INAUGURAL - DISSERTATION

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

Naturwissenschaftlich-Mathematischen Gesamtfakultät

der

Ruprecht-Karls-Universität

Heidelberg

vorgelegt von Diplom-Chemiker Stefan Johannes Martin aus Mannheim

Tag der mündlichen Prüfung: 19. Februar 2001

Synthese von

Dioxabicyclooctenen und Thymidinderivaten sowie deren Markierung mit PET-geeigneten Nukliden

> Gutachter: Prof. Dr. Michael Eisenhut Prof. Dr. Manfred Wießler

meiner lieben Dorothee

Danksagung

Allen, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben, möchte ich ganz herzlich danken!

- Den Herren **Prof. Dr. M. Eisenhut** und **Prof. Dr. M. Wießler** danke ich ganz besonders für die Vertretung dieser Arbeit vor der Fakultät, die interessante Themenstellung, die stete Diskussionsund Hilfsbereitschaft sowie die ausgezeichneten Arbeitsbedingungen.
- Herrn **Dr. F. Oberdorfer** danke ich für die Aufnahme in seine damalige Arbeitsgruppe und einen Teil des bearbeiteten Themas.
- Herrn Dr. H.-J. Sinn gilt mein besonderer Dank für sein immer offenes Ohr und die stete Unterstützung.
- Herrn Dr. J. Eisenbarth und Herrn K. Weber danke ich besonders für die wissenschaftliche Unterstützung und die Diskussionsbereitschaft. In diesem Zusammenhang möchte ich auch Herrn Dr. W. Mier und Herrn Dr. T. Fietz herzlich danken.
- Ausgesprochenen Dank schulde ich den weiteren Mitgliedern der Arbeitsgruppe, Frau B. Helfert, Frau H. Marx, Frau D. Rauch, Herrn A. Runz und besonders Frau U. Wagner-Utermann, für die Unterstützung im Labor sowie bei technischen Fragestellungen. Des weiteren danke ich den ehemaligen Mitgliedern der Arbeitsgruppe, Herrn Dr. M. Nader und Frau Dr. C. Wodarski. Es hat mir viel Freude bereitet, mit Euch zusammen arbeiten zu dürfen.
- Dank gilt Herrn **Dr. S.K. Zeisler** und Herrn **H. Gasper** für die Bereitstellung des [⁷⁵Br]Broms.
- Besonderer Dank gebührt der Mitarbeiterin des Labors für Massenspektrometrie Frau C. Bernd unter Leitung von Frau Dr. M. Rentzea (Max-Planck-Institut für medizinische Forschung in Heidelberg), Frau G. Schwebel-Schilling aus der Abteilung für Spektroskopie unter Leitung von Herrn Dr. W.E. Hull (DKFZ Heidelberg) und Herrn Dr. H. Pritzkow (Anorganisch-Chemisches Institut der Universität Heidelberg).
- Ebenso möchte ich den Mitarbeitern des Zyklotrons, Herrn W. Konowalczyk, Herrn J. Reichert und Herrn W. Weber, unter der Leitung von Herrn Dr. G. Wolber für ihre stete Hilfsbereitschaft und Unterstützung herzlich danken. Dank gebührt auch der gesamten Werkstatt, die mir bei allen technischen Problemen schnelle und unbürokratische Hilfe zukommen ließ. An dieser Stelle möchte ich die Herren D. Bucher, J. Cieslok, U. Haffner, G. Jakob, S. Luksch, V. Stamm, W. Stroh, R. Wendt, V. Vöhringer und den Leiter der Werkstatt, Herrn H. Rühle, erwähnen.
- Besonders danken möchte ich Herrn Dr. M. Henze für die Unterstützung in medizinischen Fragen und die Überlassung der PET-Scans und Herrn Dr. J. Doll für die Hilfe bei physikalischen Fragestellungen. Des weiteren danken möchte ich den Herren L. Gerlach, R. Kühnlein, C. Schoppa und H. Trojan.
- Frau A. Celso, Frau M. Kämmer und Herrn H. Schrenk sowie Herrn A. Lederer und Familie
 C. & M. Seyboldt danke ich f
 ür Ihre Unterst
 ützung.

Zu guter Letzt möchte ich einen ganz besonderen Dank denjenigen aussprechen, ohne die ich nie soweit gekommen wäre - meinen Eltern!

Abkürzungsverzeichnis

Ø	Durchmesser			
\triangleleft	Bindungswinkel			
α	Heliumkern - He ^{2⊕}			
a	Kantenlänge der Elementarzelle			
A	Aktivität bzw.			
	Solvatationsvermögen für Kationen			
Ac	Acetyl			
Äq.	Äquivalent(e)			
AIDS	Acquired Immune Deficiency Syndrome			
ADP	Adenosin-5'-diphosphat			
AMP	Adenosin-5'-monophosphat			
	= Adenylat			
aq	in Wasser gelöst, aquatisiert			
Ar	Aryl			
ATP	Adenosin-5'-triphosphat			
AZT	3'-Azido-3'-deoxythymidin			
AZTMP	AZT-5'-monophosphat			
AZTTP	AZT-5'-triphosphat			
b	breit - bs = breites Singulettsignal			
	bzw. Kantenlänge der Elementarzelle			
В	Solvatationsvermögen für Anionen			
ber.	berechnet			
BGO	Wismutgermanat $(Bi_4Ge_3O_{12})$ -			
	Szintillatormaterial für γ-Detektoren			
Bn	Benzyl			
Boc	tert-Butyloxycarbonyl			
Bz	Benzoyl			
С	Kantenlänge der Elementarzelle			
	bzw. Lichtgeschwindigkeit			
d	Dublett			
d	Deuteron			
D	Ligand bei Komplexverbindungen			
D	Energiedosis			
δ	Chemische Verschiebung			
$\Lambda \triangleleft$	Differenz zwischen Bindungswinkeln			

DAST	Diethylaminoschwefeltrifluorid			
DBU	1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en			
DC	Dünnschichtchromatographie			
$\Delta\delta$	Tief- bzw. Hochfeldverschiebung			
ddN	2',3'-Dideoxynukleosid			
ddNTP	2',3'-Dideoxynukleosid-5'-triphosphat			
ddNTP(3'F)	3'-Fluor-2',3'-dideoxynukleosid-5'-tri-			
	phosphat			
$\Delta l_{ ext{max}}$	Reichweite			
$\Delta m/z$	Massendifferenz			
DME	1,2-Dimethoxyethan			
DMF	Dimethylformamid			
DMSO	Dimethylsulfoxid			
DMTr	Dimethoxytrityl			
	= 4,4'-Dimethoxytriphenylmethyl			
DNA	Desoxyribonukleinsäure = DNS			
	(Desoxyribonucleic Acid)			
dNTP	2'-Deoxynukleosid-5'-triphosphat			
ΔT	Zeitspanne			
dTDP	Deoxythymidin-5'-diphosphat			
dThd	Deoxythymidin			
dTMP	Deoxythymidin-5'-monophosphat			
	= Thymidylat			
dTTP	Deoxythymidin-5'-triphosphat			
dUDP	2'-Deoxy-Uridin-5'-diphosphat			
dUMP	2'-Deoxy-Uridin-5'-monophosphat			
Δx	Auflösung			
e^\oplus	Positron			
e^{\ominus}	Elektron			
E	Energie			
EE	Essigsäureethylester = Essigester			
EI^+	Elektronenstoßionisation			
	- Detektion positiver Ionen			
$E_{ m kin}$	kinetische Energie			
E_{\max}	maximale Energie			

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

Molekulare Masse

mesomerer Effekt

3-Nitrobenzylalkohol

Methansulfonyl = Ms

messenger-Ribonukleinsäure (messenger-Ribonucleic Acid)

Magnetresonanztomographie

Verhältnis von Masse zu Ladung

Neutron bzw. Maß für Nukleophilie

Molybdatophosphorsäure

Mesyl = Methansulfonyl

Massenspektrum

bzw. Stoffmenge

bzw. Neutrino

- oxidierte Form

bzw. Anzahl der Werte

Meßfrequenz bei NMR

Nicotinamidadenindinukleotid

Dipolmoment

m-CPBA 3-Chlorperbenzoesäure

Methyl

M

μ

+*M*/-*M*

m-NBA

*m*RNA

Me

Mesyl MRT

MPS

Ms MS

m/z

п

v

 NAD^\oplus

FN	Flektronegativität			
Et.	Ethyl			
$\mathbf{E}\mathbf{L}$	East Atom Bombardment			
TAD	Dataktion positivar Jonan			
ГIТ	- Detection positiver Ionen			
I'LI	- 2! Eluor 2! doovuthumidin (EDT)			
	= 5 -Fluor-5 -deoxythyllidin (FDT)			
	FLT-5 - diphosphat			
	FLT-5 -monophosphat			
	FL1-3-triphosphat			
Fp.	Festpunkt, Schmeizpunkt			
ger.	gerunden			
getr.	getrocknet			
GMP	Guanosin-5'-monophosphat			
	= Guanylat			
GSO(Ce)	Gadoliniumorthosilicat -			
	Cerium dotiert (Gd_2SiO_5 :Ce; $GSO(Ce)$) -			
	Szintillatormaterial für γ -Detektoren			
h	Höhe			
Η	Äquivalentdosis			
He	endo-Wasserstoffatom			
HIV	Human Immunodeficiency Virus			
HPLC	Hochdruck-Flüssigkeits-Chromatographie			
	(High Pressure Liquid Chromatography)			
Hx	exo-Wasserstoffatom			
+ <i>I</i> /- <i>I</i>	induktiver Effekt			
IMP	Inosin-5'-monophosphat = Inosinat			
J	Kopplungskonstante			
<i>k</i> ; <i>k</i> 0	Geschwindigkeitskonstante			
Kp.	Kochpunkt, Siedepunkt			
Kryptofix® 22.	24,7,13,16,21,24-Hexaoxa-			
	1,10-diazabicyclo[8.8.8]hexacosan			
l	Bindungslänge bzw. Länge			
LSO(Ce)	Lutetiumoxyorthosilicat -			

m

т

Hochdruck-Flüssigkeits-Chromatographie	NADH	Nicotinamidadenindinukleotid
(High Pressure Liquid Chromatography)		- reduzierte Form
<i>exo</i> -Wasserstoffatom	NADP^\oplus	Nicotinamidadenindinukleotidphosphat
induktiver Effekt		- oxidierte Form
Inosin-5'-monophosphat = Inosinat	NADPH	Nicotinamidadenindinukleotidphosphat
Kopplungskonstante		- reduzierte Form
Geschwindigkeitskonstante	NMP	Nukleosid-5'-monophosphat
Kochpunkt, Siedepunkt	NMR	Kernresonanz
4,7,13,16,21,24-Hexaoxa-		(Nuclear Magnetic Resonance)
1,10-diazabicyclo[8.8.8]hexacosan	NTP	Nukleosid-5'-triphosphat
Bindungslänge bzw. Länge	Nosyl	4-Nitrophenylsulfonyl = Ns
Lutetiumoxyorthosilicat -	Ns	Nosyl = 4-Nitrophenylsulfonyl
Cerium dotiert (Lu ₂ SiO ₅ :Ce; LSO(Ce)) -	Nu	Nukleophil
Szintillatormaterial für γ-Detektoren	р	Druck bzw. Proton
Multiplett	p. i.	post injectionem
Masse		- nach der Injektion

Х

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

PEEK	Polyetheretherketon				
	(inerter, hitzebeständiger Kunststoff)				
PET	Positronen-Emissions-Tomographie				
pН	<i>pondus hydrogenii</i> $pH = -log [H^+]$				
	- Potenz der				
	Wasserstoffionenkonzentration				
Ph	Phenyl				
P _i	anorganisches Phosphat				
plv.	pulverisiert				
pK _b	Basenexponent $pK_b = -\log K_b$				
	- negativer dekadischer Logarithmus				
	der Basenkonstante				
Por.	Porosität einer Fritte				
PP _i	anorganisches Pyrophosphat				
PRPP	5-Phosphoribosyl-1-pyrophosphat				
PTFE	Polytetrafluorethylen - Teflon				
rel. Int.	relative Intensität				
Rf	related to front				
RNA	Ribonukleinsäure				
	(Ribonucleic Acid)				
RT	Raumtemperatur				
RT	Reverse Transkriptase				
S	Singulett				
S	substanzabhängiger Faktor				
SEM	β -(Trimethylsilyl)ethoxymethyl				
O n-1	Standardabweichung				

$S_N 1$	Nukleophile Substitution			
	- monomolekular			
$S_N 2$	Nukleophile Substitution			
	- bimolekular			
SUV	Standardized Uptake Value			
t	Temperatur			
Т	Thymin			
Т	Zeitpunkt			
T_0	Zeitpunkt "null"			
$T_{\frac{1}{2}}$	Halbwertszeit			
TCBoc	2,2,2-Trichlor-tert-butyloxycarbonyl			
Tf	Triflyl = Trifluormethylsulfonyl			
THF	Tetrahydrofuran			
TK I	Thymidin-Kinase I			
Tosyl	<i>p</i> -Toluolsulfonyl = Ts			
Tr	Trityl = Triphenylmethyl			
$T_{\rm R}$	Retentionszeit bei HPLC			
tr.	trocken			
Trityl	Triphenylmethyl = Tr			
Ts	Tosyl = <i>p</i> -Toluolsulfonyl			
UDP	Uridin-5'-diphosphat			
UMP	Uridin-5'-monophosphat = Uridylat			
UV	Ultraviolettes Licht			
V	Volumen			
vgl.	vergleiche			
WR	Strahlenwichtungsfaktor			

Inhaltsverzeichnis

1	Ein	leitung	[1		
	1.1	1 Der Finsatz von Radionukliden in der Medizin				
		1.1.1	Die Positronen-Emissions-Tomographie	2		
			1.1.1.1 Der β^{\oplus} -Zerfall	3		
			1.1.1.2 Die Herstellung der Positronenstrahler	4		
			1.1.1.3 Die Koinzidenzdetektion	5		
			1.1.1.4 Der Positronen-Emissions-Tomograph	6		
			1.1.1.5 Die PET-Untersuchung	8		
		1.1.2	Die Markierung von Biomolekülen	9		
			1.1.2.1 Die Radiofluorierung	9		
	1.2	Die D	ioxabicyclooctene	11		
		1.2.1	Die 1,6-Anhydro-2,3-dideoxy- β -D- <i>erythro</i> -hex-2-enopyranose	11		
		1.2.2	Die 1,6-Anhydro-3,4-dideoxy- β -D- <i>erythro</i> -hex-3-enopyranose	12		
		1.2.3	Die 1,6-Anhydro-2,3-dideoxy- β -D- <i>threo</i> -hex-2-enopyranose			
			und ihr 3,4-ungesättigtes Analogon	13		
		1.2.4	Die <i>Černý</i> -Epoxide	14		
		1.2.5	Die Öffnung der <i>Černý</i> -Epoxide	16		
		1.2.6	Die Fluorierung der 1,6-Anhydroverbindungen mit DAST	17		
		1.2.7	Die Halogenaddition an 1,6-Anhydroverbindungen	19		
	1.3	Das 3	'-Fluor-3'-deoxythymidin	20		
		1.3.1	Der Aufbau der Desoxyribonukleinsäure	20		
		1.3.2	Die Biosynthese von Thymidin und dessen Einbau in die DNA	21		
		1.3.3	Der Metabolismus des 3'-Fluor-3'-deoxythymidins	23		
		1.3.4	Die medizinische Anwendung des 3'-Fluor-3'-deoxythymidins	25		
			1.3.4.1 Das FLT als Inhibitor in der DNA-Sequenzanalyse	25		
			1.3.4.2 Das FLT als Anti-HIV-Wirkstoff	25		
			1.3.4.3 Das [¹⁸ F]FLT als Proliferationsmarker	26		
			1.3.4.4 Die PET-Diagnostika [¹⁸ F]FDG und [¹⁸ F]FLT im Vergleich	29		
		1.3.5	Die Herstellungsmöglichkeiten für FLT	30		
			1.3.5.1 Das FLT durch Anhydronukleosidspaltung mit Fluorwasserstoff	30		
			1.3.5.2 Das FLT durch <i>N</i> -Glykosylierung	31		
		1.3.6	Die Herstellungsmöglichkeiten für [¹⁸ F]FLT	34		
2	Auf	gabens	stellung	3		

3	Erg	rgebnisse und Diskussion				
	3.1	1 Die Dioxabicyclooctene				
		3.1.1	Die nukleophile Substitution am 6,8-Dioxabicyclo[3.2.1]oct-3-en-Skelett	0		
			3.1.1.1 Die Optimierung des Synthesewegs zur			
			1,6-Anhydro-3,4-dideoxy- β -D- <i>erythro</i> -hex-3-enopyranose	0		
			3.1.1.2 Die 2- <i>O</i> -Tosyl-1,6-anhydro-3,4-dideoxy- β -D- <i>erythro</i> -hex-3-enopyranose 4	1		
			3.1.1.3 Die Reaktion der			
			2-O-Tosyl-1,6-anhydro-3,4-dideoxy- β -D- <i>erythro</i> -hex-3-enopyranose mit Bromid4	2		
		3.1.2	Die nukleophile Substitution am 6,8-Dioxabicyclo[3.2.1]oct-2-en-Skelett	5		
			3.1.2.1 Die 4- <i>O</i> -Tosyl-1,6-anhydro-2,3-dideoxy- β -D- <i>erythro</i> -hex-2-enopyranose	5		
			3.1.2.2 Die Reaktion der			
			4-O-Tosyl-1,6-anhydro-2,3-dideoxy- β -D- <i>erythro</i> -hex-2-enopyranose mit Bromid 4	6		
			3.1.2.3 Die Reaktion der			
			4-O-Tosyl-1,6-anhydro-2,3-dideoxy- β -D- <i>erythro</i> -hex-2-enopyranose mit [⁷⁵ Br]Bromid 4	7		
			3.1.2.4 Die Reaktion der			
			4-O-Tosyl-1,6-anhydro-2,3-dideoxy- β -D- <i>erythro</i> -hex-2-enopyranose mit Fluorid	9		
			3.1.2.5 Die Reaktion der			
			4-O-Tosyl-1,6-anhydro-2,3-dideoxy- β -D- <i>erythro</i> -hex-2-enopyranose mit Hydrogensulfid . 50	0		
			3.1.2.6 Alternative Herstellungsversuche für Mercapto-6,8-dioxabicyclo[3.2.1]octene 5.	5		
		3.1.3	Die elektrophile Addition am 6,8-Dioxabicyclo[3.2.1]oct-3-en-Skelett	7		
			3.1.3.1 Die Addition von elementarem Chlor an die			
			1,6-Anhydro-3,4-dideoxy- β -D- <i>erythro</i> -hex-3-enopyranose	7		
			3.1.3.2 Die Addition von elementarem Brom an die			
			1,6-Anhydro-3,4-dideoxy- β -D- <i>erythro</i> -hex-3-enopyranose	8		
			3.1.3.3 Weitere Halogenierungsversuche an der			
			1,6-Anhydro-3,4-dideoxy- β -D- <i>erythro</i> -hex-3-enopyranose	9		
		3.1.4	Die Kristallstruktur der 1,6-Anhydro-2,3-dideoxy- β -D- <i>erythro</i> -hex-2-enopyranose 60	0		
	3.2	Das 3	'-[¹⁸ F]Fluor-3'-deoxythymidin	3		
		3.2.1	Die Vorläuferverbindungen der [¹⁸ F]FLT-Synthese	6		
			3.2.1.1 Die Synthese der 5'- <i>O</i> -geschützten Thymidinderivate	6		
			3.2.1.2 Die Konfigurationsumkehr am 3'-Zentrum	8		
			3.2.1.3 Die Einführung der Austrittsgruppen am 3'-Zentrum	0		
			3.2.1.4 Die Einführung der Boc-Schutzgruppe am 3- <i>N</i> -Zentrum der Base	3		
			Die Kristallstruktur des 3- <i>N</i> -Boc-1-(3- <i>O</i> -nosyl-5- <i>O</i> -trityl- β -D-lyxofuranosyl)thymins 7	5		
		3.2.2	Die Synthese des 3'-[¹⁸ F]Fluor-3'-deoxythymidins	6		
		3.2.3	Die Optimierung der [¹⁸ F]FLT-Svnthese	3		
		3.2.4	Die [¹⁸ F]FLT-Synthese mit verschiedenen Vorläuferverbindungen 84	4		
		3.2.5	Die Synthese des 3'-[¹⁹ F]Fluor-3'-deoxythymidins	5		
	33	Die A	nwendung des ^{[18} F]FI Ts im Tierversuch	6		
	5.5	DIC A		J		

INHALTSVERZEICHNIS

4	Zus	ammei	nfassung	g		
5	Exp	erimer	nteller T	eil		
	5.1	Allgemeines				
		5.1.1	Die Syr	ntheseapparatur für 3'-[¹⁸ F]Fluor-3'-deoxythymidin ([¹⁸ F]FLT)		
		5.1.2	Die Ma	terialien und Geräte		
	5.2	Die S	ynthesev	vorschriften der Dioxabicyclooctene		
			5.2.1.1	Synthese der 1,2-Dideoxy-D- <i>arabino</i> -hex-1-enopyranose - Glucal		
			5.2.1.2	Synthese der 1,6-Anhydro-2,3-dideoxy- β -D- <i>erythro</i> -hex-2-enopyranose		
			5.2.1.3	Synthese der 1,6-Anhydro-3,4-dideoxy- β -D- <i>erythro</i> -hex-3-enopyranose		
			5.2.1.4	Synthese der 2- <i>O</i> -Tosyl-1,6-anhydro-3,4-dideoxy- β -D- <i>erythro</i> -hex-3-enopyranose 98		
			5.2.1.5	Synthese der 2-Brom-1,6-anhydro-2,3,4-trideoxy- β -D- <i>erythro</i> -hex-3-enopyranose und		
				4-Brom-1,6-anhydro-2,3,4-trideoxy- β -D- <i>erythro</i> -hex-2-enopyranose		
			5.2.2.1	Synthese der 4- <i>O</i> -Tosyl-1,6-anhydro-2,3-dideoxy- β -D- <i>erythro</i> -hex-2-enopyranose 101		
			5.2.2.2	Synthese der 2-Brom-1,6-anhydro-2,3,4-trideoxy- β -D- <i>erythro</i> -hex-3-enopyranose und		
				4-Brom-1,6-anhydro-2,3,4-trideoxy- β -D- <i>erythro</i> -hex-2-enopyranose		
			5.2.2.3	Synthese der		
				$2-[^{75}Br]Brom-1,6-anhydro-2,3,4-trideoxy-\beta-D-erythro-hex-3-enopyranose und$		
				$4-[^{75}Br]Brom-1,6-anhydro-2,3,4-trideoxy-\beta-D-erythro-hex-2-enopyranose 103$		
			5.2.2.4	Synthese des		
				$Bis(1,6-anhydro-2,3,4-trideoxy-\beta-D-erythro-hex-3-enopyranos-2-yl)$ thioethers . 104		
			5.2.3.1	Synthese der 3,4-Dichlor-1,6-anhydro-3,4-dideoxy- β -D-glucopyranose 105		
			5.2.3.2	Synthese der 3,4-Dibrom-1,6-anhydro-3,4-dideoxy- β -D-glucopyranose 107		
	5.3	Die S	ynthesev	vorschriften für 3'-[¹⁸ F]Fluor-3'-deoxythymidin und dessen Vorstufen 108		
		5.3.1	Die Tri	phenylmethyl-Reihe		
			5.3.1.1	Synthese des 5'-O-Tritylthymidins		
			5.3.1.2	Synthese des 1-(5- O -Trityl-2-deoxy- β -D-lyxofuranosyl)thymins		
			5.3.1.3	Synthese des 1-(3- O -Mesyl-5- O -trityl-2-deoxy- β -D-lyxofuranosyl)thymins 110		
			5.3.1.4	Synthese des 3- <i>N</i> -Boc-1-(3- <i>O</i> -mesyl-5- <i>O</i> -trityl-2-deoxy- β -D-lyxofuranosyl)thymins 111		
			5.3.1.5	Synthese des 1-(3- O -Tosyl-5- O -trityl-2-deoxy- β -D-lyxofuranosyl)thymins 112		
			5.3.1.6	Synthese des 3- <i>N</i> -Boc-1-(3- <i>O</i> -tosyl-5- <i>O</i> -trityl-2-deoxy- β -D-lyxofuranosyl)thymins 113		
			5.3.1.7	Synthese des 1-(3- O -Nosyl-5- O -trityl-2-deoxy- β -D-lyxofuranosyl)thymins 114		
			5.3.1.8	Synthese des 3- <i>N</i> -Boc-1-(3- <i>O</i> -nosyl-5- <i>O</i> -trityl-2-deoxy- β -D-lyxofuranosyl)thymins 115		
		5.3.2	Die 4,4	'-Dimethoxytriphenylmethyl-Reihe 116		
			5.3.2.1	Synthese des 5'-O-(4,4'-Dimethoxytrityl)thymidins 116		
			5.3.2.2	Synthese des 1-[5- O -(4,4'-Dimethoxytrityl)-2-deoxy- β -D-lyxofuranosyl]thymins 117		
			5.3.2.3	Synthese des		
				$1-[5-O-(4,4'-Dimethoxytrityl)-3-O-mesyl-2-deoxy-\beta-D-lyxofuranosyl]$ thymins . 119		

			5.3.2.4	Synthese des	
				$3-N\text{-}Boc\text{-}1\text{-}[5-O\text{-}(4,4\text{-}dimethoxytrityl)\text{-}3-O\text{-}mesyl\text{-}2\text{-}deoxy\text{-}\beta\text{-}D\text{-}lyxofuranosyl]thymins}$. 120
			5.3.2.5	Synthese des	
				1-[5- O -(4,4'-Dimethoxytrityl)-3- O -tosyl-2-deoxy- β -D-lyxofuranosyl]thymins .	. 121
			5.3.2.6	Synthese des	
				3-N-Boc-1-[5-O-(4,4'-dimethoxytrityl)-3-O-tosyl-2-deoxy- β -D-lyxofuranosyl]thymins .	. 122
			5.3.2.7	Synthese des	
				1-[5- O -(4,4'-Dimethoxytrityl)-3- O -nosyl-2-deoxy- β -D-lyxofuranosyl]thymins .	. 123
			5.3.2.8	Synthese des	
				$\label{eq:2-2} 3-\ensuremath{N}-Boc-1-[5-O-(4,4'-dimethoxytrityl)-3-O-nosyl-2-deoxy-β-D-lyxofuranosyl]thymins .$. 124
			5.3.3.1	Synthese des 3'-[¹⁸ F]Fluor-3'-deoxythymidins - des [¹⁸ F]FLTs	. 125
			5.3.3.2	Synthese des 3'-[¹⁹ F]Fluor-3'-deoxythymidins - des [¹⁹ F]FLTs	. 127
6	Anh	ang			. 128
	6.1	Die St	trukturd	laten der 1,6-Anhydro-2,3-dideoxy-β-D- <i>erythro</i> -hex-2-enopyranose	. 128
		6.1.1	Die Kri	stalldaten und Strukturverfeinerung	. 128
		6.1.2	Die Bin	ıdungslängen	. 129
		6.1.3	Die Bin	dungswinkel	. 129
	6.2	Die St	trukturd	laten des 3- <i>N</i> -Boc-1-(3- <i>O</i> -nosyl-5- <i>O</i> -trityl-β-D-lyxofuranosyl)thymins	. 130
		6.2.1	Die Kri	stalldaten und Strukturverfeinerung	. 130
		6.2.2	Die Bin	ıdungslängen	. 131
		6.2.3	Die Bin	ıdungswinkel	. 132
	6.3	Form	eln		. 135
		6.3.1	Die Zer	fallskorrektur	. 135
		6.3.2	Die rela	tive Geschwindigkeit einer SN2-Reaktion bei der Umsetzung	
			mit Hyo	drogensulfid bzw. Bromid	. 135
7	T :4-		oursisk-		127
1	Lite	raturv	erzeichn	415	. 13/

1 Einleitung

Radioaktivität tritt entweder natürlich auf oder wird künstlich erzeugt. Sie beschreibt die Eigenschaft von Atomkernen, sich nach verschiedenen Mechanismen zu verändern. In jedem Fall stabilisieren sich die Kerne der sogenannten Radionuklide unter Aussendung von α -, β^{\ominus} - oder β^{\oplus} -Partikeln bzw. unter Elektroneneinfang, wobei häufig auch γ -Quanten und Neutrinos emittiert werden. Hierbei entstehen entweder stabile Nuklide oder erneut instabile Radionuklide, die ihrerseits weiter zerfallen. Spontane Kernprozesse gehorchen statistischen Gesetzmäßigkeiten. Sie vollziehen sich ohne äußere Anregung und führen zu stabileren, also energieärmeren Zuständen. Im Verlauf von Kernumwandlungen werden große Energiemengen freigesetzt, wodurch die Detektion einzelner Ereignisse und in deren Folge der Nachweis diskreter, atomarer bzw. molekularer Einheiten möglich ist. Aus diesem Grunde sind radioaktive Substanzen aus der modernen Forschung und Technik sowie der Medizin nicht mehr wegzudenken. Hierbei interessieren je nach Aufgabenstellung verschiedene Eigenschaften:

- Steht das Verhalten von Ionen oder Verbindungen während eines Reaktionsablaufs oder bei biochemischen Prozessen wie z. B. Transportvorgängen durch Zellmembranen im Mittelpunkt des Interesses, so ist die chemische Beschaffenheit der radioaktiven Substanz von vorrangiger Bedeutung. Die Art bzw. Eigenschaft der Strahlung selbst spielt eher eine sekundäre Rolle. Sie dient der Indikation und darf den zu beobachtenden Vorgang nicht stören.
- Finden Radionuklide als Strahlenquelle Verwendung, so ist die Art der ausgesandten Strahlung, deren Fokussierung, Ablenkung oder Wechselwirkung mit anderen Medien, nicht aber die chemische oder physikalische Natur des Radionuklids entscheidend, denn dieses wird meist nicht in das zu untersuchende System inkorporiert. Beispiele dafür sind die Materialprüfung mittels γ-Strahlung, die Behandlung von Tumoren bzw. die Sterilisation von medizinischen Geräten oder Lebensmitteln.
- Ein weiteres Feld für den Einsatz radioaktiver Materialien liegt in der Kerntechnik, die der Gewinnung von Nutzenergie dient. Hierbei stellt Radioaktivität aber eher einen unerwünschten Begleitumstand dar.

1.1 Der Einsatz von Radionukliden in der Medizin

In der Medizin finden Radionuklide in der *in vivo-* und *in vitro-*Diagnostik sowie in der Therapie eine breite Anwendung. Hierbei stehen die Art der ausgesandten Strahlung und die Integrationsmöglichkeit des Radionuklids in biologisch relevante Strukturen im Vordergrund, weniger die Natur dieses Radionuklids selbst.

Zu Diagnosezwecken muß die Strahlung durchdringend sein, darf aber keine oder nur eine geringe zerstörerische Wirkung entfalten. α - bzw. β^{\ominus} -Strahlung erfüllt diese Forderungen nicht. Sie werden durch dünne Gewebsschichten vollständig abgeschirmt⁽¹⁾ und können nicht zuverlässig extrakorporal

(1)

In Körpergewebe beträgt die Reichweite^[1] bei einer Strahlungsenergie von jeweils E = 1 MeV für α -Strahlung $\Delta l_{\text{max}} \approx 0,05$ mm, für β^{\ominus} -Strahlung $\Delta l_{\text{max}} \approx 5$ mm und für γ -Strahlung $\Delta l_{\text{max}} \rightarrow \infty$.

detektiert werden. Des weiteren deponieren die von α -Strahlern emittierten Heliumkerne bzw. die von β^{\ominus} -Strahlern emittierten Elektronen ihre gesamte kinetische Energie in der direkten Umgebung des Zerfallsorts, wobei das betroffene Gewebe geschädigt wird. y-Strahlung gleicher Energie wechselwirkt deutlich weniger in physiologischer Umgebung⁽²⁾. Sie ist daher leicht externen Messungen zugänglich und führt nur zu einer untergeordneten Beeinträchtigung des untersuchten Organismus. Die applizierte Aktivität des Radiodiagnostikums muß so gering wie möglich gehalten werden, damit keine Veränderungen bei physiologischen Vorgängen auftreten und die Strahlenbelastung des Patienten auf ein Minimum reduziert wird. Die hohe Nachweisempfindlichkeit von Radioaktivitätsdetektoren erlaubt den Einsatz trägerfrei markierter Diagnostika im nmol- bis pmol-Bereich, so daß selbst eine mögliche Toxizität dieser Verbindungen meist keine Rolle spielt. Die Radiomarkierung sollte das biochemische Verhalten des Diagnostikums nur wenig beeinflussen. Günstig wirkt sich hierbei aus, wenn ein stabiles gegen ein radioaktives Isotop getauscht werden kann. Beispielsweise läßt sich [¹²C]Kohlenstoff je nach Anwendungsgebiet durch [¹¹C]- bzw. [¹⁴C]Kohlenstoff ersetzen. Zur Therapie ist eine hohe Reichweite der emittierten Strahlung eines Radionuklids nicht erwünscht, um Effekte in Teilen des Organismus zu verhindern, die keiner Behandlung bedürfen. Des weiteren muß das zu behandelnde Gewebe das Radiotherapeutikum in dem Maße kumulieren, daß dessen therapeutische Dosis erreicht wird. Das übrige Gewebe sollte im Idealfall keine Anreicherung aufweisen. Beispiele hierfür sind die Immuntherapie mit [¹³¹I]Iod oder [²¹¹At]Astat markierten monoklonalen Antikörpern oder die Neutroneneinfangtherapie^[1]. Erstere nutzt die spezifische Bindung maßgeschneiderter Antikörper an charakteristische Oberflächenstrukturen bestimmter Tumorzellen und führt auf diese Weise zu einer Antikörperanreicherung im Tumorgewebe. Beim Zerfall des gebundenen Radionuklids wird entweder diejenige Tumorzelle geschädigt bzw. zerstört, an deren Antigen der Antikörper "angedockt" hat, oder Zellen in deren direkter Umgebung. Die Neutroneneinfangtherapie nutzt die Anreicherung einer dem Patienten injizierten wenig toxischen [¹⁰B]Borverbindung im Tumor, die durch Bestrahlung mit thermischen Neutronen aktiviert wird. Bei [¹⁰B]Bor liegt der Einfangsquerschnitt für thermische Neutronen etwa 10.000-fach höher als für chemische Elemente, die in biologischer Umgebung auftreten. Deshalb wird gesundes Gewebe durch direkte Bestrahlung nur wenig geschädigt. Die Tumorzellen hingegen werden durch die in einer ${}^{10}B(n, \alpha)^7Li$ -Kernreaktion entstehenden energiereichen He^{2⊕}- bzw. Li[⊕]-Kerne zerstört.

1.1.1 Die Positronen-Emissions-Tomographie^[3]

Die Positronen-Emissions-Tomographie (PET) erlaubt nicht nur die Registrierung eines radioaktiven

⁽²⁾ Nach den Empfehlungen der *International Commission on Radiological Protection* von 1990^[2] wird der Ausdruck "Strahlenwichtungsfaktor w_R " verwendet, um das unterschiedliche Maß der Schädigung eines Gewebes durch verschiedene Strahlung gleicher Energiedosis zu beschreiben. w_R ist ein Proportionalitätsfaktor zwischen der Äquivalentdosis *H* und der Energiedosis *D* ($H_{T,R} = w_R \times D_{T,R}$; $T \doteq Gewebe (Tissue)$; $R \doteq Strahlung$ (Radiation)). Für α -Strahlung ist $w_{R\alpha} = 20$, und für β^{\ominus} - bzw. γ -Strahlung ist $w_{R\beta} = w_{R\gamma} = 1$, ein Sachverhalt, der die ungleich höher schädigende Wirkung von α -Strahlung widerspiegelt^[1].

Zerfalls und dessen Ort, sondern darüber hinaus die Bestimmung der Aktivitätskonzentration in diesem Bereich. Dadurch stellt PET ein modernes nuklearmedizinisches Schnittbildverfahren für die medizinische Forschung und Diagnostik dar. Es bietet die Möglichkeit, auf nicht-invasivem Weg physiologische Größen oder Stoffwechselparameter *in vivo* nicht nur qualitativ sondern vor allem auch quantitativ zu erfassen. Die Quantifizierung setzt eine Koinzidenzmessung voraus, bei der die im zu untersuchenden Gewebe verursachte Schwächung der Strahlung im Vorfeld bestimmt werden muß (vgl. **Kap. 1.1.1.3** und **1.1.1.5**). Die Messung der Aktivitätskonzentration basiert auf der rechnerischen Eliminierung dieser Schwächung. Für die Koinzidenzmessung sind mindestens zwei einander gegenüberliegende Detektoren notwendig, die *ein* Ereignis wahrnehmen. Hierfür eignet sich der β^{\oplus} -Zerfall, da in dessen Folge zwei gegenläufige γ -Quanten entstehen, die räumlich getrennt erfaßt werden können. Bei Kernzerfällen, die ausschließlich α -, β^{\ominus} - oder γ -Strahlung emittieren, ist diese getrennte Detektion nicht möglich. Unter den biologisch relevanten Elementen zeigen ohnehin diejenigen Nuklide günstige Strahlungsenergien (100 keV $\leq E_{\gamma} \leq 1.000$ keV) und Halbwertszeiten (2 min $\leq T_{1/2} \leq 240$ min), die sich mittels β^{\oplus} -Zerfall umwandeln, also Positronenstrahler sind (**Tab. 1**).

Radionukli	d Bildungsreaktion	Halbwertszeit [min]	$E_{\max} \boldsymbol{\beta}^{\oplus}$ [keV]	Häufigkeit des $oldsymbol{eta}^\oplus$ -Zerfalls [%]
¹¹ C	$^{14}N(p, \alpha)^{11}C$	20,38	960,1	99,76
^{13}N	¹⁶ O(p , α) ¹³ N bzw. ¹² C(d , n) ¹³ N	9,965	1198,5	99,80
¹⁵ O	¹⁵ N(p, n) ¹⁵ O bzw. ¹⁴ N(d, n) ¹⁵ O	2,037	1732,0	99,90
¹⁸ F	¹⁸ O(p, n) ¹⁸ F bzw. ²⁰ Ne(d, α) ¹⁸ F	109,71	633,2	96,90
⁶⁸ Ga	⁶⁸ Ge-Generator	68,0	1899,1	89,00
⁷⁵ Br ^[4]	76 Se $(p, 2n)^{75}$ Br bzw. 78 Kr $(p, \alpha)^{75}$ Br	100	1740	75,5

 Tab. 1:
 Eigenschaften der wichtigsten Positronenstrahler für die PET^[3]

1.1.1.1 Der β^{\oplus} -Zerfall^{[1],[3]}

Radionuklide mit einem Protonenüberschuß im Kern können auf zwei Wegen zu einem ausgeglichenen Verhältnis von der Protonen- zur Neutronenzahl gelangen. Die Energiebilanz der Kernreaktion, für die der *Q*-Wert als Maß der Energiedifferenz zwischen Ausgangs- und Endzustand definiert ist, entscheidet über den Zerfallsweg. Liegt der *Q*-Wert unter Q = 1,02 MeV, dem Energieäquivalent der Ruhemasse zweier Elektronen, findet eine Elektroneneinfangreaktion ε statt. Ist Q > 1,02 MeV, vermag sich der Kern durch die Emission eines Positrons e^{\oplus} und eines Neutrinos v zu stabilisieren. Das Positron wird ähnlich wie ein Elektron durch Ionisations- und Anregungsprozesse z. B. im Körpergewebe abgebremst und bildet schließlich zusammen mit einem Elektron ein wasserstoffähnliches Positroniumsystem. Bei einem antiparallelen Spinverhältnis zwischen Positron und Elektron liegt der Singulett- oder Orthozustand ($T_{V_2} = 125$ ps), bei einem parallelen Spinverhältnis der Triplett- oder Parazustand ($T_{V_4} = 140$ ns) vor. Nach *Einstein* wird die Masse des Positroniumsystems in elektromagnetische Strahlung, die Vernichtungsstrahlung, umgewandelt. Die Vernichtungsstrahlung besteht, wenn sie aus dem Singulettzustand hervorgeht, aus zwei γ -Quanten mit einer Energie von je $E_{\gamma} \approx 511$ keV, die aufgrund der Impulserhaltung unter einem Winkel von $\triangleleft \approx 180^{\circ}$ zueinander emittiert werden (Abb. 1).



Abb. 1: Der β^{\oplus} -Zerfall^[3]: Links: Emission des Positrons e^{\oplus} und des Neutrinos v Mitte: Bildung des Positroniumsystems Rechts: Umwandlung der Massen in Vernichtungsstrahlung

Die beiden γ -Quanten werden zur Ortsbestimmung des β^{\oplus} -Zerfalls genutzt. Die geringe Reichweite des Positrons verhindert seinen direkten Nachweis, verursacht aber einen Ortungsfehler, da nicht der eigentlich gesuchte Ort des β^{\oplus} -Zerfalls, sondern nur der Ort der Positronenvernichtung bestimmt werden kann. Die Reichweite eines Positrons hängt von seiner Emissionsenergie ab (**Tab. 1**; Seite 3) und liegt im wasseräquivalenten Weichteilgewebe bei etwa $\Delta x \leq 2$ mm, kann aber im weniger dichten Lungengewebe höher sein. Aufgrund der restlichen kinetischen Energie (E_{kin}) des Positroniumsystems zum Zeitpunkt der Zerstrahlung vergrößert sich die Energie der beiden γ -Quanten auf jeweils $E_{\gamma} = 511$ keV + $\frac{1}{2} E_{kin}$, wobei die Emission der beiden Vernichtungsquanten kleine Winkelschwankungen von $\Delta \leq = \pm 0,5^{\circ}$ um den Mittelwert von $\leq = 180^{\circ}$ aufweist. Letzteres führt zu einer weiteren Ortsunschärfe von $\Delta x \leq 2$ mm.

