml, 20.34 g, 121.55 mmol, 1 M in THF) zugetropft. Nach 10 min wird die Reaktion durch Zugabe von H₂O (13.9 ml) beendet, auf 0 °C erwärmt und mit K₂CO₃ (24.0 g, 173.65 mmol) und 3-Aminopropylbromid-Hydrobromid (28.5 g, 130.24 mmol) versetzt. Anschließend wird über Nacht auf Raumtemperatur erwärmt. Die leuchtend gelbe Suspension wird zweimal mit gesättigter NaHCO₃-Lösung gewaschen und die Phasen getrennt. Die wässrige Phase wird mit Et₂O extrahiert und die vereinigten organischen Phasen über MgSO₄ getrocknet. Mittels Säulenchromatographie (Kieselgel, EtOAc/Ligroin 1+1) wird das Rohprodukt (**16**) (62.49 g) gereinigt.

Ausbeute: 12.34 g (56.1 %) gelbes Öl

3.3.10 Synthese von 2-Hydroxyethyl-3-(3-(4-(3-acetamidophenyl)piperidin-1-yl)propylcarbamoyl)-4-(3,4-difluorphenyl)-6-(methoxymethyl)-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidin-5-carbonsäureester²² (**11**)



4.85 g (22.22 mmol) des Rückstandes (**5**) von Reaktion 3.2.5 werden in ACN (569.3 ml) aufgenommen, mit Bromid (**9**) (7.87 g, 15.55 mmol) und mit K₂CO₃ (22.12 g, 159.96 mmol) versetzt und unter Inertgasatmosphäre für 37 h bei 35 °C gerührt. Die gelbe Suspension wird filtriert. Der Filtrerrückstand wird mit EtOAc gewaschen und das Filtrat im Vakuum vom Lösungsmittel befreit. Der ölige Rückstand wird in EtOAc aufgenommen und zweimal mit gesättigter NaHCO₃-Lösung gewaschen. Anschließend werden die Phasen getrennt. Die wässrigen Phasen werden mit EtOAc extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Nach der Reinigung mittels Säulenchromatographie (Kieselgel, CH₂Cl₂/MeOH 9+1) erhält man das Produkt (**11**).

Ausbeute: 1.83 g (18.3 %)

4 LITERATURVERZEICHNIS

1. Bittencourt, J. C.; Elias, C. F. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **1993**, 680, 462-465
2. Qu, D.; Ludwig, D. S.; Gammeltoft, S.; Piper, M.; Pelleymounter, M. A.; Cullen, M. J.; Mathes, W. F.; Przypek, J.; Kanarek, R.; Maratos-Flier, E. *Nature*, **1996**, 380, 243-247
3. Tadayyon M., Welters H.J., Haynes A.C., Cluderay J.E., Hervieu G. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2000**; 275:709
4. Kokkotou E., Moss A.C., Torres D., Karagiannides I., Cheifetz A., Liu S., O'Brian M., Maratos-Flier E., Pothoulakis C. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2008**; 105:10613
5. Bradley R.L., Kokkotou E.G., Maratos-Flier E., Cheatham B. *Diabetes*. **2000**; 1073:49
6. Bradley R.L., Mansfield J.P., Maratos-Flier E., Cheatham B. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* **2002**; 283:E584
7. Borowsky, B.; Durkin, M. M.; Ogozalek, K.; Marzabadi, M. R.; DeLeon, J.; Heurich, R.; Lichtblau, H.; Shaposhnik, Z.; Daniewska, I.; Blackburn, T. P.; Branchek, T. A.; Gerald, C.; Vayesse P. J.; Forray C. *Nat. Med.* **2002**, 8, 825-830
8. Kawauchi, H.; Kawazoe, I.; Tsubokawa, M.; Kishida, M.; Baker, B. I. *Nature*, **1983**, 305, 321-323
9. Kawauchi, H.; Naito, N.; Ono, M. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **1993**, 680, 64-77
10. Rance, T.; Baker, B. I. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **1979**, 37 (1), 64-73
11. Francke, F. *Funktionelle Untersuchungen an den MCH-Rezeptor 1 interagierenden Proteinen MIZIP und Neurochondrin*. Dissertation, Universität Hannover, Hannover, **2005**, 9ff.
12. Nahon, J.-L.; Presse, F.; Breton, C.; Hervieu, G.; Schorpp, M. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **1993**, 680, 111-129
13. WHO: Obesity and overweight
<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/> (02.05.2014)
14. Wirth, A., *Adipositas - Epidemiologie, Ätiologie, Folgekrankheiten, Therapie; mit 46 Tabellen*; 2., überarb. u. erw. Auflage; Springer: Berlin [u.a.], **2000**
15. World Health Organisation: *Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO Consultation*. In: *WHO Technical Report Series*. **2000**, 894
16. Mutschler, E., *Mutschler Arzneimittelwirkungen - Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie; mit einführenden Kapiteln in die Anatomie, Physiologie und*