1.1.1.2 Die Herstellung der Positronenstrahler^[3]

Die Positronenstrahler werden durch Beschuß stabiler Nuklide mit geladenen Teilchen wie z. B. Protonen, Deuteronen oder α -Teilchen erzeugt. Hierbei bildet sich zunächst ein extrem kurzlebiger



Abb. 2:Prinzip des Zyklotrons^[3]: Links:Schnitt durch Magnet (S; N) und Vakuumkammer (V)
Rechts: Beschleunigung negativ geladener Teilchen
IQ = Ionenquelle; D = D-förmige Elektroden; F = Stripperfolie

Zwischen- oder Compoundkern, der durch Emission eines Positrons und eines Neutrinos in den neuen Kern übergeht. Die notwendige Energie erhalten die Geschoßteilchen in einem Zyklotron (Abb. 2; Seite 4). Das Kernstück dieses Zyklotrons befindet sich in einer Hochvakuumkammer $V^{(3)}$ und besteht aus einer Ionenquelle IQ, den Magneten S/N, einem Paar halbkreisförmiger Hochspannungselektroden D, die aufgrund ihrer Form D genannt werden, und dem Auslenksystem F. Aus der Ionenquelle im Zentrum des Zyklotrons treten H $^{\ominus}$ - bzw. D $^{\ominus}$ -Ionen aus und werden durch das elektrische Feld im Spalt zwischen den D's beschleunigt. Im D wirkt ausschließlich ein Magnetfeld, das die Teilchen infolge der Lorentz-Kraft auf einer Kreisbahn führt, bis sie am D-Spalt durch das elektrische Feld erneut beschleunigt werden. Die Umlauffrequenz der Teilchen ist konstant und hängt nicht vom Bahnradius ab. In Abstimmung auf die Umlauffrequenz wird das elektrische Feld umgepolt, so daß die Teilchen bei jedem Durchgang durch den D-Spalt Energie aufnehmen. Dadurch vergrößert sich ihr Bahnradius stetig. Ist die Endenergie erreicht, werden die H^{\ominus} - bzw. D^{\ominus} -Ionen am Ende der Beschleunigungsstrecke durch eine dünne Kohlenstoffolie F, die Stripperfolie, geschossen, an der sie ihre beiden Elektronen abstreifen. Die hieraus resultierenden H[⊕]- bzw. D[⊕]-Ionen ändern den Drehsinn ihrer Kreisbahn und werden aufgrund des Magnetfelds von allein aus dem Zyklotron ausgelenkt, wonach sie über ein Strahlrohr auf das zu bestrahlende Material im Target treffen.

1.1.1.3 Die Koinzidenzdetektion^[3]

Das Grundelement eines Positronen-Emissions-Tomographen ist ein in Koinzidenz geschaltetes Detektorpaar, das aus zwei einander gegenüberliegenden Gammadetektoren besteht. Ein Ereignis wird nur dann als gültig erkannt, wenn beide Detektoren innerhalb der Koinzidenzauflösezeit 2τ je ein γ -Quant mit einer Energie von jeweils $E_{\gamma} \approx 511$ keV registrieren (Abb. 3).



- **Abb. 3:** Koinzidenzdetektor mit einer Koinzidenzauflösezeit von 2τ und schraffiert angedeutetem empfindlichen Bereich^[3]
 - 1: Koinzidenzereignis, das korrekt dem empfindlichen Bereich zugeordnet wird
 - 2: Ereignis außerhalb des empfindlichen Bereichs, das nicht als Koinzidenzereignis registriert wird, aber die Einzelzählrate vergrößert
 - 3: Streuereignis, das als gültiges Koinzidenzereignis fälschlich dem empfindlichen Bereich zugeordnet wird
 - 4: Zufällige Koinzidenz zweier voneinander unabhängiger Ereignisse, die fälschlich ein Ereignis im empfindlichen Bereich vortäuschen

(3)

In der Hochvakuumkammer V wird bei eingeschalteter Ionenquelle ein Vakuum von $p \approx 8 \times 10^{-7}$ mbar erreicht, im Ruhezustand fällt der Druck auf $p \approx 2 \times 10^{-7}$ mbar (bei Zyklotron: Scanditronix MC 32 NI).

Wichtige Eigenschaften der Detektorpaare:

- Die in Koinzidenz geschalteten Detektorpaare sind überwiegend gegenüber denjenigen γ-Quanten der Vernichtungsstrahlung empfindlich, die innerhalb des schraffiert angedeuteten Bereichs, der Koinzidenzlinie, emittiert werden. Dies wird als elektronische Kollimierung⁽⁴⁾ bezeichnet. Je schlanker der Aufbau der Detektoren ist, desto geringer ist der Volumenquerschnitt des empfindlichen Bereichs und desto genauer läßt sich der Ursprung der Vernichtungsstrahlung eingrenzen.
- Für eine ausgedehnte und innerhalb des empfindlichen Bereichs homogene Probe ist die Zählrate annähernd konstant und unabhängig von der Probenposition zwischen den beiden Detektoren.
- Die Schwächung der Vernichtungsstrahlung hängt nur von der Summe der Wege der beiden Vernichtungsquanten durch das absorbierende Medium, z. B. das Gewebe des untersuchten Patienten, ab und ist deshalb entlang der Koinzidenzlinie unabhängig von der Position des Ursprungs der Vernichtungsstrahlung. Dies bietet die Möglichkeit, die Schwächungseigenschaften des absorbierenden Mediums mit einer externen Strahlenquelle durch eine separate Messung, der Transmissionsmessung, zu bestimmen. Auf diese Weise lassen sich Korrekturfaktoren ermitteln, mit deren Hilfe die Schwächung der Vernichtungsstrahlung rechnerisch eliminiert werden kann.

Die Unabhängigkeit der Koinzidenzzählrate vom Vernichtungsort innerhalb des empfindlichen Bereichs und die Konstanz der Schwächung entlang der Koinzidenzlinie sind die entscheidenden Voraussetzungen für eine quantitative PET-Messung.

Es werden drei verschiedene Typen von koinzidenten Ereignissen registriert, die echten (Abb. 3; Seite 5; 1), die gestreuten (Abb. 3; 3) und die zufälligen Koinzidenzen (Abb. 3; 4). Letztere treten auf, wenn zwei Quanten voneinander unabhängiger Ereignisse innerhalb der Koinzidenzauflösezeit 2τ zufällig je einen der beiden Detektoren treffen. Das Ergebnis wird als gültig gewertet und fälschlich der Verbindungslinie der beiden Detektoren zugeordnet. Das Verhältnis der echten Koinzidenzen zu der Gesamtzählrate eines Einzeldetektors beträgt etwa 1:100. Die überhöhten Einzelzählraten werden vor allem durch Ereignisse außerhalb des empfindlichen Bereichs verursacht. Durch geeignete Abschirmungen lassen sich sowohl Einzelzählraten, eine Ursache für Totzeitverluste der Detektoren, als auch die gestreuten und zufälligen Koinzidenzen stark reduzieren.

1.1.1.4 Der Positronen-Emissions-Tomograph^[3]

Ein Positronen-Emissions-Tomograph besteht aus einer Vielzahl ringförmig angeordneter Detektorpaare (**Abb. 4**; Seite 7; **links**). Durch die Koinzidenzbedingung ist das System nur für Aktivität in dieser Ringebene empfindlich. Jeder Einzeldetektor ist nicht nur mit dem diametral gegenüberstehenden, sondern mit einem ganzen Fächer gegenüberliegender Detektoren in Koinzidenz geschaltet. Das Gesichtsfeld eines Ganzkörpertomographen durchziehen über 40.000 Koinzidenzlinien in einem regelmäßigen Muster. Jedes detektierte, koinzidente Ereignis wird der entsprechenden Koinzidenzlinie

⁽⁴⁾

Ein Kollimator ist in der Kernphysik eine als Blende dienende Abschirmung, die den Querschnitt eines Strahls energiereicher Teilchen begrenzt.

1 EINLEITUNG

zugeordnet. Bleiabschirmungen schützen die Detektoren vor koinzidenter Streustrahlung und Einzelzählraten von außerhalb des empfindlichen Bereichs, wodurch die Zahl zufälliger Koinzidenzen reduziert wird. Die Empfindlichkeit und das Meßvolumen eines Ringtomographen lassen sich durch den Einsatz mehrerer paralleler Detektorringe erweitern. In **Abbildung 5** ist ein Schnitt durch ein Zweiringsystem dargestellt. Nicht nur Koinzidenzen innerhalb des jeweiligen Detektorrings, die Direktschicht (**links**), sondern auch Koinzidenzen zwischen zwei Detektorringen, die Kreuzschicht (**Mitte**), werden zugelassen. Somit sind bei einem Zweiringsystem simultan drei Schichten meßbar.



Abb. 4: Ringtomograph^[3]: Links: Detektorkonfiguration. Von jedem Detektor des Rings geht ein Koinzidenzlinienfächer aus. Zwei Fächer sind skizziert. Die zentrale Kreisfläche, die von allen Fächern überstrichen wird, ist das Gesichtsfeld des Tomographen. Rechts: Patientenuntersuchung mittels eines Einringtomographen.

Seit der Entwicklung der ersten Positronen-Emissions-Tomographen im Jahr 1975 in den USA wurde die Auflösung von $\Delta x \approx 1.5$ bis 2 cm bis an die physikalische Grenze von etwa $\Delta x \approx 2$ mm



Abb. 5: Schnitt durch einen Zweiringtomographen. Die äußeren Abschirmungen fehlen^[3]. links: Direktschicht; A = Abschirmung

- *Mitte: Kreuzschicht;* **D** = *Blockdetektor*
- rechts: Der Blockdetektor **D** besteht aus 8 × 8 Einzeldetektoren, die durch Einsägen des BGO-Blocks eines Volumens von 50 × 50 × 30 mm³ entstehen. Die verschieden tiefen Sägeschnitte gewährleisten eine günstige Lichtverteilung auf die vier Photomultiplier. Die Zuordnung eines Szintillationsereignisses zu einem Einzeldetektor erfolgt nach dem "Wägeprinzip" aus den vier Signalen der Photomultiplier¹³¹.

herangeführt. Hierzu mußte die Zahl der Detektoren erhöht und deren Größe reduziert werden. Aus finanziellen und apparativen Gründen wurde die 1:1-Kopplung von Detektor und Photomultiplier aufgegeben zugunsten eines Blockdetektors aus Wismutgermanat (Bi₄Ge₃O₁₂; BGO; Abb. 5; Seite 7; rechts), bei dem 8 × 8 Einzeldetektoren über vier Photomultipliern angeordnet sind. Ein Detektorring weist demnach 15 Schichten bestehend aus acht Direkt- und sieben Kreuzschichten auf. Nachteilig ist, daß jeder Multiplier von mindestens 16 Einzeldetektoren angesprochen wird. Dies erhöht dessen Zählratenbelastung und damit die Totzeitverluste. Die Ortsauflösung bei modernen Positronen-Emissions-Tomographen mit 63 Schichten beträgt sowohl axial als auch innerhalb einer Schichtebene etwa $\Delta x \approx 5$ mm, wobei sich in klinischen Untersuchungen aufgrund der geringen Dosierung der Radiodiagnostika meist die Auflösung verschlechtert. Neuere Szintillatormaterialien wie z. B. das Cerium dotierte Gadolinium-orthosilicat^[5] (Gd₂SiO₅:Ce; GSO(Ce)) bzw. Lutetiumoxyorthosilicat^[6] (Lu₂SiO₅:Ce; LSO(Ce)) erhöhen das Auflösungsvermögen der Detektoren bis auf $\Delta x \approx 2$ mm und senken die Koinzidenzauflösezeit auf $2\tau \approx 2$ ns. Des weiteren wird eine Verbesserung der Lichtausbeute des Detektorkristalls und der Energieauflösung des Detektorsystems erreicht, während sich die Totzeitverluste verringern.

1.1.1.5 Die PET-Untersuchung^[3]

Zu Beginn einer PET-Untersuchung wird die ungeschwächte Intensität des Tomographen mittels einer externen Strahlenquelle bestehend aus dem langlebigen Positronenstrahler ⁶⁸Ge/⁶⁸Ga bestimmt (Nullintensität; Leermessung). Nach der Lagerung des Patienten ermittelt man mit der gleichen Quelle in einer Transmissionsmessung die vom Körper des Patienten verursachte Schwächung der Nullintensität. Wie oben erwähnt ist der Gesamtweg, den beide Vernichtungsquanten auf einer Koinzidenzlinie durch den Körper des Patienten zurücklegen, konstant und entspricht der Länge desjenigen Streckenabschnitts dieser Koinzidenzlinie, der innerhalb des Körpers verläuft. Dies gilt unabhängig davon, an welchem Ort der Koinzidenzlinie der Zerfall stattfindet. Die Konstanz des Gesamtwegs bedingt die Konstanz der Schwächung jeder Koinzidenzlinie und ermöglicht die Korrektur der gemessenen Intensität mittels eines konstanten Faktors, der sich aus dem Quotienten aus der Intensität der Leermessung und derjenigen der Transmissionsmessung für jede einzelne Koinzidenzlinie bildet. Die Schwächung wird hauptsächlich durch die Compton-Streuung verursacht und beträgt beim Menschen für Messungen im Bereich des Schädels etwa 70 bis 80 %, im Bereich des Körperstamms 95 bis 99 %. Nach der Transmissionsmessung erhält der Patient das Radiodiagnostikum. Im gewünschten Zeitrahmen folgen die Emissionsmessungen mittels des Tomographen. Neben der Korrektur der Schwächung und des unterschiedlichen Ansprechverhaltens der Detektoren aufgrund von technischen Toleranzen werden auch die zufälligen Koinzidenzen und Totzeitverluste, die besonders bei hohen Zählraten verstärkt auftreten, mit Hilfe von Computerberechnungen weitgehend eliminiert.

Die PET-Aufnahme liefert ein dynamisches Bild von biochemischen Prozessen in Geweben, das auf nicht-invasivem Weg diagnostische Rückschlüsse erlaubt oder zell- bzw. tumorbiologische Fragestellungen klären kann.

1.1.2 Die Markierung von Biomolekülen

Sowohl zu Forschungszwecken als auch in der Nuklearmedizin kommen prinzipiell zwei Gruppen radioaktiv markierter Substanzen zum Einsatz:

Bei der ersten Gruppe wird innerhalb eines Moleküls formal ein stabiles Nuklid gegen eines seiner radioaktiven Isotope ersetzt. Da die Unterschiede im chemischen Verhalten von Isotopen eines Elements ab der zweiten Periode aufgrund der geringen Massendifferenzen vernachlässigbar sind, weisen radiomarkierte und native Verbindungen die gleiche biologische Wirkung auf. Beispiele hierfür sind [¹⁴C]- bzw. [¹¹C]Thymidin^[7], [1-¹¹C]Acetat^[8], [¹¹C]Ethanol, [¹⁵O]Wasser^[8] oder [¹³N]Ammoniak^[8]. Derartige Verbindungen eignen sich zu Tracerstudien, mit deren Hilfe sowohl Stoffwechselvorgänge als auch die Pharmakokinetik bzw. -dynamik von Arzneimitteln aufgeklärt oder verschiedene medizinische Parameter wie z. B. die Durchblutung von Geweben bestimmt werden können.

Die zweite Gruppe umfaßt Verbindungen, bei denen einzelne Atome oder Atomgruppen durch nicht verwandte Radionuklide substituiert werden. Sind die Wirkungsradien nativer Gruppierungen mit denjenigen der radioaktiven Substituenten identisch, erhält man isogeometrisch substituierte Analoga. Diese können in einem gewissen Umfang am Stoffwechselgeschehen teilnehmen, werden meist aber nicht bis zu den finalen Metaboliten umgesetzt. Häufig ist derjenige Schritt in einer Reaktionskaskade gehemmt, in dem der isogeometrische Substituent direkt verändert oder abgespalten werden soll. Erfolgt dieser Schritt enzymatisch, vermag das betroffene Enzym sein analoges Substrat unter Umständen nicht unverändert wieder freizugeben. Das Enzym wird dauerhaft blockiert. In dessen Folge reichert sich das analoge Substrat zunächst als Enzymkomplex, in höherer Konzentration auch frei in allen Zellen an, die einen identischen Stoffwechselschritt aufweisen. Wenn das Analogon weder anderweitig metabolisiert noch unmetabolisiert aus den Zellen ausgeschleust werden kann, wirken die betroffenen Zellen als metabolische Falle für dieses Analogon, wobei das Metabolic Trapping den gesamten Zellstoffwechsel zum Erliegen bringen kann. Das analoge Substrat selbst wird als Antimetabolit bezeichnet. Wird das Enzym nicht dauerhaft blockiert, kann ebenfalls eine Anreicherung des analogen Substrats erfolgen. Hierbei wird der Zellstoffwechsel meist dahingehend gestört, daß sich das Analogon im gehemmten Schritt wiederholt dem Enzym anbietet und durch dessen temporäre Blockade die Reaktionskaskade verlangsamt.

Aus nuklearmedizinischer Sicht ist das Metabolic Trapping von großem Interesse, weil dadurch bestimmte Zellarten nicht-invasiv von den übrigen Zellen unterschieden und beispielsweise mittels PET beobachtet werden können. Speziell die Tumordiagnostik bedient sich dieses Hilfsmittels.

1.1.2.1 Die Radiofluorierung

Die isogeometrische Substitution eines Wasserstoffatoms oder einer Hydroxylgruppe durch [¹⁹F]bzw. [¹⁸F]Fluor führt ausnahmslos zu biologisch wirksamen Antimetaboliten, da die Fluor-Kohlenstoff-Bindung enzymatisch nicht abbaubar ist. [¹⁹F]Fluor liegt als Reinelement in der Natur vor. Die isogeometrische Substitution führt zu wichtigen Fluorantimetaboliten wie z. B. dem 3'-Fluor-3'-deoxythymidin (FLT). In Forschung und Diagnostik wird mittels der ¹⁹F-Kernresonanz-Tomographie durch Messung der [¹⁹F]Fluorkerndichte die Verteilung und der Metabolismus von biologisch wirksamen [¹⁹F]Fluorverbindungen untersucht und bildlich dargestellt^[9].

[¹⁸F]Fluor wird zur Herstellung von Radiodiagnostika für PET-Untersuchungen verwendet. Je nach Bedarf steht es als trägerfreies [¹⁸F]Fluorid oder als geträgertes [¹⁸F]Fluorgas zur Verfügung. Das [¹⁸F]Fluorid entsteht bei der Bestrahlung von [¹⁸O]Wasser ($V_{H_2[^{16}O]O} > 95:5$) mit Protonen, indem der [¹⁸O]Kern in einer ¹⁸O(p, n)¹⁸F-Reaktion ein Proton einfängt und zugleich ein Neutron ausstößt. Hierbei entsteht zunächst eine wäßrige [¹⁸F]Fluorwasserstofflösung. Als Radiofluorierungsmittel dient hauptsächlich die wasserfreie organische Lösung des Kryptofix[®]-Kalium[¹⁸F]fluorid-Komplexes, in der beispielsweise 2-[¹⁸F]Fluor-2-deoxyglucose^[10] ([¹⁸F]FDG) hergestellt werden kann, oder das [¹⁸F]Diethylaminoschwefeltrifluorid ([¹⁸F]DAST), das in einem [¹⁸F]Fluor-[¹⁹F]Fluor-Austausch erhalten wird und eine breite Palette an Alkoholen, Phenolen, Aldehyden und Ketonen unter milden Bedingungen zum Mono- oder Difluorid umsetzen kann^[11].

Das geträgerte [¹⁸F]Fluorgas bildet sich durch Bestrahlung einer Gasmischung aus 2 % [¹⁹F]Fluor in [²⁰Ne]Neon, bei der ein [²⁰Ne]Kern in einer ²⁰Ne(d, α)¹⁸F-Reaktion ein Deuteriumion unter Emission eines α -Teilchens einfängt. Gasförmiges [¹⁸F]Fluor dient z. B. der Herstellung von [¹⁸F]Dopa^[12] oder Acetylhypo[¹⁸F]fluorid^{[13],[14]}.

Weitere [¹⁸F]Fluorid markierte Radiopharmazeutika werden z. B. von L. VARAGNOLO *et al.* in einem Übersichtsartikel beschrieben^[15].

1.2 Die Dioxabicyclooctene

1.2.1 Die 1,6-Anhydro-2,3-dideoxy-β-D-*erythro*-hex-2-enopyranose

Die Dioxabicyclooctene sind präparativ wertvolle Vorstufen für funktionalisierte Hexosen. Einer der einfachsten Vertreter, die 1,6-Anhydro-2,3-dideoxy- β -D-*erythro*-hex-2-enopyranose (3), ist ein Synthesebaustein, bei dem alle Hydroxylgruppen außer derjenigen in 4-Stellung funktionalisiert sind. Hierdurch ist das allgemeine Selektivitätsproblem der Zuckerchemie aufgrund der chemisch ähnlichen Hydroxylgruppen beseitigt. Die 1- und die 6-Position in 3 werden durch eine intramolekulare, basenstabile Anhydrobrücke, die sich in verdünnter Mineralsäure unter Erwärmung rasch spalten läßt^[16], intern geschützt. Diese Anhydrobrücke steigert die Stereoselektivität angreifender Agenzien sowohl durch die Fixierung der Verbindung 3 in der reaktiven ¹C₄-Konformation als auch durch die sterische Abschirmung der endo-seitigen Ringebene des Zuckers. Die 2- und 3-Position sind mittels einer Doppelbindung verknüpft. Hieraus erwächst das Potential der 1,6-Anhydroverbindungen, die selektive Derivatisierung am 2-, 3- und 4-Kohlenstoffatom für die Mono- und die Oligosaccharidsynthese zu nutzen. Eine biochemische Anwendung finden 1,6-Anhydroverbindungen beispielsweise bei der Erforschung von Inhibitoren der α -D-Glucosidase. Hierzu wurden N-glykosidisch verknüpfte Disaccharide synthetisiert, die zu einem Teil aus der 4-Amino-1,6-anhydro-4-deoxy- β -D-glucopyranose bestehen^[17]. Auch die von der Pseudomonas-Fluorescens-Lipase katalysierte regioselektive Übertragung von Acylgruppen von einem Acyldonor auf die 4-Position des Glucosans ist in der Literatur beschrieben^[18].

G. LAUER machte die 1,6-Anhydro-2,3-dideoxy- β -D-*erythro*-hex-2-enopyranose auf einfache Weise zugänglich. In der ersten Stufe entschützte er in einer Esterspaltung kommerziell erhältliches Tri-*O*-acetyl-D-glucal^[19] (1) mittels Lithiumhydroxid in trockenem Methanol und erhielt D-Glucal (2). Dieses wurde in einer Kondensationsreaktion in trockenem THF mit Kupfersulfat als *Lewis*-Säure in Gegenwart von aktiviertem Molekularsieb umgesetzt und ergab die 1,6-Anhydroverbindung **3** in 40 %iger und das 2-(D-Glycero-1,2-dihydroxyethyl)furan (4) als Nebenprodukt in 20 %iger Ausbeute (Abb. 6)^{[9],[20]}.



Abb. 6: Die Synthese der 1,6-Anhydro-2,3-dideoxy- β -D-erythro-hex-2-enopyranose nach G. LAUER

Aus Glycalen entstehen nach R.J. FERRIER in neutralen Medien 2,3-ungesättigte Pseudoglycale unter 1-Addition eines Nukleophils und Verlust der 3-Gruppierung. Protische Säuren werden dagegen an die Doppelbindung des Glycals addiert. Die intramolekulare Kondensationsreaktion von Verbindung 2 zu 3 entspricht einer *Ferrier*-Umlagerung^[21], bei der aufgrund der Abwesenheit von Nukleophilen und der Verdünnung der Reaktionslösung die Bildung der Anhydrobrücke einsetzt. Hierfür sind entwässerte Edukte und aktiviertes Molekularsieb zur Entfernung des bei der Kondensation entstehenden Wassers Voraussetzung.

Bisher konnte die Anhydroverbindung **3** ausschließlich in aufwendigen Synthesen erhalten werden. Ein Weg ging von Levoglucosan aus, einem flüchtigen Vakuumpyrolysat, das aus Cellulose, Holz oder Polysacchariden gewonnen wird^[22]. Ein anderer Weg führte in sechs Stufen von Acrolein zum gewünschten Produkt **3**^{[23],[24],[25]}.

1.2.2 Die 1,6-Anhydro-3,4-dideoxy-β-D-*erythro*-hex-3-enopyranose

Ähnlich bedeutend wie Verbindung **3** ist die eng verwandte 1,6-Anhydro-3,4-dideoxy- β -D-*erythro*hex-3-enopyranose (**5**). Die Derivatisierung der 4-Position ist bei diesem 3,4-ungesättigten Allylalkohol mittels elektrophiler Addition möglich. Dies umgeht die Gefahr einer Umlagerung des Molekülskeletts, die bei der entsprechenden nukleophilen Substitution der 4-Hydroxylgruppe im Fall der Verbindung **3** durch einen Angriff des Ringsauerstoffatoms am Reaktionszentrum besteht, wenn der Carbeniumionencharakter des Übergangszustands zu ausgeprägt ist und der Mechanismus in Richtung S_N1 tendiert. Bisher konnte die Verbindung **5** in vielstufigen Synthesen ebenfalls aus Acrolein hergestellt werden^{[23],[25],[26]}.

Die Synthese der 1,6-Anhydro-3,4-dideoxy- β -D-*erythro*-hex-3-enopyranose gelang LAUER in trockenem Dimethylformamid durch Umsetzung von **3** mit zwei Äquivalenten Diethylaminoschwefeltrifluorid (DAST) bei $t \approx -50$ °C (**Abb. 7a**; Seite 13)^[9]. Die Verbindung **5** wurde mit 57 % Ausbeute isoliert, wobei als Nebenprodukte die 1,6-Anhydro-2,3-dideoxy- β -D-*threo*-hex-2-enopyranose (**6**) zu 0,5 % und das Furanderivat **4** zu 12 % entstanden.

Formal stellt die Synthese der Anhydroverbindung **5** eine thermisch nicht erlaubte suprafaciale [1,3]-Verschiebung dar. Da ein photochemischer Prozeß auszuschließen ist, vermutete LAUER, daß sich das Lösungsmittel direkt am Reaktionsgeschehen beteiligt. Aus DMF und DAST könnte gemäß der Reaktionsgleichung in Abbildung 7b, Seite 13, ein Formylierungsreagens **9** entstehen, das den Allylalkohol **3** in einen Ameisensäureester **7** überführt. Unter diesen Umständen scheint eine Oxa-*Cope*-Umlagerung plausibel, die zu den thermisch erlaubten, sigmatropen [3,3]-Verschiebungen zählt und den Ameisensäureester **8** ergibt. Durch eine Verringerung der eingesetzten Menge DAST auf 1,1 Äquivalente konnte LAUER die intermediär entstandenen Ameisensäureester **7** und **8** nachweisen, wobei unter diesen Bedingungen kein Furanderivat **4** als Nebenprodukt beobachtet wurde. Während der wäßrigen Aufarbeitung der verschiedenen Ansätze setzt DAST Fluorwasserstoff frei. Dabei steigt die Azidität der Reaktionslösung im Fall der höheren DAST-Konzentration vermutlich so stark an, daß 7 bzw. 8 sauer hydrolysiert werden und in einer Nebenreaktion 4 entsteht. LAUER belegte diese Nebenreaktion, indem er in einem Kontrollexperiment einer wäßrigen Lösung des Allylalkohols 3 einen Tropfen Schwefelsäure zufügte und in 65 %iger Ausbeute das Furanderivat 4 erhielt. Durch diese Ergebnisse konnte LAUER seine Thesen erhärten.



Abb. 7: Die Synthese der 1,6-Anhydro-3,4-dideoxy- β -D-erythro-hex-3-enopyranose nach G. LAUER

1.2.3 Die 1,6-Anhydro-2,3-dideoxy-β-D-*threo*-hex-2-enopyranose und ihr 3,4-ungesättigtes Analogon

In einer analogen Reaktionsfolge stellte R. HAECKEL die 1,6-Anhydro-2,3-dideoxy- β -D-*threo*-hex-2-enopyranose (**6**) und die 1,6-Anhydro-3,4-dideoxy- β -D-*threo*-hex-3-enopyranose (**12**) her. Dies sind die jeweiligen in 4- bzw. 2-Position epimeren Verbindungen zu **3** bzw. **5** (Abb. 8)^{[4],[16],[27]}.



Abb. 8: Die Synthese der 1,6-Anhydro-2,3-dideoxy- β -D-threo-hex-2-enopyranose und der 1,6-Anhydro-3,4-dideoxy- β -D-threo-hex-3-enopyranose nach R. HAECKEL

Als geeigneten Katalysator für die der Ferrier-Umlagerung^[21] ähnlichen Kondensation setzte HAECKEL

wasserfreie Schwefelsäure ein. Die Reaktion verlief in hoher Verdünnung innerhalb einer Stunde in 40 %iger Ausbeute. Wie bei der Synthese des Epimers **3** ist die strikte Abwesenheit von Nukleophilen einschließlich Wasser Grundvoraussetzung. Die Gegenwart von Kupfersulfat oder anderen *Lewis*-Säuren als Katalysator führte entweder zur alleinigen Entstehung des Furanderivats **4** oder zu keiner Umsetzung. Die Bildung der Anhydrobrücke wird offenbar durch die Protonierung der Hydroxylgruppe in 3-Position eingeleitet und verläuft über ein zyklisches, allylisches Carbeniumion.

Die Überführung von 6 in die Verbindung 12 gelang HAECKEL unter identischen Bedingungen, wie sie LAUER zur Herstellung des Allylalkohols 5 fand. Auch dieser Reaktion liegt vermutlich eine Oxa-*Cope*-Umlagerung zu Grunde. Dies belegt die Tatsache, daß als Edukt-Produkt-Paarungen bisher ausschließlich *erythro-erythro-* bzw. *threo-threo*-Paare gefunden wurden, auch wenn die Beobachtung der für die sigmatrope [3,3]-Verschiebung üblichen Gleichgewichtseinstellung in beiden Fällen noch aussteht.

In der Vergangenheit konnten die Verbindungen 6 und 12 beispielsweise aus Acroleindimer in mehrstufigen Synthesen hergestellt werden^[25].

1.2.4 Die *Černý*-Epoxide

Epoxide oder Oxirane stellen wertvolle Zwischenstufen für organische Synthesen dar. Der Oxiranring kann leicht durch Nukleophile, Säuren oder Basen geöffnet werden^[28], wobei abhängig von der Reaktionsführung eine hohe Stereoselektivität erreicht wird. Eine nukleophile Epoxidöffnung erfolgt z. B. in starren 6-gliedrigen Ringsystemen immer *trans*-diaxial. Die Epoxidierung der Allylalkohole **3**, **5**, **6** und **12** führt zu den *Černý*-Epoxiden, aus denen jede beliebige unsubstituierte und viele substituierte Hexosen synthetisiert werden können^{[22],[26]}. Die Herstellung und die Eigenschaften dieser Epoxide wurden eingehend von M. ČERNÝ^[22], J. PACÁK^[29] und J. STANĚK^[30] dargelegt.

In seiner Dissertation beschrieb LAUER die von ihm erarbeiteten Synthesewege von der 1,6-Anhydro-2,3-dideoxy- β -D-*erythro*-hex-2-enopyranose zum jeweiligen *exo*- bzw. *endo*-Epoxid^[9].

Das geschützte *exo*-Epoxid **14**, die 4-*O*-Benzyl-1,6:2,3-dianhydro- β -D-allopyranose, erhielt LAUER in einer zweistufigen Synthese (**Abb. 9**). Hierzu wurde zunächst der Allylalkohol **3** mit Benzylchlorid und Natriumhydrid in absolutem DMF umgesetzt und anschließend die Benzylverbindung **13** in einer *Priležaev*-Reaktion mit 65 %iger *m*-Chlorperbenzoesäure (*m*-CPBA) in Dichlormethan unter Rückfluß zu Verbindung **14** epoxidiert^[9].



Abb. 9: Die Synthese der 4-O-Benzyl-1,6:2,3-dianhydro- β -D-allopyranose nach G. LAUER Das endo-Epoxid 19 entstand bei dieser Reaktionsfolge nur in Spuren. Dies beobachteten auch

F. SWEET und R.K. BROWN und bestimmten das *exo-endo*-Verhältnis auf 95:5^[23]. LAUER vermutete, daß sich der Angriff der Persäure aus der *endo*-Richtung durch voluminöse 4-*O*-Schutzgruppen, die die *exo*-Position abschirmen, erzwingen lasse. Die Umsetzung des Triphenylsilyl- bzw. des Tribenzylsilyl- derivats ergab jedoch das jeweilige *exo*-Epoxid, wobei im zweiten Fall Spuren der *endo*-Verbindung nachgewiesen wurden. Die unerwartete Entstehung der *exo*-Verbindung könnte von dirigistischen Effekten der aromatischen 4-*O*-Schutzgruppe verursacht werden, die auf der Ausbildung von *charge-transfer*-Wechselwirkungen zwischen den elektronenreichen π -Systemen und der elektronenarmen Persäure beruhen und die sterische Überfrachtung überlagern. Aber auch die Einführung der sterisch anspruchsvollen nicht-aromatischen *tert*-Butyldimethylsilylgruppe in 4-*O*-Position ergab das *exo*-Produkt. Die β -(Trimethylsilyl)ethoxymethyl- (SEM) oder Acetylderivate zeigten entweder keine oder keine definierte Umsetzung^[9].

In zwei Stufen konnte LAUER schließlich die gewünschte 4-*O*-Benzyl-1,6:2,3-dianhydro- β -D-mannopyranose (**19**) synthetisieren. Hierzu wurde zunächst die Benzylverbindung **13** mit einer Lösung aus Acetylhypobromit in Tetrachlorkohlenstoff zu dem Zwischenprodukt **16** umgesetzt und anschließend mittels Kaliumcarbonat in Methanol der Oxiranring geschlossen (**Abb. 10**)^[9].



Abb. 10: *Die Synthese der 4-O-Benzyl-1,6:2,3-dianhydro-\beta-D-mannopyranose nach G. LAUER* Auf einem analogen Weg gelang die Synthese der 2-Brom-1,6:3,4-dianhydro-2-deoxy- β -D-allopyranose (**24**; **Abb. 11**). Zunächst wurde an die Doppelbindung der Verbindungen **20** bzw. **3** elementares



Abb. 11: Die Synthese der 2-Brom-1,6:3,4-dianhydro-2-deoxy- β -D-allopyranose nach G. LAUER

Brom in Freon bei $t \approx 0$ °C addiert, dann **21** wie oben beschrieben mit wäßrigem Kaliumcarbonat in Methanol bei Raumtemperatur zum Bromhydrin **22** entschützt und unter Eliminierung eines Bromidions zum *exo*-Epoxid **24** umgesetzt. Die Synthese über die Acetyl-geschützten Verbindungen **20** und **21** verlief hierbei etwas einheitlicher^[9].

Auch HAECKEL widmete sich der Oxiranbildung^{[4],[16],[27]}. Aus 4-*O*-Benzyl-1,6-anhydro-2,3-dideoxy- β -D-*threo*-hex-2-enopyranose, dem 4-Epimer zu **13**, erhielt er zum einen mit *m*-CPBA in Dichlormethan das *exo*-Epoxid 4-*O*-Benzyl-1,6:2,3-dianhydro- β -D-gulopyranose, zum anderen gemäß der Acetylhypo-bromit-Methode von LAUER das *endo*-Epoxid, die 4-*O*-Benzyl-1,6:2,3-dianhydro- β -D-talopyranose.

1.2.5 Die Öffnung der *Černý*-Epoxide

Die Öffnung von *Černý*-Epoxiden mit Fluorid gelang LAUER ausschließlich nach den Vorschriften von ČERNÝ^[31] bzw. BROWN^[32]. Hierzu wurde Verbindung **19** bei $t \approx 200$ °C in Ethylenglykol mit KHF₂ zu **25** umgesetzt, wobei ein Nebenprodukt **26** als Addukt aus Epoxid und Ethylenglykol isoliert werden konnte (**Abb. 12**)^[9]. Nach Abspaltung der Benzylschutzgruppe und Hydrolyse der Anhydrobrücke entsteht aus Verbindung **25** die 2-Fluor-2-deoxyglucose, das FDG.



Abb. 12: Die Synthese der 4-O-Benzyl-2-fluor-1,6-anhydro-2-deoxy- β -D-glucopyranose nach G. LAUER

Auch die meisten Methoden zur Öffnung der Oxirane mit Chlorid versagten. Einzig die Synthese, bei der das geschützte Epoxid **27** in siedendem 1,1,2,2-Tetrachlorethan in 35 %iger Ausbeute zu 4-*O*-Benzyl-2-chlor-1,6-anhydro-2-deoxy- β -D-galactopyranose (**28**; **Abb. 13**; **links**) reagierte, gelang HAECKEL^{[4],[16],[27]}.



Abb. 13: Die Synthese der 4-O-Benzyl-2-chlor-1,6-anhydro-2-deoxy-β-D-galactopyranose (links) und der 2-Brom-1,6-anhydro-2-deoxy-β-D-galactopyranose (rechts) nach R. HAECKEL

Die Addition des stabilen [⁷⁹Br/⁸¹Br]Bromids (**Abb. 13**; **rechts**) sowie die Addition des radioaktiven [⁸⁰Br]Bromids an das Acetyl-geschützte Epoxid **29** verliefen sehr erfolgreich in 80 % chemischer bzw. 48 % unkorrigierter radiochemischer Ausbeute^{[4],[16],[27]}. Die Umsetzungen wurden mit Lithiumbromid

bzw. [⁸⁰Br]Bromwasserstoff in siedendem Acetonitril ausgeführt und ergaben fast nebenproduktfrei die ungeschützte 2-Brom-1,6-anhydro-2-deoxy- β -D-galactopyranose (**30**) bzw. deren [⁸⁰Br]Brommarkiertes Pendant. Bei der jeweiligen Hydrolyse mit 1 molarer Salzsäure erhielt HAECKEL die 2-[⁷⁹Br/⁸¹Br]Brom- bzw. die 2-[⁸⁰Br]Brom-2-deoxy-D-galactose. Letztere findet in kinetischen Tracerstudien des Leber-Galactosemetabolismus Verwendung^[33].

In gleicher Weise wie das *endo*-Epoxid **19** in **Abbildung 12**, Seite 16, läßt sich das entsprechende 4-Epimer **27** zu der 4-*O*-Benzyl-2-fluor-1,6-anhydro-2-deoxy- β -D-galactopyranose umsetzen, aus der nach Debenzylierung und Hydrolyse der 1,6-Anhydrobrücke die 2-Fluor-2-deoxy-D-galactose resultiert. Dieser Fluorzucker läßt sich auch aus Tri-*O*-acetyl-D-galactal mit Xenondifluorid erhalten^[34] und dient dem Studium des Galactosemetabolismus mit Hilfe der ¹⁹F-NMR-Tomographie oder im Fall des [¹⁸F]Fluorpendants mittels PET. Des weiteren wird sie als Chemotherapeutikum bei primären Lebertumoren eingesetzt^{[16],[27]}.

1.2.6 Die Fluorierung der 1,6-Anhydroverbindungen mit DAST

Das leicht handhabbare Diethylaminoschwefeltrifluorid (DAST) ist ein Derivat des Schwefeltetrafluorids und dient der Fluorierung von Alkoholen, Phenolen, Aldehyden und Ketonen, aber auch Carbonsäuren, Triarylphosphanen oder Trialkylsilylhalogeniden^[35]. Die Reaktionen laufen meist innerhalb weniger Minuten unter milden Bedingungen und geringer Nebenproduktbildung ab. Eine Übersicht der Möglichkeiten, Kohlenhydrate mittels DAST oder anderweitig zu fluorieren, bietet der Artikel von P.J. CARD^[36].

Im ersten Schritt der Fluorierung des Alkohols **31** greift das Schwefelzentrum des DASTs den Hydroxylsauerstoff elektrophil unter Eliminierung des Hydroxylprotons und eines Fluoridions an. Hierbei entsteht die OSF₂NEt₂-Gruppe, die eine hohe Austrittstendenz besitzt. Das eliminierte Fluoridion greift seinerseits das Alkoxy-*N*,*N*-diethylaminodifluorosulfan **32** rückseitig in einer S_N2-Reaktion unter *Walden*-Umkehr an, wobei unter Austritt der OSF₂NEt₂-Gruppe die Verbindung **33** resultiert (**Abb. 14**). Der Übergangszustand des Fluorierungsschritts (**32** \rightarrow **33**) muß nicht notwendigerweise fünfbindig sein. Es ist auch eine vorgelagerte Bildung eines engen Ionenpaars [R^{\oplus} Θ OSF₂NEt₂] denkbar, das abschließend durch den ebenfalls rückseitigen Fluoridangriff zu **33** reagiert^[37]. Da sich in den seltensten Fällen ein freies Carbeniumion ausbildet, eignet sich DAST auch für Verbindungen, die bei anderen Fluorierungsmitteln zu Umlagerungen oder zur Eliminierung neigen. Ist der Fluoridangriff sterisch gehindert, erhält man während der Aufarbeitung den ursprünglichen Alkohol durch Hydrolyse der OSF₂NEt₂-Gruppe wieder zurück.



Abb. 14: Die Fluorierung eines Alkohols mittels DAST unter Walden-Umkehr

Mit DAST können beispielsweise die 2-Fluor-2-deoxy-D-glucose^[38] oder das 3'-Fluor-3'-deoxy-thymidin^[39] hergestellt werden.

Der Versuch LAUERs, die 1,6-Anhydro-2,3-dideoxy- β -D-*erythro*-hex-2-enopyranose (**3**) mit DAST in Dichlormethan bei $t \approx -80$ °C zu fluorieren, ergab statt der erwarteten 4-Fluor-1,6-anhydro-2,3,4-trideoxy- β -D-*threo*-hex-2-enopyranose als Hauptprodukt das 2-(*R*)-Fluor-3,8-dioxabicyclo[3.2.1]oct-6-en (**36**) in 32 %iger neben dem 2-(*S*)-Fluor-3,8-dioxabicyclo[3.2.1]oct-6-en (**35**) in 18 %iger und der 2-Fluor-1,6-anhydro-2,3,4-trideoxy- β -D-*erythro*-hex-3-enopyranose (**34**) in 13 %iger Ausbeute (**Abb. 15**)^[9]. Offenbar wird die OSF₂NEt₂-Abgangsgruppe aus dem Molekül **37** abgespalten, bevor das Fluoridion addiert wird. Es bildet sich ein Allylcarbeniumion, dessen Grenzstrukturen als **38a** und **38b** dargestellt sind. Greift das Fluoridion hinreichend schnell in der 2-Position von **38** an (Weg **a**), bildet sich die Verbindung **34**, bei der sich das Fluor aus sterischen Gründen ausschließlich in der *exo*-Stellung befindet. Bei einer etwas höheren Lebensdauer des Allylcarbeniumions kann die Bindung des Ringsauerstoffatoms vom 1- zum 2-Kohlenstoffatom wandern (Weg **b**), und das Fluoridion wird anschließend an der ehemaligen 1-Position (Weg **b**) aus der *exo*- zu **36** bzw. der *endo*-Richtung zu **35** addiert.



Abb. 15: Die Fluorierung der 1,6-Anhydro-2,3-dideoxy- β -D-erythro-hex-2-enopyranose mit DAST nach G. LAUER

Bei der analogen Umsetzung der 1,6-Anhydro-2,3-dideoxy- β -D-*threo*-hex-2-enopyranose (**6**), dem 4-Epimer zu Verbindung **3**, entstehen mit DAST ebenfalls die Verbindungen **34**, **35** und **36** in einem ähnlichen Verhältnis zueinander. Dies stützt die Theorie, daß im Verlauf dieser Reaktion das diskrete Carbeniumion **38** entsteht, das eine gewisse Lebensdauer besitzt^[9]. Dagegen fand HAECKEL, daß bei Raumtemperatur unter sonst gleichen Bedingungen die Verbindung **6** zur eigentlich erwarteten 4-Fluor-1,6-anhydro-2,3,4-trideoxy- β -D-*erythro*-hex-2-enopyranose reagiert^{[4],[16],[27]}. Von biologischer Relevanz ist die verwandte 4-Fluor-4-deoxy-D-glucose. Sie gilt als Kettenabbruchagens in der Glykogenspeicherung stehen, Verwendung finden^[27].

LAUER zeigte, daß die 1,6-Anhydro-3,4-dideoxy- β -D-*erythro*-hex-3-enopyranose (5) mit DAST bei

tiefen Temperaturen ausschließlich die Verbindungen **35** in 33 % iger und **36** in 15 % iger Ausbeute liefert. Offenbar wird die OSF_2NEt_2 -Gruppe in diesem Fall in einer S_N2-artigen Reaktion direkt durch den rückseitigen Angriff des Ringsauerstoffs verdrängt, so daß das Carbeniumion **38** nicht entsteht^[9].

1.2.7 Die Halogenaddition an 1,6-Anhydroverbindungen

Die Bromaddition an die 4-*O*-Acetyl-1,6-anhydro-2,3-dideoxy- β -D-*erythro*-hex-2-enopyranose (**20**) nach LAUER wurde schon auf Seite 15 und in **Abbildung 11** vorgestellt. HAECKEL bromierte das entsprechende 4-Epimer, die 4-*O*-Acetyl-1,6-anhydro-2,3-dideoxy- β -D-*threo*-hex-2-enopyranose (**39**), in Tetrachlorkohlenstoff bei Raumtemperatur und erhielt die 4-*O*-Acetyl-2,3-dibrom-1,6-anhydro-2,3-dideoxy- β -D-galactopyranose (**40**) in 96 %iger Ausbeute (**Abb. 16**)^{[4],[16],[27]}.



Abb. 16: *Die Synthese der 4-O-Acetyl-2,3-dibrom-1,6-anhydro-2,3-dideoxy-β-D-galactopyranose nach R. HAECKEL*

Die entsprechenden Fluorierungen, Chlorierungen und Iodierungen mißlangen.

1.3 Das 3'-Fluor-3'-deoxythymidin

1.3.1 Der Aufbau der Desoxyribonukleinsäure^[40]

Die meisten Organismen kodieren die Erbinformationen ihrer Zellen in Form der Desoxyribonukleinsäure, der DNA. Sie ist für die Struktur sowie alle physiologischen und biochemischen Charakteristika des Organismus verantwortlich. Die DNA selbst stellt ein unverzweigtes, hochmolekulares Polymer dar, das aus einer Vielzahl miteinander verknüpfter Nukleotide besteht. Jedes Nukleotid setzt sich aus einer von vier möglichen Nukleobasen, die jeweils *N*-glykosidisch an einen 2'-Deoxyribofuranose-Ring gebunden sind, zusammen, wobei die 5'-Hydroxylgruppe der Furanose mit einer Phosphatgruppe verestert ist. Eine zweite Esterbindung verknüpft diese Phosphatgruppe mit der 3'-Hydroxylgruppe des Nachbarnukleotids. Ein kleiner Ausschnitt des hieraus resultierenden DNA-Strangs ist in **Abbildung 17** skizziert.



Abb. 17: Ausschnitt aus einem DNA-Doppelstrang bestehend aus den vier möglichen Nukleotiden

Zwei Nukleobasen, das Cytosin und das Thymin, leiten sich von Pyrimidin ab, die anderen beiden, das Adenin und das Guanin, von Purin. Wie in **Abbildung 17** angedeutet besteht die Gesamt-DNA aus zwei komplementären, antiparallel verlaufenden DNA-Strängen. Das heißt, jeder Nukleobase des einen Strangs ist eine bestimmte Base des anderen Strangs zugeordnet. Aufgrund der intermolekularen Wechselwirkungen sind ausschließlich die Basenpaarungen Adenin/Thymin und Cytosin/Guanin möglich. Während der eine Strang vom 5'-Phosphat- zum 3'-Hydroxylende verläuft, verläuft der komplementäre Strang umgekehrt vom 3'-Hydroxyl- zum 5'-Phosphatende. Die einander gegenüberliegenden Nukleobasen sind jeweils durch Wasserstoffbrücken miteinander verknüpft, wodurch die beiden Stränge aneinander gebunden sind und der Doppelstrang die charakteristische Doppelhelixstruktur erhält. In Prokaryoten liegt die DNA meist als membrangebundener, zyklischer Faden

offen in der Zelle. Prokaryoten sind einfache Zellen meist einzelliger Organismen wie z. B. Bakterien oder Blaualgen, die keinen echten Zellkern besitzen und bei denen die Erbsubstanz nicht in Chromosomen differenziert ist. Dagegen befindet sich die DNA der Eukaryoten hauptsächlich im Zellkern. Sie ist immer und fast vollständig mit Proteinen komplexiert. Hieraus resultieren Strukturen, die während der Mitose und der Meiose der Zelle als Chromosomen im Lichtmikroskop sichtbar sind. Für die Proteinsynthese wird im Zellkern eine Arbeitskopie der DNA, die *messenger*-Ribonukleinsäure oder kurz *m*RNA, angefertigt. Dieser Vorgang wird Transkription genannt. *m*RNA ist prinzipiell wie DNA aufgebaut, liegt aber meist einzelsträngig vor und wird mittels der Basen Adenin, Cytosin, Guanin und Uracil kodiert. Als Zuckereinheit findet Ribose Verwendung.

1.3.2 Die Biosynthese von Thymidin und dessen Einbau in die DNA^[40]

Das Nukleosid Thymidin ist Bestandteil der DNA. Es setzt sich aus der 2-Deoxyribofuranose und Thymin zusammen, die β -*N*-glykosidisch aneinander gebunden sind. Das in der *m*RNA kodierende Analogon zu Thymidin ist Uridin. Aus diesem Grunde ist die Bezeichnung Deoxythymidin (dThd) nicht zwingend, wird aber beispielsweise in der Oligonukleotidchemie häufig verwendet.

Nukleotide werden *in vivo* auf zwei Wegen synthetisiert, zum einen in der *de novo*-Synthese aus einfachen Bausteinen wie Aminosäuren, Tetrahydrofolsäurederivaten, Ammoniumkationen und Kohlendioxid, zum anderen in der *Salvage*-Synthese durch Wiederverwertung vorhandener Basen. Für die *de novo*-Synthese ist charakteristisch, daß weder Basen noch Nukleoside als Intermediate entstehen, sondern direkt die Nukleosid-5'-monophosphate (NMPs) gebildet werden.

Die *de novo*-Synthese des Thymidin-5'-monophosphats, auch als dTMP oder Thymidylat bezeichnet, beginnt mit Glutamin (**41**), zwei Adenosin-5'-triphosphat-Molekülen (ATP) und Hydrogencarbonat, aus denen Carbamoylphosphat (**43**) entsteht (**Abb. 18**; Seite 22). Aus **43** und Aspartat (**44**) wird mittels des Enzyms *Aspartat-Transcarbamoylase N*-Carbamoylaspartat (**45**) synthetisiert, das mit Hilfe der *Dihydroorotase* zu Dihydroorotat (**46**) kondensiert. Im nächsten Schritt wird **46** zu Orotat (**47**) dehydrogeniert, wobei das Nicotinamidadenindinukleotid (NAD[⊕]) als Hydridakzeptor und die *Dihydroorotat-Dehydrogenase* als Katalysator fungieren. Das 5-Phosphoribosyl-1-pyrophosphat (PRPP), ein universeller Ribosephosphatdonor, wird mittels der *Orotat-Phosphoribosyltransferase* mit Orotat zu Orotidylat (**48**) *N*-glykosyliert. Die Decarboxylierung an der *Orotidylat-Decarboxylase* führt zu dem wichtigen RNA-Baustein Uridin-5'-monophosphat (**49**), dem Uridylat oder UMP. Nach der Umwandlung des UMP in Uridin-5'-diphosphat (UDP; **50**) entsteht das 2'-Deoxy-Uridin-5'-diphosphat (dUDP; **51**) unter Katalyse der *Ribonukleotid-Reduktase* und mit NADPH als Hydriddonor. Im letzten Schritt wird aus dUMP mittels der *Thymidylat-Synthase* und dem Methylengruppendonor N^5,N^{10} -Methylentetrahydrofolat das gewünschte Thymidylat (**52**) synthetisiert.

Im Gegensatz zu den Pyrimidin-analogen Nukleobasen wird der Purinring während der *de novo*-Synthese am Riboserest aufgebaut^[40]. Hieraus geht Inosinat (IMP) als zentrales Nukleotid hervor, aus dem Adenylat (AMP) und Guanylat (GMP) entstehen.



Abb. 18: Die de novo-Synthese des Uridylats (UMP) und die Synthese des Thymidylats (dTMP)

Für die DNA-Synthese werden die Nukleosid-5'-triphosphate (NTPs) benötigt. Deren zweistufige Synthese aus den entsprechenden NMPs und ATP ist am Beispiel des Thymidylats aufgezeigt:

dTMP + ATP
dTDP + ADP dTDP + ATP
dTTP + ADP

Der erste Schritt wird durch nukleosidspezifische Enzyme wie z. B. der *TMP-Kinase* katalysiert. Für den zweiten Schritt ist die unspezifische *Nukleosiddiphosphat-Kinase* notwendig.

Während der Replikation wird ein DNA-Doppelstrang schrittweise durch *Helikasen* in seine beiden Einzelstränge, die Matrizen- oder Elternstränge, aufgetrennt. Diese einzelsträngigen Bereiche werden sofort von Proteinen stabilisiert. Enzyme, die einen komplementären Tochterstrang an einem Elternstrang synthetisieren, können diese Synthese nicht *de novo* starten, sondern benötigen einen kurzen doppelsträngigen Startpunkt, den Primer. Dieser Primer wird von einer *Primase* aus Ribonukleosid-5'-triphosphaten erzeugt. Am 3'-Ende des Primers lagert sich das zum ersten ungepaarten Nukleotid des Elternstrangs komplementäre Nukleosid-5'-triphosphat mittels Wasserstoffbrücken an und wird durch eine *DNA-Polymerase* kovalent an den Primer gebunden. Die Bildung dieser kovalenten Phosphodiesterbindung erfolgt durch den nukleophilen Angriff der freien 3'-Hydroxylgruppe des Nukleotids am α -Phosphoratom der 5'-Triphosphatgruppe des Folgenukleotids unter Freisetzung eines Pyrophosphats (**Abb. 21**). Die katalytische Hydrolyse des Pyrophosphats mittels der *Pyrophosphatase* ist die Triebfeder der Bildung der Phosphodiesterbindung. Die Anlagerung und kovalente Bindung der entsprechend des Elternstrangs komplementären Nukleotide setzt sich fort, bis entweder die *DNA-Polymerase* von dem wachsenden Tochterstrang abdissoziiert oder der vollständige Elternstrang repliziert wurde. Bei Bakterien wie z. B. den *Escherichia coli* katalysieren die *DNA-Polymerase I* bzw. *III* und bei Eukaryoten die *DNA-Polymerase* α bzw. γ die Replikation.



Abb. 21: Die Synthese eines Tochterstrangs

Ein Tochterstrang entsteht enzymatisch bedingt immer in $5' \rightarrow 3'$ -Richtung. Daher kann nur derjenige Tochterstrang kontinuierlich synthetisiert werden, dessen Matrizenstrang eine $3' \rightarrow 5'$ -Ausrichtung parallel zur Hauptsyntheserichtung aufweist. Dieser Tochterstrang wird auch Leitstrang genannt. Der andere Tochterstrang, der Folgestrang, bildet sich diskontinuierlich, da hier entgegen der Hauptsyntheserichtung nur kurze, diskrete DNA-Sequenzen, die *Okazaki*-Fragmente, an ihrem Matrizenstrang entstehen können. Die Syntheserichtung eines *Okazaki*-Fragments, das stets durch einen eigenen Primer gestartet werden muß, findet lokal ebenfalls in $5' \rightarrow 3'$ -Richtung statt. Die Lücken zwischen den *Okazaki*-Fragmenten werden bei *Escherichia coli* von der *DNA-Polymerase I* geschlossen, wobei gleichzeitig die Ribonukleotide des Primers entfernt werden. Die *DNA-Ligase* verknüpft schließlich die Einzelfragmente des Folgestrangs zu einem zusammenhängenden DNA-Polymer.

1.3.3 Der Metabolismus des 3'-Fluor-3'-deoxythymidins

Das 3'-Fluor-3'-deoxythymidin, kurz FDT bzw. FLT für Fluor-L-thymidin genannt, ist ein Analogon

des Thymidins, das formal durch eine isogeometrische Substitution der 3'-Hydroxylgruppe gegen Fluor entsteht. Wie in **Kapitel 1.1.2** bereits erwähnt ist FLT ein Antimetabolit. Es kann alle Stoffwechselschritte eingehen, die nicht an der stabilen Fluor-Kohlenstoff-Bindung angreifen.

X.B. KONG et al. konnten durch Untersuchungen an Meerkatzen (Macaca facicularis) und in vitro den Einblick in den Metabolismus des 3'-Fluor-3'-deoxythymidins vertiefen^[41]. Das FLT gelangt oral bzw. intravenös in die Blutbahn der Meerkatzen, von wo aus nur ein Teil in die Zellen aufgenommen wird. Der im Blutplasma verbleibende Anteil wird überwiegend unverändert oder nur in geringem Umfang glucuronidiert bzw. anderweitig metabolisiert renal ausgeschieden. Der in einem weiteren Experiment im Urin der Meerkatzen wiedergefundene Anteil an unverändertem [³H]FLT beträgt 40,8 bis 60,5 % der applizierten Gesamtdosis, der glucuronidierte Anteil beträgt 3,2 bis 7,4 %, und etwa 3 % der Gesamtdosis liegen als unidentifizierte [³H]FLT-Stoffwechselprodukte vor. Hier steht FLT im Gegensatz zu anderen Nukleosidanaloga wie dem 3'-Azido-3'-deoxythymidin (AZT), die vor der Ausscheidung mittels Biotransformation in beispielsweise gut wasserlösliche Glucuronide überführt werden müssen. Dieser Unterschied basiert vermutlich auf der höheren Hydrophilie des FLTs, die eine gute Nierengängigkeit ohne vorherige Metabolisierung ermöglicht. Die FLT-Aufnahme in die Zellen verläuft zum einen mit Hilfe aktiver Nukleosidtransportersysteme, die dem Transport nativer Nukleoside dienen, zum anderen vermutlich durch Diffusion. Beide Wege legen in vitro-Experimente von KONG et al. nahe, die einige Zeit nach einer Blockierung des Transportersystems die neuerliche Einschleusung des [³H]FLTs in *HL-60* Zellen belegen, wobei lediglich ein Viertel der Aufnahmerate nicht-inhibierter Zellen erreicht wird. Pyrimidinanaloge Nukleoside treten intrazellulär ausschließlich aufgrund von Abbauprozessen bzw. durch Aufnahme von außen auf und werden der Wiederverwertung durch die Salvage-Synthese, auch Reutilisierung genannt, zugeführt. Hierbei entstehen durch das Enzym Thymidin-Kinase I katalysiert Nukleosid-5'-monophosphate, wobei ein ATP-Molekül in Adenosin-5'-diphosphat (ADP) übergeht. Auf gleichem Weg wird FLT zu FLT-5'-monophosphat (FLTMP) phosphoryliert. In zwei weiteren Phosphorylierungsschritten bildet sich FLT-5'-triphosphat (FLTTP) analog der Synthese von dTTP aus dTMP (Kap. 1.3.2), wobei die FLT-Spezies sowohl der TMP-Kinase als auch der Nukleosiddiphosphat-Kinase als Substrat dienen. Bei in vitro-Studien an menschlichen MT4- bzw. PBL-Zellen fanden KONG et al., daß die Reaktionsgleichgewichte aller drei Phosphorylierungsstufen weit auf der Seite der Produkte liegen, also keine Anreicherung beispielsweise auf dem Niveau des 5'-Monophosphats stattfindet, wie dies bei dem Anti-HIV-Wirkstoff AZT der Fall ist. FLT-5'-triphosphat wird vom Enzymsystem der DNA-Synthese als Substrat erkannt und komplementär zu Adenin in den Tochterstrang eingebaut. Da die Replikation ausschließlich in der 5'→3'-Richtung erfolgt, ist erst die Bildung der kovalenten Phosphodiesterbindung zwischen der Fluorspezies und dem darauf folgenden Nukleotid inhibiert. Die metabolische Stabilität der Fluor-Kohlenstoff-Bindung führt bei dem wachsenden DNA-Strang zum Kettenabbruch. KONG et al. konnten nachweisen, daß FLT in vitro in den DNA-Tochterstrang intakt inkorporiert wird. Hierzu nutzten sie die Labilität der Fluor-terminierten DNA gegenüber Alkalien.

1.3.4 Die medizinische Anwendung des 3'-Fluor-3'-deoxythymidins

Zur Zeit zeichnen sich drei große Anwendungsgebiete für FLT ab. Diese sind die DNA-Sequenzanalyse, der Einsatz als Anti-HIV-Wirkstoff und die Diagnostik mittels [¹⁸F]FLT als Proliferationsmarker in der Positronen-Emissions-Tomographie.

1.3.4.1 Das FLT als Inhibitor in der DNA-Sequenzanalyse

Die DNA-Sequenzanalyse nach *Sanger* bedient sich des Kettenabbruchs während der enzymatischen DNA-Synthese. Ursprünglich fanden hierzu 2',3'-Dideoxynukleosid-5'-triphosphate (ddNTP) Verwendung^[42]. Für die *Sanger*-Methode benötigt man das zu sequenzierende DNA-Fragment in ausreichender Menge als Einzelstrang und mit einem Primer am 3'-Ende versehen. In vier Ansätzen werden diese präparierten DNA-Fragmente mit radioaktiv markierten 2'-Deoxynukleosid-5'-triphosphaten (dNTP) in Gegenwart jeweils einer der vier möglichen ddNTPs repliziert. Da die ddNTPs der *DNA-Polymerase* ebenfalls als Substrat dienen, werden sie statistisch in die heranwachsenden Tochterstränge eingebaut und führen dort zum Kettenabbruch. Auf diese Weise erhält man unterschiedlich lange Kopien des DNA-Fragments, deren durchschnittliche Länge empfindlich von der Konzentration der ddNTPs abhängt. Allen Kopien gemeinsam ist das durch den Primer bedingte gleiche 5'-Ende und der vom Ansatz abhängige 3'-Kettenabbruch durch das Dideoxynukleotid. Nach der Denaturierung der DNA werden die Fragmente gelelektrophoretisch getrennt und autoradiographisch bestimmt. Die Auflösung in heute zur Verfügung stehenden Polyacrylamidgelen beträgt eine Nukleotideinheit. Aus den Daten aller vier Ansätze läßt sich die DNA-Sequenz ermitteln.

Z.G. CHIDGEAVADZE *et al.* verwendeten die 3'-Fluor-2',3'-dideoxynukleosid-5'-triphosphate (ddNTP(3'F)) der vier möglichen Nukleobasen als Kettenabbruchreagenzien^[43]. Das Spektrum der Akzeptanz der ddNTP(3'F)s als Substrat für verschiedene *DNA-Polymerasen* erstreckt sich von der Ablehnung der Fluorspezies über deren Verwendung unter Kettenabbruch bis hin zur Inhibierung der *Polymerase*. Gerade im letzteren Fall lassen sich die Enzym-Fluorspezies-Komplexe mittels ¹⁹F-Kernresonanz-Spektroskopie untersuchen und somit z. B. Erkenntnisse zu Übergangszuständen gewinnen. Aber auch die gezielte Inhibierung eines oder mehrerer Enzyme in einem Pool von Enzymen ist möglich, wodurch die Eigenschaften der übrigen Enzyme studiert werden können.

1.3.4.2 Das FLT als Anti-HIV-Wirkstoff

Retroviren enthalten RNA als genetische Information. Diese RNA läßt sich allerdings nicht direkt in die Wirts-DNA integrieren, was für eine erfolgreiche Vermehrung des Virus notwendig ist. Die Rückübertragung von RNA in DNA ist gewöhnlich *in vivo* ausgeschlossen. Daher müssen Retroviren während der Infizierung ihrer Wirtszellen neben der viralen RNA das Enzym *Reverse Transkriptase* (*RT*), einen Primer und weitere Proteine und Enzyme, die der Integration der gebildeten viralen DNA in die Wirts-DNA dienen, in einem Capsid übergeben. Die *Reverse Transkriptase* erfüllt folgende Aufgaben:
Zuerst wird die (+)RNA in (-)DNA übertragen, wobei der mitgelieferte Primer als Startsequenz für die *RT* dient. Im Anschluß daran hydrolysiert die *RT* die RNA weitgehend und vervollständigt die (-)DNA zu der doppelsträngigen viralen DNA, die in die Wirts-DNA integriert wird^{[40],[42]}.

Zu den Retroviren zählt das Human Immunodeficiency Virus (HIV), das die Ursache des Acquired Immune Deficiency Syndrome (AIDS), der erworbenen Immunschwäche, ist. Die 3'-substituierten 2',3'-Dideoxynukleoside (ddN), zu denen das FLT zählt, gelten als potentielle Anti-HIV-Wirkstoffe. Aber auch das bereits zuvor erwähnte und als Medikament zugelassene Anti-HIV-Agens 3'-Azido-3'-deoxythymidin (AZT) gehört in diese Reihe. In zahlreichen Arbeiten wurden unter anderem von P. HERDEWIJN et al.^[44], E. DE CLERCQ^[45] oder H. HARTMANN et al.^[46] die Wirkung und Toxizität besonders von FLT und AZT beschrieben und miteinander verglichen. Nach DE CLERCQ zeigen in vitro-Versuche, daß die 2',3'-Dideoxynukleoside zunächst in drei Stufen zu den 5'-Triphosphaten phosphoryliert werden. Diese ddNTPs konkurrieren mit den nativen Substraten um die HIV-RT und führen bei ihrem Einbau in den Tochterstrang der viralen DNA zu einem Kettenabbruch. Hierbei dissoziieren die 3'-ddTMP-terminierten DNA-Fragmente aufgrund einer stärkeren Substrat-Enzym-Bindung erschwert von der RT ab. Die antiviralen Eigenschaften der 2',3'-Dideoxynukleoside beruhen demnach auf zwei Effekten, der Synthese fehlerhafter viraler DNA und der zumindest zeitweisen, aber wiederholt möglichen Blockierung der RT. Dieser Sachverhalt wurde von HARTMANN et al. bestätigt. Die Wirksamkeit eines Anti-HIV-Agens wird aber nicht nur durch das Inhibitionsvermögen des 5'-Triphosphats bestimmt, sondern auch von einem ungehinderten, schnellen Ablauf aller (drei) Phosphorylierungsschritte und der damit einhergehenden Einstellung hoher Substratkonzentrationen. Wie in Kapitel 1.3.3 beschrieben wird im Gegensatz zu FLT im Fall von AZT dessen 5'-Monophosphat angereichert, da das AZTMP die TMP-Kinase, ein Enzym der zweiten Phosphorylierungsstufe, inhibiert. Dies beeinträchtigt den Aufbau einer hohen Substratkonzentration für das AZTTP. Nach HERDEWIJN et al., DE CLERCQ und HARTMANN et al. ist die RT-inhibierende Wirkung von FLT im Vergleich zu AZT in Abhängigkeit des untersuchten Zelltyps meist stärker ausgeprägt. Dies geht mit einer im gleichen Maße höheren Toxizität des FLTs einher. Der in vitro-therapeutische Index, ein Quotient aus inhibitorischer Wirkung und Toxizität, ist dementsprechend für beide Thymidinanaloga für jeweils einen bestimmten Zelltyp etwa gleich groß.

1.3.4.3 Das [¹⁸F]FLT als Proliferationsmarker

Speziell die Tumordiagnostik⁽⁵⁾ ist darauf ausgerichtet, sowohl das Ansprechen auf ein Behandlungsschema als auch dessen Optimierung zu erfassen. Dies hilft, einerseits therapiebedingte Nebenwirkungen beim Patienten zu minimieren, andererseits wertvolle Zeit für eine optimale Behandlungsstrategie zu gewinnen. Die bisherigen Diagnosemethoden basieren auf anatomischen Änderungen des Tumors, die sich mittels Ultraschall, Computertomographie oder Magnetresonanztomographie (MRT)

(5)

Tumorlokalisation, Bestimmung des Tumorvolumens und der Tumoraktivität, Metastasenerfassung und Narbenrezidiverkennung

frühestens nach Wochen oder Monaten beurteilen lassen. Hingegen kann die direkte Beobachtung des Tumorstoffwechsels innerhalb von Stunden oder Tagen therapierelevante Rückschlüsse zulassen. Hierfür sind Untersuchungen mit PET-Tracern ein wertvolles Hilfsmittel.

Jeder Zellteilung, auch *M*-Phase oder Mitose genannt, geht die Replikation der DNA während der *S*-Phase voraus. Diese *S*-Phase ist durch einen erhöhten Bedarf an DNA-Bausteinen gekennzeichnet, den eine Zelle entweder aus der *de novo*-Synthese der Nukleotide oder der Wiederverwertung durch die *Salvage*-Synthese decken kann. Die Wiederverwertung bedeutet gegenüber der *de novo*-Synthese ein großes Energieeinsparpotential und wird von der Zelle umfangreich genutzt. Dies spiegelt der Sachverhalt wider, daß die Konzentration der *Thymidin-Kinase I (TK I)*, welche in der *Salvage*-Synthese die erste Phosphorylierungsstufe bei Thymidin katalysiert, in der *S*-Phase der eukaryotischen Zelle 15-fach erhöht ist^[47]. In schnell proliferierendem Gewebe wie z. B. in malignen Tumoren befindet sich eine große Anzahl Zellen in der *S*-Phase. Daher liegt dort die *TK I*-Aktivität über derjenigen in weniger stark proliferierendem Gewebe.

Intravenös verabreichtes [¹⁸F]FLT, das markierte Pendant zu dem in **Kapitel 1.3.3** beschriebenen FLT, wird nach der Aufnahme in die Zelle unter Katalyse der *Thymidin-Kinase I* zu [¹⁸F]FLT-5'-monophosphat phosphoryliert^[48]. Im Gegensatz zu KONG *et al.*^[41] beschreiben J.R. GRIERSON *et al.*^[49], daß [¹⁸F]FLT von der Stufe des 5'-Monophosphats nicht weiter zu [¹⁸F]FLTDP bzw. [¹⁸F]FLTTP metabolisiert wird und somit nicht in die DNA eingebaut werden kann. Vermutlich beruht dieser Widerspruch auf der geringeren Lebensdauer [¹⁸F]Fluor-markierter Verbindungen im Vergleich zu den tritiierten Analoga, da Tritium mit $T_{4} = 12,323$ a^[50] eine deutlich höhere Halbwertszeit aufweist als [¹⁸F]Fluor ($T_{4} = 109,71 \text{ min}$)^[3]. [¹⁸F]FLTMP unterliegt dennoch einem Metabolic Trapping, da Zellmembranen für polare NMPs impermeabel sind. Des weiteren wird die *TK I* nicht durch ihr Phosphorylierungsprodukt inhibiert, weshalb sich das [¹⁸F]FLTMP in der Zelle anreichert.

Nach J.S. RASEY *et al.* besteht eine eindeutige Korrelation zwischen der [³H]FLT-Aufnahme in verschiedene Tumorzellen (*A549* Humanlungentumorzellen; *HT29* Humandickdarmtumorzellen; *TK-6 humanlymphoblastoide* Zellen), dem sogenannten Uptake, und der *Thymidin-Kinase I-*Aktivität^[51]. Bei einem Anstieg der Aktivität der *TK I* steigt entsprechend der Uptake der tritiierten Verbindung. Die [¹⁸F]FLT-Aufnahme ist direkt mit dem ersten Phosphorylierungsschritt verknüpft, denn Zellen mit *TK I-*Aktivität nehmen drei- bis viermal mehr [¹⁸F]FLT auf als Zellen ohne *TK I-*Aktivität. Des weiteren konnten RASEY *et al.* eine nahezu 1:1-Proportionalität zwischen dem Anteil der Zellen einer Kultur, die sich in der *S*-Phase befindet, und der [¹⁸F]FLT-Aufnahme dieser Kultur beobachten^[52].

Demnach sollten alle schnell proliferierenden Gewebe eine erhöhte [¹⁸F]FLT-Aufnahme aufweisen. Dies gilt bei Säugetieren für das Knochenmark und besonders für Tumore. In den Nieren und der Blase kann die Anreicherung infolge des Ausscheidungsvorgangs eine Proliferation vortäuschen. Das gleiche gilt für die Leber, falls das [¹⁸F]FLT der Biotransformation unterworfen wird. Das resultierende Glucuronid würde renal ausgeschieden und wiederum zu Effekten in den Nieren und der Blase führen. [¹⁸F]FLT überwindet die Blut-Hirn-Schranke^[53]. Da das Hirn aber eine extrem niedrige Proliferation aufweist, sollte sich in gesunden Bereichen nur ein niedriger Uptake beobachten lassen.

In vivo-Untersuchungen mit [¹⁸F]FLT an Hunden und am Menschen konnten die obigen Ergebnisse und Überlegungen mittels der Positronen-Emissions-Tomographie bestätigen^[54]. PET-Studien an gesunden Hunden offenbarten eine erhöhte [18F]FLT-Aufnahme im Knochenmark (SUV 4,6)⁽⁶⁾, aber auch in der Nase und in den Lymphknoten des Kieferbereichs, was in allen drei Fällen auf Proliferation hindeutet. Kein Uptake konnte im Hirn und in der Leber beobachtet werden. Die Nieren und die Blase hingegen wurden deutlich abgebildet. Bei einem Hund mit spontanem Non-Hodgkin-Lymphom wies das Tumorgewebe einen höheren Uptake (SUV 7,1) als das Knochenmark (SUV 5,5) auf. Blut- und Urinuntersuchungen ergaben, daß noch 50 Minuten post injectionem (p. i.) 90 bis 97 % der Aktivität im Blut und über 95 % der Aktivität im Urin intaktes [¹⁸F]FLT darstellen^[54], das demnach *in vivo* metabolisch sehr stabil ist. Dies belegten auch PET-Aufnahmen, die bei Hunden nach einer Stunde p. i. noch einen Uptake im stark proliferierenden Knochenmark zeigten. Im Gegensatz hierzu stehen Ergebnisse mit [¹¹C]Thymidin, das nach anfänglich hohem Uptake aufgrund starker Metabolisierung und der sehr kurzen Halbwertszeit des [¹¹C]Kohlenstoffs zu Störungen in der PET-Diagnostik führt. PET-Untersuchungen am Menschen lieferten im Fall eines nicht-kleinzelligen Lungenkarzinoms trotz der geringen Aktivität an [¹⁸F]FLT von A = 50 MBg ($\doteq 1,4$ mCi) sehr kontrastreiche Aufnahmen des Tumors (SUV 6,8) und des Knochenmarks (SUV 5,5), aber auch der Nieren und der Blase^[54]. Eine starke Anreicherung in der Leber (SUV 7,6) deutet auf eine hohe Glucuronidierungsrate der [¹⁸F]Fluorspezies hin. Blut- und Urinproben untermauerten letzteres Ergebnis^[55]. Demnach liegt [¹⁸F]FLT im Blut bei 60 Minuten p. i. zu 69 % unverändert vor. Der Anteil der glucuronidierten [¹⁸F]Fluorspezies steigt im Blut von 4,4 % bei 5 Minuten p. i. auf 30,6 % bei 60 Minuten p. i. bis hin zu 37,5 % bei 120 Minuten p. i., wodurch sich der Anteil des Glucuronids an der Gesamtaktivität im Urin zwischen 52,5 und 69,3 % im Zeitraum von 60 bis 120 Minuten p. i. bewegt. Weniger als 10 % des [¹⁸F]FLTs werden anderweitig metabolisiert. Im Gegensatz zu [¹⁸F]FLT, das als 5'-Monophosphat aufgrund von Proliferation irreversibel intrazellulär gebunden ist, erkennt man bei gesundem Leber- bzw. Nierengewebe einen stärkeren Aktivitätsabfall, als dies der Halbwertszeit des [¹⁸F]Fluornuklids entspricht. Infolge der Auswaschung des [¹⁸F]FLTs aus diesen Organen wird der radioaktiven eine biologische Halbwertszeit überlagert. Dieser Sachverhalt läßt sich im zeitlichen Verlauf anhand später PET-Aufnahmen beobachten, wodurch eine Diagnose von Leber- und Nierentumoren möglich wird. Hirntumore zeigen eine deutlich geringere [¹⁸F]FLT-Aufnahme (SUV 1,24) als extrakraniale Tumore^[53]. Aufgrund des extrem niedrigen Untergrunds im gesunden Hirn (SUV 0,19) ist der Kontrast sehr hoch. In einer weiteren Studie wurden erneut Lungentumore (SUV 3,9), aber auch Speiseröhren- (SUV 5,8) und

⁽⁶⁾ Der SUV oder Standardized Uptake Value ist ein Maß für die Anreicherung radioaktiver Substanzen in der Zelle. Der SUV ist eine dimensionslose Größe.

 $SUV = \frac{\frac{Gewebe-Aktivitätskonzentration [kBq/g]}{injizierte Aktivität [kBq]}}{K\"orpergewicht [g]}$

Brusttumore (SUV 6,3) untersucht^[56], wobei in dieser Untersuchungsreihe zusätzlich Ganzkörperaufnahmen angefertigt wurden. Hierdurch konnten auch Metastasen z. B. in den Lymphknoten im Achselbereich, im Schultergürtel und in der Leber erkannt werden. Letzterer Befund ist bemerkenswert, da der Lebertumor (SUV 12,5) trotz des hohen Untergrunds im Lebergewebe (SUV 7,5) dennoch deutlich erkennbar war.

1.3.4.4 Die PET-Diagnostika [¹⁸F]FDG und [¹⁸F]FLT im Vergleich

Die 2-[¹⁸F]Fluor-2-deoxyglucose ([¹⁸F]FDG) wird als Abkömmling des Traubenzuckers in Zellen zunächst unter Katalyse der *Hexokinase* zu 2-[¹⁸F]Fluor-2-deoxyglucose-6-phosphat metabolisiert. Der zweite Schritt des Kohlenhydratstoffwechsels, die Isomerisierung des Glucose-6-phosphats zu Fructose-6-phosphat mittels der *Glucosephosphatisomerase*, ist aufgrund der stabilen Fluor-Kohlenstoff-Bindung gehemmt. Der erste Phosphorylierungsschritt wird nicht durch sein Produkt inhibiert. Deshalb reichert sich 2-[¹⁸F]Fluor-2-deoxyglucose-6-phosphat in den Zellen an und unterliegt einem Metabolic Trapping, da die Zellmembran für die polare Verbindung impermeabel ist.

Die Trapping-Mechanismen für [¹⁸F]FDG und [¹⁸F]FLT sind sich also sehr ähnlich, wobei die bevorzugte Aufnahme der jeweiligen [¹⁸F]Fluorspezies aus unterschiedlichen Bedürfnissen der Zellen heraus erfolgt. Das Glucosederivat wird besonders in Geweben angereichert, die einen erhöhten Energiebedarf haben. Dies trifft auf die graue Hirnsubstanz, aber auch auf Tumore oder Makrophagen zu, die als Teil der Körperabwehr sowohl in tumoröse als auch entzündete Gewebe eindringen^[54]. Daher lassen sich niedriggradige Hirntumore aufgrund der hohen Umgebungsaktivität nur schwer mittels [¹⁸F]FDG-PET erkennen bzw. Tumore und Entzündungen können gleichermaßen Tracer anreichern. [¹⁸F]FLT ist wie zuvor beschrieben in Bereichen natürlich hoher Proliferation wenig geeignet. Dies gilt z. B. in der Nähe der Wirbelsäule, da hier größere Mengen des blutbildenden Knochenmarks angesiedelt sind.

Im Inneren größerer Tumore, die in ihrem Zentrum zu Nekrosen neigen, sinkt die Proliferationsrate vor dem Energieumsatz. Hierdurch werden diese Tumore in [¹⁸F]FLT-PET-Aufnahmen als Ring der noch stark proliferierenden Peripherie, in [¹⁸F]FDG-PET-Aufnahmen hingegen massiv dargestellt^[57]. [¹⁸F]FDG und [¹⁸F]FLT werden beide renal ausgeschieden, weshalb die Nieren und die Blase zunächst eine hohe Traceranreicherung aufweisen. Dies deutet aber nicht auf einen pathologischen Befund hin, kann jedoch zu differentialdiagnostischen Problemen in der Umgebung dieser Organe führen. B.M. DOHMEN *et al.* fanden in einer Studie einen durchschnittlich dreifach höheren Uptake des Tumors für [¹⁸F]FDG gegenüber [¹⁸F]FLT^[58]. Hierbei reicherten Schilddrüsentumore bevorzugt das Glucosederivat, hingegen Brusttumore, *maligne Lymphome* und *pulmonale Adenokarzinome* bevorzugt das Thymidinderivat an. Im Gegensatz zu [¹⁸F]FDG zeigt [¹⁸F]FLT bei PET-Untersuchungen keinen Uptake bei Muskelverspannungen bzw. im Darmbereich. Die hohe Proliferationsrate in der Darmschleimhaut beschränkt sich auf Gewebeschichten einer Dicke von wenigen Zellagen, die nicht in einer kompakten Masse, sondern über den gesamten Unterbauch verteilt sind. Daher wird diese [¹⁸F]FLT-Anreicherung bei PET-Aufnahmen nur als leicht erhöhter Untergrund beobachtet.

1.3.5 Die Herstellungsmöglichkeiten für FLT

Das 3'-Fluor-3'-deoxythymidin kann auf zwei grundsätzlich verschiedenen Wegen gewonnen werden. Auf dem ersten Weg wird das Fluoratom in das intakte Nukleosid eingeführt. Der zweite geht von der Synthese eines reaktiven Fluorzuckerderivats aus, das die gewünschte Konfiguration am 3'-Kohlenstoffatom besitzt und im letzten Schritt durch eine Kondensationsreaktion an den Heterozyklus, die Nukleobase, geknüpft wird. Im folgenden sollen einige interessante Synthesen von FLT vorgestellt werden, die entweder durch eine stereoselektive Reaktionsführung oder durch die erzielbaren Stoffmengen Bedeutung erlangt haben. Letzteres ist gerade bei klinischen Studien wichtig, da eine ausreichende Versorgung eines Patientenkollektivs über einen längeren Zeitraum gewährleistet werden muß, wobei die Reinheit der applizierten Substanz eine außerordentliche Rolle spielt.

1.3.5.1 Das FLT durch Anhydronukleosidspaltung mit Fluorwasserstoff

Die Synthese von 3'-Fluor-3'-deoxythymidin (54) wurde erstmals im Jahre 1971 beschrieben. G. ETZOLD *et al.* gingen von 2,3'-Anhydro-1-(2-deoxy- β -D-lyxofuranosyl)thymin (53) aus, das sie in einer Lösung aus 1 % wasserfreiem Fluorwasserstoff in Dioxan umsetzten (Abb. 22)^[59]. Bei höheren HF-Konzentrationen erfolgt aufgrund der Säurelabilität der 2'-Deoxynukleoside vermehrt Nukleosidspaltung. Die Zugabe des Katalysators AlF₃ ermöglichte eine Senkung der HF-Konzentration auf 0,1 %. In bezug auf Thymidin wurde hierbei eine Gesamtausbeute von 18 % erreicht.



Abb. 22: Die Anhydronukleosidspaltung mit Fluorwasserstoff nach G. ETZOLD et al.

Die gleiche Arbeitsgruppe stellte im Jahre 1973 eine Verbesserung der Synthese in Abbildung 22 vor^[60]. Hierbei setzte man das 5'-*O*-Mesylderivat von **53** unter obigen Bedingungen zum 5'-*O*-Mesyl-3'-fluor-3'-deoxythymidin (**55**) um. Zur Aufarbeitung wurde die Mesyl- durch eine Acetylgruppe substituiert. Nach diversen Reinigungsschritten und der Entacetylierung erhielt man FLT (**54**) in 40 bis 45 %iger Ausbeute in bezug auf Thymidin. Der Zugang zu **54** im Gramm-Maßstab war gefunden.