- Pathophysiologie*; 8., völlig neu bearb. und erw. Auflage; Wiss.Verl.-Ges.: Stuttgart, **2001**
17. Schulte, H.; Cullen, P.; Assmann, G., *Obesity, mortality and cardiovascular disease in the Munster Heart Study (PROCAM)*, *Atherosclerosis*, **1999**, 144, (1), 199-209
 18. Hörmann, R., *Schilddrüsenkrankheiten - Leitfaden für Praxis und Klinik*, 4. aktualisierte und erweiterte Auflage, ABW-Wissenschaftsverlag: Berlin, **2005**
 19. Jebb, S. A. *Proc. Nutr. Soc.*, **1999**, 58, 1-14
 20. Elias, C. F.; Sita, L. V.; Zambon, B. K.; Oliviera, E. R.; Vasconcelos, L. A. P.; Bittencourt, J. C. J. *Chem. Neuroanat.*, **2008**, 35, 188-201
 21. Kirschbaum, C. *Biopsychologie von A bis Z*. Springer, **2008**, 204
 22. Schirmer, E. *Synthese von Precursoren und Referenzsubstanzen von MCH1-Rezeptor PET-Tracer*. Dissertation, Universität Wien, **2010**
 23. Ludwig, D. S.; Tritos, N. A.; Mastaitis, J. W.; Kulkarni, R.; Kokkotou, E.; Elmquist, J.; Lowell, B.; Flier, J. S.; Maratos-Flier, E. *J. Clin. Invest.*, **2001**, 107 (3), 379-386
 24. Bjursell, M.; Gerdin, A.-K.; Ploj, K.; Svensson, D.; Svensson, L.; Oscarsson, J.; Snaith, M.; Törnell, J.; Bohlooly-Y, M. *Diabetes*, **2006**, 55, 725-732
 25. Schwartz, M. W.; Woods, S. C.; Porte, D.; Seeley, R. J.; Baskin, D. G., *Central nervous system control of food intake*, *Nature* **2000**, 404, (6778), 661-671
 26. Palczewski, K.; Kumasaka, T.; Hori, T.; Behnke, C. A.; Motoshima, H.; Fox, B. A.; Le Trong, I.; Teller, D. C.; Okada, T.; Stenkamp, R. E.; Yamamoto, M.; Miyano, M. *Science*, **2000**, 289, 739-745
 27. Kolakowski, L. F.; Jung, B. P.; Nguyen, T.; Johnson, M.P.; Lynch, K. R.; Cheng, R.; Heng, H. H. Q.; George, S. R.; O'Dowd, B. F. *FEBS Lett.*, **1996**, 398, 253-258
 28. Saito, Y.; Nothacker, H.-P.; Wang, Z.; Lin, S. H. S.; Leslie, F.; Civelli, O. *Nature*, **1999**, 400, 265- 269
 29. Klabunde, T.; Hessler, G. *Chem. Bio. Chem.*, **2002**, 3 (10), 928-944
 30. Saito, Y.; Nothacker, H.-P.; Civelli, O: *TEM*, **2000**, 11(8), 299-303
 31. Chambers, J.; Ames, R. S.; Bergsma, D.; Muir, A.; Fitzgerald, L. R.; Hervieu, G.; Dytko, G. M.; Foley, J. J.; Martin, J.; Liu, W. S.; Park, J.; Ellis, C.; Ganguly, S.; Konchar, S.; Cluderay, J.; Leslie, R.; Wilson, S.; Sarau, H. M., *Nature*, **1999**, 400, 261-265
 32. Sailer, A. W.; Sano, H.; Zeng, Z. Z.; McDonald, T. P.; Pan, J.; Pong, S. S.; Feighner, S. D.; Tan, C. P.; Fukami, T.; Iwaasa, H.; Hrenjuk, D. L.; Morin, N. R.; Sadowski, S. J.; Ito, M.;

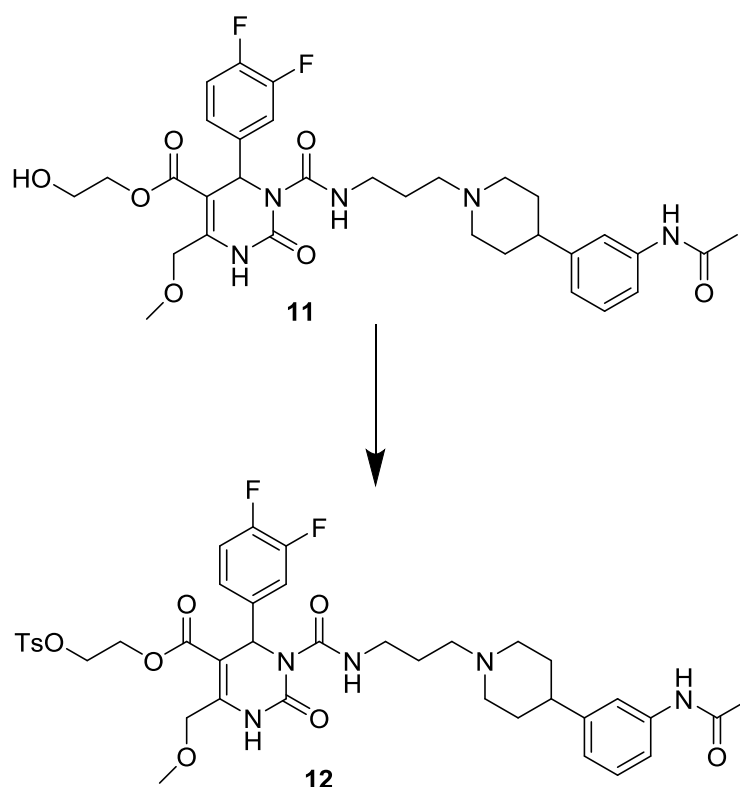
- Bansali, A.; Ky, B.; Figueroa, D. J.; Jiang, Q. P.; Austin, C. P.; MacNeil, D. J.; Ishihara, A.; Ihara, M.; Kanatani, A.; Van der Ploeg, L. H. T.; Howard, A. D.; Liu, Q. Y., *Identification and characterization of a second melanin-concentrating hormone receptor, MCH-2R, Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **2001**, 98, (13), 7564-7569
33. Basso, A. M.; Bratcher, N. A.; Gallagher, K. B.; Cowart, M. D.; Zhao, C. Sun, M.; Esbenshade, T. A.; Brune, M. E.; Fox, G. B.; Schmidt, M.; Collins, C. A.; Souers, A. J.; Iyengar, R.; Vasudevan, A.; Kym, P. R.; Hancock, A. A.; Rueter, L. E. *Eur. J. Pharmacol.*, **2006**, 540, 115-120
34. <http://www.nuklearmedizin.org/Nuklearmedizin.htm> (04.05.2014)
35. Wüst, F. R. *Trends in Org. Chem.*, **2003**, 10, 61-70
36. Shukla A. K., Kumar U., *J. Med. Phys.*, **2006**, 31, 13
37. Ishiwata, K., Kimura Y., de Vries E. F. J., Elsinga P. H., *Central Nervous System Agents in Medicinal Chemistry*, **2007**, 7(1), 57
38. Schlyer D. J., *Ann. Acad. Med. Singapore*, **2004**, 33, 146
39. L. K. Mien, Diplomarbeit, Universität Wien, **2003**
40. <http://de.wikipedia.org/wiki/Fluordesoxyglucose> (06.05.2014)
41. http://depts.washington.edu/nucmed/IRL/pet_intro/intro_src/section2.html (08.05.2014)
42. Lundqvist, H.; Lubberink, M.; Tolmachev, V. *Eur J. Phys.*, **1998**, 19, 57- 552
43. Grillenberger, K.; Schirrmeister, H., *Radioaktive Arzneimittel, Herstellung - Handhabung - Anwendung*; Wiss. Verl.-Ges.: Stuttgart, **2003**
44. Cherry, S. R.; Sorenson, J. A.; Phelps, M. E., *Physics in nuclear medicine*. 3rd edition; Saunders / Elsevier Science: Philadelphia, Pa. [u.a.], **2003**
45. Phelps, M. E., *PET - Physics, instrumentation, and scanners*. ed.; Springer: New York, NY, **2006**
46. <http://de.wikipedia.org/wiki/Positronen-Emissions-Tomographie> (09.05.2014)
47. T. Beyer, D. W. Townsend, T. Brun et al, *J Nucl Med*, **2000**, 41, 1369
48. Schicha H., Schober O., *Nuklearmedizin: Basiswissen und klinische Anwendung; mit 62 Tabellen*, 5., überarbeitete und aktualisierte Auflage; Schattauer: Stuttgart, **2003**
49. Laßnig, E., Brandl, J., Gallowitsch, H. J., Gomez, I., Grimm, G., Kresnik, E., ... & Unterweger, O. (**2000**). Nuklearmedizinische Vitalitätsdiagnostik in der Kardiologie:

- Myokardszintigraphie und Cardio-PET. *Journal für Kardiologie-Austrian Journal of Cardiology*, 7(3), 120-123.
50. <http://de.wikipedia.org/wiki/Radioaktivit%C3%A4t> (12.05.2014)
 51. Büll, U., *Nuklearmedizin - 122 Tabellen*, 3., neubearb. Aufl.; Thieme: Stuttgart [u.a.], **1999**
 52. http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Alpha_Decay.svg (12.05.2014)
 53. <http://de.wikipedia.org/wiki/Betastrahlung> (12.05.2014)
 54. <http://de.wikipedia.org/wiki/Elektroneneinfang> (13.05.2014)
 55. <http://www.kernfragen.de/kernfragen/lexikon/e/elektroneneinfang.php> (13.05.2014)
 56. <http://de.wikipedia.org/wiki/Gammastrahlung> (13.05.2014)
 57. <http://www.ratgeber-krebs.com/Strahlentherapie-Wirkungsweise--17146/> (16.05.2014)
 58. http://www.radon-info.de/shtml/rad_change.shtml (16.05.2014)
 59. http://www.lanuv.nrw.de/radioaktivitaet/natur_kunst.htm (16.05.2014)
 60. U. Haas, *Physik für Pharmazeuten und Mediziner*, 6. Auflage, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart **2002**, 557
 61. C. Staiger, S. M. Quaim, H. H. Coenen, H. Herzog, F. Rösch, *Pharmazie in unserer Zeit*, **2005**, 454-455
 62. <http://www.foerdegymnasium.de/projekte/Teilchenbeschleuniger/info.html> (17.05.2014)
 63. <http://de.wikipedia.org/wiki/Technetium-99m-Generator> (18.05.2014)
 64. <http://www.meduniwien.ac.at/nuklear/information/patienten/wasisteinradiopharmakon.html> (19.05.2014)
 65. <http://www.pharmazeutische-zeitung.de/index.php?id=555> (19.05.2014)
 66. <http://img.medscape.com/fullsize/migrated/581/204/eem581204.fig1.gif> (01.06.2014)