Den limitierenden Faktor bei der FLT-Synthese nach ETZOLD *et al.* sahen K. GREEN und M. BLUM in der extremen Unlöslichkeit des AlF₃ in allen organischen Lösungsmitteln^[61]. Daher ersetzten sie Aluminiumfluorid gegen Trimethylaluminium, Diethylaluminiumfluorid, Triisopropylaluminium bzw. Tri-*tert*-butoxyaluminium. Als Edukt wurde 5'-*O*-Acetyl-, 5'-*O*-Trityl- bzw. 5'-*O*-Mesyl-2,3'-anhydro-1-(2-deoxy- β -D-lyxofuranosyl)thymin, als Solvens 1,2-Dimethoxyethan (DME) verwendet. DME läßt

sich bei der Aufarbeitung sehr leicht entfernen. Die besten Ergebnisse erzielten GREEN und BLUM mit Diethylaluminiumfluorid als Katalysator. Hierbei wurde im Fall der Acetylgruppe eine Ausbeute von 70 %, bei der Trityl- 65 % und bei der Mesylgruppe 60 % erreicht. Weitere Vorzüge dieser Methode liegen in der hohen Reinheit des Produkts vornehmlich bei der Acetylgruppe, der geringen Nebenproduktbildung, den reproduzierbaren Ausbeuten und der Senkung der Reaktionstemperaturen von $t \approx 200$ °C auf $t \approx 60$ °C. Die größere Löslichkeit der Katalysatoren erlaubte eine Erhöhung der Konzentrationen des Fluorwasserstoffs bis auf 3 % und der des Anhydronukleosids von 0,5 auf 10 %.

1.3.5.2 Das FLT durch *N*-Glykosylierung

Im Jahre 1990 stellten M.S. MOTAWIA und E.B. PEDERSEN einen "kurzen Weg" zur Synthese von FLT vor^[39]. Hierzu wählten sie das Methyl-5-*O*-(4-biphenylcarbonyl)-2-deoxy- β -D-ribofuranosid (56) als Ausgangsmaterial. Da Fluorierungen mit Diethylaminoschwefeltrifluorid unter *Walden*-Umkehr ablaufen, mußte die D-*erythro*-Konfiguration der Kohlenstoffzentren 3 und 4 von 56 in die D-*threo*-Konfiguration von 58 invertiert werden (Abb. 23).



Abb. 23: Die FLT-Synthese nach M.S. MOTAWIA und E.B. PEDERSEN

Dazu wurde das Ribosederivat **56** mit einem frisch hergestellten Komplex aus Chromtrioxid (1 Äq.), Pyridin (2 Äq.) und Acetanhydrid (1 Äq.) zur unbeständigen Carbonylverbindung **57** oxidiert, die im Anschluß daran stereospezifisch mit Natriumborhydrid zum Methyl-5-O-(4-biphenylcarbonyl)-2-deoxy- β -D-xylofuranosid (**58**) reduziert werden konnte. Die Gesamtausbeute dieser beiden Stufen betrug 90 %. Im nächsten Schritt erfolgte die Fluorierung mittels DAST zum Methyl-5-*O*-(4-biphenylcarbonyl)-3-fluor-2,3-dideoxy- β -D-ribofuranosid (**59**) in einer Ausbeute von 43 %. Die *N*-Glykosylierung von 2,4-Bis-*O*-(trimethylsilyl)thymin (**60**) mit **59** in Gegenwart von Trimethylsilyltriflat^[62] lieferte ein β : α -Anomerengemisch **61** im Verhältnis 5:1 bei einer Ausbeute von 89 %. Nach der Entschützung mit einer methanolischen Ammoniaklösung und anschließender dünnschichtchromatographischer Anomerentrennung erhielten MOTAWIA und PEDERSEN das β -Anomer FLT (**54**) in 50 %iger Ausbeute.

Für diesen Reaktionsweg spricht seine schnelle und effiziente Durchführbarkeit. Die in einem Ansatz erzielbare Produktmenge bleibt aber aufgrund der sehr hohen Reaktivität von DAST und der chromatographischen Anomerentrennung auf den Bereich unterhalb eines Gramms beschränkt.

Einen deutlichen Fortschritt konnten J. INAGAKI *et al.* im Jahre 1999 in bezug auf die bisher geringe Regioselektivität der *N*-Glykosylierung erzielen^[63]. Zwei Modifizierungen an den bis zu diesem Zeitpunkt kaum variierten *Vorbrüggen*-Bedingungen steigerten das β : α -Anomerenverhältnis von 2,2:1 bis 5:1 auf etwa 10:1. Zum einen wurde die Diethylphosphitgruppe am 1-Kohlenstoffatom eingeführt, eine Abgangsgruppe, die im Vergleich zur Methoxygruppe wesentlich nukleofuger ist. Hierzu demethylierten die Autoren das Methyl-5-*O*-benzoyl-3-fluor-2,3-dideoxy- β -D-ribofuranosid (62) mittels des Bortrichlorid-Dimethylsulfid-Komplexes (BCl₃•SMe₂) und setzten 63 anschließend mit Chlordiethylphosphit zu 64 um (Abb. 24). Zum anderen wurde für die *N*-Glykosylierung als



Abb. 24: Die FLT-Synthese nach J. INAGAKI et al.

Lösungsmittel Propionitril statt Acetonitril verwendet.

Die experimentellen Daten offenbarten eine Erhöhung der β -Selektivität im Verlauf sinkender Reaktionstemperaturen (Eintrag 1 und 2; Tab. Abb. 24; Seite 32). Die untere Grenze liegt bei $t \approx -50$ °C, bei der für eine ausreichende Umsetzung eine hochnukleofuge Austrittsgruppe wie Diethylphosphit notwendig ist. Mit Propionitril als Solvens erreichten INAGAKI et al. eine β -Selektivität von zirka 10:1 (91:9), bei Dichlormethan hingegen nur eine β -Selektivität von etwa 3,8:1 (79:21; Eintrag 1 und 3; Tab. Abb. 24). Dieses Ergebnis weist auf eine direkte Beteiligung des Propionitrils am Reaktionsgeschehen hin. Die Autoren vermuteten dessen α -seitigen Angriff am 1-Kohlenstoffatom, wobei die Diethylphosphitgruppe in einer S_N2-Reaktion verdrängt wird. Das gebildete α -Nitriliumion 68 wird durch eine Wechselwirkung zwischen dem positiv polarisierten Stickstoff der Nitriliumgruppe und dem stark negativ polarisierten Fluor des Zuckerfragments stabilisiert (Abb. 25). Auf diese Weise kann die Propionitrileinheit nur durch β -seitigen Angriff des Thymins S_N2-artig substituiert werden. Dieses Modell erklärt sowohl die hohe β -Selektivität der Reaktion im Fall des Propionitrils als auch umgekehrt die geringe β -Selektivität im Fall des Dichlormethans, die sich im bisher üblichen Rahmen bewegt, da eine analoge Adduktbildung ausgeschlossen ist. Des weiteren ist ohne die hohe Austrittstendenz des Diethylphosphits der erfolgreiche α -seitige Angriff des Propionitrils nicht möglich, da zudem die Nukleophilie eines Teilchens mit sinkender Temperatur stark abnimmt.



Abb. 25: Die Adduktbildung mit Propionitril

In einem weiteren Experiment untersuchten INAGAKI *et al.* das Verhalten von 1-(5-*O*-Benzoyl-3-fluor-2,3-dideoxy- β -D-xylofuranosyl)diethylphosphit, das aus **66** entsteht. Die Daten (**Eintrag 4 und 5**; Tabelle in **Abb. 24**; Seite 32) lassen eine etwa gleich niedrige α -Selektivität sowohl für Propionitril (63:37 \approx 1,7:1) als auch für Dichlormethan (70:30 \approx 2,3:1) erkennen, die in beiden Fällen keine direkte Lösungsmittelbeteiligung am Reaktionsgeschehen nahelegt. Der zunächst unerwartete Unterschied zu den zuvor beschriebenen Ergebnissen läßt sich auf die sterische Überfrachtung in der "Xylo"-konfigurierten Zuckereinheit zurückführen. Im hypothetischen β -Nitriliumion **69** stehen drei Zentren, das Fluoratom, die voluminöse Benzoyloxymethylgruppe am 4-Kohlenstoffatom und die Propionitriliumgruppe, so dicht beieinander, daß zumindest die stabilisierende Fluor-Stickstoff-Wechselwirkung gestört ist.

Im Jahre 1994 stellten K. SUJINO und H. SUGIMURA eine FLT-Synthese vor, die aufgrund einer intramolekularen *N*-Glykosylierung die Bildung des unerwünschten α -Anomeren unterbindet^[64]. Hierzu

wurde die 5-Hydroxylgruppe des Phenyl-3-fluor-2,3-dideoxy-1-(*R*)-thioribofuranosids (**70**; Abb. 26)^[65] mittels Natriumhydrid deprotoniert und mit 2-Chlor-4-*O*-methyl-2-deoxythymin in 81 %iger Ausbeute zu der Verbindung **71** umgesetzt, in der die Base β -seitig über dem Reaktionszentrum der Glykosylierung fixiert wird. Durch die Behandlung von **71** mit Dimethyl(methylthio)sulfoniumtetrafluorborat in Gegenwart von Molekularsieb bildet sich nach der Eliminierung des Phenylthiolats ein Oxonium-intermediat **72a**, das im Gleichgewicht mit einem *N*-glykosylierten Kation **72b** steht. In zwei Hydrolyse-stufen entsteht zunächst das 4-*O*-Methyl-FLT (**73**) und schließlich FLT (**54**). Die eigentliche Glykosylierungsreaktion verläuft in einer Ausbeute von 86 %.

Dieser universelle Syntheseweg von SUJINO und SUGIMURA bietet auch einen Zugang zu anderen Pyrimidinnukleosiden wie z. B. 2',3'-Dideoxyuridin, 2',3'-Dideoxycytidin oder 3'-Azido-3'-deoxy-thymidin (AZT).



Abb. 26: Die FLT-Synthese nach K. SUJINO und H. SUGIMURA

1.3.6 Die Herstellungsmöglichkeiten für [¹⁸F]FLT

Für die Synthese des 3'-[¹⁸F]Fluor-3'-deoxythymidins verbleiben aufgrund der kurzen Halbwertszeit des [¹⁸F]Fluorids ($T_{\frac{1}{2}} = 109,71 \text{ min}$)^[3] von dessen Nuklidproduktion bis zum Abschluß der [¹⁸F]FLT-Synthese maximal vier Stunden. Aus diesem Grunde scheidet die *N*-Glykosylierung wegen der Vielzahl der erforderlichen Reaktionsstufen von der Fluorierung bis zum fertigen Produkt von vornherein aus. Daher bedienen sich alle bisher bekannten Markierungsreaktionen, die zu [¹⁸F]FLT führen, eines nukleophilen Austauschs einer Abgangsgruppe gegen [¹⁸F]Fluorid. Als Reaktionsmedien werden wasserfreie, polar-aprotische Lösungsmittel verwendet. Hierin verlaufen Substitutionsreaktionen

nach dem S_N2-Mechanismus, d. h. unter *Walden*-Umkehr. Deshalb leiten sich alle Vorläufersubstanzen, die für die Fluorierung zu [¹⁸F]FLT geeignet sind, von der 2-Deoxy- β -D-lyxofuranose ab.

I.K. WILSON *et al.* stellten im Jahre 1991 mehrere Synthesewege vor, die entweder [¹⁹F]- oder [¹⁸F]FLT zum Ziel hatten (Abb. 27)^[66].



Abb. 27: Die [¹⁹F]- bzw. [¹⁸F]FLT-Synthese nach I.K. WILSON et al.

Als Vorläufersubstanz für die Reaktionen mit DAST verwendeten sie das 1-(5-*O*-Trityl-2-deoxy- β -D-lyxofuranosyl)thymin (**78**). Dieses erhält man in drei Stufen aus Thymidin (**75**) durch Tritylierung der 5'-Hydroxylgruppe zu **76** und anschließende Tosylierung der 3'-Hydroxylgruppe zu **77**, wonach in ethanolischer Natriumhydroxidlösung zum gewünschten Lyxofuranosylthymin **78** hydrolysiert wird. Die direkte Umsetzung von **78** mit DAST und die nachfolgende Detritylierung in 80 %iger Essigsäure ergibt [¹⁹F]FLT. Die Fluorierung mittels DAST in Gegenwart von [¹⁸F]Fluorid als externem Nukleophil führt nicht zu dessen Inkorporierung. Zum einen erfolgt die Fluorierung des Nukleosids in einer S_N2-Reaktion aufgrund der großen räumlichen Nähe mittels desjenigen Fluorids, das kurz zuvor aus dem Addukt aus Nukleosid und DAST eliminiert wurde^{137]}. Zum anderen erwächst aus der Radiomarkierung wegen der geringen Konzentration der [¹⁸F]Fluoridionen keine Konkurrenz. Bei einer Umsetzung von 0,05 ml DAST stehen 1,1 × 10⁻³ mol [¹⁹F]Fluoridionen etwa 5,9 × 10⁻¹² mol [¹⁸F]Fluoridionen gegenüber, wenn eine [¹⁸F]Fluoridaktivität von *A* = 370 MBq (\triangleq 10 mCi) zugrunde

gelegt wird. Dies entspricht etwa dem Verhältnis $[^{19}F]F^{\ominus}:[^{18}F]F^{\ominus} \approx 200.000.000:1$.

Um dennoch eine Markierung initiieren zu können, führten die Autoren die Mesylgruppe als Nukleofug in die 3'-Position von **78** ein. In einer S_N2-Reaktion wurde das 1-(3-*O*-Mesyl-5-*O*-trityl-2-deoxy- β -D-lyxofuranosyl)thymin (**80**) in DMF mit dem Komplex aus dem Kronenether 18-Crown-6 und reinem Kalium[¹⁹F]fluorid bzw. einem Kalium[¹⁸F/¹⁹F]fluoridgemisch in Gegenwart von Kaliumcarbonat zu den geschützten FLT-Derivaten umgesetzt. Nach jeweiliger Detritylierung erhielten WILSON *et al.* im ersten Fall [¹⁹F]FLT (**54**), im zweiten hingegen eine Mischung aus [¹⁸F]FLT (**82**) und [¹⁹F]FLT (**54**). Die radiochemische Ausbeute betrug 7 % (korrigiert).

Als Proliferationsmarker in der Tumordiagnostik wird reines [¹⁸F]FLT in hoher radiochemischer Ausbeute benötigt (vgl. **Kap. 3.2**). Für diesen Zweck erarbeiteten J.R. GRIERSON und A.F. SHIELDS im Jahre 1999 einen siebenstufigen Syntheseweg, dessen Ziel der Markierungsvorläufer 3-(2,4-Dimethoxybenzyl)-1-[5-O-(4,4'-dimethoxytrityl)-3-O-nosyl-2-deoxy- β -D-lyxofuranosyl]thymin (**85**) war^[49]. Auf die Herstellung von **85** soll hier nicht im Detail eingegangen werden. In Abbildung 28 ist eine Übersicht mit den wichtigsten Zwischenstufen skizziert.



Abb. 28: Skizze zur [¹⁸F]FLT-Synthese nach J.R. GRIERSON und A.F. SHIELDS

In ihren Arbeiten belegten GRIERSON und SHIELDS, daß die höchsten Ausbeuten bei der Synthese des 3'-[¹⁸F]Fluor-3'-deoxythymidins erreicht werden, wenn die Vorläuferverbindung der Markierungsreaktion eine 3-*N*-Alkyl- neben der 5'-*O*-Dimethoxytritylschutzgruppe trägt. 3-*N*-Acylschutzgruppen erzielten diesen Effekt nicht in gewünschtem Maße. Des weiteren sollte am Reaktionszentrum in 3'-Stellung eine Abgangsgruppe verwendet werden, die einen Kompromiß zwischen Reaktivität und Stabilität darstellt. Eine höhere Reaktivität begünstigt die Eliminierungsreaktion zu 2',3'-Dehydro-2',3'-dideoxythymidin, eine höhere Stabilität verringert die Ausbeute an [¹⁸F]FLT bei einer Verminderung der Nebenproduktbildung. Als günstigste Kombination ergab sich die 2,4-Dimethoxybenzylgruppe als *N*-Schutzgruppe und die 4-Nitrophenylsulfonylgruppe als Austrittsgruppe.

Als Fluorierungsmittel verwendeten GRIERSON und SHIELDS den Komplex aus Kryptofix[®] 222 und Kalium[¹⁸F]fluorid, den sie gemäß **Abbildung 29** sowie nach viermaliger azeotroper Trocknung wasserfrei erhielten. Die Umsetzung des Markierungsvorläufers 3-(2,4-Dimethoxybenzyl)-1-[5-O-(4,4'-dimethoxytrityl)-3-O-nosyl-2-deoxy- β -D-lyxofuranosyl]thymin (**85**) erfolgte in trockenem Acetonitril bei t = 100 °C zu dem Zwischenprodukt **86**. Nach der Abtrennung des überschüssigen [¹⁸F]Fluorids wurden die *N*- und die 5'-O-Schutzgruppe mittels Cer(IV)ammoniumnitrat in einem Solvensgemisch aus Acetonitril, Ethanol und Wasser oxidativ bzw. hydrolytisch abgespalten und das gewünschte [¹⁸F]FLT (**82**) freigesetzt.



Abb. 29: Die Markierungsreaktion zu [¹⁸F]FLT nach J.R. GRIERSON und A.F. SHIELDS

Die Vorteile dieser [¹⁸F]FLT-Synthese liegen in der deutlich höheren radiochemischen Ausbeute von korrigiert 13 % bzw. unkorrigiert 7,6 % bei einer Gesamtreaktionsdauer von ΔT = 94 Minuten. Nachteilig ist die Entfernung der 2,4-Dimethoxybenzylgruppe, die mittels Cerammoniumnitrat zunächst zu der analogen Benzoylgruppe oxidiert und anschließend hydrolytisch abgespalten wird. Hierbei tritt unter den gegebenen Reaktionsbedingungen auch der oxidative Abbau von [¹⁸F]FLT bevorzugt an der Methylgruppe in 5-Stellung auf. Weitere Ausbeuteverluste von etwa 20 % entstehen durch eine nachträgliche Eliminierung von [¹⁸F]Fluorid aus [¹⁸F]FLT. Da Cerverbindungen giftig sind, müssen sie quantitativ von der Fluorverbindung abgetrennt werden. Dies geschieht durch Fällung und Filtration, die reproduzierbar sein müssen. Die aufwendige Reaktionsführung muß entweder von Hand unter erheblicher Strahlenbelastung oder automatisiert in Modulen durchgeführt werden, die ausschließlich für diesen Syntheseweg entwickelt wurden und daher nicht universell einsetzbar sind. Aber auch die Herstellung der Vorläufersubstanz **85** ist mit großem präparativem Aufwand verbunden, wobei stark toxische Chemikalien wie Phosgen benötigt werden.

Gute Ausbeuten sowie einen einfachen Zugang zur Vorläufersubstanz der Markierung kennzeichnen die Synthese, die von den zwei Arbeitsgruppen H.-J. MACHULLA *et al.* bzw. C. WODARSKI *et al.*



getrennt im Frühjahr 2000 vorgestellt wurde (Abb. 30)^{[67],[68],[69],[70]}

Abb. 30: Die [¹⁸F]FLT-Synthese nach H.-J. MACHULLA et al. bzw. C. WODARSKI et al.

Die zweistufige Eintopfsynthese der Vorläuferverbindung umfaßt die Mesylierung des kommerziell erhältlichen 5'-*O*-(4,4'-Dimethoxytrityl)thymidins (**87**) und den durch 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en (DBU) induzierten intramolekularen Ringschluß zu 5'-*O*-(4,4'-Dimethoxytrityl)-2,3'-anhydro-1-(2-deoxy- β -D-lyxofuranosyl)thymin (**88**). Die Markierungsreaktion mittels des Kryptofix[®]-Kalium-[¹⁸F]fluorid-Komplexes wird aufgrund der außerordentlichen Stabilität von **88** bei Temperaturen zwischen *t* = 160 und 175 °C in DMSO ausgeführt. Die radiochemischen Ausbeuten betragen bis zu 15 %. MACHULLA *et al.* konnten in einer weiteren Versuchsreihe etwa die Hälfte der Ausbeute mit der in 5'-Position ungeschützten Anhydroverbindung erzielen.

Nachteilig an dieser Markierungsreaktion wirken sich die hohen Reaktionstemperaturen und das schwierig vom Produkt abtrennbare Lösungsmittel DMSO aus. Die extremen Reaktionsbedingungen bereiten Probleme bei der Übertragung der Synthese auf kommerziell erhältliche Module.

2 Aufgabenstellung

Ziel dieser Arbeit ist die Halogenierung von Dioxabicyclooctenen als Vorstufen der Hexosen, die analoge Markierung mit PET-Nukliden und die Derivatisierung zu möglichen Liganden für radioaktive Metallkomplexe.

Hierzu sollen in der 2-Position der 1,6-Anhydro-3,4-dideoxy- β -D-*erythro*-hex-3-enopyranose mit Hilfe der nukleophilen Substitution verschiedene Halogenatome bzw. eine Thiolgruppe eingeführt werden. Ersteres ergibt Vorstufen für die 2-substituierten Hexosen, wobei durch eine geeignete Modifizierung der Doppelbindung zwischen dem 3- und dem 4-Kohlenstoffatom auch mehrfach substituierte Hexosen entstehen können. Die Thiolverbindung sollte als einzähniger Ligand in quadratisch-pyramidalen [^{99m}Tc]Technetium- bzw. Rheniumkomplexen nach dem '3+1'-Prinzip zum Einsatz kommen, was jedoch nicht Gegenstand dieser Arbeit ist.

Ebenso soll die Doppelbindung der 1,6-Anhydro-3,4-dideoxy- β -D-*erythro*-hex-3-enopyranose mit Hilfe der elektrophilen Addition derivatisiert werden, wobei 3,4-disubstituierte Hexosen entstehen.

Die Erfahrungen aus den hierfür notwendigen Synthesewegen sollten in die Entwicklung einer einfachen und gut reproduzierbaren Markierungsreaktion einfließen, aus der der PET-geeignete Proliferationsmarker 3'-[¹⁸F]Fluor-3'-deoxythymidin in hohen Ausbeuten und am Patienten anwendbar hervorgeht.

3 Ergebnisse und Diskussion

3.1 Die Dioxabicyclooctene

3.1.1 Die nukleophile Substitution am 6,8-Dioxabicyclo[3.2.1]oct-3-en-Skelett

In den Arbeiten von G. LAUER^[9] und R. HAECKEL^[4] wurde die Einführung von Halogenatomen in die 1,6-Anhydro-2,3-dideoxy- β -D-*erythro*-hex-2-enopyranose (**3**; vgl. **Kap. 1.2.1** und **1.2.3**) bzw. deren *threo*-konfiguriertes Analogon (**6**) mittels nukleophiler Substitution bzw. elektrophiler Addition ausführlich behandelt. Entsprechende Reaktionen mit der 1,6-Anhydro-3,4-dideoxy- β -D-*erythro*-hex-3-enopyranose (**5**; vgl. **Kap. 1.2.2**) als Ausgangsverbindung sind in diesen Reaktionsfolgen aber bisher noch nicht bekannt. Ziel des Austauschs der 2-Hydroxylgruppe in **5** ist der direkte Zugang zu den wichtigen, in der 2-Position modifizierten Hexosen, wobei die Option besteht, an der Doppelbindung der Kohlenstoffzentren 3 und 4 weitere selektive Derivatisierungen durchzuführen.

3.1.1.1Die Optimierung des Synthesewegs
zur 1,6-Anhydro-3,4-dideoxy-β-D-erythro-hex-3-enopyranose

Eine elegante Synthese der 1,6-Anhydro-3,4-dideoxy- β -D-*erythro*-hex-3-enopyranose (5) wurde von LAUER bereits in seiner Dissertation vorgestellt^[9] und ist in den Kapiteln 1.2.1 und 1.2.2 der vorliegenden Arbeit detailliert beschrieben. Daher wird im folgenden lediglich auf die Optimierung des in Abbildung 31 skizzierten Synthesewegs zu Verbindung 5 eingegangen.



Abb. 31: Skizze des Synthesewegs zu der 1,6-Anhydro-3,4-dideoxy- β -D-erythro-hex-3-enopyranose

Die Synthese der 1,6-Anhydro-3,4-dideoxy- β -D-*erythro*-hex-3-enopyranose hat den Nachteil, daß trotz guter Ausbeuten der einzelnen Synthesestufen **A** bis **C** nur die Umsetzung geringer Stoffmengen möglich ist. Aufgrund der Konkurrenz zwischen externen Nukleophilen und der 6-Hydroxylgruppe bei der intramolekularen *Ferrier*-Umlagerung^[21] muß die Kondensationsreaktion **B** auf maximal 5 mmol ($\stackrel{\circ}{=} 0,73$ g) D-Glucal limitiert werden. Bei größeren Ansätzen entsteht in der Anfangsphase dieser Kondensation eine so große Menge Wasser, daß die wasserentziehende Wirkung des Molekularsiebs nicht ausreicht. Dies hat zur Folge, daß eine Nebenreaktion stark zunimmt, bei der dieses Wasser statt der 6-Hydroxylgruppe als Nukleophil in der 1-Position des D-Glucals (**2**) angreift und die *Ferrier*-Umlagerung zu einem Pseudoglucal einleitet. Aus diesem Grunde verwendete HAECKEL neben Molekularsieb Phosphorpentoxid, das er in einem *Soxhlet*-Extraktor einsetzte. Offenbar dimensionierte

er die Menge des wasserentziehenden Mittels nicht ausreichend, so daß keine Vergrößerung des Ansatzes möglich wurde. Die vollständige Umsetzung benötigte jetzt sogar fünf Tage statt zuvor sechs Stunden. Eine Erhöhung der Trocknungskapazität unter Verwendung von etwa 18 g Phosphorpentoxid reduziert dagegen die Reaktionszeit auf 45 Minuten und erlaubt eine Verdreifachung der umsetzbaren Stoffmenge (17 mmol $\stackrel{?}{=}$ 2,5 g D-Glucal). Unter diesen Bedingungen wird für Verbindung **3** das Ausbeutemaximum von 43 % unter Einsatz von etwa 10 mmol ($\stackrel{?}{=}$ 1,46 g) D-Glucal erreicht. Gleichzeitig vereinfacht sich die Trocknung des wasserentziehenden Molekularsiebs und des Katalysators Kupfersulfat, deren aufwendiges, mehrstündiges Erhitzen mit einer *Bunsen*-Brennerflamme im Hochvakuum durch eine 45 minütige Behandlung mit einem Heißluftfön ($t \approx 600$ °C; Hochvakuum) ersetzt werden kann.

Die Synthese C sollte in frisch absolutiertem Dimethylformamid (DMF) durchgeführt werden, da DMF bei längerer Lagerung zur Zersetzung neigt. Hierbei entstehen Formaldehyd und Amine, die zu massiven Ausbeuteverlusten bis hin zum völligen Versagen der Reaktion führen.

Die übrigen Beobachtungen sowie die massenspektrometrischen und NMR-spektroskopischen Daten stimmen mit der Literatur überein^{[4],[9]}.

3.1.1.2 Die 2-*O*-Tosyl-1,6-anhydro-3,4-dideoxy-β-D-*erythro*-hex-3-enopyranose

Die nukleophile Substitution einer Hydroxylgruppe ist an einem gesättigten Kohlenstoffzentrum ohne Aktivierung nicht möglich. Zum einen kann diese Aktivierung durch die elektrophile Bindung einer *Lewis*-Säure an ein freies Elektronenpaar des Hydroxylsauerstoffatoms erfolgen, denn hierdurch wird die zu lösende Sauerstoff-Kohlenstoff-Bindung stärker polarisiert und somit geschwächt. Zum anderen besteht die Möglichkeit, die Hydroxylgruppe in eine Austrittsgruppe umzuwandeln, die einerseits eine stark polarisierte Bindung zum Substitutionszentrum aufweist, andererseits nach deren Ablösung die negative Ladung als Molekülanion gut delokalisieren und damit stabilisieren kann. Für die Aktivierung der 2-Hydroxylgruppe im Fall der 1,6-Anhydro-3,4-dideoxy- β -D-*erythro*-hex-3-eno-pyranose (**5**) kann nur die Einführung einer Austrittsgruppe in Betracht gezogen werden, da die Verbindung in Gegenwart von *Lewis*-Säuren zur Zersetzung neigt. In besonderem Maße trifft dies auf Spuren von Hydroniumionen zu.

Als geeignete Austrittsgruppe erweist sich die *p*-Toluolsulfonyl-, kurz Tosylgruppe. Die Vorzüge dieser Abgangsgruppe bestehen in der einfachen Handhabbarkeit des *p*-Toluolsulfonylchlorids (**89**), den guten Ausbeuten der Tosylierung sowie der einfachen Isolierbarkeit und der relativen Stabilität der Tosylate. Die Tosylierung zählt zu den Kondensationsreaktionen.

Die Umsetzung der 1,6-Anhydro-3,4-dideoxy- β -D-*erythro*-hex-3-enopyranose (**5**) mit Tosylchlorid (**89**) in Acetonitril in Gegenwart von Pyridin verläuft innerhalb 30 Minuten^[71] zu einer Verbindung (**Abb. 32**; Seite 42), die als farbloser Festkörper in 69,8 %iger Ausbeute isoliert wird. Das Pyridin bindet die während der Tosylierung freigesetzte Salzsäure. Hierdurch wird das Reaktionsgleichgewicht zu der Produktseite verlagert und gleichzeitig die Zersetzung der Anhydroverbindung **5** verhindert.



Abb. 32: Die Synthese der 2-O-Tosyl-1,6-anhydro-3,4-dideoxy- β -D-erythro-hex-3-enopyranose

Die massenspektrometrischen und NMR-spektroskopischen Daten lassen den Schluß zu, daß das Produkt der obigen Umsetzung mit der 2-*O*-Tosyl-1,6-anhydro-3,4-dideoxy- β -D-*erythro*-hex-3-enopyranose (**90**) identisch ist. Im EI⁺-Massenspektrum wird ein Molekülion bei *m/z* 282 mit einer relativen Intensität von 3,6 % detektiert. Die Existenz dieses Molekülions weist auf eine für Tosylate unter den Bedingungen der EI⁺-Massenspektrometrie hohe Stabilität der Verbindung **90** hin. Der Basispeak wird bei *m/z* 91 beobachtet und kann dem Tolylion zugeordnet werden. Die hochaufgelöste Masse des Molekülions weicht geringfügig um $\Delta m/z = 0,1$ mmu ($\stackrel{c}{=} 0,3$ ppm) vom berechneten Wert *m/z* 282,0562 ab. Das ¹H-NMR-Spektrum von **90** zeigt im Vergleich zum ¹H-NMR-Spektrum des Edukts **5** im Bereich um $\delta = 1,95$ ppm keine Resonanz einer Hydroxylgruppe. Des weiteren weist die Resonanz des 2-*H*-Atoms eine starke Tieffeldverschiebung von $\delta = 3,63$ ppm nach $\delta = 4,37$ ppm auf. Diese Tieffeldverschiebung wird durch die höhere Polarität der Tosyl-Kohlenstoff-Bindung verursacht und belegt die zuvor beschriebene Aktivierung dieser Bindung gegenüber der Hydroxyl-Kohlenstoff-Bindung **90**.

3.1.1.3 Die Reaktion

der 2-O-Tosyl-1,6-anhydro-3,4-dideoxy-β-D-erythro-hex-3-enopyranose mit Bromid

Die 2-*O*-Tosyl-1,6-anhydro-3,4-dideoxy- β -D-*erythro*-hex-3-enopyranose (**90**) wird in Acetonitril mit einem Komplex aus Kryptofix[®] 222 und Kaliumbromid unter Rückfluß zur Reaktion gebracht. Innerhalb einer Stunde bilden sich zwei Produkte (**Abb. 33**), die in Form farbloser Öle erhalten werden.



Abb. 33: Die Synthese der 2-Brom-1,6-anhydro-2,3,4-trideoxy- β -D-erythro-hex-3-enopyranose und der 4-Brom-1,6-anhydro-2,3,4-trideoxy- β -D-erythro-hex-2-enopyranose

Während der Reaktionskontrolle mittels DC wird zunächst nur ein neues Produkt mit dem $R_f = 0,56$ (V_{EE} : $V_{n-\text{Hexan}} = 2:3$; Indikator MPS) entdeckt, das aufgrund seiner fehlenden UV_{254 nm}-Absorption keine Tosylgruppe enthalten kann. Die Entwicklung des Produktflecks auf der DC-Folie zeigt anfangs eine mittelstarke Blaufärbung, die sich nach kurzer Zeit und bei einer erhöhten Entwicklungstemperatur stark vertieft. Dieser Befund läßt auf zwei Produkte schließen, die sich auf dem DC überlagern und eine unterschiedliche Stabilität aufweisen. Andere Laufmittelgemische erzielen bei der Dünnschichtchromatographie ebensowenig eine Trennung wie die Säulenchromatographie. Mit Hilfe der HPLC läßt sich schließlich im analytischen Maßstab⁽⁷⁾ die Existenz zweier Produkte belegen. Die Aufarbeitung im präparativen Maßstab kann nur in Abwesenheit von Acetonitril erfolgen, da selbst geringe Mengen dieses Lösungsmittels die Trennung der beiden Produkte auf der HPLC-Säule stören. Da die Produkte im Vakuum und bei erhöhten Temperaturen leicht flüchtig sind, wird das Acetonitril im schwachen Inertgasstrom bei Raumtemperatur fast vollständig entfernt. Aus dem gleichen Grunde ist das Lösungsmittelgemisch $V_{El_sO}: V_{n-Pentan} = 2:3$ als mobile Phase dem Lösungsmittelgemisch $V_{EE}: V_{n-Hexan} = 2:3$ vorzuziehen, da wegen der niedrigeren Siedepunkte von Diethylether und *n*-Pentan im Vergleich zu Essigsäureethylester und *n*-Hexan die lösungsmittelfreien Produkte mit deutlich geringerem Ausbeuteverlust isolierbar sind. Die Trennung mittels HPLC ergibt ein Hauptprodukt bei einer Retentionszeit von $TR^{(8)} = 16,92$ min in 14 %iger und ein Nebenprodukt bei einer Retentionszeit von $TR^{(8)} = 19,36$ min in 8 %iger Ausbeute.

Aufgrund der Daten der Massenspektrometrie und der NMR-Spektroskopie kann das Hauptprodukt als 2-Brom-1,6-anhydro-2,3,4-trideoxy- β -D-*erythro*-hex-3-enopyranose (91) und das Nebenprodukt als 4-Brom-1,6-anhydro-2,3,4-trideoxy- β -D-*ervthro*-hex-2-enopyranose (92) identifiziert werden. Das EI⁺-Massenspektrum läßt die Molekülionen von 91 und 92 bei m/z 190 in den relativen Intensitäten von 3,5 % bzw. 8,7 % erkennen. Die für jeweils ein Bromatom pro Molekül typischen Isotopenmuster von $[M+2]^+:[M]^+ = 94:100$ bzw. 98:100 stimmen gut mit dem Sollwert^[72] von $[M+2]^+:[M]^+ = 98:100$ überein. Der Basispeak bei m/z 81 ist einem $[C_5H_5O]^+$ -Fragmention zuzuordnen und weist auf Alkylfurane hin^[73], die durch Umlagerung im Massenspektrometer aus 91 bzw. 92 entstehen können, wie dies die Synthese der Verbindung 3 zeigt. Das ¹H-NMR-Spektrum von 91 läßt sich gut mit denjenigen von 5 und 90 korrelieren. Das 2-*H*-Atom (δ = 4,23 ppm) befindet sich erwartungsgemäß leicht hochfeldverschoben gegenüber dem 2-*H*-Atom ($\delta = 4,37$ ppm) in **90**, da die Brom-Kohlenstoff-Bindung weniger stark polarisiert ist als die Tosyl-Kohlenstoff-Bindung, was mit der geringeren Austrittstendenz eines Bromidions im Vergleich zum Tosylation übereinstimmt^[74]. Im Gegensatz zu dem 2-H-Atom $(\delta = 3,63 \text{ ppm})$ von 5 ist dasjenige in 91 stark tieffeldverschoben. Dies ist der Tendenz nach z. B. aus Inkrementtabellen zu erwarten^[72]. Die Kopplungskonstanten zwischen dem 1-H- und dem 2-H-Atom in **91** sind sehr klein und liegen zwischen ${}^{3}J_{1-H 2-H} = 1,6$ Hz und ${}^{3}J_{2-H 1-H} = 1,8$ Hz. Dies läßt gemäß der Abschätzung nach Karplus auf eine trans-Stellung der beiden Wasserstoffatome schließen^[72] und ist gleichbedeutend mit der exo-Stellung des Bromatoms. Das ¹³C-NMR-Spektrum von 91 steht in Einklang mit dem Spektrum der Verbindung 5, die bis auf die 2-Hydroxylgruppe die gleiche Molekülstruktur aufweist. Das ¹H-NMR-Spektrum von 92 läßt sich erwartungsgemäß gut mit denjenigen von 3 und der

⁽⁷⁾ HPLC-Säule: $Merck^{\text{(B)}}$; LiChrosorb^(B) Si 60 (7 µm); Hibar^(B) Fertigsäule RT; 250 × 25 mm mobile Phase: $V_{\text{EE}}: V_{n-\text{Hexan}} = 2:3$; isokratisch; 10 ^{ml}/_{min}

⁽⁸⁾ HPLC-Säule: $Merck^{\mathbb{R}}$; LiChrosorb[®] Si 60 (7 µm); Hibar[®] Fertigsäule RT; 250 × 25 mm mobile Phase: $V_{Et_2O}: V_{n-Pentan} = 2:3$; isokratisch; 10 ^{ml}/_{min}

4-*O*-Tosyl-1,6-anhydro-2,3-dideoxy- β -D-*erythro*-hex-2-enopyranose (**96**; vgl. **Kap. 3.1.2.1**) korrelieren. Entsprechend findet man die chemische Verschiebung des 4-*H*-Atoms (δ = 4,35 ppm) in **92** zwischen derjenigen der 4-*O*-Tosylverbindung **96** (δ = 4,53 ppm) und derjenigen von **3** (δ = 3,66 ppm). Auch bei **92** weisen die Kopplungskonstanten ${}^{3}J_{4-H,5-H} = {}^{3}J_{5-H,4-H} = 1,4$ Hz einen sehr kleinen Wert auf, der gemäß *Karplus* von der *trans*-Stellung des 4-*H*- und des 5-*H*-Atoms verursacht wird und ein *exo*-ständiges Bromatom belegt. Das 13 C-NMR-Spektrum von **92** steht ebenfalls mit demjenigen der Verbindung **3** in Einklang.

Offenbar verläuft die nukleophile Substitution der 2-*O*-Tosylverbindung **90** mit Bromid monomolekular, d. h. S*x*1-artig. Zum einen deutet die gleichsinnige Orientierung sowohl der Austritts- als auch der Eintrittsgruppe darauf hin, denn im Fall eines S*x*2-artigen Mechanismus müßte sich das Bromatom aufgrund der *Walden*-Umkehr in *endo*-Stellung befinden. Zum anderen ist die Bildung der beiden Produkte **91** und **92** ein Indiz für das intermediäre Carbeniumion **93** (Abb. 34). Die 4-Bromverbindung **92** könnte allerdings auch konzertiert entstehen, wenn das Bromidion nukleophil in 4-Stellung angreift, während die Tosylgruppe das Molekül **90** verläßt, wobei sich die Doppelbindung in einer Allylumlagerung von der 3- in die 2-Position verlagert.

Die Lebensdauer des Allylcarbeniumions **93** ist scheinbar nicht ausreichend hoch, um eine Bildung des 2-(*S*)-Brom- (**94**) bzw. des 2-(*R*)-Brom-3,8-dioxabicyclo[3.2.1]oct-6-ens (**95**) zu ermöglichen (Weg **b**; **Abb. 34**). Hierfür wäre eine Umlagerung notwendig, die durch eine Wanderung der Bindung des Ringsauerstoffatoms von der 1- in die 2-Stellung verursacht würde. Die NMR-Spektren der Verbindungen **91** und **92** wurden auch im Hinblick auf diese Möglichkeit interpretiert. Jedoch sind die Daten in bezug auf die vorgestellten Isomere in **Abbildung 33**, Seite 42, schlüssiger. Das Ausbleiben dieser Umlagerung liegt im Gegensatz zu der von LAUER vorgestellten Reaktion von **3** mit DAST (vgl. **Kap. 1.2.6**) vermutlich im Unterschied der Nukleophilie von Bromid und Fluorid sowie in den unterschiedlichen Reaktionstemperaturen begründet. Im Fall des wesentlich nukleophileren Bromids erfolgt der Angriff schneller als dies der Angriff des Fluorids erwarten läßt.



Abb. 34: Das intermediäre Allylcarbeniumion und alternative Strukturen für 91 und 92

In bezug auf ein intermediäres Allylcarbeniumion kamen K. RANGANAYAKULU und R.K. BROWN zu einem ähnlichen Ergebnis als sie die 2-Brom-1,6-anhydro-2,3,4-trideoxy- β -D-*erythro*-hex-3-enopyranose (**91**) einerseits mit Kaliumhydroxid in Wasser, andererseits mit Natriummethanolat in Methanol umsetzten^[75]. Im ersten Fall entstanden die Verbindungen **3** und **5**, im zweiten die *exo*-4-Methoxy-bzw. *exo*-2-Methoxyverbindung. Die Autoren vermuteten, daß das intermediäre Allylcarbeniumion

jeweils in der 4- bzw. 2-Position durch ein Hydroxid- bzw. Methanolation angegriffen wird. Wie zuvor bereits erwähnt scheinen die Produkte **91** und **92** eine unterschiedliche Stabilität aufzuweisen, denn auf einer DC-Folie läßt sich der Produktfleck der Verbindung **92** schneller und bei niedrigeren Temperaturen als der Produktfleck der Verbindung **91** entwickeln (Indikator MPS). Ein gleichsinniges Verhalten zeigen die 1,6-Anhydro-2,3-dideoxy- β -D-*erythro*-hex-2-enopyranose (**3**) und ihr Pendant **5**. Offensichtlich ist die höhere Stabilität an das 6,8-Dioxabicyclo[3.2.1]oct-3-en-Skelett gebunden, was z. B. auch die längere Lagerfähigkeit der Verbindung **5** im Vergleich zu **3** erklärt.

3.1.2 Die nukleophile Substitution am 6,8-Dioxabicyclo[3.2.1]oct-2-en-Skelett

Wie in **Kapitel 3.1.1.3** beschrieben führt die nukleophile Substitution an der 2-*O*-Tosyl-1,6-anhydro-3,4-dideoxy- β -D-*erythro*-hex-3-enopyranose, einer Verbindung mit 6,8-Dioxabicyclo[3.2.1]oct-3-en-Molekülskelett, zu Produkten sowohl mit 6,8-Dioxabicyclo[3.2.1]oct-3-en- als auch mit 6,8-Dioxabicyclo[3.2.1]oct-2-en-Skelett. Daher soll nun ausgehend von der 1,6-Anhydro-2,3-dideoxy- β -D-*erythro*hex-2-enopyranose (**3**) auf einem analogen Weg geprüft werden, welche Produktzusammensetzung die Substitution an der 4-*O*-Tosyl-1,6-anhydro-2,3-dideoxy- β -D-*erythro*-hex-2-enopyranose ergibt. Hieraus lassen sich Rückschlüsse auf den Reaktionsmechanismus ziehen. Vor allem die Existenz des intermediär auftretenden Allylcarbeniumions ließe sich auf diese Weise erhärten.

3.1.2.1 Die 4-*O*-Tosyl-1,6-anhydro-2,3-dideoxy-β-D-*erythro*-hex-2-enopyranose

Die Tosylierung der 1,6-Anhydro-2,3-dideoxy- β -D-*erythro*-hex-2-enopyranose wird bei Raumtemperatur in Acetonitril in Gegenwart von Pyridin durchgeführt und ergibt ein farbloses Öl in 58,9 %iger Ausbeute, das sich bei Raumtemperatur unter Inertgas rasch zersetzt (Abb. 35). Die Zersetzungsprodukte wurden aufgrund ihrer großen Anzahl nicht charakterisiert.



Abb. 35: Die Synthese der 4-O-Tosyl-1,6-anhydro-2,3-dideoxy- β -D-erythro-hex-2-enopyranose

Die Daten der Massenspektrometrie und der NMR-Spektroskopie belegen, daß das Produkt der Tosylierung und die 4-*O*-Tosyl-1,6-anhydro-2,3-dideoxy- β -D-*erythro*-hex-2-enopyranose (**96**) identisch sind. Im EI⁺-Massenspektrum läßt sich das Molekülion bei der Masse *m/z* 282 in 13,7 % relativer Intensität erkennen. Der Basispeak bei *m/z* 45 wird von einem [C₂H₅O]⁺-Fragmention verursacht. Die hochaufgelöste Masse des Molekülions differiert um $\Delta m/z = 0,3$ mmu ($\stackrel{\circ}{=} 0,9$ ppm) von der berechneten Molekülmasse *m/z* 282,0562. Das ¹H-NMR-Spektrum zeigt, daß **96** keine freie Hydroxylgruppe aufweist, da die entsprechende Resonanz im Bereich um $\delta = 2,55$ ppm fehlt. Das

Signal des 4-*H*-Atoms ist von $\delta = 3,66$ ppm in Verbindung **3** auf $\delta = 4,53$ ppm tieffeldverschoben und belegt die starke Polarisierung der Bindung zwischen der Austrittsgruppe und dem 4-Kohlenstoffatom. Diese Tieffeldverschiebung ist um $\Delta\Delta\delta = 0,13$ ppm größer als bei der 2-*O*-Tosylverbindung **90** und deutet auf eine geringfügig höhere Elektrophilie des 4-Kohlenstoffzentrums in **96** hin. Dies könnte neben der generell geringeren Stabilität der 6,8-Dioxabicyclo[3.2.1]oct-2-ene ein Grund für die Unbeständigkeit der Verbindung **96** sein. Die übrigen Signale zeigen erwartete chemische Verschiebungen und Kopplungsmuster und lassen sich mit der Struktur von **96** leicht korrelieren.

3.1.2.2 Die Reaktion

der 4-O-Tosyl-1,6-anhydro-2,3-dideoxy-β-D-erythro-hex-2-enopyranose mit Bromid

Die 4-*O*-Tosyl-1,6-anhydro-2,3-dideoxy- β -D-*erythro*-hex-2-enopyranose (**96**) wird mit dem Kryptofix[®]-Kaliumbromid-Komplex in Acetonitril unter Rückfluß umgesetzt. Nach einer Reaktionszeit von $\Delta T = 25$ min ergeben sich die Produkte, die als farblose Öle isoliert werden (**Abb. 36**).

Bei der nukleophilen Substitution durch Brom zeigt die 4-*O*-Tosylverbindung **96** offensichtlich eine höhere Reaktivität als die 2-*O*-Tosylverbindung **90**. Dies geht aus der deutlich kürzeren Reaktionszeit für die vollständige Umsetzung von **96** gegenüber der ebenfalls vollständigen Umsetzung von **90** hervor. Ein Teil der höheren Umsetzungsgeschwindigkeit könnte allerdings durch die etwa 3½ mal höhere Konzentration jeder Komponente in der Reaktionslösung verursacht werden. Dennoch zeichnet sich zusammen mit der Unbeständigkeit von **96** bei Raumtemperatur und den NMR-Daten ein Trend zu einer höheren Reaktivität der Verbindung **96** im Vergleich zu **90** ab.



Abb. 36: Die Synthese der 2-Brom-1,6-anhydro-2,3,4-trideoxy- β -D-erythro-hex-3-enopyranose und der 4-Brom-1,6-anhydro-2,3,4-trideoxy- β -D-erythro-hex-2-enopyranose

Die Reaktionskontrolle mittels DC zeigt die gleichen Charakteristika, wie sie bereits für die Umsetzung der 2-*O*-Tosylverbindung **90** in **Kapitel 3.1.1.3** beschrieben wurden. Daher erfolgt die Aufarbeitung auf dem gleichen Weg. Die in **Abbildung 36** skizzierte Reaktion liefert zwei Produkte in 37,7 bzw. 9,4 %iger Ausbeute, die mittels Massenspektrometrie und NMR-Spektroskopie als 2-Brom-1,6-anhydro-2,3,4-trideoxy- β -D-*erythro*-hex-3-enopyranose (**91**) und 4-Brom-1,6-anhydro-2,3,4-trideoxy- β -D-*erythro*-hex-2-enopyranose (**92**) identifiziert werden. Auf die Interpretation der Daten kann an dieser Stelle verzichtet werden, da dies bereits ausführlich in **Kapitel 3.1.1.3** geschehen ist.

Aus den Befunden der nukleophilen Substitution mit Bromid sowohl an der 2-*O*-Tosyl- **90** als auch an der 4-*O*-Tosylverbindung **96** ergeben sich folgende Schlußfolgerungen:

Das Produktverhältnis der jeweiligen Umsetzung beträgt im Fall des Edukts **90** n_{91} : $n_{92} \approx 1,7:1$ bzw. im Fall des Edukts **96** n_{91} : $n_{92} \approx 4:1$ und stützt damit die These, daß ein Allylcarbeniumion als Intermediat einer Sx1-Reaktion entsteht. Die zweite These des Sx2-artigen Angriffs eines Nukleophils in γ -Stellung zur Austrittsgruppe, d. h. ein Eintritt des Bromids bei einem konzertierten Austritt der Tosylgruppe unter Allylumlagerung, kann untergeordnet, aber nicht vorrangig eine Rolle spielen. Die Präferenz der zweiten These würde im Fall der 2-*O*-Tosylverbindung **90** als Hauptprodukt die 4-Bromverbindung **92** ergeben. Dagegen erklärt die Annahme des Sx1-Mechanismus alle beobachteten Befunde zwanglos. Nach dem Austritt der Tosylgruppe sollte in beiden Umsetzungen intermediär das gleiche Allylcarbeniumion **93** entstehen, das aufgrund seiner Mesomeriestabilisierung eine gewisse Lebensdauer aufweist. Die Elektronenverteilung, die durch die beiden Grenzstrukturen **93a** und **93b** dargestellt wird, erzeugt in der 2-Position von **93** eine höhere positive Polarisierung, d. h. Elektrophilie, als in der 4-Position. Daher greift das Nukleophil bevorzugt in der 2-Stellung an. Aufgrund der sterischen Hinderung durch die Anhydrobrücke ist hierbei die *exo*-ständige Anordnung des Broms begünstigt.

Des weiteren können die beiden Bromverbindungen **91** bzw. **92** ohne Umweg über die 1,6-Anhydro-3,4-dideoxy- β -D-*erythro*-hex-3-enopyranose (**5**) direkt aus der 4-*O*-Tosyl-1,6-anhydro-2,3-dideoxy- β -D-*erythro*-hex-2-enopyranose (**96**) hergestellt werden, falls aus präparativen Gründen die Instabilität von **96** nicht hinderlich ist.

3.1.2.3 Die Reaktion

der 4-O-Tosyl-1,6-anhydro-2,3-dideoxy-β-D-erythro-hex-2-enopyranose mit [⁷⁵Br]Bromid

Die Reaktion der 4-*O*-Tosyl-1,6-anhydro-2,3-dideoxy- β -D-*erythro*-hex-2-enopyranose (**96**) mit [⁷⁹Br/⁸¹Br]Bromid kann auf analogem Weg mit dem Positronenstrahler [⁷⁵Br]Bromid durchgeführt werden. Letzterer steht in Form einer wäßrigen Kalium[⁷⁵Br]bromidlösung zur Verfügung und wird beispielsweise aus dem stabilen Nuklid [⁷⁸Kr]Krypton durch Bestrahlung mit Protonen in einer ⁷⁸Kr(p, α)⁷⁵Br-Kernreaktion gewonnen^[76]. Für die eigentliche Bromsubstitution wird das Wasser der Lösung im Vakuum bei $t \approx 90$ °C entfernt und der Rückstand dreimal mit Acetonitril azeotrop getrocknet. Nach der Komplexierung des Kalium[⁷⁵Br]bromids mit Kryptofix[®] 222 in Acetonitril erfolgt die Umsetzung der 4-*O*-Tosylverbindung **96** innerhalb 30 Minuten bei einer Reaktionstemperatur von t = 65 °C (Abb. 37).



Abb. 37: Die Synthese der 2-[⁷⁵Br]Brom-1,6-anhydro-2,3,4-trideoxy- β -D-erythro-hex-3-enopyranose und der 4-[⁷⁵Br]Brom-1,6-anhydro-2,3,4-trideoxy- β -D-erythro-hex-2-enopyranose

Die Reaktionslösung wird wie in **Kapitel 3.1.1.3** beschrieben aufgearbeitet. Anschließend werden die Rohprodukte mittels HPLC getrennt und gereinigt. Die resultierende γ -Detektion zeigt drei Fraktionen (**Abb. 38**; **oben**)⁽⁹⁾. In der ersten Fraktion wird ein Teil des nicht umgesetzten Kryptofix[®]-Kalium[⁷⁵Br]bromid-Komplexes bei $T_R = 12,98$ min eluiert. Bei den Retentionszeiten $T_R = 16,98$ und 17,65 min ist ein Doppelpeak zu beobachten. Das zugehörige Eluat enthält das Hauptprodukt, die 2-[⁷⁵Br]Brom-1,6-anhydro-2,3,4-trideoxy- β -D-*erythro*-hex-3-enopyranose (**97**), mit einer Aktivitätsmessung der wäßrigen Kalium[⁷⁵Br]bromidlösung vor der Synthese, entspricht dies einer Ausbeute von 2,7 %. Die Doppelpeakbildung wird durch Reste des Lösungsmittels Acetonitril verursacht^{[77],[78],[79]}. Dieses läßt sich aus der Rohproduktlösung nicht vollständig abtrennen, da die Bromverbindungen im Vakuum in der Wärme ebenfalls flüchtig sind. Auf das Problem der Doppelpeakbildung wird in Kapitel 3.2.2, Seite 81, näher eingegangen. Die dritte Fraktion enthält die 4-[⁷⁵Br]Brom-1,6-anhydro-2,3,4-trideoxy- β -D-*erythro*-hex-2-enopyranose (**98**) und wird bei $T_R = 20,31$ min mit der Aktivität $A \approx 0,59$ MBq ($\triangleq 0,016$ mCi) eluiert. Die Ausbeute von **98** beträgt zerfallskorrigiert auf T_0 0,2 %. Die Formel der Zerfallskorrektur findet sich im Kapitel 6.3.1.



Abb. 38: *oben:* Die γ-Detektion⁽⁹⁾ der HPLC-Trennung der aufgearbeiteten Rohproduktlösung unten: Die UV_{254 nm}-Detektion⁽⁹⁾ der Standards

Die Zuordnung der Produkte ist über den Vergleich der Retentionszeiten problemlos möglich, da letztere in mehreren Synthesen sowohl mit [⁷⁹Br/⁸¹Br]Bromid als auch mit [⁷⁵Br]Bromid nur geringfügig

⁽⁹⁾ HPLC-Säule: $Merck^{\text{(B)}}$; LiChrosorb^(B) Si 60 (7 µm); Hibar^(B) Fertigsäule RT; 250 × 25 mm mobile Phase: $V_{\text{Et}_2\text{O}}$: $V_{n-\text{Pentan}} = 2:3$; isokratisch; 10 ^{ml}/_{min}

voneinander abweichen und damit gut reproduzierbar sind. In **Abbildung 38**, Seite 48, **unten**, ist die UV_{254 nm}-Referenzdetektion⁽⁹⁾ der Verbindungen 91 und 92, der beiden nicht-radioaktiven Analoga von 97 und 98, abgebildet. Die Retentionszeiten von 91 und 92 korrelieren sehr gut mit denjenigen von 97 und 98.

Auch bei dieser Synthese entsteht bevorzugt das 2-[⁷⁵Br]Brom- vor dem 4-[⁷⁵Br]Brom-Produkt. Das Verhältnis beträgt ungefähr n_{97} : $n_{98} \approx 15$:1. Dieses Ergebnis läßt lediglich eine qualitative, aber keine quantitative Beurteilung zu, denn die große Bandbreite dieser Produktverhältnisse von 1,7:1 bis 15:1 liegt vermutlich zum einen in der Aufarbeitung durch z. B. unterschiedliche Flüchtigkeit der beiden Isomere **91** und **92** bzw. **97** und **98**, zum anderen auch in den kleinen Ansätzen und den hieraus resultierenden Wägefehlern begründet. Des weiteren sind Aktivitätsmessungen mit einem Fehler von etwa 10 % behaftet, was sich besonders in unteren Meßbereichen bemerkbar macht. Aus Gründen des Strahlenschutzes konnten nur Teile der aufgearbeiteten Reaktionslösung mittels HPLC getrennt werden. Dementsprechend pflanzen sich Fehler in den Ergebnissen bei der Hochrechnung auf den gesamten Ansatz fort und potenzieren sich. Weitere Untersuchungen mit [⁷⁵Br]Bromid könnten zu einer Optimierung der Ausbeute führen und die oben beschriebenen Produktverluste bzw. Fehler vermeiden helfen. Aufgrund technischer Probleme ist das Nuklid [⁷⁵Br]Brom nicht mehr zugänglich, so daß an dieser Stelle eine Fortführung der Arbeiten nicht möglich war.

Eine direkte Anwendung der 2-[⁷⁵Br]Brom-1,6-anhydro-2,3,4-trideoxy- β -D-*erythro*-hex-3-enopyranose (97) und deren 4-[⁷⁵Br]Bromanalogon 97 aus biologischer bzw. medizinischer Sicht ist bisher nicht bekannt. In dem durch die Halbwertszeit von [⁷⁵Br]Brom vorgegebenen Zeitrahmen sind aber Derivatisierungsreaktionen denkbar, die zu biologisch relevanten Zielmolekülen führen könnten.

3.1.2.4 Die Reaktion der 4-*O*-Tosyl-1,6-anhydro-2,3-dideoxy-β-D-*erythro*-hex-2-enopyranose mit Fluorid

Die analoge Umsetzung der 4-*O*-Tosyl-1,6-anhydro-2,3-dideoxy- β -D-*erythro*-hex-2-enopyranose (**96**) mit dem Kryptofix[®]-Kaliumfluorid-Komplex in Acetonitril führt zu keinem Ergebnis (**Abb. 39**).



Abb. 39: Versuch der Synthese von fluorierten Dioxabicyclooctenen mittels nukleophiler Substitution

Bei Raumtemperatur wird die anfangs farblose Lösung binnen fünf Minuten braun, ohne daß mit Hilfe der Dünnschichtchromatographie definierte Produkte zu beobachten sind. Sieden unter Rückfluß führt zur Zersetzung des Edukts. Die Verwendung von Tetrabutylammoniumfluorid als Fluorierungsagens zeigt bei Raumtemperatur keine Umsetzung, bei Sieden unter Rückfluß wird die Reaktionslösung tiefbraun, und das Edukt zersetzt sich. In keinem Fall kann eines der möglichen Produkte, die Verbindungen **34**, **35**, **36** oder **99**, dünnschichtchromatographisch identifiziert oder säulenchromatographisch isoliert werden. Die Verbindungen **34** bzw. **99** sollten als direkte Fluoridaddukte des Allyl-carbeniumions **38**, die Verbindungen **35** bzw. **36** hingegen als Fluoridaddukte nach der Umlagerung von **38** in das 3,8-Dioxabicyclo[3.2.1]oct-6-en-Gerüst entstehen (Abb. **39**; Seite 49; Weg **b**).

3.1.2.5 Die Reaktion der

4-O-Tosyl-1,6-anhydro-2,3-dideoxy-β-D-erythro-hex-2-enopyranose mit Hydrogensulfid

H. SPIES et al. synthetisierten quadratisch-pyramidale Technetium- bzw. Rheniumkomplexe 100, die aus dem fünfwertigen Zentralatom M, einer Oxogruppe und vier Donoren D bis D''' bestehen. Die Donoren bilden die Ecken der Grundfläche der quadratischen Pyramide (Abb. 40; Seite 51; links)^{[80],[81]}. Gehören die vier Donoratome zu einem Liganden, bezeichnet man diesen als tetradentat. Diese bilden überwiegend stabile Chelatkomplexe. Die Koordinationssphäre kann aber auch aus zwei bidentaten Liganden gemäß dem '2+2'-Prinzip oder aus einem tridentaten und einem monodentaten Liganden gemäß dem '3+1'-Prinzip aufgebaut werden. Schwefel- und Stickstoffunktionen wirken als starke Donoren. Für Radiodiagnostika weist Technetium mit dem [99mTc]Tc-Isotop ein besonders geeignetes Nuklid in Hinblick auf seine Strahlungseigenschaften ($T_{\frac{1}{2}} = 6$ h; $E_{\gamma} = 141$ keV; keine Teilchenstrahlung)^[50] auf. Da das nicht-radioaktive Rhenium strukturell und chemisch oftmals sehr ähnliche Koordinationsverbindungen ausbildet, dient es häufig als Ersatzzentralatom im Vorfeld der Technetiumpharmakaforschung. Ein Ziel dieser Forschungen ist, größere biologisch relevante Strukturen wie Steroide, Zucker oder Fragmente von Pharmaka mittels des '3+1'-Prinzips über Schwefeldonoren radioaktiv zu markieren. Die Einschränkung auf größere Strukturen ergibt sich, da die biologisch nicht relevanten Technetium- bzw. Rheniumchelateinheiten nur dann chemisch und biologisch eine untergeordnete Rolle spielen, wenn sie aufgrund ausreichender Distanz keinen Einfluß auf die Bildung und Stabilität eines Substrat-Enzym-Komplexes haben. Das '3+1'-Prinzip hat den Vorteil, daß das markierte Molekül als monodentater Ligand keine zweite Koordination mit dem Zentralatom eingeht und somit nicht in eine beispielsweise biologisch ungünstige Konformation gezwungen wird. Da monodentate Liganden weniger stark koordiniert werden als mehrzähnige, sollte eine Schwefelfunktion als Donor für eine ausreichende Stabilität des Komplexes sorgen. Das Natriumsalz der 1-Thio- β -D-glucose (102) bzw. deren analoges Galactosederivat 103 wurden von SPIES et al. bereits erfolgreich in verschiedene Rheniumkomplexe wie z. B. 104 oder 105 integriert (Abb. 40; Seite 51; rechts).



Abb. 40: *links: Die Grundstruktur eines Oxotechnetium(V)- bzw. Oxorhenium(V)-Komplexes* rechts: Die Synthese eines Oxorhenium(V)-Komplexes mit den Liganden 1-Thio-β-D-glucose bzw. 1-Thio-β-D-galactose

Als weitere monodentate Liganden sollten die 2-Mercapto-1,6-anhydro-2,3,4-trideoxy- β -D-*erythro*-hex-3-enopyranose (**106**) bzw. die 4-Mercapto-1,6-anhydro-2,3,4-trideoxy- β -D-*erythro*-hex-2-enopyranose (**107**) synthetisiert werden. Hierzu wird die 4-*O*-Tosyl-1,6-anhydro-2,3-dideoxy- β -D-*erythro*-hex-2-enopyranose (**96**) in Acetonitril mit Natriumhydrogensulfid in Gegenwart von Kryptofix[®] 222 umgesetzt (**Abb. 41**). Nach 30 Minuten Reaktionszeit bei Raumtemperatur und anschließender Aufarbeitung wird ein Produkt als farbloser Festkörper in 7,5 %iger Ausbeute erhalten.



Abb. 41: *Versuch der Synthese der 2-Mercapto-1,6-anhydro-2,3,4-trideoxy-\beta-D-erythro-hex-3-enopyranose bzw. der 4-Mercapto-1,6-anhydro-2,3,4-trideoxy-\beta-D-erythro-hex-2-enopyranose*

Die massenspektrometrischen und NMR-spektroskopischen Daten belegen jedoch, daß die Produkte **106** und **107**, die analog der Reaktion der 4-*O*-Tosylverbindung **96** mit Bromid zu erwarten sind, in der oben beschriebenen Umsetzung nicht entstehen. Statt dessen kann als Hauptprodukt der Bis-(1,6-anhydro-2,3,4-trideoxy- β -D-*erythro*-hex-3-enopyranos-2-yl)thioether (**108**) identifiziert werden. Dies belegt das EI⁺-Massenspektrum, das ein Molekülion bei *m/z* 254 in einer relativen Intensität von 4,8 % dokumentiert. Die Masse des Molekülions korreliert mit der Molmasse des Thioethers **108**. Der Basispeak bei *m/z* 205 entspricht der Masse eines Fragmentions, das formal aus dem Molekülion durch Abspaltung von Schwefelwasserstoff und einer Methylgruppe hervorgeht. Die hochaufgelöste Masse des Molekülions zeigt eine Abweichung von $\Delta m/z = 0,3$ mmu ($\triangleq 1,0$ ppm) vom berechneten

Wert m/z 254,0613. In einem Reproduktionsversuch der Reaktion weist das EI⁺-Massenspektrum ein Signal des Molekülions in einer ausreichend hohen relativen Intensität von 48,8 % auf, so daß sich das für die Zusammensetzung des Moleküls 108 charakteristische Isotopenmuster experimentell bestimmen läßt. Das auf $[M]^+$ = 100 normierte Isotopenverhältnis $[M+2]^+$: $[M+1]^+$: $[M]^+$ = 6:14,1:100 korreliert sehr gut mit dem berechneten Verhältnis $[M+2]^+:[M+1]^+:[M]^+=6,2:14,6:100$. Die Resonanzen des ¹H-NMR-Spektrums entsprechen den Erwartungen. Die chemische Verschiebung des 2-H-Atoms beträgt $\delta = 3,22$ ppm und liegt im Vergleich zu der 2-Hydroxylverbindung 5 ($\delta = 3,63$ ppm) und der 2-Bromverbindung 91 (δ = 4,23 ppm) am weitesten hochfeldverschoben. Dies steht in Einklang mit der Elektronegativitätsskala^[82] nach *Pauling*, die für Schwefel mit $EN_s = 2,58$ im Vergleich zu Sauerstoff ($EN_0 = 3,44$) und Brom ($EN_{Br} = 2,96$) den kleinsten Wert aufweist. Die fehlende Resonanz der Thiolgruppe stützt die These der Bildung des Thioethers. Die übrigen Signale unterliegen gegenüber denjenigen von 5 und 91 nur einer geringfügigen Hoch- bzw. Tieffeldverschiebung, so daß für die beiden Alkylgruppen des Thioethers 108 jeweils ein 6,8-Dioxabicyclo[3.2.1]oct-3-en-Skelett wahrscheinlich ist. Diese These stützt auch das ¹³C-NMR-Spektrum. Die chemische Verschiebung des 1-C-Atoms bei den Analoga der Verbindungen 5 bzw. 3 ist im Fall elektronegativer 2- bzw. 4-Substituenten ein empfindliches Kriterium für eine Zuordnung zu der jeweiligen Reihe mit 6,8-Dioxabicyclo[3.2.1]oct-3-en- bzw. 6,8-Dioxabicyclo[3.2.1]oct-2-en-Skelett. Aufgrund des benachbarten elektronenziehenden Substituenten zeigen Oct-3-ene gegenüber den entsprechenden Oct-2-enen eine deutliche 1-C-Tieffeldverschiebung um $\Delta \delta \approx 7$ bis 15 ppm. Dies trifft auch auf den Thioether 108 zu, dessen 1-C-Signal bei $\delta = 104,36$ ppm detektiert wird. Die entsprechenden chemischen Verschiebungen des Oct-3-ens 5 bzw. des Oct-2-ens 3 weisen Werte von $\delta = 102,63$ ppm bzw. $\delta = 95,47$ ppm auf. Das Schwefelatom befindet sich an der jeweiligen Alkylgruppe in exo-Stellung, d. h. die jeweiligen 1-H- und 2-H-Atome sind trans-ständig. Dies geht gemäß Karplus aus den niedrigen Kopplungskonstanten von ${}^{3}J_{1-H,2-H} = 1,3$ Hz und ${}^{3}J_{2-H,1-H} = 1,9$ Hz hervor.

Im Hinblick auf die Ergebnisse der Substitution durch Bromid in den vorangegangenen Kapiteln erscheint die Bildung eines einheitlichen Produkts **108** im Fall der Umsetzung der 4-*O*-Tosyl-1,6-anhydro-2,3-dideoxy- β -D-*erythro*-hex-2-enopyranose (**96**) mit Natriumhydrogensulfid zunächst unerwartet, läßt sich aber mit der folgenden These erklären:

Hydrogensulfidionen weisen im Vergleich zu Bromidionen eine deutlich höhere Nukleophilie auf. Zum einen belegt dies qualitativ eine für S_N2-Reaktionen in protischen Solvenzien erstellte Reihe potentieller Eintrittsgruppen, die J.O. EDWARDS und R.G. PEARSON^[83] gemäß ihres abnehmenden nukleophilen Charakters ordneten:

$$RS^{\ominus} > ArS^{\ominus} > I^{\ominus} > CN^{\ominus} > HO^{\ominus} > N_3^{\ominus} > Br^{\ominus} > ArO^{\ominus} > Cl^{\ominus} > Pyridin > AcO^{\ominus} > H_2O$$

Zum anderen fanden C.G. SWAIN und C.B. SCOTT^[84] eine Möglichkeit, diesen Sachverhalt quantitativ zu erfassen. Sie führten als Maß für die Nukleophilie eines Elektronenpaardonors die logarithmische Bezugsgröße n ein, wobei als Bezugspunkt die Nukleophilie von Wassermolekülen mit dem Wert

Nu	HS^{\ominus}	CN^{\ominus}	I⊖	HO^{\ominus}	N_3^{\ominus}	Pyridin	Br^{\ominus}	PhO^{\ominus}	AcO^{\ominus}	Cl^{\ominus}	F^{\ominus}	H ₂ O
п	5,1	5,1	5,0	4,2	4,0	3,6	3,5	3,5	2,7	2,7	2,0	0,0

Tab. 2:Die Nukleophilie einiger Agenzien^[85]

 $n_{\rm H_2O} = 0$ gewählt wurde⁽¹⁰⁾ (**Tab. 2**).

Nach **Tabelle 2** ergibt sich für ein Substrat, das einen stoffabhängigen Proportionalitätsfaktor nahe dem Wert $s \approx 1$ aufweist, eine etwa 40-fach höhere Umsetzungsrate, wenn unter sonst gleichen Reaktionsbedingungen Hydrogensulfidionen statt Bromidionen als Nukleophile eingesetzt werden. Für eine näherungsweise Berechnung vergleiche Kapitel 6.3.2.

Aufgrund ihrer Konkurrenz verlaufen nukleophile Substitutionen selten rein mono- bzw. bimolekular, sondern weisen gleichzeitig Charakteristika sowohl des SN1- als auch des SN2-Grenzfalls auf. Welcher der beiden Mechanismen überwiegt, hängt von den Reaktionsbedingungen, der Substratbeschaffenheit sowie der Nukleophilie der Eintrittsgruppe ab^[86]. Da ein Nukleophil ausschließlich bei S_N2-Reaktionen am geschwindigkeitsbestimmenden Schritt der Umsetzung, der Bildung des fünfbindigen Übergangszustands, beteiligt ist, wird ein überwiegend S_N2-artiger Reaktionsweg durch eine Steigerung der Nukleophilie der Eintrittsgruppe beschleunigt, während der Sn1-artige Reaktionsweg unbeeinflußt bleibt. Der geschwindigkeitssteigernde Effekt beim Übergang von Bromid- zu Hydrogensulfidionen wird nach SWAIN und SCOTT gemäß der Differenz $\Delta n = n_{\rm HS^{\odot}} - n_{\rm Br^{\odot}}$ durch eine 1,6-fach höhere Nukleophilie belegt. Somit kann sich unter bestimmten Umständen eine S_N1-dominierte zu einer S_N2-dominierten Umsetzung wandeln. Dies ist offenbar durch den Wechsel vom Nukleophil Bromid der Substitution in Kapitel 3.1.2.2 zum Nukleophil Hydrogensulfid der Substitution in diesem Kapitel der Fall. Verläuft die Umsetzung der 4-O-Tosylverbindung 96 aber gemäß eines SN2-Mechanismus, ist der exo-Angriff des Hydrogensulfidions in der 2-Position von 96 aufgrund der sterischen Verhältnisse wahrscheinlich. Der endo-Angriff des engen Ionenpaars, das aus dem voluminösen Kryptofix®-Natrium-Kation und dem Hydrogensulfidanion besteht, wird am 2- bzw. 4-Kohlenstoffzentrum infolge der 1,6-Anhydrobrücke sterisch nicht begünstigt. Die 4-Stellung von 96 wird von der Tosylgruppe gegen einen exo-Angriff in der konzertiert ablaufenden Substitution abgeschirmt.

Intermediär sollte durch die primäre Umsetzung von **96** mit Hydrogensulfid die 2-Mercaptoverbindung **106** entstehen. Dieses Molekül ist offenbar stärker nukleophil als das Hydrogensulfidion. Für diese These spricht die in Acetonitril im Vergleich zum Kryptofix[®]-Natriumhydrogensulfid-Komplex größere Löslichkeit⁽¹¹⁾ von **106**. Des weiteren verringert das Gegenion im engen Ionenpaar

 $\log^{k}/k_{0} = s \times n$

n = Nukleophilie der Eintrittsgruppe

k = Geschwindigkeitskonstante der S*N*2-Reaktion mit einem Nukleophil

 k_0 = Geschwindigkeitskonstante der S_N2-Reaktion mit Wasser

s = Proportionalitätsfaktor, der die Eigenschaften des Substrats berücksichtigt; für Methylbromid ist *s* auf den Wert *s* = 1 definiert

⁽¹¹⁾ Sowohl Natrium- als auch Kaliumhydrogensulfid löst sich unter den gegebenen Bedingungen erst im Verlauf der Reaktion vollständig auf. Dagegen sind alle hier besprochenen Dioxabicyclooctene gut in Acetonitril löslich.

die Elektronendichte und dadurch die Nukleophilie des weichen Hydrogensulfids. Aus beiden Gründen könnte die Mercaptoverbindung **106** reaktiver sein als der Komplex, weshalb **106** bevorzugt mit **96** reagiert. Auch hierbei ist der 2-*exo*-Angriff sterisch bedingt vorgegeben.

Eine Überlegung, die Reaktion in Richtung der Bildung der Thiolverbindung **106** bzw. **107** zu steuern, besteht darin, den Kryptofix[®]-Natriumhydrogensulfid-Komplex im großen Überschuß gegenüber der 4-*O*-Tosylverbindung **96** einzusetzen, aber insgesamt in hoher Verdünnung des Ansatzes zu arbeiten. Auch in diesem Fall entsteht ausschließlich der Thioether **108**. Weitere Versuche, die Tosylverbindung in niedriger Konzentration zu halten, wie dies durch eine sehr langsame Zugabe von **96** zu der Reaktionslösung erreicht werden kann, waren ebenfalls erfolglos. Die Verwendung anderer Lösungsmittel wie beispielsweise Diethylether ergibt keine homogene Reaktionslösung und resultiert in der Zersetzung des Edukts **96**.

Auch die mögliche Bildung des Thioethers 108 aus z. B. der 2-Mercaptoverbindung 106 unter den Bedingungen der EI⁺-Massenspektrometrie wurde erwogen. Da die Massenspektren bisher den einzigen direkten Nachweis für die Existenz des Thioethers erbracht haben, ist der Ausschluß dieser Nebenreaktion beispielsweise aufgrund der hohen Temperaturen im Injektor zu prüfen. Daher wurden FAB⁺-Massenspektren angefertigt, um die thermische Belastung der Probe gering zu halten und Nebenreaktionen auf diese Weise weitgehend auszuschließen. Die FAB+-Massenspektren des Produkts, das entweder aus dem Thioether oder einer hypothetischen Thiolverbindung bestehen sollte, waren unzulänglich interpretierbar. So wurden zum Teil intensive Signale für Massen im Bereich zwischen m/z 300 und m/z 750 erhalten, die nicht aus der Matrix m-Nitrobenzylalkohol stammen und keiner Verbindung zugeordnet werden konnten. Derartige Signale lassen entweder auf eine Clusterbildung während der Messung oder auf Verunreinigungen schließen. Letztere waren in der DC-Kontrolle nicht nachweisbar. Dennoch konnte in verschiedenen Reaktionsansätzen reproduzierbar die Masse m/z 255, die dem [M+H]⁺-Ion des Thioethers 108 zugeordnet wird, mit relativen Intensitäten von bis zu 60 % detektiert werden. Bei den Massen m/z 144, m/z 145 bzw. m/z 167, die dem [M]⁺-, dem [M+H]⁺- bzw. dem [M+Na]⁺-Ion der 2- bzw. 4-Mercaptoverbindung 106 bzw. 107 entsprechen, konnten dagegen keine Signale beobachtet werden. Dies ist ein Hinweis auf die tatsächliche Existenz des Thioethers. Das ¹H-NMR-Spektrum läßt nur indirekt durch das Fehlen der Protonenresonanz auf das Molekül 108 schließen. Offenbar ist der Thioether in einer symmetrischen Konformation eingefroren, so daß in den beiden Zuckerfragmenten paarweise Protonen gleicher chemischer Umgebung entstehen, die zu jeweils einer Resonanz pro Paar führen. Entsprechendes gilt für die ¹³C-NMR-Spektren. Somit kann die NMR-Spektroskopie kaum eine Hilfestellung für die Entscheidung zwischen Thioether bzw. Mercaptoverbindung leisten.

Die Abwägung der Interpretationsmöglichkeiten aller Daten lassen die Existenz des Bis(1,6-anhydro-2,3,4-trideoxy- β -D-*erythro*-hex-3-enopyranos-2-yl)thioethers (**108**) auf Grundlage der EI⁺-Spektren und deren Bestätigung mittels der FAB⁺-Massenspektrometrie zusammen mit den theoretischen Überlegungen am wahrscheinlichsten erscheinen.

3.1.2.6 Alternative Herstellungsversuche für Mercapto-6,8-dioxabicyclo[3.2.1]octene

Als monodentater Ligand ist Schwefel in einer Thioetherfunktion wenig geeignet. Deshalb wurde nach anderen Wegen für die Synthese eines Mercapto-6,8-dioxabicyclo[3.2.1]octens gesucht.

Eine Variante zu dem in Kapitel 3.1.2.5 beschriebenen Syntheseweg besteht in dem Versuch, die 4-*O*-Tosyl-1,6-anhydro-2,3-dideoxy- β -D-*erythro*-hex-2-enopyranose (96) mit Schwefelwasserstoff in Acetonitril in Gegenwart von Pyridin zur Reaktion zu bringen. Hierbei kann bei Raumtemperatur keine Umsetzung beobachtet werden. Sieden unter Rückfluß führt zu einer großen Zahl Produkte, deren Isolierung nicht erfolgversprechend scheint.

In einem weiteren Experiment wird die 1,6-Anhydro-2,3-dideoxy- β -D-*erythro*-hex-2-enopyranose (**3**) mit DAST und Natriumhydrogensulfid in trockenem Acetonitril in Gegenwart von Kryptofix[®] 222 umgesetzt (Abb. 42). Neben einem erwünschten Mercapto-6,8-dioxabicyclo[3.2.1]octen könnten hierbei aber auch Fluorsubstitutionsprodukte entstehen^[16].



Abb. 42: Versuch der Synthese eines Thiols mittels DAST und Natriumhydrogensulfid

Dieser Synthesevorschlag läßt den folgenden Mechanismus erwarten:

Zuerst greift DAST den Allylalkohol **3** an der 4-Hydroxylgruppe an, wobei das Intermediat **109** unter Bildung einer nukleofugen OSF_2NEt_2 -Gruppe und Eliminierung eines Fluoridions entsteht (vgl. **Kap. 1.2.6**)^[37]. Für die nachfolgende nukleophile Substitution sollten die Hydrogensulfidionen und das aus DAST abgespaltene Fluoridion in Konkurrenz stehen. Reaktionen mit DAST bevorzugen bei Raumtemperatur einen S_N2-artigen Mechanismus unter *Walden*-Umkehr^{[9],[16]}. Dies begünstigt den Angriff der im Vergleich zu Fluoridionen deutlich nukleophileren Hydrogensulfidionen (vgl. **Kap. 3.1.2.5**). Deren Eintritt in das Intermediat **109** sollte wegen der abschirmenden Wirkung der 1,6-Anhydrobrücke überwiegend in der *exo-*2-Position unter konzertierter Eliminierung der OSF₂NEt₂-Gruppe und Allylumlagerung erfolgen. Als Hauptprodukt könnte die 2-Mercaptoverbindung **106** gebildet werden. Der Entstehungsort der Fluoridionen in direkter Nähe zu den möglichen Reaktionszentren kann aber ihre geringere Nukleophilie zumindest teilweise ausgleichen. Daher sind als Nebenprodukte Fluorverbindungen in größerem Umfang zu erwarten.

In der Praxis werden getrocknetes Natriumhydrogensulfid, Kryptofix[®] 222 und der Allylalkohol **3** unter Inertgas in Acetonitril vorgelegt und DAST langsam bei Raumtemperatur zugefügt. In der DC-Kontrolle (V_{EE} : $V_{n-\text{Hexan}} = 1:4$) lassen sich zwei Produktflecken mit $R_f = 0.38$ bzw. $R_f = 0.28$ erkennen.

Da beide Substanzen flüchtig sind, erfolgt die Aufarbeitung der Reaktionslösung wie in **Kapitel 3.1.1.3** beschrieben. Im Anschluß an die Säulenchromatographie (V_{Et_2O} : $V_{n-Pentan} = 2:1$) werden zwei Produkte in Form schwach gelber, beständiger Öle isoliert. Die Massenspektrometrie kann jedoch weder im EI⁺- noch im FAB⁺-Modus ein Mercapto-6,8-dioxabicyclo[3.2.1]octen bei m/z 144 bzw. die möglichen Fluornebenprodukte **34**, **35** oder **36** bei m/z 130 nachweisen. Variationen der Reaktionsführung wie beispielsweise die Verwendung von Natriumsulfid in einem intermediären Kryptofix[®]-Natriumsulfid-Komplex oder einer Suspension von Natriumhydrogensulfid in Acetonitril ohne Kryptofix[®]-Zusatz führten ebenfalls nicht zum Erfolg.

Ein Versuch zur Herstellung der 4-Mercapto-1,6-anhydro-2,3-dideoxy- β -D-*threo*-hex-2-enopyranose (**112**) ist in der **Abbildung 43** skizziert. Im ersten Schritt wird die 1,6-Anhydro-2,3-dideoxy- β -D-*erythro*-hex-2-enopyranose (**3**) nach einer Synthesevorschrift von P. KÖLL *et al.* zu der analogen Keto-verbindung, der 1,6-Anhydro-2,3-dideoxy- β -D-*glycero*-hex-2-enopyranos-4-ulose (**110**), oxidiert^[87]. In der zweiten Stufe sollte die Umsetzung mit *Lawesson*'s-Reagens⁽¹²⁾ zu dem Thioketon **111** führen^[88], das wiederum nach KÖLL *et al.* mit Natriumborhydrid in 80 %igem wäßrigem Ethanol zu dem Thiol **112** reduziert wird^[87].



Abb. 43: Versuch der Synthese eines Thiols mittels Lawesson's-Reagens

Die Oxidation des Allylalkohols **3** mittels getrocknetem Mangandioxid (Braunstein) in trockenem Chloroform ergibt die 1,6-Anhydro-2,3-dideoxy- β -D-glycero-hex-2-enopyranos-4-ulose (**110**) nach 22 Stunden Sieden unter Rückfluß in 65,9 %iger Ausbeute. Die anschließende Schwefelung der Ketoverbindung **110** mit Hilfe von *Lawesson*'s-Reagens unter Rückfluß in Toluol führt zu einer unübersichtlichen Produktmischung, deren Aufarbeitung wenig erfolgversprechend erschien.

(12)

Lawesson's-Reagens^[89], das 2,4-Bis(4-methoxyphenyl)-1,3-dithia-2,4-diphosphetan-2,4-disulfid, ist ein Phosphorpentasulfidabkömmling.

3.1.3 Die elektrophile Addition am 6,8-Dioxabicyclo[3.2.1]oct-3-en-Skelett

Die elektrophile Addition am 6,8-Dioxabicyclo[3.2.1]oct-3-en-Skelett führt zu 3,4-modifizierten Hexosen, die durch Öffnung der 1,6-Anhydrobrücke mittels saurer Hydrolyse^[16] direkt aus den Additionsprodukten hervorgehen.

3.1.3.1 Die Addition von elementarem Chlor an die 1,6-Anhydro-3,4-dideoxy-β-D-*erythro*-hex-3-enopyranose

In einer Gaseinleitungsapparatur wird die 1,6-Anhydro-3,4-dideoxy- β -D-*erythro*-hex-3-enopyranose (5) in Chloroform bei t = 0 °C mit elementarem Chlor zur Reaktion gebracht (Abb. 44). Nach fünf Minuten Reaktionszeit und nachfolgender Aufarbeitung lassen sich drei Produkte, ein farbloser Festkörper in 44,9 %iger Ausbeute sowie zwei milchig-trübe Öle, isolieren.