5 ANHANG

5.1 Zusammenfassung

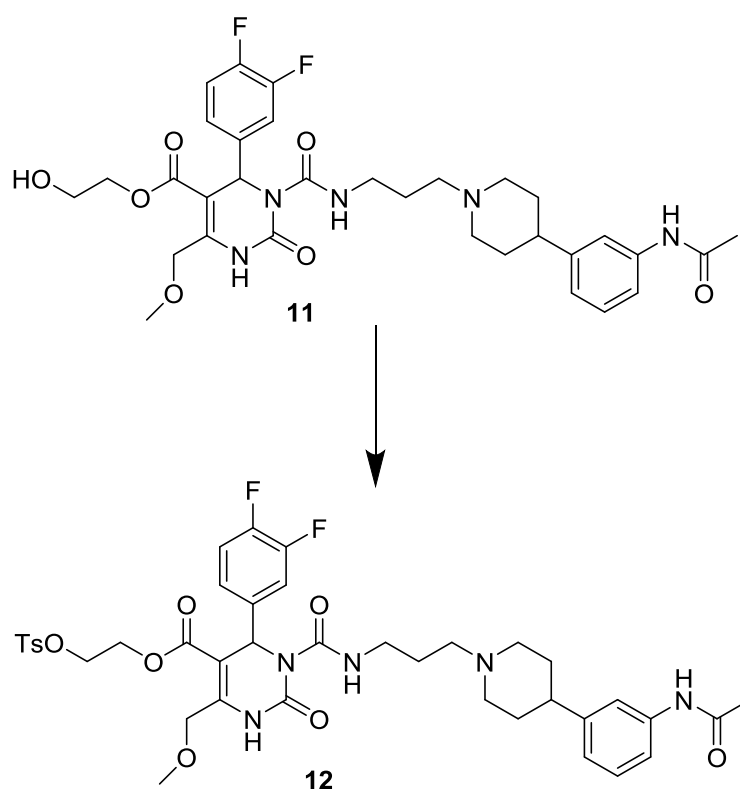
Das zyklische hypothalamische Neuropeptid MCH (melaninkonzentrierendes Hormon) spielt eine wesentliche Rolle bei der Regulation der Energiehomöostase, nämlich bei der Kontrolle der Nahrungsaufnahme, des Körpergewichts, Metabolismus und bei psychiatrischen Erkrankungen. In mehreren Studien wurde die appetitzügelnde Wirkung des hochaffinen und selektiven MCH-R₁-Antagonisten *rac*SNAP-7941 gezeigt, worauf sich *rac*SNAP-7941 als interessanter Arzneistoff zur Behandlung von Adipositas darstellt.



In der vorliegenden Diplomarbeit wird die Synthese von dem *rac*SNAP-7941-Derivat, nämlich Hydroxyethyl-SNAP (**11**) beschrieben und diskutiert. Über dieses Edukt soll ein Zugang zum Precursor Tosyloxyethyl-SNAP (**12**) von F-18-markierten PET-Tracern etabliert werden. Die Positronen-Emissions-Tomographie (PET) ist eine geeignete Methode, um die physiologischen Prozesse in-vivo zu überwachen.

5.2 Abstract

The cyclic hypothalamic neuropeptide MCH (melanin-concentrating hormone) plays an essential role in the regulation of energy homeostasis, namely in the control of food intake, body weight, metabolism and in psychiatric disorders. The anorectic effect of the high-affinity and selective MCH-R₁-antagonist *rac*SNAP-7941 has been shown in several studies, what makes *rac*SNAP-7941 an interesting drug candidate for the treatment of obesity.



In the submitted thesis a shortened approach of the synthesis of a *rac*SNAP-7941 derivative, namely Hydroxyethyl-SNAP (**11**) is described and discussed. Via the described compound an optimized access to the precursor Tosyloxyethyl-SNAP (**12**) for the F-18-labeled PET tracers is established. Positron emission tomography (PET) is an appropriate method to monitor physiological processes in vivo.

5.3 Curriculum Vitae

Persönliche Daten:

Name:	Tuba SIMSEK
Geburtsdatum:	21.09.1989
Geburtsort:	Wien
Staatsangehörigkeit:	Österreich
Familienstand:	ledig

Ausbildung:

1996- 2000:	Volksschule Ettenreichgasse, 1100 WIEN
2000- 2004:	Übungshauptschule Hebbelplatz, 1100 WIEN
2004-2008:	Bundesrealgymnasium Vereinsgasse, 1020 WIEN
seit 2008:	Diplomstudium der Pharmazie an der Universität WIEN
10/2013- 02/2014:	Praktische Durchführung der Diplomarbeit am Department für Arznei- und Naturstoffsynthese

Berufserfahrung:

07/2008-09/2008:	Ferialpraxis bei EBB-Buchhaltungsbüro, 1100 Wien
06/2009-10/2009:	Praxis in der Laaerberg-Apotheke, 1100 Wien