Abb. 44: *Die Synthese der 3,4-Dichlor-1,6-anhydro-3,4-dideoxy-\beta-D-glucopyranose*

Aufgrund der massenspektrometrischen und NMR-spektroskopischen Daten wird der Festkörper der 3,4-Dichlor-1,6-anhydro-3,4-dideoxy- β -D-glucopyranose (113) zugeordnet. Die öligen Nebenprodukte wurden nicht identifiziert. Das EI⁺-Massenspektrum von **113** läßt kein Molekülion der Masse m/z 198 beobachten. Statt dessen tritt in einer relativen Intensität von 2.6 % ein Signal bei m/z 197 auf, das mit der Masse des [M-H]⁺-Fragmentions korreliert. Des weiteren ist ein [M-H+2]⁺-Fragment in relativer Intensität von 1,6 % zu erkennen. Aufgrund der charakteristischen Isotopenverteilung von Chlor wird für Moleküle, die zwei Chloratome beinhalten, ein auf $[M]^+ = 100$ normiertes Isotopenverhältnis von $[M+4]^+:[M+2]^+:[M]^+ = 10:64:100$ berechnet^[72]. Das experimentell bestimmte Isotopenverhältnis beträgt für die Verbindung **113** $[M-H+2]^+:[M-H]^+ = 63,2:100$. Die Intensität des $[M-H+4]^+$ -Peaks ist zu gering, so daß dessen Wert durch den Untergrund stark verfälscht wird. Der Basispeak wird bei m/z 117 detektiert und einem [M-Cl-CHO-H]⁺-Fragment zugeordnet. Die hochaufgelöste Masse des $[M-H]^+$ -Fragmentions weicht um $\Delta m/z = 2,0$ mmu ($\doteq 10,4$ ppm) von der berechneten (m/z 196,9772) ab. Das ¹H-NMR-Spektrum läßt sich gut mit der erwarteten Struktur von **113** korrelieren. Die elektrophile Addition von Chlor an die Doppelbindung wirkt sich am stärksten auf die Resonanzen des 3-H- bzw. 4-*H*-Atoms aus. Beide Signale erfahren eine starke Hochfeldverschiebung nach $\delta = 4,23$ ppm bzw. $\delta = 4,27$ ppm, da die Hybridisierung der entsprechenden Kohlenstoffzentren von *sp*² nach *sp*³ wechselt. Aufgrund des geringeren s-Charakters der sp^3 -Hybridorbitale verlagert sich die Elektronendichte hin zum H-Atom, das dann stärker abgeschirmt wird. Beide Resonanzen ergeben bei Meßfrequenzen

von sowohl $v \approx 250$ MHz als auch $v \approx 500$ MHz Multipletts, in deren "Feinstruktur" aber dennoch Kopplungskonstanten abgeschätzt werden können, die einen Einblick in die Molekülstruktur geben. Eine allgemeine Regel besagt, daß an Cyclohexenringen "durch anti-Addition zunächst ein diaxiales Additionsprodukt entsteht, das durch Umklappen in das diäquatoriale Konformer übergeht, sofern das starre Ringgerüst dies nicht verhindert^{(74]}. Dies bedeutet, daß die 1,6-Anhydro-3,4-dideoxy- β -Derythro-hex-3-enopyranose (5) das Chlor trans-diaxial addiert, aber wegen der Anhydrobrücke nicht in die trans-diäquatoriale Konformation umklappen kann. Die 3-äquatorial-4-axiale bzw. 3-axial-4-äquatoriale Addition ist per se durch den Mechanismus der elektrophilen Addition ausgeschlossen. Diese Überlegungen werden durch das ¹H-NMR-Spektrum gestützt. In der hypothetischen transdiäquatorialen Stellung der Chlorsubstituenten stehen das 3-H- und das 4-H-Atom zueinander transdiaxial. Dies bedingt nach Karplus eine Kopplungskonstante von ${}^{3}J_{3-H,4-H} > 7$ Hz. Da das gesamte Multiplett der 3-H-Resonanz nur eine Ausdehnung von etwa 7 Hz aufweist, sollte die größtmögliche Kopplungskonstante ${}^{3}J_{3-H,4-H}$ diesen Wert von 7 Hz deutlich unterschreiten. Die "Feinstruktur" innerhalb des 3-*H*-Multipletts zeigt Kopplungskonstanten von etwa ${}^{3}J \approx 1,6$ Hz. Den gleichen Wert von ${}^{3}J \approx 1,6$ Hz ergeben Kopplungskonstanten, die sich aus der "Feinstruktur" der 4-*H*-Resonanz ableiten. Bei aller Vorsicht besteht die Übereinstimmung ${}^{3}J_{3-H,4-H} \approx {}^{3}J_{4-H,3-H} \approx 1,6$ Hz, die nach *Karplus* und unter Einbeziehung des Additionsmechanismus eindeutig die trans-diäquatoriale Stellung des 3-Hund des 4-H-Atoms zueinander belegt. Hieraus resultiert die diaxiale Stellung der Chlorsubstituenten und damit die *gluco*-Konfiguration der 3,4-Dichlor-1,6-anhydro-3,4-dideoxy- β -D-glucopyranose (113).

3.1.3.2 Die Addition von elementarem Brom an die 1,6-Anhydro-3,4-dideoxy-β-D-*erythro*-hex-3-enopyranose

Bei t = 0 °C wird die 1,6-Anhydro-3,4-dideoxy- β -D-*erythro*-hex-3-enopyranose (**5**) in Dichlormethan mit elementarem Brom umgesetzt und das Produkt in Form eines farblosen Festkörpers in 40 %iger Ausbeute erhalten (Abb. 45).



Abb. 45: Die Synthese der 3,4-Dibrom-1,6-anhydro-3,4-dideoxy- β -D-glucopyranose

Die Daten der Massenspektrometrie und der NMR-Spektroskopie belegen, daß das Additionsprodukt und die 3,4-Dibrom-1,6-anhydro-3,4-dideoxy- β -D-glucopyranose (**114**) identisch sind. Statt des Molekülions mit *m/z* 286 werden im EI⁺-Massenspektrum ein [M-Br+2]⁺- und ein [M-Br]⁺-Fragmention der Massen *m/z* 209 bzw. *m/z* 207 detektiert. Dies steht in Einklang mit Beobachtungen von LAUER, der im Massenspektrum für die 4-O-Acetyl-2,3-dibrom-1,6-anhydro-2,3-dideoxy- β -D-glucopyranose ebenfalls kein Molekülion, sondern nur ein [M-Br]⁺-Fragment als Ion mit der höchsten Masse zuordnen konnte^[9]. Für das [M-Br+2]⁺- und das [M-Br]⁺-Signal des Moleküls **114** wird eine relative Intensität von jeweils 1% ermittelt, was für ein Fragment mit einem Bromatom charakteristisch ist. Ein [C₅H₆OBr]⁺-Fragmention bildet den Basispeak bei *m/z* 161. Im ¹H-NMR-Spektrum von **114** treten die Resonanzen des 3-*H*- und des 4-*H*-Atoms gegenüber denjenigen in **5** erwartungsgemäß stark hochfeldverschoben bei $\delta = 4,48$ ppm bzw. $\delta = 4,51$ ppm auf. Hierbei ist bemerkenswert, daß alle Resonanzen mit Ausnahme derjenigen des 1-*H*- und des 6-*H*_x-Atoms im Vergleich zu den entsprechenden Resonanzen der Verbindung **113** um bis zu $\Delta \delta = 0,25$ ppm tieffeldverschoben sind, obwohl gemäß *Pauling*^[82] Brom eine geringere Elektronegativität (*EN*_{Br} = 2,96) aufweist als Chlor (*EN*_{CI} = 3,16). In **114** sind die beiden Bromsubstituenten *trans*-diaxial, d. h. die entsprechenden *H*-Atome *trans*-diäquatorial angeordnet. Dies belegen die beiden niedrigen Kopplungskonstanten ³*J*_{3-H,4-H} = 2,9 Hz und ³*J*_{4-H,3-H} = 2,7 Hz, die nach *Karplus* zunächst nur die *trans*-diaxiale Stellung des 3-*H*- zu dem 4-*H*-Atom ausschließen. Aufgrund des Additionsmechanismus entfällt aber auch deren 3-äquatorial-4-axiale bzw. 3-axial-4-äquatoriale Stellung (vgl. **Kap. 3.1.3.1**). Dies bedeutet, daß **114** *gluco*-konfiguriert, d. h. als 3,4-Dibrom-1,6-anhydro-3,4-dideoxy-β-D-glucopyranose (**114**) vorliegt.

3.1.3.3 Weitere Halogenierungsversuche an der 1,6-Anhydro-3,4-dideoxy-β-D-*erythro*-hex-3-enopyranose

Neben der Chlorierung und der Bromierung sollten auch andere elementare Halogene sowie Interhalogenverbindungen an die Doppelbindung der 1,6-Anhydro-3,4-dideoxy- β -D-*erythro*-hex-3-enopyranose (**5**) addiert werden.

Die Fluorierung des Allylalkohols **5** mittels einer 3 %igen Fluor-Helium-Gasmischung in Freon bei tiefen Temperaturen führt zu einer unübersichtlichen Produktmischung, die aus diesem Grunde nicht aufgearbeitet wurde.

Die Addition von Methoxyfluorid an die Doppelbindung der Verbindung 5 bei t = 0 °C mißlingt ebenfalls. Methoxyfluorid wird *in situ* während der Einleitung einer 3 %igen Fluor-Helium-Gasmischung in trockenes Methanol gebildet.

Die analoge Iodierung mit elementarem Iod in Dichlormethan führt zu keiner Umsetzung, da die Doppelbindung von **5** offenbar zu unreaktiv ist. Deshalb sollte die Polarisierung des Iods durch die starke *Lewis*-Säure Aluminiumiodid eine Umsetzung erzwingen. Die Reaktion wird in trockenem Dichlormethan bei Raumtemperatur ausgeführt und ergibt nach mehreren Tagen ebenfalls eine große Zahl nicht isolierter Produkte.

Bei der Addition des Interhalogens Iodchlorid in trockenem Acetonitril bei t = 0 °C wird ohne eine erkennbare Nebenproduktbildung ein einheitliches Produkt erhalten, das mittels Säulenchromatographie (Kieselgel 60; V_{EE} : $V_{n-\text{Hexan}} = 1$:3) isoliert werden kann. Die schwach gelbe, ölige Verbindung mit dem $R_f = 0,44$ (V_{EE} : $V_{n-\text{Hexan}} = 2$:3) zersetzt sich in Inertgasatmosphäre und unter Lichtausschluß vor und während der Charakterisierung.

3.1.4 Die Kristallstruktur der 1,6-Anhydro-2,3-dideoxy-β-D-*erythro*-hex-2-enopyranose

Die 1,6-Anhydro-2,3-dideoxy- β -D-*erythro*-hex-2-enopyranose (**3**) sublimiert während der Trocknung im Hochvakuum unterhalb eines Drucks von $p \approx 0,5$ mbar bei Raumtemperatur, sofern sie als Öl vorliegt. Hierbei läßt sich **3** reproduzierbar an einer Teflon-Griffbundhülse in Form farbloser, rautenförmiger Einkristalle, die der Kristallstrukturanalyse zugänglich sind, resublimieren (**Abb. 46**).



Abb. 46: *Die Kristallstruktur der 1,6-Anhydro-2,3-dideoxy-\beta-D-erythro-hex-2-enopyranose*

Die Kantenlängen der orthorhombischen Elementarzelle, die zu der Raumgruppe $P2_12_12_1$ zählt und vier Moleküle enthält, betragen a = 639,5(3) pm [$\stackrel{\circ}{=} 6,395(3)$ Å], b = 964,3(5) pm [$\stackrel{\circ}{=} 9,643(5)$ Å] und c = 974,1(5) pm [$\stackrel{\circ}{=} 9,741(5)$ Å], woraus ein Zellvolumen von $V = 600,7(5) \times 10^6$ pm³ [$\stackrel{\circ}{=} 600,7(5)$ Å³] resultiert. Die Struktur wurde auf R1 = 0,0371 (wR2 = 0,1098) verfeinert.

Für die 1,6-Anhydro-2,3-dideoxy- β -D-*erythro*-hex-2-enopyranose (**3**) werden im Festkörper Distanzen zwischen Atomzentren gefunden, die weitgehend typischen Werten von l = 154 pm für *C-C*-Einfachbindungen, von l = 134 pm für *C-C*-Doppelbindungen bzw. von l = 143 pm für *C-O*-Einfachbindungen entsprechen^[90]. So weist der 2-*C*-3-*C*-Abstand von l = 132,6(2) pm auf die Doppelbindung zwischen diesen Zentren hin. Die übrigen Kohlenstoffatome in **3** sind über Einfachbindungen miteinander verknüpft, was aus den *C-C*-Abständen zwischen l = 150,7(2) und 154,7(2) pm hervorgeht. Auch die *C-O*-Einfachbindungen. Die *H-C*- bzw. *H-O*-Bindungen scheinen dagegen kürzer als deren charakteristische Bindungslängen von $l_{H-C} = 109$ pm bzw. $l_{H-O} = 96$ pm zu sein. Dies ist ein generelles Phänomen der Kristallstrukturanalyse. Da die *Röntgen*-Beugung sich an den Elektronen der Atome vollzieht, läßt sich die Lage schwerer Atome als Mittelpunkt ihrer Rumpfelektronenswolke charakterisieren. Je geringer die Ordnungszahl eines Atomzentrums, desto weniger Rumpfelektronen stehen zur Verfügung und umso mehr gewinnen infolgedessen die Bindungselektronen an Gewicht. Parallel

dazu divergiert in zunehmendem Maße der Ladungsschwerpunkt der Elektronenwolke um ein Atom und dessen Masseschwerpunkt. Daher ist die Lagebestimmung von Atomen geringerer Ordnungszahl weniger exakt. Am stärksten trifft dies auf ein gebundenes Wasserstoffatom zu. Sein Ladungsschwerpunkt deckt sich aufgrund der fehlenden Rumpfelektronen vollständig mit dem Schwerpunkt des bindenden Elektronenpaars, der außerhalb des Wasserstoffkerns zum Bindungspartner hin verlagert ist. In der Verbindung **3** werden daher verminderte *H*-*C*- Bindungslängen zwischen l = 89(2) pm und 100(2) pm und eine verkürzte *H-O*-Bindungslänge von l = 78(4) pm beobachtet.

Auch die Bindungswinkel innerhalb der Molekülstruktur von **3** stehen mit typischen Erfahrungswerten in Einklang. Die 1-*C*-, 4-*C*-, 5-*C*- und 6-*C*-Zentren zeigen der erwarteten *sp*³-Hybridisierung entsprechend eine nahezu tetraedrische Anordnung der Bindungspartner, wobei die Abweichung vom Tetraederwinkel \triangleleft 109,48° maximal $\Delta \triangleleft \pm 8°$ beträgt. Die Bindungswinkel der 2-*C*- und 3-*C*-Zentren differieren mit $\Delta \triangleleft \pm 7°$ ebenfalls geringfügig vom Normwert \triangleleft 120° für trigonale *sp*²-Hybride. Die Bindungswinkel der Sauerstoffzentren unterschreiten in allen drei Fällen den Tetraederwinkel um weniger als $\Delta \triangleleft 10°$. Dies läßt sich infolge des größeren Raumbedarfs der beiden freien Elektronenpaare der Sauerstoffatome erklären, wodurch die beiden Elektronenpaarbindungen gemäß der VSEPR-Theorie einen kleineren als den Tetraederwinkel einnehmen müssen (*Thorpe-Ingold*-Effekt).



Abb. 47: *Eine Elementarzelle des 1,6-Anhydro-2,3-dideoxy-β-D-erythro-hex-2-enopyranose-Einkristalls*
Die Abbildung 47, Seite 61, zeigt den Aufbau einer Elementarzelle im Einkristall der 1,6-Anhydro-2,3-dideoxy- β -D-*erythro*-hex-2-enopyranose. Die einzelnen Moleküleinheiten werden durch Wasserstoffbrückenbindungen, die sich jeweils zwischen dem Proton der Hydroxylgruppe und dem Sauerstoffzentrum der Anhydrobrücke des Nachbarmoleküls ausbilden, zu diskreten Ketten verknüpft. Innerhalb einer Kette weisen die Ringsauerstoffzentren aufeinanderfolgender Moleküleinheiten alternierend nach oben bzw. nach unten. Zwischen den Ketten wirken *van der Waals*-Kräfte. Während der Abstand zwischen dem Hydroxylsauerstoff und dessen Proton l = 78(4) pm beträgt, liegt die Distanz zwischen dem Hydroxylproton und dem Sauerstoffatom der Anhydrobrücke des Nachbarmoleküls bei l = 207(4) pm. Weitere Strukturparameter sind im Anhang, Kapitel 6.1, enthalten.

3.2 Das 3'-[¹⁸F]Fluor-3'-deoxythymidin

Wie in Kapitel 1.3.4.3 beschrieben könnte sich das 3'-[¹⁸F]Fluor-3'-deoxythymidin (82) zu einem wichtigen PET-Diagnostikum entwickeln. Bis vor wenigen Jahren fehlte allerdings ein geeignetes Herstellungsverfahren, das größere Studien bzw. eine breite Anwendung zulassen könnte. Den ersten Syntheseweg für [¹⁸F]FLT stellten im Jahre 1991 I.K. WILSON et al., wenn auch aus anderen Motiven, vor^[66]. Die Autoren synthetisierten das 1-(3-O-Mesyl-5-O-trityl-2-deoxy- β -D-lyxofuranosyl)thymin (80) als Markierungsvorläufer (Abb. 27; Seite 35) und erhielten in DMF mit Kalium¹⁸F]fluorid in Gegenwart des Trägers Kalium¹⁹F]fluorid und des Kronenethers 18-Crown-6 [¹⁸F]FLT in 7 % radiochemischer Ausbeute. J.R. GRIERSON et al. versuchten, dieses Ergebnis nachzuvollziehen, erzielten aber im Fall der trägerfreien Markierungsreaktion nur Ausbeuten um 1 %^[91]. Für die Positronen-Emissions-Tomographie sind geträgerte Diagnostika unerwünscht, da die nicht-radioaktiven Verbindungen mit ihren radioaktiven Analoga im Stoffwechsel konkurrieren und dadurch die Bildgebung verschlechtern können. Des weiteren ist FLT toxisch, so daß das für die PET-Diagnostik unrelevante ¹⁹F]FLT eine vermeidbare Belastung des Patienten darstellt. Untersuchungen von GRIERSON *et al.* mit ungeträgertem [¹⁸F]Fluorid zeigten eine erhebliche Steigerung der radiochemischen Ausbeute, wenn die 3-N-Position des Thymidinderivats zuvor geschützt wird. Als günstig erwiesen sich hierfür Alkylschutzgruppen im allgemeinen und die 2,4-Dimethoxybenzylschutzgruppe im besonderen. Ein schwerwiegender Nachteil dieser 2,4-Dimethoxybenzylschutzgruppe ist aber ihre aufwendige oxidative Entfernung mittels Cer(IV)ammoniumnitrat^{[49],[91]}. Der zweite Syntheseweg für [¹⁸F]FLT wurde von H.-J. MACHULLA et al. bzw. C. WODARSKI et al. vorgestellt und bedient sich der Vorläuferverbindung 5'-O-(4,4'-Dimethoxytrityl)-2,3'-anhydro-1-(2-deoxy- β -D-lyxofuranosyl)thymin (88), deren Markierungsreaktion aufgrund der Stabilität der Anhydrostruktur erst bei Reaktionstemperaturen über $t \approx 160$ °C einsetzt^{[67],[68],[69],[70]}. Unter diesen Bedingungen wird DMSO (Kp. = 189 °C)^[92] als Reaktionsmedium benötigt, das während der Aufarbeitung schwer zu entfernen ist und dieselbe stört.

Deshalb sollte eine [¹⁸F]FLT-Synthese entwickelt werden, die sich einerseits an den Erkenntnissen der zuvor genannten Autoren orientiert, andererseits die Schwierigkeiten der bisher vorgestellten Synthesen weitgehend vermeidet. Hierzu müssen folgende Bedingungen erfüllt werden:

- Die Radiofluorierung soll in einem relativ niedrigsiedenden, stark polaren, aprotischen Medium bei Reaktionstemperaturen unter $t \approx 120$ °C durchgeführt werden. Diese scheinbare Einschränkung vereinfacht den apparativen Aufwand und beschleunigt die Reaktionsführung. Die Eigenschaften des Reaktionsmediums gewährleisten eine homogene Lösung des salzartigen Kalium[¹⁸F]fluorids, ohne die Nukleophilie der [¹⁸F]Fluoridionen durch starke Solvatationseffekte zu senken. Ein niedrigsiedendes Solvens erleichtert seine Entfernung bei einer minimalen thermischen Belastung des [¹⁸F]Fluorprodukts. Von Acetonitril werden diese Forderungen nahezu optimal erfüllt, da es für ein aprotisches Lösungsmittel eine hohe Polarität von $\mu = 3,9$ D^[93] und ein großes Solvatationsvermögen^[94] sowohl für Kationen von A = 0,37 als auch für Anionen von B = 0,86 (A + B = 1,22) aufweist. Acetonitril besitzt einen relativ niedrigen Kochpunkt von Kp. = 82 °C^[92] und bildet mit Wasser ein Azeotrop. Des weiteren verkürzen geringere Reaktionstemperaturen die Aufheiz- und Abkühlzeiten vor allem, da im letzteren Fall meist keine aktiven Kühlsysteme zur Verfügung stehen. Aufgrund dieser Überlegungen scheiden die Derivate des 2,3'-Anhydro-1-(2-deoxy- β -D-lyxofuranosyl)thymins als Markierungsvorläufer aus, da deren Radiofluorierung bei Reaktionstemperaturen oberhalb von $t \approx 160$ °C hochsiedende, polar-aprotische Solvenzien wie 1,4-Dioxan (Kp. = 101 °C)^[92] bzw. DMSO voraussetzen, die sich deutlich schwerer aus dem Reaktionsgemisch entfernen lassen. Schließlich können derartig extreme Reaktionsbedingungen nicht direkt auf kommerziell erhältliche Synthesemodule, die z. B. für die [¹⁸F]FDG-Synthese konzipiert wurden, übertragen werden.

- Eine freie Hydroxylgruppe verringert die Nukleophilie des [¹⁸F]Fluorids^[70] und damit die Ausbeute an [¹⁸F]FLT. Das gleiche trifft gemäß GRIERSON *et al.* offenbar auch auf eine freie Iminogruppe zu^[91]. Infolgedessen müssen sowohl die 5'-Hydroxyl- als auch die 3-Iminfunktion für die Markierungsreaktion geschützt werden. Beide Schutzgruppen müssen in einem Reaktionsschritt in homogener Lösung abgespaltet werden können.
- Die Synthese der Vorläuferverbindung soll mit einfachen Labormitteln in wenigen Schritten durchführbar, und alle Ausgangsverbindungen müssen günstig und leicht zugänglich sein.

Im folgenden wird ein neuer Syntheseweg für Vorläuferverbindungen der Radiofluorierung zu [¹⁸F]FLT skizziert, der obige Bedingungen erfüllt (**Abb. 48**).



Abb. 48: Skizze des Synthesewegs verschiedener Markierungsvorläufer



Abb. 49: *links: Schutzgruppen für die* [¹⁸*F*]*FLT-Synthese* (127 *bis* 129) *rechts: Austrittsgruppen für die* [¹⁸*F*]*FLT-Synthese* (130 *bis* 132)

Wie bei WILSON *et al.* wird zunächst die Tritylgruppe (**127**; **Abb. 49**) als Schutzgruppe in der 5'-Position des Thymidins (**75**) eingeführt^[66]. Diese wird im sauren Milieu leicht hydrolysiert, ist im basischen Milieu aber stabil^{[70],[95],[96]} und besitzt den Vorteil, daß das Zwischenprodukt **78** auch kommerziell erhältlich ist. In einer zweiten Sequenz werden [¹⁸F]FLT-Vorläufer nach GRIERSON *et al.* mit der 5'-*O*-Dimethoxytritylgruppe **128** geschützt^{[49],[91]}. Infolge des +*M*-Effekts der Methoxyfunktionen kann **128** während der Hydrolyse ein stabileres Carbeniumion bilden als **127**, weshalb **128** im Vergleich zu **127** leichter abgespalten wird. Allerdings sind Dimethoxytritylverbindungen unbeständiger.

Als 3'-O-Austrittsgruppe bediente sich WILSON *et al.* ausschließlich der Mesylgruppe (**130**)^{*l*66}, GRIERSON *et al.* benutzte darüber hinaus die Nosylgruppe (**132**)^{*l*49},*l*91,*l*97]. Da mit beiden Abgangsgruppen gute radiochemische Ausbeuten erzielt wurden, wird ihre Tauglichkeit für die geplante [¹⁸F]FLT-Synthese geprüft. Des weiteren soll die Tosylgruppe (**131**) verwendet werden, die eine Standardaustrittsgruppe in vielen nukleophilen Substitutionen darstellt. Ein auf die Nukleophilie des [¹⁸F]Fluorids und die Reaktionsbedingungen abgestimmter nukleofuger Charakter der Austrittsgruppe ist für eine hohe radiochemische Ausbeute von besonderer Bedeutung, da die Nuklidproduktion via Zyklotron nur Stoffmengen im pmol-Bereich liefert und damit das [¹⁸F]Fluorid im extremen Unterschuß eingesetzt wird. In Anbetracht dessen verursacht eine zu geringe Austrittstendenz des Nukleofugs eine sinkende [¹⁸F]FLT-Ausbeute, da das [¹⁸F]Fluorid die Austrittsgruppe nicht verdrängen kann. Dagegen verlagert eine zu hohe Austrittstendenz die Substitution von einem S_N2- zu einem S_N1-artigen Mechanismus. Hieraus resultiert die Bildung eines Carbeniumions **134** (Abb. **50**), das einerseits unter Eliminierung



Abb. 50: Die Bildung eines Nebenprodukts durch Eliminierung

eines Protons zu dem Produkt **135** führt, andererseits den Angriff des [¹⁸F]Fluorids sowohl in *exo-* als auch in *endo-*Position zuläßt, falls der *endo-*Angriff sterisch nicht gehindert ist. Die hypothetische *endo-*Addition des [¹⁸F]Fluorids an **134** würde das entsprechende biologisch nicht-relevante und daher unerwünschte Lyxosederivat ergeben^[66]. Die geeignete Austrittsgruppe wird in den später beschriebenen Markierungsreaktionen bestimmt.

Als Schutzgruppe für die Dicarbonyliminstruktur z. B. im Thymidin wird in aktuellerer Literatur überwiegend die 2,2,2-Trichlor-tert-butyloxycarbonylgruppe (TCBoc) empfohlen. Infolge des starken -I-Effekts der drei Chlorsubstituenten ist die Carbonylfunktion des Chlorameisensäure(2,2,2-trichlortert-butyl)esters (TCBocCl) deutlich elektrophiler als die Carbonylfunktion im analogen Pyrokohlensäuredi-tert-butylester (Boc₂O). Einen weiteren Vorteil birgt der generelle Reaktivitätsunterschied zwischen Carbonsäurehalogeniden und Carbonsäureanhydriden. Dies ermöglicht den Ausgleich der geringen Nukleophilie des aufgrund der beiden benachbarten Carbonylfunktionen stark deaktivierten Imids, das sich unter den Kondensationsbedingungen im basischen Pyridin aus dem analogen Imin bildet. In Vorversuchen wurde die TCBoc-Schutzgruppe in das 1-(3-O-Mesyl-5-O-trityl-2-deoxy- β -D-lyxofuranosyl)thymin (80) eingeführt^[98]. Dessen Umsetzung erfolgte mit TCBocCl in trockenem Pyridin und lieferte das gewünschte 3-N-TCBoc-1-(3-O-mesyl-5-O-trityl-2-deoxy- β -D-lyxofuranosyl)thymin in 91,6 % iger Ausbeute. Die Existenz dieser Verbindung ist massenspektrometrisch und NMR-spektroskopisch gesichert. Die Abspaltung der TCBoc-Gruppe mit elementarem Zink in Mineralsäuren^[99] widerspricht aber der zuvor geforderten homogenen Reaktionsführung. Von A.G. MYERS et al. wurde im Jahre 1994 die Einführung der Boc-Schutzgruppe (129; Abb. 49; Seite 65) in die 3-N-Position eines Uridinderivats beschrieben^[100]. Ähnlich wie TCBoc ist die Boc-Gruppe basenstabil und inert gegen viele Nukleophile, kann aber in verdünnten, wäßrigen Mineralsäuren bei erhöhter Temperatur oder mit Trichloressigsäure bei Raumtemperatur^[101], also in homogener Lösung, leicht hydrolysiert werden. Die Umsetzungen der Thymidinderivate mit dem Pyrokohlensäure-di-tert-butylester verlaufen erfolgreich, aber infolge der geringeren Reaktivität des Boc₂O in etwa 30 % geringerer Ausbeute als die analogen Reaktionen mit TCBocCl. Bei Verwendung der Boc-Schutzgruppe in 3-N-Position und der Trityl- bzw. Dimethoxytritylschutzgruppe in 5'-O-Position können nach der Markierungsreaktion beide Schutzgruppen in einem Schritt unter gleichen Bedingungen hydrolytisch entfernt werden.

Die Zusammenfassung aller bisherigen Überlegungen unter Einbeziehung eigener sowie der Erfahrungen von WILSON *et al.* und GRIERSON *et al.* lassen den in **Abbildung 48**, Seite 64, skizzierten Weg als einfache aber effektive Variante für die [¹⁸F]FLT-Synthese erscheinen, die die oben genannten Bedingungen erfüllt.

3.2.1 Die Vorläuferverbindungen der [¹⁸F]FLT-Synthese

3.2.1.1 Die Synthese der 5'-O-geschützten Thymidinderivate

In Anlehnung an J.P. HORWITZ *et al.* reagiert Thymidin (75) in Pyridin mit Alkylchloriden zu den 5'-O-geschützten Verbindungen 76 bzw. 87^[96]. Im Fall von Tritylchlorid erfolgt die Umsetzung in

etwa 30 Minuten bei $t \approx 110$ °C, im Fall des deutlich reaktiveren Dimethoxytritylchlorids in zwei Stunden bei Raumtemperatur (Abb. 51). Nach der Aufarbeitung wird das jeweilige Produkt als Festkörper in 83,5 %iger bzw. 91,5 %iger Ausbeute erhalten.



Abb. 51: Die Synthese der 5'-O-geschützten Thymidinderivate

Das 5'-O-Tritylthymidin (76) wird massenspektrometrisch und NMR-spektroskopisch nachgewiesen. Im FAB⁺-Spektrum wird das Molekülion von 76 bei m/z 484 in 3,3 % relativer Intensität beobachtet. Die $[M+H]^+$ - und $[M+Na]^+$ -Signale werden bei m/z 485 in 10,8 % und bei m/z 507 in 12,3 % relativer Intensität detektiert. Der Basispeak ist dem Tritylfragmention bei m/z 243 zuzuordnen. Die NMRspektroskopische Charakterisierung des Tritylthymidins 76 erfolgte in deuteriertem Chloroform und liefert den Erwartungen entsprechende Protonenspektren. Die Resonanz der 3'-Hydroxylgruppe zeigt bei δ = 3,07 ppm ein Dublett aufgrund der Kopplung mit dem 3'-*H*-Atom (${}^{3}J_{3'-O+H,3'-H}$ = 4,4 Hz). Die Resonanz einer freien 5'-Hydroxylgruppe in Form eines Tripletts ist nicht erkennbar. Infolgedessen befindet sich die Tritylgruppe in der 5'-Position. Zur Bestätigung dieses Befunds ist ein Vergleichsspektrum von Thymidin (75) erforderlich. Thymidin löst sich gut in DMSO-D6, aber nur wenig in Chloroform-D1. Die Verwendung von DMSO einerseits und Chloroform andererseits wirkt sich stark auf die chemische Verschiebung der Resonanzen aus. Besonders groß ist dieser Effekt bei Signalen von Hydroxyl- bzw. Iminfunktionen, da das polar-aprotische DMSO mit diesen wechselwirkt, das unpolare Chloroform hingegen kaum. Die ¹H-NMR-Spektren von Thymidin (75) bzw. Tritylthymidin 76 in DMSO-D6 bestätigen die 5'-O-Position der Tritylgruppe. Die freie 5'-Hydroxylgruppe in 75 verursacht bei $\delta = 4,94$ ppm eine Resonanz in Form eines Tripletts, da das 5'-Hydroxylproton mit den zwei äquivalenten 5'-H-Atomen koppelt (${}^{3}J_{5'-O+H,5'-H} = 5,2$ Hz). Das Dublettsignal des Protons der 3'-Hydroxylgruppe wird bei einer chemischen Verschiebung von $\delta = 5,16$ ppm beobachtet und weist eine Kopplung mit dem 3'-*H*-Atom von ${}^{3}J_{3'-O-H,3'-H} = 4,4$ Hz auf. Dem Protonenspektrum von **76** fehlt das Triplettsignal aufgrund der geschützten 5'-Position, die freie 3'-Hydroxylgruppe ist dagegen bei δ = 5,29 ppm erkennbar. Die Kopplungskonstante beträgt ${}^{3}J_{3'-\Omega+H}$ = 4,6 Hz. Die Daten der Spektren mit DMSO-D6 als Lösungsmittel sind nicht im experimentellen Teil enthalten und können z. B. in der Dissertation von H.-C. KLIEM nachgelesen werden^[102].

Die massenspektrometrische und NMR-spektroskopische Charakterisierung des 5'-O-(4,4'-Dimethoxytrityl)thymidins (87) liefert analoge Ergebnisse. Im FAB⁺-Massenspektrum wird die Existenz des Molekülions von **87** durch die Detektion des [M]⁺-Ions bei m/z 544 (rel. Int. 5 %), des [M+H]⁺-Ions bei m/z 545 (rel. Int. 3,5 %) und des [M+Na]⁺-Ions bei m/z 567 (rel. Int. 0,9 %) bestätigt, wobei das Dimethoxytritylion den Basispeak bei m/z 303 bildet. Im ¹H-NMR-Spektrum ist keine Resonanz einer 5'-Hydroxylgruppe aufzufinden. Die 3'-Hydroxylgruppe wird aufgrund des Dublettsignals bei $\delta = 3,00$ ppm, das eine Kopplungskonstante von ${}^{3}J_{3'-O+H,3'-H} = 3,2$ Hz aufweist, identifiziert, wobei die 3'-OH-Signale von **76** und **87** nahezu bei gleichem Feld beobachtet werden. Hieraus resultiert zweifelsfrei die 5'-*O*-Stellung der Dimethoxytritylgruppe. Alle übrigen Resonanzen der ¹H-NMR-Spektren von **76** bzw. **87** lassen sich den jeweiligen Molekülstrukturen gut zuordnen.

Wird bei der Synthese des Dimethoxytritylthymidins die Reaktionszeit überschritten bzw. die Umsetzung bei einer Temperatur von $t \approx 110$ °C durchgeführt, wie dies bei der Synthese von **76** der Fall ist, so erhält man ein zweites Produkt, das aufgrund der Daten der Massenspektrometrie bzw. der NMR-Spektroskopie als das 3',5'-Bis-*O*-(4,4'-dimethoxytrityl)thymidin erkannt wird. Dieser Befund ist bemerkenswert, da die 3'-Position aus sterischen Gründen von dem voluminösen Dimethoxytrityl-chlorid nicht angegriffen werden sollte. Offenbar führt die höhere Reaktivität des DMTrCl zu dieser Nebenreaktion, die im Fall der Tritylierung nicht beobachtet wird.

3.2.1.2 Die Konfigurationsumkehr am 3'-Zentrum

Nach J.J. FOX und N.C. MILLER wird das jeweilige 3'-Zentrum der Verbindungen 76 bzw. 87 in einer dreistufigen Eintopfreaktion von der Konfiguration der Ribose (3'-(S)-Konfiguration des Thymidins) in die Konfiguration der Lyxose (3'-(R)-Konfiguration) invertiert^[103]. In der ersten Stufe findet die



Abb. 52: Die Synthese des 5-O-geschützten $1-(2-Deoxy-\beta-D-lyxofuranosyl)$ thymins

Mesylierung der 3'-Hydroxylgruppe bei t = 0 °C in trockenem Tetrahydrofuran mit Mesylchlorid in Gegenwart von Triethylamin statt (**Abb. 52**; Seite 68). Die Mesylate **136** bzw. **137** werden in der zweiten Stufe mit 1 M Natronlauge unter Rückfluß zu den 2,3'-Anhydroverbindungen **138** bzw. **88** umgesetzt, die abschließend in basischer Hydrolyse mit 10 M Natronlauge das 1-(5-*O*-Trityl-2-deoxy- β -D-lyxo-furanosyl)thymin (**78**) bzw. dessen 4,4'-Dimethoxytritylanalogon **115** bilden. Die Verbindungen **78** und **115** werden als farblose, amorphe, beständige Festkörper in 53 bzw. 92,8 %iger Ausbeute erhalten. Die Zwischenprodukte **136** und **137** bzw. **138** und **88** sind ebenfalls als beständige Festkörper isolierbar und wurden zur Bestätigung des Reaktionswegs charakterisiert. Diese Daten befinden sich nicht im experimentellen Teil, da sie für die Synthese von **78** bzw. **115** nicht relevant sind und die Zwischenprodukte **136** bzw. **137** mit 10 M Natronlauge führt dagegen zur Bildung einer Vielzahl von Nebenprodukten, die eine säulenchromatographische Aufarbeitung stark erschweren.

Das FAB⁺-Massenspektrum von **78** belegt die Existenz eines Molekülions bei m/z 484 (0,8 % rel. Int.). Weitere charakteristische Signale treten bei m/z 485 (3,5 % rel. Int.) und bei m/z 507 (3,7 % rel. Int.) auf, die auf das zugehörige [M+H]⁺- bzw. das [M+Na]⁺-Ion hinweisen. Für **115** wird im FAB⁺-Modus ein Molekülion bei m/z 544 (4,8 % rel. Int.), ein [M+H]⁺-Ion bei m/z 545 (4,3 % rel. Int.) und ein [M+Na]⁺-Ion bei m/z 567 (1,8 % rel. Int.) detektiert. Der Basispeak im Spektrum von **78** entsteht durch das Tritylfragmention bei m/z 243 und im Spektrum von **115** durch das Dimethoxytritylfragmention bei m/z 303. Die massenspektrometrischen Daten entsprechen den Erwartungen für das 1-(5-*O*-Trityl-2-deoxy- β -D-lyxofuranosyl)thymin (**78**) und die analoge Dimethoxytritylverbindung **115**. Da aber sowohl die Produkte der Inversion am 3'-Zentrum als auch die zugehörigen Edukte jeweils die gleiche Molekülmasse aufweisen, können erfolgreiche Umsetzungen im Sinne der Reaktionsschemata in Abbildung **52**, Seite 68, mittels Massenspektrometrie nicht belegt werden.

Ein Hinweis auf eine erfolgreiche 3'-Inversion an **76** zu **78** kann aber durch das ¹H-NMR-Spektrum erbracht werden. Die 3'-Inversion wirkt sich beim Vergleich der Spektren der Verbindungen **78** und **76** am stärksten auf die Signallagen der jeweiligen 2'-*H*-Atome aus. Der *endo*-ständige 2'-Wasserstoff erfährt eine Hochfeldverschiebung von $\delta = 2,44$ ppm in **76** nach $\delta = 2,17$ ppm in **78** ($\Delta \delta = 0,27$ ppm), wobei das *exo*-ständige 2'-*H*-Atom von $\delta = 2,29$ ppm nach $\delta = 2,56$ ppm tieffeldverschoben wird ($\Delta \delta = 0,27$ ppm). Hierbei tauschen die beiden 2'-*H*-Signallagen infolge der 3'-Inversion die Plätze, wenn man die Spektren von **76** bzw. **78** im Vergleich zueinander von hohem zu tiefem Feld durchläuft. Dieser Tausch der Signallagen ist auch visuell erkennbar, da sowohl das 2'-*exo*- als auch das 2'-*endo*-*H*-Atom optisch charakteristische Signalformen aufweisen. Das 3'-*H*-Atom zeigt eine geringfügige Hochfeldverschiebung seines Resonanzbereichs von $\delta = 4,62$ bis 4,51 ppm nach $\delta = 4,48$ bis 4,40 ppm, wobei diese Resonanzen jeweils als Multiplett vorliegen. Das 3'-Hydroxylproton wird in **76** und **78** etwa bei gleichem Feld ($\delta \approx 3,1$) beobachtet. Die übrigen Resonanzen zeigen erwartete chemische Verschiebungen und Kopplungsmuster, die sich gut mit der Struktur von **78** korrelieren lassen. Analoge Befunde erhält man, wenn man die Spektren von **87** und **115** miteinander vergleicht. Auch hier ist der Tausch der 2'-H-Signallagen sowohl visuell als auch aufgrund der Auswertung der NMR-Daten zu beobachten und wird durch die Hochfeldverschiebung des 2'-endo-H-Atoms von $\delta = 2,43$ ppm nach $\delta = 2,14$ ppm ($\Delta \delta = 0,29$ ppm) sowie die Tieffeldverschiebung des 2'-*exo-H*-Atoms von $\delta = 2,30$ ppm nach $\delta = 2,57$ ppm ($\Delta \delta = 0,27$ ppm) verursacht. Das Multiplettsignal des 3'-H-Atoms verschiebt sich geringfügig zu hohem Feld von $\delta = 4,61$ bis 4,51 ppm nach $\delta = 4,49$ bis 4,43 ppm. Die Resonanz des 3'-Hydroxylprotons wird von $\delta = 3,00$ ppm nach $\delta = 3,16$ ppm tieffeldverschoben. Die weiteren Signale des ¹H-NMR-Spektrums von **115** stehen mit der Molekülstruktur in Einklang. Zusammenfassend kann auf der Grundlage der massenspektrometrischen bzw. NMR-spektroskopischen Daten nicht entschieden werden, ob die isolierten Produkte den erwarteten Verbindungen $1-(5-O-\text{Trity}l-2-\text{deoxy}-\beta-D-\text{lyxofuranosyl})$ thymin (78) bzw. $1-[5-O-(4,4'-\text{Dimethoxytrity}l)-2-\text{deoxy}-\beta-D-\text{lyxofuranosyl})$ thymin (78) bzw. $1-[5-O-(4,4'-\text{Dimethoxytrity}l)-2-\text{deoxy}-\beta-D-(4,4'-\text{Dimethoxytrity}l)-2 \beta$ -D-lyxofuranosyl]thymin (115) entsprechen. Die geringe Auflösung der ¹H-Resonanzen der 3'- und teilweise der 4'-Zentren, die jeweils als Multipletts beobachtet werden können, verhindert die Strukturaufklärung in demjenigen Abschnitt der Moleküle 78 bzw. 115, der Ziel der Derivatisierung war. Werden alle Daten in einen Zusammenhang gestellt, erkennt man, daß die Edukte 76 bzw. 87 sich von ihrem jeweiligen Produkt 78 bzw. 115 chemisch unterscheiden, aber die gleiche Molekülmasse aufweisen. Die nur geringfügige Verschiebung jedes einzelnen Protonensignals und der Erhalt dessen Feinstruktur beim Übergang vom Edukt zum Produkt belegt, daß die Konnektivität der Atome im Edukt und Produkt identisch ist. Daher bleibt als mögliche Reaktion ausschließlich die Inversion eines Zentrums. Aus theoretischen Überlegungen und aufgrund der charakterisierten Zwischenprodukte muß sich diese Inversion am 3'-Zentrum vollzogen haben. Des weiteren beobachtet man die von der 3'-Inversion hervorgerufenen Veränderungen jeder einzelnen Wasserstoffresonanz bei Spektren der Tritylverbindungen dem Betrag und Vorzeichen nach in den Spektren der Dimethoxytritylverbindungen.

3.2.1.3 Die Einführung der Austrittsgruppen am 3'-Zentrum

Im folgenden Reaktionsschritt wird jeweils eine Mesyl-, Tosyl- bzw. Nosylaustrittsgruppe mittels einer Kondensationsreaktion in das 1-(5-*O*-Trityl-2-deoxy- β -D-lyxofuranosyl)thymin (**78**) bzw. das 1-[5-*O*-(4,4'-Dimethoxytrityl)-2-deoxy- β -D-lyxofuranosyl]thymin (**115**) eingeführt. Die Mesylierung wird in trockenem Dichlormethan durch Umsetzung von **78** bzw. **115** mit Mesylchlorid in Gegenwart von Triethylamin ausgeführt und ergibt die 3'-*O*-Mesylverbindungen **80** bzw. **118** in 88,3 %iger bzw. 81,2 %iger Ausbeute (**Abb. 53**; Seite 71). Die Verwendung der Base Triethylamin in Dichlormethan hat gegenüber dem Einsatz von Pyridin als Base und Lösungsmittel den Vorteil, daß sich sowohl Triethylamin als auch Dichlormethan deutlich besser als Pyridin aus der Reaktionsmischung entfernen lassen. Daher wird die nachfolgende Aufarbeitung nicht negativ beeinflußt, wie dies bei Spuren von Pyridin der Fall ist. Die Mesylierung kann in kleinen Ansätzen bei Raumtemperatur durchgeführt werden, andernfalls ist die Kühlung auf t = 0 °C empfehlenswert. Die Tosylierung von **78** bzw. **115** verläuft bei Raumtemperatur mit Tosylchlorid in trockenem Pyridin zu den 3'-*O*-Tosylverbindungen **116** in 24,2 %iger bzw. **119** in 32,4 %iger Ausbeute (**Abb. 53**; Seite 71). Analog wird die Umsetzung mit Nosylchlorid durchgeführt und ergibt die 3'-O-Nosylverbindungen **117** in 89,7 %iger bzw. **120** in 61,7 %iger Ausbeute. Für die Tosylierung bzw. Nosylierung ist die Basizität von Triethylamin⁽¹³⁾ in Dichlormethan nicht ausreichend, um das Reaktionsgleichgewicht durch Entfernung des Kondensationsprodukts Chlorwasserstoff auf die Seite der Produkte zu verlagern. Dies läßt sich möglicherweise nicht allein auf eine geringere Reaktivität von Tosyl- bzw. Nosylchlorid im Vergleich zu Mesylchlorid zurückführen, sondern wird auch entscheidend von der sterischen Überfrachtung der 3'-*endo*-Position beeinflußt. Die voluminöse Trityl- bzw. Dimethoxytritylgruppe und die β -ständige Base Thymin behindern den Eintritt der sterisch anspruchsvolleren Tosyl- bzw. Nosylgruppe deutlich stärker als den Eintritt der kleineren Mesylgruppe. Dieser Nachteil der Tosylierung bzw. Nosylierung kann durch die Erhöhung der Basizität des Reaktionsmediums ausgeglichen werden, was durch die Verwendung von Pyridin⁽¹³⁾ erreicht wird. Eine Erhöhung der Triethylaminkonzentration in Dichlormethan erzielt nicht den gleichen Effekt, da dies zu einem starken Anstieg der Nebenproduktbildung führt.



Abb. 53: Die Einführung der Austrittsgruppen am 3'-Zentrum

Alle in der Abbildung 53 dargestellten 3'-*O*-Sulfonylverbindungen können massenspektrometrisch und NMR-spektroskopisch eindeutig nachgewiesen werden. Im folgenden werden die Ergebnisse exemplarisch an dem 1-(3-*O*-Nosyl-5-*O*-trityl-2-deoxy- β -D-lyxofuranosyl)thymin (117) diskutiert. In der FAB⁺-Massenspektrometrie wird ein Molekülion bei *m/z* 669 in 0,6 % relativer Intensität beobachtet, das mit der Molekülmasse von 117 in Einklang steht. Weitere Signale treten bei *m/z* 670 (4,3 % rel. Int.) und bei *m/z* 692 (1,3 % rel. Int.) auf, die dem [M+H]⁺-Ion bzw. dem [M+Na]⁺-Ion zugeordnet werden. Den Basispeak bildet ein Tritylfragmention bei *m/z* 243. Das ¹H-NMR-Spektrum von 117 weist gegenüber der nicht-nosylierten Verbindung 78 zwei zusätzliche Multiplettsignale im Bereich von $\delta = 8,24$ bis 8,18 ppm und $\delta = 7,89$ bis 7,83 ppm auf, die gemäß Integration vier *H*-Atomen entsprechen und aufgrund ihrer chemischen Verschiebung von den aromatischen Wasserstoffatomen der Nosylgruppe herrühren müssen. Im Bereich um $\delta \approx 3,1$ ppm fehlt wie erwartet das Signal

(13)

 $pK_{b}(Triethylamin) = 3,24^{[74]}; pK_{b}(Pyridin) = 8,77^{[74]}$

Die Basizität von Triethylamin in Dichlormethan ist konzentrationsbedingt geringer als die von reinem Pyridin.

eines Hydroxylprotons, was die 3'-Position der Nosylgruppe belegt. Die Existenz einer Resonanz des Iminprotons zeigt, daß diese Position nicht Ziel der Nosylierung ist. Schwefel weist eine deutlich geringere Affinität zu Stickstoff auf als zu Sauerstoff. Daher wird die Iminfunktion nicht von Nosylchlorid attackiert. Die Aufgabe der Nosylgruppe ist, die Sauerstoff-3'-Kohlenstoff-Bindung zu aktivieren, so daß diese Bindung während des Angriffs eines Nukleophils heterolytisch gespalten werden kann (vgl. **Kap. 3.1.1.2**). Die Aktivierung wird durch die Bindungspolarisierung bewirkt, die sich über das 3'-Kohlenstoffzentrum bis zum 3'-*H*-Atom überträgt und zu dessen Entschirmung führt. Dieser Effekt läßt sich durch den Vergleich der ¹H-NMR-Spektren von **78** und **117** erkennen, da der Signalschwerpunkt des 3'-*H*-Multipletts von $\delta = 4,44$ ppm zu dem Schwerpunkt der 3'-*H*-Resonanz bei $\delta = 5,20$ ppm um $\Delta \delta = 0,76$ ppm tieffeldverschoben wird. Auch die Wasserstoff-Kohlenstoff-Bindungen der benachbarten 2'-*H*- bzw. 4'-*H*-Atome unterliegen einer leichten Polarisierung, die durch Tieffeldverschiebungen der entsprechenden Resonanzen bis $\Delta \delta = 0,30$ ppm gekennzeichnet sind. Alle übrigen Resonanzen stehen mit der vorausgesagten Struktur von **117** in Einklang.

Zusammenfassend läßt sich die Verbindung 117 eindeutig als das 1-(3-O-Nosyl-5-O-trityl-2-deoxy- β -D-lyxofuranosyl)thymin identifizieren.

Die Molekeln **80**, **116** sowie **118** bis **120** sollen nicht im einzelnen besprochen werden, da die obigen Ausführungen vollständig auf deren Daten übertragbar sind. Die **Tabelle 3**, Seite 73, gibt Auskunft zu denjenigen Parametern der übrigen 3'-*O*-Sulfonylverbindungen, die für das Molekül **117** diskutiert wurden.

Die FAB⁺-Spektren ergeben bei allen 3'-O-Sulfonylverbindungen je ein Signal für das Molekül-, das [M+H]⁺- und das [M+Na]⁺-Ion. In den ¹H-NMR-Spektren verursacht die Mesylgruppe aufgrund der drei äquivalenten Methyl-H-Atome ein Singulett bei etwa $\delta \approx 2.8$ ppm. Die Tosylgruppe führt zu einem neuen Singulettsignal bei $\delta \approx 2.4$ ppm, das von der Resonanz der drei äquivalenten Methyl-*H*-Atome herrührt. Die Signale der aromatischen Wasserstoffatome überlagern mit denjenigen der 5'-O-Trityl- bzw. 5'-O-Dimethoxytritylschutzgruppe und können ausschließlich anhand der Integrale beobachtet werden. Dagegen erzeugt die Nosylgruppe zwei neue Multipletts bei tieferem Feld als die Signale der 5'-O-Schutzgruppe. Aus der Tabelle 3, Seite 73, geht hervor, daß das 3'-H-Atom am stärksten von der Einführung einer Sulfonylgruppe beeinflußt wird. Die entsprechenden Tieffeldverschiebungen im Vergleich zu den 3'-Hydroxylverbindungen 78 bzw. 115 liegen für die Mesylgruppe bei etwa $\Delta \delta \approx 0.8$ ppm, für die Nosylgruppe bei $\Delta \delta \approx 0.75$ ppm und für die Tosylgruppe bei $\Delta \delta \approx 0.6$ ppm. In der gleichen Rangfolge verringern sich die Reaktivitäten der Sulfonylchloride in bezug auf die Umsetzungen mit 78 bzw. 115, wenn man als Kriterium die erzielten Ausbeuten der in Abbildung 53, Seite 71, skizzierten Reaktionen heranzieht. In erster Näherung könnte das Ausmaß der Tieffeldverschiebung als Indiz für die Labilität der Bindung zwischen dem 3'-Zentrum und dem Nukleofug gewertet werden bzw. mit der entsprechenden Polarisierung dieser Bindung korrelieren. Demnach sollte die Mesylgruppe die höchste Austrittstendenz aufweisen, gefolgt von der Nosyl- und der Tosylgruppe. Hierbei muß allerdings berücksichtigt werden, daß Wechselwirkungen durch den Raum und vor allem die starke sterische Überfrachtung erheblichen Einfluß auf die Signallagen von Resonanzen in NMR-Spektren ausüben. In jedem Fall belegen die Daten die jeweilige 3'-Position der Sulfonylgruppen. Die 2'-H- und die 4'-H-Atome werden aufgrund des -I-Effekts der Austrittsgruppe, der über die Atombindungen wirkt, ebenfalls leicht entschirmt, wobei dieser Effekt gleichermaßen auf das *endo*bzw. *exo*-ständige 2'-Wasserstoffatom wirken sollte. Die uneinheitliche Entwicklung der Tieffeldverschiebungen der 2- H_x - im Vergleich zu den 2- H_e -Atomen in Abhängigkeit von der Austrittsgruppe zeigt jedoch deutlich, daß auch andere Effekte, z. B. elektrostatischer Natur, eine erhebliche Rolle spielen müssen. Die übrigen Resonanzen stehen in Einklang mit der Erwartung.

Vorhindung		80	116	117	118	119	120
veromaung		Ms/Tr	Ts/Tr	Ns/Tr	Ms/DMTr	Ts/DMTr	Ns/DMTr
FAB ⁺ : Molekülion [M] ⁺	m/z	562	638	669	622	698	729
rel . Int. von [M] ⁺	[%]	1,0	0,8	0,6	1,4	2,1	1,1
rel . Int. von $[M+H]^+$	[%]	7,7	5,3	4,3	1,7	2,5	1,2
rel . Int. von [M+Na] ⁺	[%]	2,5	2,1	1,3	0,4	0,8	0,3
Basispeak	m/z	243 Tr ⁺	243 Tr ⁺	243 Tr ⁺	154 Matrix	154 Matrix	154 Matrix
	г л	/	7,58-7,20	8,24-8,18	/	7,60-7,22	8,26-8,19
zusatzliche Resonanz bei 0	[ppm]	2,76	2,41	7,89-7,83	2,79	2,41	7,90-7,83
$\Delta \delta = \delta (1'-H) - \delta (1'-H)_{78/115}$	[ppm]	0,09	-0,02	0,02	0,08	-0,04	0,00
$\Delta \delta = \delta (2'-H_e) - \delta (2'-H_e)_{78/115}$	[ppm]	0,29	0,17	0,30	0,32	0,21	0,33
$\Delta \delta = \delta (2' - H_x) - \delta (2' - H_x) $	[ppm]	0,24	0,06	0,19	0,23	0,06	0,19
$\Delta \delta = \delta (3'-H) - \delta (3'-H)_{78/115}$	[ppm]	0,82	0,62	0,76	0,81	0,61	0,74
$\Delta \delta = \delta (4'-H) - \delta (4'-H)_{78/115}$	[ppm]	0,16	0,07	0,15	0,17	0,09	0,17
$\Delta \delta = \delta (5'-H) - \delta (5'-H)_{78/115}$	[ppm]	0,00	-0,09	-0,09	0,01	-0,09	-0,08
$\Delta \delta = \delta (5'-H) - \delta (5'-H)_{78/115}$	[ppm]	-0,13	-0,21	-0,29	-0,14	-0,24	-0,29

 Tab. 3:
 Die spektroskopischen Daten der 3'-O-Sulfonylverbindungen

Aufgrund der Daten der jeweiligen Massen- und NMR-Spektren kann zweifelsfrei die Existenz der 3'-*O*-Sulfonylverbindungen **80** sowie **116** bis **120** abgeleitet werden.

3.2.1.4 Die Einführung der Boc-Schutzgruppe am 3-*N*-Zentrum der Base

Die Vorläuferverbindungen für die [¹⁸F]FLT-Synthese entstehen aus den jeweiligen 3'-*O*-Sulfonylverbindungen **80** sowie **116** bis **120** durch Einführung der Boc-Gruppe an Stelle des 3-Iminprotons der Base. Die Umsetzungen mit Pyrokohlensäure-di-*tert*-butylester, dem Boc₂O, verlaufen bei Raumtemperatur in Pyridin zu den 3-*N*-Boc-geschützten Thymidinderivaten **121** bis **126** (**Abb. 54**; Seite 74), wobei die Produkte als farblose bis blaßgelbe, kristalline, beständige Festkörper isoliert werden. Die Ausbeuten sind in **Tabelle 4**, Seite 76, zusammengefaßt.



Abb. 54: Die Einführung der Boc-Schutzgruppe am 3-N-Zentrum der Base

Die Existenz der Verbindungen 121 bis 126 ist massenspektrometrisch und NMR-spektroskopisch abgesichert. Da die Einführung der 3-*N*-Boc-Schutzgruppe im Fall von 80 sowie 116 bis 120 jeweils analog verläuft und die spektroskopischen Daten einander entsprechen, werden die Ergebnisse exemplarisch für das 3-*N*-Boc-1-(3-*O*-nosyl-5-*O*-trityl- β -D-lyxofuranosyl)thymin (123) diskutiert.

Im FAB⁺-Massenspektrum wird ein Molekülion bei m/z 769 in einer relativen Intensität von 0,2 % beobachtet. Des weiteren treten bei m/z 770 und bei m/z 792 die charakteristischen $[M+H]^+$ bzw. $[M+Na]^+$ -Ionen jeweils in 0,4 % relativer Intensität auf. Diese Daten stehen in Einklang mit den Erwartungen für **123**. Die experimentell bestimmte, hochaufgelöste Masse des Molekülions weicht um $\Delta m/z = 2,1$ mmu ($\hat{=} 2,7$ ppm) von der berechneten Masse m/z 769,2305 ab. Im ¹H-NMR-Spektrum von **123** wird ein neues Singulettsignal bei $\delta = 1,60$ ppm erkannt, das den insgesamt neun äquivalenten Protonen der drei Boc-Methylgruppen zuzuordnen ist. Im Gegenzug kann im Bereich um $\delta = 8,9$ ppm keine Resonanz beobachtet werden. Dies belegt, daß das Iminproton in 3-*N*-Position durch die Boc-Schutzgruppe substituiert wurde. Die übrigen Resonanzen weisen nur geringfügige Abweichungen der chemischen Verschiebung im Vergleich zu den entsprechenden Signalen im Spektrum von **117** auf ($\Delta \delta \leq 0,1$ ppm). Die Einführung der 3-*N*-Boc-Schutzgruppe hat demnach außerhalb des Reaktionszentrums nahezu keinen Einfluß auf die Molekülstruktur.

Im Anschluß an die Säulenchromatographie bildeten sich im Eluat der Produktfraktion farblose Einkristalle, die kristallographisch untersucht werden können. Auch die Kristallisation der Verbindung **123** aus deren etherischer Lösung ist reproduzierbar möglich. Die Ergebnisse der *Röntgen*-Kristallstrukturanalyse des 3-*N*-Boc-1-(3-*O*-nosyl-5-*O*-trityl- β -D-lyxofuranosyl)thymins (**123**) werden in **Abbildung 55**, Seite 75, gezeigt.

Die monokline Elementarzelle der Raumgruppe $P2_1$ enthält zwei Moleküle und weist Innenwinkel von $\alpha = \gamma = 90^{\circ}$ sowie $\beta = 103,3560(10)^{\circ}$ auf. Ihre Kantenlängen beträgt a = 1087,86(2) pm [$\doteq 10,8786(2)$ Å], b = 1264,74(2) pm [$\doteq 12,6474(2)$ Å] und c = 1370,54(2) pm [$\doteq 13,7054(2)$ Å], woraus ein Zellvolumen von $V = 1834,67(5) \times 10^{6}$ pm³ [$\doteq 1834,67(5)$ Å³] resultiert. Die Struktur wurde auf R1 = 0,0313 (wR2 = 0,0819) verfeinert.



Abb. 55: Die Kristallstruktur des 3-N-Boc-1-(3-O-nosyl-5-O-trityl- β -D-lyxofuranosyl)thymins

Auf eine detaillierte Diskussion der Strukturparameter der Verbindung **123** wird im Rahmen dieser Arbeit verzichtet. Die entsprechenden Daten können dem Anhang, **Kapitel 6.2**, entnommen werden. Dagegen ist die Möglichkeit von Interesse, mittels der Ergebnisse der Kristallstrukturanalyse die richtige Konfiguration der stereogenen Zentren in **123** nachzuweisen. Auf diese Weise wird die erfolgreiche Inversion am 3'-Zentrum (*C*7) nachträglich bewiesen. In **Kapitel 3.2.1.2** war dies auf der Grundlage der massenspektrometrischen bzw. NMR-spektroskopischen Untersuchungen nur begrenzt möglich. In der **Abbildung 55** ist zweifelsfrei die 3'-*endo*-Stellung der 3'-*O*-Nosylaustrittsgruppe, die der *R*-Konfiguration am asymmetrischen 3'-Kohlenstoffzentrum (*C*7) entspricht, zu erkennen. Des weiteren beweist die Kristallstruktur die Positionen der Tritylgruppe am 5'-Sauerstoffatom sowie der Boc-Schutzgruppe am 3-Stickstoffatom, wie dies aus den spektroskopischen Daten hervorgeht.

In **Tabelle 4**, Seite 76, wurden die anhand des Moleküls **123** diskutierten massenspektrometrischen und NMR-spektroskopischen Daten der Verbindungen **121**, **122** sowie **124** bis **126** zusammengefaßt. Die obigen Ausführungen lassen sich entsprechend übertragen.

Die FAB⁺-Spektren der Boc-Spezies **121**, **122** sowie **124** bis **126** stehen mit den erwarteten massenspektrometrischen Daten in Einklang. Die experimentell bestimmten, hochaufgelösten Massen der Molekülionen weichen hierbei um maximal $\Delta m/z \le \pm 4,1$ ppm von den berechneten Molekülmassen ab. Beim Vergleich der ¹H-NMR-Spektren der Boc-Spezies mit den entsprechenden Spektren der nicht Boc-geschützten Vorläuferverbindungen wird ein zusätzliches Signal in Form eines Singuletts bei einer chemischen Verschiebung von $\delta = 1,60$ ppm beobachtet, das durch die Resonanz der neun äquivalenten Wasserstoffatome der Boc-Gruppe erzeugt wird. Das Protonensignal der Iminfunktion tritt nicht auf. Hierdurch wird die 3-*N*-Stellung der Boc-Schutzgruppe bestätigt. In den übrigen Resonanzen stimmen die Spektren der Boc-Spezies mit denjenigen der nicht Boc-geschützten Vorläufer überein. Für **121**, **122** sowie **124** bis **126** konnten keine kristallographisch verwertbaren Einkristalle erhalten werden.

Verbindung		121 Ms/Tr	122 Ts/Tr	123 Ns/Tr	124 Ms/DMTr	125 Ts/DMTr	126 Ns/DMTr
Ausbeute	[%]	67,0	58,1	58,1	16,6	63,0	58,9
FAB ⁺ : Molekülion [M] ⁺	m/z	662	738	769	722	798	829
rel . Int. von [M] ⁺	[%]	0,2	0,3	0,2	3,0	2,4	2,5
rel . Int. von $[M+H]^+$	[%]	0,4	0,5	0,4	1,7	1,3	1,7
rel . Int. von [M+Na] ⁺	[%]	0,7	1,0	0,4	0,6	0,4	0,5
Basispeak	m/z	243 Tr ⁺	243 Tr ⁺	243 Tr ⁺	303 dmtr ⁺	303 dmtr ⁺	154 Matrix
hochaufgelöste Masse [M] ⁺ (be	r.) <i>m/z</i>	662,2298	738,2611	769,2305	722,2509	798,2822	829,2517
$\Delta m/z [\mathrm{M}]^+$	[mmu]	2,7	2,8	2,1	2,2	1,8	0,7
$\Delta m/z [\mathrm{M}]^+$	[ppm]	4,1	3,8	2,7	3,1	2,3	0,9
zusätzliche Resonanz bei δ	[ppm]	1,60	1,60	1,60	1,60	1,60	1,60

 Tab. 4:
 Die Ausbeuten und spektroskopischen Daten der 3-N-Boc-Verbindungen

Mit den Thymidinderivaten **121** bis **126** stehen sechs potentielle Vorläufersubstanzen für die [¹⁸F]FLT-Synthese zur Verfügung, die auf einem einfachen und kostengünstigen Weg ohne aufwendige Laborausstattung hergestellt werden können.

3.2.2 Die Synthese des 3'-[¹⁸F]Fluor-3'-deoxythymidins

In einer neu entwickelten Syntheseapparatur wird das 3'-[¹⁸F]Fluor-3'-deoxythymidin (**82**) in einer zweistufigen Eintopfsynthese hergestellt (vgl. **Kap. 5.1.1**). Die erste Stufe umfaßt die Umsetzung einer der Markierungsvorläufer **121** bis **126** mit einem Komplex aus Kalium[¹⁸F]fluorid und Kryptofix[®] 222 in trockenem Acetonitril bei $t \approx 105$ °C, wobei das 3-*N*-5'-*O*-digeschützte [¹⁸F]FLT **139** bzw. **140** entsteht (**Abb. 56**; Seite 77). In der zweiten Stufe erfolgt die simultane Hydrolyse sowohl der 3-*N*-Boc- als auch der 5'-*O*-Schutzgruppe mit 1 M Salzsäure bei $t \approx 105$ °C. Das [¹⁸F]FLT (**82**) wird mittels HPLC⁽¹⁴⁾ aufgereinigt und in ethanolisch-wäßriger Lösung (*V*_{EtOH}: *V*_{H₂O} = 7,5:92,5) in einer Ausbeute von 9,3 % (unkorrigiert) bzw. 17,2 % (korrigiert auf *T*₀; vgl. **Kap. 6.3.1**) erhalten.

Das für die [¹⁸F]Fluormarkierung der Vorläuferverbindungen benötigte [¹⁸F]Fluorid wird im Target eines Zyklotrons durch Bestrahlung von [¹⁸O]Wasser, das einen Anreicherungsgrad von mindestens

⁽¹⁴⁾ HPLC-Säule: *Phenomenex*; LUNA; 5 μ m; 250 × 21 mm mobile Phase: *V*_{EtOH}: *V*_{H,O} = 7,5:92,5; isokratisch; 10 ^{ml}/_{min}



Abb. 56: *Die zweistufige* [¹⁸*F*]*FLT-Synthese*

95 % aufweist, erzeugt. In einer ¹⁸O(p, n)¹⁸F-Kernreaktion fangen [¹⁸O]Kerne beschleunigte Protonen unter Ausstoß je eines Neutrons ein, wobei eine wäßrige [¹⁸F]Fluorwasserstofflösung entsteht. Für Substitutionsreaktionen ist Fluorid in dieser Form ungeeignet. Zum einen ist die Nukleophilie der Fluoridionen in wäßriger Umgebung durch die Ausbildung von Solvathüllen stark verringert, zum anderen tritt Wasser als Nukleophil in Konkurrenz zu Fluorid. Markierungsreaktionen laufen daher in Gegenwart von Spuren von Wasser in schlechten Ausbeuten bzw. in wäßriger Lösung meist gar nicht ab und werden daher generell in wasserfreien, polar-aprotischen Solvenzien wie Acetonitril ausgeführt. Die Separierung der Aktivität vom Targetwasser wird mit Hilfe einer Anionentauscherkartusche vorgenommen. Dies hat vornehmlich finanzielle Gründe. [¹⁸O]Wasser ist sehr teuer und wird auf diese Weise zurückgewonnen. Des weiteren benötigt das Verdampfen von ca. 1,3 ml Targetwasser viel Zeit und birgt die Gefahr, daß eine größere Menge [¹⁸F]Fluorid mitgerissen wird und der Markierung verlorengeht. Von der Kartusche wird die Aktivität in die Vorlage des Synthesemoduls in Form von 200 µl einer wäßrigen Kalium¹⁸F]fluorid-Kaliumcarbonat-Lösung eluiert. Obwohl Kalium¹⁸F]fluorid und Kaliumcarbonat zusammen nur in einer kleinen Stoffmenge vorliegen, ist die Komplexierung der Kaliumkationen mit Hilfe von Kryptofix[®] 222 notwendig, um während der Markierung eine homogene Reaktionslösung zu erhalten. Das Stoffmengenverhältnis zwischen den Kaliumionen und Kryptofix[®] 222 beträgt $n_{K^{\oplus}}: n_{Kryptofix^{\oplus}} \approx 1:1$. Die Komplexierung sollte vor der azeotropen Trocknung durch eine Vermischung der wäßrigen Kaliumsalzlösung mit der Kryptofix[®]-Acetonitril-Lösung erfolgen. Im Heliumstrom wird das Wasser-Acetonitril-Gemisch bei $t \approx 80$ °C azeotrop abdestilliert. In einem zweiten Trocknungsschritt findet die azeotrope Entfernung der restlichen Wasserspuren bei einer Temperatur bis zu $t \approx 110$ °C mit wasserfreiem Acetonitril statt.

In der ersten Stufe reagiert die Vorläuferverbindung, z. B. das 3-*N*-Boc-1-(3-*O*-nosyl-5-*O*-trityl- β -D-lyxofuranosyl)thymin (**123**), mit dem getrockneten Kryptofix[®]-Kalium[¹⁸F]fluorid-Komplex bei $t \approx 105$ °C in Acetonitril zum 3-*N*-5'-*O*-digeschützten [¹⁸F]FLT **139** bzw. **140**. Die umsetzbaren Stoffmengen sind äußerst gering. Bei einer Aktivität von 370 MBq ($\triangleq 10$ mCi) stehen zirka 5,9 × 10⁻¹² mol [¹⁸F]Fluoridionen zur Verfügung. Dies macht verständlich, daß Spuren von Wasser die Markierung

aufgrund der Verringerung der Nukleophilie des [¹⁸F]Fluorids oder infolge von Konkurrenzreaktionen stark stören bzw. verhindern. Andererseits kann die Vorläuferverbindung, die bei einem üblichen Ansatz von zirka $m \approx 10$ mg ($n \approx 0,013$ mmol **123**) in 2,2 × 10⁶-fachem Überschuß zur Verfügung steht, als Fänger störender Nukleophile wirken. Hierbei sollte sich das entstehende Thymidinderivat seinerseits nicht negativ auf die Markierungsreaktion auswirken. Dies ist aber bei der Umsetzung der Vorläuferverbindung mit Wasser der Fall, da die resultierende freie Hydroxylgruppe des Thymidinderivats ebenfalls zur Bildung von Wasserstoffbrücken befähigt ist und somit z. B. die Nukleophilie der [¹⁸F]Fluoridionen senkt^[70]. Insofern ist die strikte Abwesenheit von Wasser erforderlich.

Die hydrolytische Abspaltung der Schutzgruppen wird direkt im Reaktionsansatz ohne Isolierung der Zwischenstufe **139** bzw. **140** durch Zugabe von 1 M Salzsäure bei $t \approx 105$ °C durchgeführt. Nach der Neutralisation des Reaktionsmediums mit 1 M wäßriger Natronlauge erfolgt die chromatographische Abtrennung des 3'-[¹⁸F]Fluor-3'-deoxythymidins (**82**) mittels präparativer HPLC. In Abbildung **57** ist die γ - und die UV_{254 nm}-Detektion der Aufarbeitung einer Radiofluorierung von 3-*N*-Boc-1-(3-*O*-nosyl-5-*O*-trityl- β -D-lyxofuranosyl)thymin (**123**) dargestellt. Die verwendete Säule und die Bedingungen der Trennung sind ebenfalls der Abbildung zu entnehmen.



Abb. 57: Die γ- und die UV_{254 nm}-Detektion der präparativen [¹⁸F]FLT-Abtrennung nach der Radiofluorierung von 3-N-Boc-1-(3-O-nosyl-5-O-trityl-β-D-lyxofuranosyl)thymin zum Nachweis der Doppelpeakbildung wurden dem Ansatz 5,5 mg [¹⁹F]FLT zugefügt

Das 3'-[¹⁸F]Fluor-3'-deoxythymidin wird gemäß γ -Detektion im Bereich zwischen $T_{\rm R} \approx 34$ und 41 min in einer farblosen, ethanolisch-wäßrigen Lösung ($V_{\rm EtOH}$: $V_{\rm H_2O} = 7,5:92,5$), die einen pH-Wert von 5,5 aufweist, eluiert. Um eine zeitaufwendige Aufkonzentrierung des Eluats zu vermeiden, wird die Produktfraktion auf das engere Zeitfenster zwischen den Punkten **B** und **E** beschränkt, so daß diese die Hauptaktivität des [¹⁸F]FLTs von $A \approx 903$ MBq ($\stackrel{c}{=} 24,4$ mCi) bei einem Volumen von $V \approx 29$ ml enthält. Die Aktivitätskonzentration beträgt demnach $c \approx 31,1$ ^{MBq}/_{ml} ($\stackrel{c}{=} 0,84$ ^{mCi}/_{ml}). Die Flanken des γ -Signals zwischen den Retentionszeiten **b** und **B** sowie **E** und **e** entsprechen einer Gesamtaktivität

von $A \approx 203$ MBq ($\doteq 5,5$ mCi) in 40 ml Eluat, woraus eine Aktivitätskonzentration von $c \approx 5,1$ MBq/ml $(= 0, 14 \text{ }^{\text{mCi}/\text{ml}})$ resultiert. Für eine Patientenuntersuchung werden 6 ml der konzentrierteren Produktfraktion **B** bis **E** benötigt, von den verdünnteren Fraktionen **b** bis **B** sowie **E** bis **e** hingegen 36 ml, wenn man von einer zu applizierenden [¹⁸F]FLT-Aktivität von A = 185 MBq (= 5 mCi) ausgeht. Gemäß UV-Detektion eluiert das nicht umgesetzte [18F]Fluorid vermutlich als Kryptofix[®]-Kalium[18F]fluorid-Komplex größtenteils zwischen $T_{\rm R} \approx 5.5$ und 7.5 min. Die γ -Detektion zeigt in diesem Bereich ein Plateau, das auf einer Überschreitung der maximalen Meßrate des Detektors beruht. Bauartbedingt könnte dieser Umstand ausschließlich durch eine Verringerung der Windungszahl der HPLC-Kapillare im Detektorkopf beseitigt werden, wodurch die Empfindlichkeit des Detektors für die Erfassung geringer Produktaktivitäten verringert würde. Dies ist jedoch nicht erwünscht. An das Plateau schließt sich ein starkes Tailing an, das sich bis zur Elution des [¹⁸F]FLTs erstreckt. Das Ausmaß des Tailings hat mehrere Gründe. Zum einen bewirkt das Lösungsmittel der Markierungsreaktion, das Acetonitril, eine starke Überladung der Säule und bedingt durch seine im Vergleich zur mobilen Phase höheren Elutionskraft eine starke Peakverbreiterung^[77]. Zum anderen wird ^{[18}F]Fluorid auch außerhalb der stationären Phase an verschiedenen Oberflächen wie z. B. der Kapillarenwandung adsorbiert. Hierdurch wird eine erhöhte Untergrundaktivität auch desjenigen Kapillarenabschnitts verursacht, der sich im Detektorkopf befindet. Des weiteren geben die als Adsorbens wirkenden Oberflächen im Verlauf der HPLC-Trennung durch Desorption [¹⁸F]Fluorid wieder an die mobile Phase ab und erhöhen deren Untergrundaktivität. Derartige Effekte lassen sich bei Ionen und Verbindungen, die ausschließlich aus stabilen Nukliden bestehen, bei Routinemessungen meist nicht beobachten, da die verwendeten Detektorsysteme zu unempfindlich sind. y-Detektoren registrieren dagegen Ereignisse einzelner Teilchen und weisen hierdurch deren Existenz nach. Innerhalb des Tailings werden einzelne markierte Nebenprodukte beobachtet, die nicht identifiziert werden können, da sie in zu geringen Stoffmengen auftreten. Bei $T_{\rm R} \approx 53,5$ min wird die mobile Phase von $V_{\rm EtOH}$: $V_{\rm H,O} = 7,5$:92,5 auf $V_{\rm EtOH} = 100$ umgestellt, wodurch Teilhydrolysate oder unpolare Nebenprodukte, die teilweise [¹⁸F]Fluor-markiert sind, von der HPLC-Säule eluiert werden. Die Aktivität der Fraktion von $T_{R} \approx 58,5$ bis 60,5 min beträgt insgesamt $A \approx 74$ MBq ($\doteq 2,0$ mCi; unkorrigiert) bzw. $A \approx 160$ MBq ($\doteq 4,3$ mCi; korrigiert auf T₀; vgl. Kap. 6.3.1). Bei einer [¹⁸F]FLT-Ausbeute von $A \approx 2042$ MBq ($\doteq 55,2$ mCi; korrigiert auf T₀) wird demnach ein Anteil von maximal 7,3 % der 3-N-5'-O-digeschützten Zwischenstufe 139 teilbzw. nicht hydrolysiert, wenn die Aktivität der übrigen Nebenprodukte gegen Null tendiert. Das bedeutet, die Hydrolyse verläuft unter obigen Bedingungen nahezu vollständig.

Aufgrund ihrer geringen Konzentrationen sind in der UV_{254 nm}-Detektion gewöhnlich keine radioaktiv markierten Spezies zu beobachten. Daher lassen überwiegend Nebenprodukte detektierbare UV-Signale erwarten wie z. B. das hydrolytisch aus dem überschüssigen Markierungsvorläufer **123** entstehende Thymidin (**75**), das Eliminierungsprodukt 2',3'-Dehydro-2',3'-dideoxythymidin (**141**; Seite 80), die teil- bzw. nicht hydrolysierten Spezies, die Fragmente aus der Spaltung der *N*-glykosidischen Bindung oder freie Schutzgruppen. Die polare Verbindung **141** wird zwischen $T_{R} \approx 9,5$ und 11 min,

0=

141

0

CH

das polare Thymidin (**75**) zwischen $T_{\rm R} \approx 12$ und 15 min eluiert. Infolge der geringen Retention von Acetonitril, das nahezu mit der Front durch die HPLC-Säule wandert⁽¹⁵⁾, ist die Störung des Trennvorgangs im Bereich der niedrigen Retentionszeiten sehr stark ausgeprägt, so daß ^{HO} ungewöhnliche Peakformen wie die Doppelpeakbildung und starkes Tailing während der Elution von **75** und **141** in der UV_{254 nm}-Detektion auftreten. Diese in der Literatur^{[77],[78],[79]} beschriebenen Phänomene

werden auch beobachtet, wenn Thymidin- bzw. 2',3'-Dehydro-2',3'-dideoxythymidin-Standards jeweils in einer dem Reaktionsmedium⁽¹⁶⁾ ähnlichen Lösung mittels HPLC unter den in **Fußnote 14**, Seite 76, gegebenen Bedingungen aufgearbeitet werden. Hierdurch ist die Zuordnung der Nebenprodukte in der UV_{254 nm}-Detektion möglich (vgl. Abb. 57; Seite 78). Die unpolaren teil- bzw. nicht hydrolysierten Verbindungen oder freien Schutzgruppen werden zwischen $T_R \approx 58$ und 60 min beim Spülen der Säule mit Ethanol als nicht aufgelöste UV-Signale detektiert.

Die γ -Detektion (Abb. 57; Seite 78) ergibt für die [¹⁸F]FLT-Fraktion einen Doppelpeak, dessen Maxima bei $T_{\rm R} \approx 35,42$ und 37,13 min auftreten. Die Ursache hierfür kann entweder eine Störung des Trennvorgangs durch Acetonitril oder aber die Existenz zweier verschiedener Reaktionsprodukte ähnlicher Polarität sein. In Kontrollexperimenten kann letzteres ausgeschlossen werden. Hierzu fügt man der für die Hydrolyse notwendigen Salzsäure 5,5 mg eines kommerziell erhältlichen, reinen ¹⁹F]FLT-Standards zu. Unter den Hydrolysebedingungen bleibt der größte Teil dieses Standards unverändert. [¹⁹F]FLT kann in Nebenreaktionen das Eliminierungsprodukt 141 bilden oder durch Hydrolyse der N-glykosidischen Bindung gespalten werden^[59]. Alle hieraus resultierenden Folgeprodukte sollten sich in ihrer Retentionszeit deutlich von derjenigen des [¹⁸F]FLTs unterscheiden und nicht zu einer Doppelpeakbildung beitragen. Die Auswertung der UV254 nm-Detektion (Abb. 57; Seite 78) ergibt für das Eluat der [¹⁸F]FLT-[¹⁹F]FLT-Mischung ebenfalls einen Doppelpeak mit den Maxima bei $T_{\rm R} \approx 34,92$ und 36,60 min⁽¹⁷⁾. Die Verzögerung der Maxima des γ -Doppelpeaks um jeweils $\Delta T_{\rm R} \approx 0.5$ min im Vergleich zu den Maxima des UV-Doppelpeaks liegt zum einen in der Distanz zwischen den Detektoren und zum anderen im unterschiedlichen Detektoransprechverhalten begründet. Das eluierte [¹⁸F]FLT leistet aufgrund seiner geringen Konzentration keinen Beitrag zur UV-Detektion und kann deshalb nicht die Ursache der UV-Doppelpeakbildung sein. Das eluierte ¹⁹F]FLT ist eine Reinsubstanz, da es ausschließlich dem Standard entstammt. Daher wird mit Hilfe dieses Kontrollexperiments nachgewiesen, daß das synthetisierte [¹⁸F]FLT auch als Reinsubstanz in

⁽¹⁵⁾ Gaschromatographische Untersuchungen haben ergeben, daß Acetonitril im Bereich von $T_{R} \approx 6$ bis 14 min eluiert wird, wobei das Maximum etwa bei $T_{R} \approx 8$ bis 10 min erreicht wird.

⁽¹⁶⁾ Das Reaktionsmedium besteht im Idealfall vor der Aufgabe auf die HPLC-Säule aus 300 µl Acetonitril und 300 µl einer 0,5 M wäßrigen Kochsalzlösung.

⁽¹⁷⁾ Da die Konzentration an [¹⁸F]FLT sehr gering ist, ergibt die UV_{254 nm}-Detektion in diesem Bereich gewöhnlich keine Signale.

der γ -Detektion einen Doppelpeak erzeugen kann. In weiteren Experimenten kann das Acetonitril eindeutig als Ursache dieses Phänomens erkannt werden^{[77],[78],[79]}. Hierfür wird [¹⁹F]FLT-Standard in $V = 600 \mu$ l einer Acetonitril-Wasser-Mischung V_{MeCN} : $V_{H_2O} = 50:50$ gelöst und unter den in **Fußnote 14**, Seite 76, gegebenen Bedingungen mittels präparativer HPLC aufgearbeitet. Die UV_{254 nm}-Detektion läßt auch in diesem Fall einen Doppelpeak, der dem Standard zuzuordnen ist, erkennen. Dagegen führt die Lösung des [¹⁹F]FLT-Standards in $V = 600 \mu$ l reinem Wasser zu einer diskreten UV-Spitze. Der [¹⁸F]FLT-Fraktion von **B** bis **E** (**Abb. 57**; Seite 78) werden sowohl bei $T_{R} \approx 35,42$ min als auch bei $T_{R} \approx 37,13$ min Proben entnommen, die in einer analytischen HPLC-Trennung⁽¹⁸⁾ zum einen ein weiteres Indiz für die Einheitlichkeit des Eluats innerhalb des γ -Doppelpeaks liefern, zum anderen die chemische und radiochemische Reinheit des Eluats nachweisen sollen. In **Abbildung 59** sind die γ - und die UV_{254 nm}-Detektion für die Probe bei $T_R \approx 37,13$ min dargestellt. Erwartungsgemäß bleibt die Doppelpeakbildung in den Detektionen beider Abbildungen aus, da die Produktfraktion **B** bis **E**

kein Acetonitril enthält. Letzteres wird deutlich früher während der präparativen Trennung eluiert. Die γ - und UV_{254 nm}-Detektion der Abbildung 59 zeigt für das [¹⁸F]FLT und den [¹⁹F]FLT-Standard



Abb. 59: Die γ - und UV_{254 nm}-Detektion⁽¹⁸⁾ der analytischen HPLC-Trennung einer Probe des Eluats bei $T_R \approx 35,42$ min

⁽¹⁸⁾ HPLC-Säule: *Phenomenex*; LUNA; 5 μ m; 250 × 4,6 mm mobile Phase: V_{EtOH} : $V_{\text{H}_2\text{O}}$ = 7,5:92,5; isokratisch; 1 ^{ml}/_{min}



Abb. 60: Die γ - und UV₂₅₄ nm-Detektion⁽¹⁸⁾ der analytischen HPLC-Trennung einer Probe des Eluats bei $T_R \approx 37, 13$ min

gleiche Retentionszeiten, wenn man die Distanz der Detektoren zueinander im Kapillarenweg berücksichtigt. Die gleiche Aussage kann für die Detektionen in **Abbildung 60** getroffen werden. Daher müssen jeweils der radioaktive und der nicht-radioaktive Anteil des Eluats chemisch identisch sein. Da der [¹⁹F]FLT-Standard für die HPLC-Trennungen in den **Abbildungen 59** und **60** identisch ist, müssen demnach auch die [¹⁸F]fluorierten Spezies bei $T_R \approx 35,42$ min und bei $T_R \approx 37,13$ min in der präparativen Trennung identisch sein.

Aufgrund von Schwankungen des Acetonitrilanteils in der Reaktionslösung verschiedener Reaktionsansätze und in Abhängigkeit der Konditionierung der präparativen HPLC-Säule kann der zeitliche Abstand der Maxima des Doppelpeaks variieren oder die γ-Detektion sogar drei [¹⁸F]FLT-Signale aufweisen. Letzteres tritt bevorzugt auf, wenn die Säule über einen längeren Zeitraum mit einer mobilen Phase betrieben wird, deren Wassergehalt 90 % überschreitet. Hierbei ändert sich der Quellungszustand des Säulenmaterials⁽¹⁹⁾ und infolgedessen sowohl die Trenneigenschaften der Säule als auch die Retentionszeiten der Eluate. In allen Fällen wurde durch Koinjektion des [¹⁹F]FLT-Standards mit Proben der verschiedenen [¹⁸F]FLT-Fraktionen die chemische Identität der

⁽¹⁹⁾ Im Fall der reversiblen Änderung des Quellungszustands des Säulenmaterials aufgrund eines zu hohen Wassergehalts der mobilen Phase erfolgt die Regeneration der Säule durch einen vollständigen Austausch der mobilen Phase gegen reines THF, das etwa 24 Stunden auf das Säulenmaterial einwirken sollte. Nach dem Spülen der Säule mit der zur Trennung verwendeten mobilen Phase ist diese wieder betriebsbereit.

[¹⁸F]Fluor-markierten Spezies mit [¹⁸F]FLT nachgewiesen. Auch die Koinjektion je einer Probe der verschiedenen Maxima belegte die Übereinstimmung der [¹⁸F]FLT-Fraktionen.

Des weiteren zeigen die Detektionen der Abbildungen 59, Seite 81, und 60, Seite 82, die hohe Reinheit des [¹⁸F]FLTs und damit die Effektivität der HPLC-Trennung, wobei die niedrigen Einzelsignale, die über den gesamten Zeitrahmen der γ -Detektionen erkennbar sind, jeweils nur einem beobachteten radioaktiven Zerfall entsprechen.

3.2.3 Die Optimierung der [¹⁸F]FLT-Synthese

Im folgenden sollen einige wichtige Parameter beschrieben werden, die entscheidend zur Erzielung der obigen Ergebnisse beigetragen haben:

Ursprünglich wurde ein Volumen von $V \approx 1$ ml Acetonitril als Lösungsmittel der [¹⁸F]Fluormarkierung eingesetzt. Dieses Volumen mußte auf $V = 300 \mu l$ verringert werden, da andernfalls keine direkte Aufarbeitung der Reaktionslösung mittels präparativer HPLC ohne starke Ausweitung der Säulendimensionen und den damit verbundenen Kosten möglich wäre. Eine Unterschreitung dieses Lösungsmittelvolumens führt zu Ausbeuteverlusten, eine Überschreitung zu Trennproblemen der Säule, die in eine Verstärkung des Peaktailings münden. In dessen Folge kann die [¹⁸F]FLT-Fraktion nicht [¹⁸F]Fluorid-frei gewonnen werden.

Während der eigentlichen Markierungsreaktion bzw. der Hydrolyse gewinnt gerade im Fall geringer Lösungsvolumina ein weiteres physikalisches Phänomen an Relevanz (vgl. Kap. 5.1.1). Infolge des Druckanstiegs im abgeschlossenen Reaktorbehälter, der sowohl durch die Überschreitung des Lösungsmittelsiedepunkts als auch durch die Erwärmung des abgeschlossenen Gasraums im Reaktorinneren verursacht wird, steigt ein Teil der Reaktionsmischung in diejenige Kapillare, die bis zum Reaktorboden reicht (Abb. 65; Seite 91; Weg b). Die Erfahrungen zeigen, daß sich dieser Rückstieg bis wenige Millimeter vor das Sechswegeventil D erstreckt. Bei einem Kapillarendurchmesser von $\emptyset = 0.8$ mm und einer Kapillarenlänge von $l \approx 20$ cm beträgt der Anteil der Reaktionsmischung, die nicht direkt im Reaktor unter Reaktionsbedingungen verbleibt, $V \approx 100 \ \mu l \ (= 30 \ \% \ des \ Reaktions$ ansatzes), was sich deutlich in der Ausbeute bemerkbar macht. Die beste Lösung des Problems ist die pneumatische Anhebung einer gasdicht gefaßten Kapillare während derjenigen Arbeitsschritte, bei denen Überdruck im Reaktor herrscht. Diese sehr aufwendige Vorgehensweise ist in kommerziell erhältlichen Modulen implementiert. Die einfachste Variante ist die Verwendung einer Kapillare geringeren Durchmessers und die Kürzung des Weges b. Ersteres läßt sich nicht verwirklichen, da eine engere Kapillare zur Verstopfung neigt. Einen praktikablen Ausweg stellt die Einführung eines Temperaturprogramms während der Markierungsreaktion und der Hydrolyse dar. Hierzu wird die Reaktorinnentemperatur nach Erreichen von $t \approx 105$ °C binnen drei Minuten unter den Siedepunkt des Acetonitrils geführt, wodurch sich der Weg b wieder vollständig in den Reaktor entleert. Danach läßt man die Temperatur erneut auf $t \approx 105$ °C steigen.

Des weiteren wurden die Reaktionszeiten für den Markierungsschritt von $\Delta T = 60$ min und die Hydrolyse

von $\Delta T = 20$ min auf jeweils $\Delta T = 10$ min verkürzt, wobei sich sowohl die korrigierten als auch die unkorrigierten Ausbeuten deutlich erhöhten. Infolge des zuvor beschriebenen Temperaturprogramms wird die Reaktorinnentemperatur von $t \approx 105$ °C sowohl bei der Markierung als auch bei der Hydrolyse nur noch für ungefähr $\Delta T \approx 4$ min erreicht.

Auch die Zahl der Trocknungsschritte konnte von vier auf zwei reduziert werden, ohne daß sich die korrigierte Ausbeute veränderte. Die unkorrigierte Ausbeute steigt in diesen Fällen aufgrund der verringerten Gesamtreaktionszeit entsprechend des Zerfallsgesetzes an.

3.2.4 Die [¹⁸F]FLT-Synthese mit verschiedenen Vorläuferverbindungen

Die in Kapitel 3.2.2 beispielhaft für den Markierungsvorläufer 123, das 3-*N*-Boc-1-(3-*O*-nosyl-5-*O*-trityl- β -D-lyxofuranosyl)thymin, beschriebene Synthese des 3'-[¹⁸F]Fluor-3'-deoxythymidins ergibt auch für die Verbindungen 121, 122 sowie 124 bis 126 unter identischen Reaktionsbedingungen erfolgreiche Umsetzungen. Hierbei schwanken die Ausbeuten an [¹⁸F]FLT jedoch beträchtlich. Über die Ergebnisse gibt Tabelle 5 Auskunft.

Verbindung		121	122	123	124	125	126
		Ms/Tr	Ts/Tr	Ns/Tr	Ms/DMTr	Ts/DMTr	Ns/DMTr
[¹⁸ F]FLT-Ausbeute ⁽²⁰⁾ , korrigi	ert [%]	5,1 ± 1,2	$3,5 \pm 3,8$	$9,4 \pm 5,7$	$5,0 \pm 1,5$	3,7 ± 2,3	12,8 ± 1,4
Anzahl der Werte	n	4	3	6	2	2	4
Maximalausbeute, korrigiert	[%]	6,5	7,8	17,2	6,0	5,3	13,9
δ(3'- <i>H</i>)	[ppm]	5,25	5,07	5,20	5,26	5,08	5,20

Tab. 5: Die Ausbeuten der [¹⁸F]FLT-Synthese in Abhängigkeit der Vorläuferverbindung

In Kapitel 3.2.1.3 wurde die Austrittstendenz der 3'-O-Abgangsgruppe anhand der NMR-Daten der Verbindungen 80 sowie 116 bis 120 diskutiert. Für die Leichtigkeit der Abspaltung des Nukleofugs wurde dort die Reihenfolge Mesyl > Nosyl > Tosyl vorhergesagt. Auch die chemische Verschiebung des jeweiligen 3'-*H*-Atoms der Spezies 121 bis 126 steht mit diesen Überlegungen in Einklang. Die Ausbeuten der [¹⁸F]FLT-Synthese stützen die theoretischen Betrachtungen jedoch nicht. Vielmehr zeigt sich, daß die Nosylgruppe mit Abstand die besten Ergebnisse liefert, gefolgt von der Mesyl-und der Tosylgruppe. Der Unterschied zwischen Theorie und Praxis liegt unter anderem darin begründet, daß weitere Faktoren die [¹⁸F]FLT-Ausbeuten entscheidend mit beeinflussen. So bestimmt nicht allein die Bindungspolarisierung die Austrittstendenz einer Gruppe, sondern auch die Möglichkeit, eine negative Ladung über das gesamte Nukleofug zu delokalisieren und dieses damit zu stabilisieren. Je mehr Zentren hierbei mit einbezogen werden, desto besser. In dieser Hinsicht ist die Nosylgruppe klar im Vorteil, da zudem die Nitrogruppe einen starken -*M*- und -*I*-Effekt auf den benachbarten

aromatischen Ring ausübt. Des weiteren spielt auch die Fähigkeit des Lösungsmittels eine Rolle, das aus dem Nukleofug entstehende Anion zu solvatisieren. Je größer dieses Solvatationsvermögen ist, desto leichter kann eine Abgangsgruppe ein Molekül verlassen. Neben diesen Faktoren muß, wie auf Seite 65 bereits diskutiert wurde, ein ausgewogenes Verhältnis zwischen der Austrittstendenz des Nukleofugs und der Nukleophilie der Eintrittsgruppe gefunden werden. Eine zu hohe Austrittstendenz steuert die Radiofluorierung aus dem S*x*2- in das aufgrund von vermehrten Nebenreaktionen ungünstigere S*x*1-Gebiet. Eine zu geringe Austrittstendenz behindert dagegen den Angriff des Nukleophils und senkt damit die Ausbeuten. Aufgrund der Komplexität dieser unterschiedlichen Einflüsse kann die theoretische Vorhersage letztendlich nur helfen, die große Zahl der Variationsmöglichkeiten einzuschränken. Verläßliche Ergebnisse liefert aber ausschließlich das Experiment.

3.2.5 Die Synthese des 3'-[¹⁹F]Fluor-3'-deoxythymidins

Das [¹⁹F]FLT wird analog zu der Radiofluorierung synthetisiert. Statt der wäßrigen Kalium[¹⁸F]fluorid-Kaliumcarbonat-Lösung wird die entsprechende Lösung mit [¹⁹F]Fluorid vorgelegt. Man erhält das [¹⁹F]FLT (**54**) zunächst in einer ethanolisch-wäßrigen Lösung (V_{EtOH} : V_{H_2O} = 7,5:92,5), aus der das Produkt in Form eines farblosen Festkörpers in 43,3 %iger Ausbeute isoliert wird (**Abb. 61**).



Abb. 61: *Die zweistufige* [¹⁹*F*]*FLT-Synthese*

Der Nachweis der erfolgreichen [¹⁹F]FLT-Synthese kann bisher nur mit Hilfe der präparativen HPLC⁽²¹⁾ während der Aufarbeitung der Reaktionslösung und mittels der analytischen HPLC⁽²²⁾ durch Vergleich der UV_{254 nm}-Detektion der synthetisierten Substanz mit derjenigen des Standards erbracht werden. Auch die Dünnschichtchromatographie liefert eindeutige Indizien (V_{MeOH} : $V_{CH_2CI_2} = 3:17$) für die Existenz der hergestellten Verbindung **54**. Massenspektrometrische Daten stehen bisher aufgrund der geringen erzielten Ausbeute noch aus.

⁽²¹⁾ HPLC-Säule: *Phenomenex*; LUNA; 5 μ m; 250 × 21 mm mobile Phase: *V*_{EtOH}: *V*_{H₂O} = 7,5:92,5; isokratisch; 10 ^{ml}/_{min}

⁽²²⁾ HPLC-Säule: *Phenomenex*; LUNA; 5 μ m; 250 × 4,6 mm mobile Phase: *V*_{EtOH}: *V*_{H₂O} = 7,5:92,5; isokratisch; 1 ^{ml}/_{min}

Die Anwendung des^{[18}F]FLTs im Tierversuch 3.3

Wie in Kapitel 3.2.2 beschrieben wird 3'-[¹⁸F]Fluor-3'-deoxythymidin in einer ethanolisch-wäßrigen Lösung (V_{EtOH} : V_{H_2O} = 7,5:92,5) bei pH 5,5 erhalten. Vor ihrem Einsatz am Versuchstier muß der pH-Wert mit Natriumhydrogencarbonat auf 7,5 und die Isotonie⁽²³⁾ zu Blutserum mit Natriumchlorid eingestellt werden.

Als Versuchstier diente eine 272 g schwere, männliche "Kopenhagen"-Ratte, die ein schnell proliferieren-



Abb. 62: [¹⁸F]FLT-Anreicherung in tumorösem Gewebe der Ratte im zeitlichen Verlauf - koronaler Ganzkörperschnitt

Abb. 64: PET-Scan bei 40 min p. i.

Kopf

Die Untersuchung der Ratte erfolgte mittels Positronen-Emissions-Tomographie, wie dies in Kapitel 1.1.1.5 beschrieben wurde. Innerhalb eines Zeitintervalls von $\Delta T = 90$ min wurden sieben PET-Scans angefertigt, mit deren Hilfe der zeitliche Verlauf der Anreicherung von [¹⁸F]FLT im Tumor beobachtet werden sollte (Abb. 62; Seite 86). Zur leichteren Orientierung ist der PET-Scan bei $T = 40 \min p. i.$ in Abbildung 64, Seite 86, näher erläutert. *In vivo* ist das Zentrum eines größeren Tumors gering proliferierend oder sogar nekrotisch, da dessen zentrale Bereiche nicht ausreichend mit Blut versorgt werden können und der Tumor einen erhöhten Gewebeinnendruck aufweist. Die unterschiedlich hohe zentrale und periphere Proliferationsaktivität des zentral-nekrotischen AT1-Tumors ist in der Abbildung 64 leicht zu erkennen. Die vermeintlich ringförmige Tumorgestalt entsteht, da die Schnittebene des PET-Scans direkt durch diesen Tumor gelegt wurde. Des weiteren verursachen die starke Durchblutung und die Abbauprozesse im Zuge der Biotransformation einen hohen Uptake in der Leber des Versuchstiers (vgl. Kap. 1.3.4.3). In der Blase führt intaktes [¹⁸F]FLT bzw. dessen Metaboliten zu einer starken Aktivitätsanreicherung.

Im zeitlichen Verlauf wird die Leber schon in frühen PET-Scans bei T = 50 und 90 s p. i. deutlich erkennbar (Abb. 62; Seite 86). Dies liegt anfangs vermutlich in reinen Durchblutungseffekten begründet. Die Anreicherung im Tumor führt ab etwa $T = 3 \min p$. *i*. zu einer beobachtbaren Abgrenzung des tumorösen Gewebes vom Untergrund. Dieser Uptake manifestiert sich zwischen T = 15 und 40 min p. i., wobei auch im weiteren Verlauf der späte PET-Scan bei T = 90 min p. i. einen hohen Kontrast des Tumors zeigt. Letzteres deutet auf ein starkes metabolisches Trapping der [¹⁸F]Fluorspezies mit einer geringen Auswaschung und eine langanhaltende Verfügbarkeit des metabolisch stabilen [¹⁸F]FLTs im Blut hin. Nach etwa $T = 15 \min p$. *i*. bedingt die renale Ausscheidung von intaktem [¹⁸F]FLT bzw. dessen Abbauprodukten einen ansteigenden Uptake in der Blase. Die Nieren selbst liegen außerhalb der Schnittebene und sind deshalb nicht sichtbar. Abbildung 63, Seite 86, zeigt den PET-Scan einer Ratte, der 10 MBq ($\stackrel{\circ}{=}$ 270 µCi) [¹⁸F]Fluorid appliziert wurden, bei T = 90 min post injectionem. In den drei koronalen Schichten (ventral, zentral, dorsal) sind im Vergleich zu der Applikation von [¹⁸F]FLT überwiegend Skelettstrukturen abgebildet, da [¹⁸F]Fluorid in die Knochensubstanz eingebaut wird und dort einen hohen Uptake verursacht. In Bild 3 der Abbildung 63 sind beispielsweise die Lendenwirbelsäule und das Becken des Versuchstiers deutlich erkennbar. Aber auch die Blase als Ausscheidungsorgan wird sehr kontrastreich dargestellt.

Die Ergebnisse dieses Tierversuchs belegen eindeutig, daß auf dem in **Kapitel 3.2** beschriebenen Syntheseweg hervorragende Markierungsvorläufer hergestellt werden können, die in einer effizienten Radiofluorierung zu dem vielversprechenden Proliferationsmarker 3'-[¹⁸F]Fluor-3'-deoxythymidin führen.

(23)

Eine 0,9 %ige Kochsalzlösung ist isotonisch zu Blutserum des Menschen.

4 Zusammenfassung

Der erste Teil dieser Arbeit umfaßt die Einführung von Substituenten in Moleküle mit Dioxabicyclooctengrundstruktur. Hierzu werden Halogenierungsreaktionen sowohl mit stabilen als auch mit für PET verwendbaren Nukliden vorgestellt, deren Reaktionsprodukte als Vorläufer für die in 2-, 3- bzw. 4-Position substituierten Hexosen verwendet werden können. Des weiteren werden Versuche beschrieben, die eine Substitution der allylischen Hydroxylgruppe gegen eine Thiolgruppe in 4-Stellung der 1,6-Anhydro-2,3-dideoxy- β -D-*erythro*-hex-2-enopyranose ermöglichen sollen.

Im zweiten Teil dieser Arbeit wird ein neuer Syntheseweg für den Proliferationsmarker 3'-[¹⁸F]Fluor-3'-deoxythymidin aufgezeigt. Hierzu wurden ausgehend von Thymidin verschiedene Vorläufersubstanzen entwickelt, die erfolgreich zu [¹⁸F]FLT umgesetzt werden konnten. Die biologische Relevanz des radiomarkierten Thymidinanalogons ließ sich im Tierexperiment belegen.

Die nukleophile Substitution am Dioxabicycloocten-Skelett

Für die folgenden Untersuchungen werden die 1,6-Anhydro-2,3-dideoxy- β -D-*erythro*-hex-2-enopyranose bzw. die 1,6-Anhydro-3,4-dideoxy- β -D-*erythro*-hex-3-enopyranose als Ausgangsverbindungen in größeren Stoffmengen benötigt. Daher wurde der von G. LAUER bzw. R. HAECKEL entwickelte Syntheseweg in dieser Hinsicht optimiert. Gleichzeitig konnte die Synthesezeit von fünf Tagen auf 45 Minuten gesenkt werden. Die im Verlauf der Arbeiten erhaltenen Einkristalle der 1,6-Anhydro-2,3-dideoxy- β -D-*erythro*-hex-2-enopyranose ermöglichten eine Aufklärung der Molekülstruktur mit Hilfe der *Röntgen*-Kristallstrukturanalyse.

Die Synthese der in 2-Stellung halogenierten Hexosen erfolgte durch eine Substitution der Hydroxylgruppe der 1,6-Anhydro-3,4-dideoxy- β -D-*erythro*-hex-3-enopyranose beispielsweise durch Bromid. Hierzu wurde im ersten Schritt die Tosylabgangsgruppe in den Allylalkohol eingeführt. Im zweiten Schritt führte die nukleophile Substitution mittels des Komplexes aus Kryptofix[®] 222 und Kaliumbromid zu einer Mischung aus der 2-Brom-1,6-anhydro-2,3,4-trideoxy- β -D-*erythro*-hex-3-enopyranose und deren 4-Bromanalogon im Stoffmengenverhältnis von etwa 2:1. Offenbar verläuft die Substitution monomolekular, also nach einem Sv1-Mechanismus, wobei ein allylisches Carbeniumion als Intermediat plausibel erscheint. Diese These ließ sich erhärten, indem die 1,6-Anhydro-2,3-dideoxy- β -D-erythrohex-2-enopyranose in 4-Stellung tosyliert und mittels des Komplexes aus Kryptofix[®] 222 und Kaliumbromid substituiert wurde. Auch in diesem Fall entstand eine Mischung aus der 2- und der 4-Bromverbindung im ungefähren Stoffmengenverhältnis 4:1. Beachtenswert erscheint, daß weder eine Umlagerung des Allylcarbeniumions in das 3,8-Dioxabicyclo[3.2.1]oct-6-en-Skelett noch ein endo-Angriff der Bromidionen beobachtet werden konnte. Ersteres steht im Gegensatz zu Ergebnissen von LAUER bzw. HAECKEL, die bei Fluorierungen mit DAST derartige Umlagerungen fanden. Offensichtlich besitzt das Intermediat bei der Substitution mit Bromid aufgrund dessen höherer Nukleophilie im Vergleich zu Fluorid eine geringere Lebensdauer. Der ausbleibende endo-Angriff ist vermutlich in der sterischen Hinderung durch die 1,6-Anhydrobrücke begründet. Die Synthese der Bromdioxabicyclooctene konnte erfolgreich auf eine Markierungsreaktion mit [⁷⁵Br]Bromid übertragen werden und ergab in Analogie die in 2- bzw. 4-Stellung [⁷⁵Br]Brom-substituierten Verbindungen. Für Technetium- bzw. Rheniumkomplexe werden Liganden benötigt, die über Schwefelfunktionen an das Zentralatom gebunden sind. H. SPIES *et al.* untersuchten derartige Verbindungen. Daher sollte die allylische Hydroxylgruppe der 1,6-Anhydro-2,3-dideoxy- β -D-*erythro*-hex-2-enopyranose durch eine Thiolgruppe substituiert werden. Die entsprechende Umsetzung des in 4-Stellung tosylierten Allylalkohols mit Natriumhydrogensulfid in Gegenwart von Kryptofix[®] 222 führte ausschließlich zu dem Bis(1,6-anhydro-2,3,4-trideoxy- β -D-*erythro*-hex-3-enopyranos-2-yl)thioether. Das Variieren der Reaktionsbedingungen bzw. alternative Synthesewege ergaben in keinem Fall die gewünschte Thiolverbindung.

Die elektrophile Addition am Dioxabicycloocten-Skelett

Die elektrophile Addition von Halogenen an die Doppelbindung der 1,6-Anhydro-3,4-dideoxy- β -Derythro-hex-3-enopyranose führt zu den direkten Vorläufersubstanzen der 3,4-disubstituierten Hexosen. Des weiteren läßt der stereoselektive Additionsmechanismus besonders an Derivaten des Cyclohexenrings zunächst ein *trans*-diaxiales Additionsprodukt erwarten, das erst nach der hydrolytischen Öffnung der 1,6-Anhydrobrücke in die *trans*-diäquatoriale Konformation einer *gluco*konfigurierten Hexose umklappen kann. Die These wurde durch das Experiment bestätigt. So ergab die Addition von elementaren Chlor die 3,4-Dichlor-1,6-anhydro-3,4-dideoxy- β -D-glucopyranose in einer guten Ausbeute. Die entsprechende Bromierung lieferte das analoge Dibromprodukt. Weitere Halogenierungsversuche wie die Fluorierung der Doppelbindung oder die Anlagerung von Iod oder des Interhalogens Iodchlorid führten nicht zum Erfolg.

Die Synthese der Vorläufersubstanzen des 3'-[¹⁸F]Fluor-3'-deoxythymidins

Der Proliferationsmarker 3'-[¹⁸F]Fluor-3'-deoxythymidin gewinnt als *in vivo*-PET-Diagnostikum eine immer größere Bedeutung. Bisher fehlte ein einfacher, effizienter und kostengünstiger Zugang zu dieser Verbindung. Zwei Anforderungen an den Markierungsvorläufer mußten hierfür erfüllt werden. Zum einen sollte das markierte Zwischenprodukt das gewünschte [¹⁸F]FLT in homogener Lösung in einem Hydrolyseschritt freisetzen. Zum anderen sollte die Reaktion in einem Temperaturbereich knapp oberhalb von t = 100 °C durchführbar sein, wodurch die Verwendung von Acetonitril als ein für Radiofluorierungen geeignetes Solvens möglich wurde. Die hierdurch vorgegebenen Reaktionsbedingungen lassen sich im allgemeinen leicht auf kommerziell erhältliche Synthesemodule übertragen. Als geeignetes Schutzgruppenmuster wurde für die 5'-Hydroxylfunktion die Trityl- bzw. alternativ die 4,4'-Dimethoxytritylgruppe sowie für die 3-Iminfunktion der Base die Boc-Gruppe gewählt. Für die Austrittsgruppe in der 3'-Position schien die Nosylgruppe geeignet. Des weiteren sollten die Tosyl- bzw. die Mesylgruppe auf ihre Eignung als Nukleofug geprüft werden. In einer vierstufigen Synthese wurden die entsprechenden Markierungsvorläufer hergestellt. Hierzu wurde Thymidin zunächst mit Hilfe von Trityl- bzw. 4,4'-Dimethoxytritylchlorid in der 5'-Position geschützt. Durch Mesylierung der 3'-Stellung und anschließende Hydrolyse der intermediären Mesylverbindung mit einer wäßrigen Natriumhydroxidlösung konnte das jeweilige Lyxofuranosylderivat erhalten werden, dessen 3'-Zentrum eine inverse Konfiguration im Vergleich zu Thymidin aufweist. Diese Konfigurationsumkehr ist notwendig, da die spätere Markierungsreaktion mit [¹⁸F]Fluorid in einer S_N2-Reaktion unter *Walden*-Umkehr abläuft. In der nächsten Stufe wurden die Nosyl-, Tosyl- bzw. Mesylaustrittsgruppen in der 3'-Position eingeführt. Der Schutz der 3-*N*-Gruppierung mit Hilfe des Pyrokohlensäure-di-*tert*-butylesters lieferte abschließend den jeweiligen Markierungsvorläufer.

Während der Aufarbeitung des 3-*N*-Boc-1-(3-*O*-nosyl-5-*O*-trityl- β -D-lyxofuranosyl)thymins wurden Einkristalle erhalten, die eine Aufklärung der Molekülstruktur dieser Vorläuferverbindung mit Hilfe der *Röntgen*-Kristallstrukturanalyse ermöglichten.

Die Markierung zu 3'-[¹⁸F]Fluor-3'-deoxythymidin

Die Vorläufersubstanzen wurden in einer selbst gebauten, fernbedienbaren Apparatur umgesetzt. Die Markierung verlief in absolutem Acetonitril mit Hilfe eines Komplexes aus Kryptofix[®] 222 und Kalium[¹⁸F]fluorid. Das hieraus resultierende 3-*N*-5'-*O*-digeschützte [¹⁸F]FLT wurde mit verdünnter Salzsäure zu dem gewünschten Produkt hydrolysiert. Die Aufarbeitung der Reaktionslösung erfolgte mittels HPLC und lieferte 3'-[¹⁸F]Fluor-3'-deoxythymidin in einer ethanolisch-wäßrigen Lösung. Mit 3-*N*-Boc-1-(3-*O*-nosyl-5-*O*-trityl- β -D-lyxofuranosyl)thymin konnte eine Aktivität von 1106 MBq (9,3%; unkorrigiert) in einer Gesamtreaktionszeit von 90 Minuten inklusive Aufarbeitung erzielt werden. Allgemein erwies sich die Nosylgruppe in dieser Arbeit als die günstigste Austrittsgruppe.

Das auf diesem Weg erhaltene [¹⁸F]FLT wurde im Tierversuch auf seine biologische Relevanz getestet. Die entsprechenden PET-Scans zeigen eine deutliche Anreicherung des Radiodiagnostikums in schnell proliferierendem Gewebe.

Ausblick

Ziel weiterer Optimierungsstrategien der [¹⁸F]FLT-Synthese ist die Minimierung der Bildung von Nebenprodukten bei gleichzeitiger Ausbeuteerhöhung. Des weiteren würde die Aufarbeitung mit einem Kartuschensystem statt HPLC eine erhebliche Zeitersparnis bedeuten.

5 **Experimenteller Teil**

5.1 Allgemeines

5.1.1 Die Syntheseapparatur für 3'-[¹⁸F]Fluor-3'-deoxythymidin ([¹⁸F]FLT)

Die im Verlauf dieser Arbeit für die Synthese von 3'-[¹⁸F]Fluor-3'-deoxythymidin entwickelte Apparatur (**Abb. 65** bzw. **Tab. 6**; Seite 92) befindet sich aus Gründen des Strahlenschutzes in einer Bleiburg. Alle erforderlichen Manipulationen und die HPLC können von außen gesteuert werden. Das Doppel-6-Wege-Motorventil **D** wird synchron in die entsprechenden Stellungen geschaltet. Somit sind die Transportwege für Lösungen und Gase vorgegeben.

Die Vorbereitung der gereinigten Syntheseapparatur besteht aus der Einstellung des Ausgangszustands und der Beschickung mit allen für die Synthese von [¹⁸F]FLT notwendigen Substanzen nach den Vorgaben in **Kapitel 5.3.3.1** bzw. **5.3.3.2**.



Abb. 65: Die Syntheseapparatur für 3'-[¹⁸F]Fluor-3'-deoxythymidin

Das jeweilige Reagens läßt sich aus einem der Vorlagegefäße A über das 6-Wege-Motorventil B auf dem Weg a in die programmierbare Motorspritze C überführen. Nach einem Zwischenschritt zum Druckausgleich innerhalb der Spritze wird das Reagens über den Weg b und das Doppel-6-Wege-Motorventil D (Stellung 1) in den Reaktor E befördert. Der Druckausgleich innerhalb des Reaktors erfolgt auf dem Weg c, der über das Ventil D (Stellung 1) in ein Druckausgleichgefäß F führt. Die Entlüftung von F findet über eine Alox-Kartusche statt, die eine Kontamination der Umgebung mit [¹⁸F]Fluorwasserstoff oder einem kontaminierten Aerosol verhindert. Jeder Transportschritt wie z. B. aus einer Vorlage in den Reaktor wird einmal wiederholt, um Lösungsreste aus den Kapillaren zu entfernen. Die azeotrope Trocknung des Kryptofix[®]-Kalium[¹⁸F]fluorid-Komplexes erfolgt in der Stellung **6** des Ventils **D**. Der Inertgasstrom wird hierbei im Reaktor **E** durch die siedende Reaktionslösung geleitet und das Azeotrop auf dem Weg **c** in die Kühlfalle **G** überführt. Die Kühlfalle wird ebenfalls über eine Alox-Kartusche entlüftet.

Zu Beginn der Synthese bzw. der Hydrolyse wird das Ventil **D** während der Aufheizphase der Reaktionslösung in Stellung **2** gebracht. Hierbei erfolgt der Druckausgleich des Reaktorgasraums **E** über die Kapillare **c** und die Kühlfalle **G**. Stellung **3** des Ventils **D** schließt den Reaktor gasdicht ab und ermöglicht Reaktionstemperaturen oberhalb des Siedepunkts des Solvens. Durch den Druckanstieg innerhalb des Reaktors **E** werden je nach Lösungsmittelmenge bis zu 30 % des Reaktionsansatzes in die bis zum Reaktorboden reichende Kapillare **b** gedrückt. Durch eine kurze Absenkung der Reaktionstemperatur unter den Siedepunkt des Solvens wird die Reaktionsmischung aus der Kapillare wieder in den Reaktor überführt. Nach der Abkühlung des Reaktionsgefäßes am Ende der Synthese bzw. der Hydrolyse erfolgt ein Druckausgleich in Stellung **5** des Ventils **D**.

Zum Abschluß der [¹⁸F]FLT-Synthese wird die Reaktionslösung aus dem Reaktor E über das Ventil **D** (Stellung 1) in die Motorspritze C gezogen und von dort über das Ventil **B** (Stellung 6) wahlweise in ein Produktgläschen **H** gedrückt oder auf die Schleife der HPLC **J** aufgegeben. Im letzteren Fall wird nach der präparativen Trennung das Reinprodukt in einer Sammelstation in Produktgläschen fraktioniert, wobei die übrigen Fraktionen in ein Abfallgefäß abgetrennt werden.

Ionisationsdetektor	<i>Capintec</i> ; Radioisotope Calibrator CRC-2N Kalibrierung für [¹⁸ F]Fluor:	
Syntheseapparatur	Motorspritze	Hamilton; Spritzenmodul MICRO LAB® M; 2,5 ml
	Doppel-6-Wege-Ventil	Latek; HMV-6-DUO; Ventil Typ 7060L
	6-Wege-Motorventil	Latek; HMV-6; Ventil Typ 7060L
	Reaktor	PTFE-Gefäß mit PEEK-Kopf und Edelstahlgewinde
	Innenthermometer	-ebro-; TFN 1293; NiCr-Ni-Fühler
	Heizung	Magnetrührer mit Heizplatte auf elektr. Hebebühne
HPLC-Anlage	siehe Tabelle 11	

Fab. 6: Die Geräteliste der	Syntheseapparatur f	für 3'-[¹⁸ F]Fluor	-3'-deoxythymidir
------------------------------------	---------------------	--------------------------------	-------------------

5.1.2 Die Materialien und Geräte

Die Chemikalien wurden von *Aldrich[®]*, *Fluka[®]*, *Merck[®]*, *Riedel-de Haën[®]* und *Sigma[®]* bezogen. Alle Reaktionen wurden in wasserfreien *pro analysi*-Lösungsmitteln der Firma *Aldrich[®]* ausgeführt. Eine weitere Trocknung, Reinigung oder Lagerung z. B. über Molekularsieb war nicht notwendig. Ausnahmen bestehen für Acetonitril, Dimethylformamid (DMF) und Tetrahydrofuran (THF), wenn

5 Experimenteller Teil

im Ansatz gesondert darauf hingewiesen wird.

Tab. 7:Die absoluten Solvenzien

Acetonitril für die DNA-Synthese	$Merck^{\mathbb{R}}$; Wassergehalt ≤ 10 ppm
Dimethylformamid	Absolutierung gemäß Vorschrift im <i>Organikum</i> ^[71] ; maximal vier Wochen unter Lichtausschluß im Kühlschrank lagerfähig.
Tetrahydrofuran	THF wird in einer Destille unter Inertgas über Natriumdraht zum Sieden erhitzt, bis die Blaufärbung von Benzophenon Wasserfreiheit anzeigt.
	Anschließend wird die benötigte Menge unter Inertgas frisch destilliert.

Tab. 8: Die sonstigen Verbrauchsmaterialien

Extraktionshülsen	Schleicher & Schuell; $22 \times 80 \text{ mm}$		
	Schleicher & Schuell; 33 × 130 mm		
Filter	<i>Millipore</i> ; Millex-HV; 0,45 μm		
	<i>Millipore</i> ; Millex-FH; 0,45 µm		
Alox-Kartusche	Waters; Sep-Pak [®] Plus; Alumina N Cartridges		
[¹⁸ F]Fluorid-Separation	Macherey-Nagel; ¹⁸ F Separation Cartridge; CHROMAFIX [®] ; 30 PS-HCO ₃		
Inertgas-Vakuum-Line	Inertgas	Stickstoff 4.6 bzw. Argon 4.8	
	Gasnachreinigung	Messer Griesheim; Hydrosorb und Oxisorb	
	Vakuum	≤ 0,3 mbar	

Tab. 9:Die Charakterisierung der Substanzen

Schmelzpunktbestimmung	Büchi 535			
Elementaranalysen	Carlo Erba; Elemental Analyzer CHNS EA 1108			
	Max-Planck-Institut für	medizinische Forschu	ng, Heidelberg	
Kernresonanzspektroskopie	¹ H-NMR (250 MHz)	Bruker; AC 250	Interner Standard: Si(CH ₃) ₄	
	¹³ C-NMR (62,9 MHz)	Bruker; AC 250	Interner Standard: Si(CH ₃) ₄	
	¹ H-NMR (500 MHz)	Bruker; AM 500	Interner Standard: Si(CH ₃) ₄	
	Abtl. Zentrale Spektroskopie; Deutsches Krebsforschungszentrum, Heidelberg			
	Auswertung	Bruker-Franzen Anal	ytik GmbH; WIN-NMR; V6.0	
Massenspektrometrie	EI ⁺ bzw. FAB ⁺ Jeol; JMS-SX 102A			
	Matrix FAB ⁺	<i>m</i> -Nitrobenzylalkoh	ol	
	Labor für Massenspektrometrie; MPI für medizinische Forschung, Heidelberg			
Kristallstrukturanalyse	Bruker; AXS Smart CCD 1000; Flächendetektorsystem			
	Siemens-Stoe; AED2 Diffraktometer			
	Anorganisch-Chemische	es Institut der Univers	ität Heidelberg	

Kunststoff-Fertigfolien	Macherey-Nagel; POLYGRAM [®] SIL G/UV254;			
	0,2 mm Kieselgel mit Fluoreszenzindikator; 40×80 mm			
Alufolien	$Merck^{\mathbb{B}}$; Kieselgel 60 F ₂₅₄ ; 5 × 7,5 cm (im Ansatz gesondert vermerl			
Sorbens für Glassäulenchromatographie	<i>Fluka</i> ; Kieselgel 60; 230 - 400 mesh;			
	in Normaldruck- bzw. Flashsäule (0,3 - 0,5 bar Überdruck); selbst befüllt			
Detektion bei DC	UV- Licht; $\lambda = 254$ nm			
	5 %ige ethanolische Molybdatophosphorsäurelösung als Tauchreagens;			
	Entwicklung im Heißluftstrom bei $t \approx 150 ^{\circ}\text{C}$			

 Tab. 10:
 Die Dünnschicht- und Säulenchromatographie

 Tab. 11: Die Hochdruck-Flüssigkeits-Chromatographie (HPLC)

[¹⁸ F]FLT-Aufreinigung	Pumpe	Waters; Model 590
	UV-Detektor	Knauer; Variable Wavelength Monitor; A0293
	Radioaktivitätsdetektor	Beckman; Radioisotope Detector; Model 170
	Zweikanalschreiber	Rikadenki; Model R-02 A
	Aufgabeventil	Besta; 6-Wege-Motorventil; Ventil Typ 7060L
	Inline-Filter	Upchurch Scientific; Semi-Prep Filter; 2 µm; A- 410
	HPLC-Säule	<i>Phenomenex</i> ; LUNA; 5 μ m; 250 × 21 mm
HPLC-Anlage	Pumpe	Kontron Instruments; HPLC PUMP 420
	Pumpenkopf	Kontron Instruments; 0,05 - 10 $^{\text{ml}}/_{\text{min}}$
	Hochdruckmischer	Kontron Instruments; M 800
	UV-Detektor	Kontron Instruments; Detector 430
	Radioaktivitätsdetektor	BIOSCAN; Model FLOWCOUNT A; Diode
	Interface	Kontron Instruments; MULTIPORT
	Datenverarbeitung	Kontron Instruments;
		DATA SYSTEM 450; KAT 286; ROMBIOS V2.01;
		Version 3.30; Softron 1988
	Inline-Filter	Upchurch Scientific; Semi-Prep Filter; 2 µm; A- 410
präparative Trennung	HPLC-Säule	Merck [®] ; LiChrosorb [®] Si 60 (7 µm);
		Hibar [®] Fertigsäule RT; $250 \times 25 \text{ mm}$
analytische Trennung	HPLC-Säule	<i>Phenomenex</i> ; LUNA; 5 μ m; 250 × 4,6 mm

5.2 Die Synthesevorschriften der Dioxabicyclooctene

5.2.1.1 Synthese der 1,2-Dideoxy-D-*arabino*-hex-1-enopyranose - Glucal (2)

Ansatz:	10,56 g	(38,79 mmol)	3,4,6-Tri-O-acetyl-1,2-dideoxy-D-arabino-hex-
			1-enopyranose (Tri-O-acetylglucal)
	0,20 g		Molekularsieb (gepulvert; 4 Å = 0,4 nm; aktiviert ⁽²⁴⁾)
	0,04 g	(1,67 mmol)	Lithiumhydroxid
	0,50 g		Ionentauscher (BIO-RAD; AG 50 W-X8; 100 - 200 mesh; hydrogen form)
	40 ml		Methanol (trocken)

Durchführung: In einem 100 ml Einhalskolben mit Gasansatz werden Tri-*O*-acetylglucal und Molekularsieb unter Inertgas bei Raumtemperatur in trockenem Methanol vorgelegt und 10 Minuten gerührt. Der farblosen Suspension wird Lithiumhydroxid zugesetzt. Nach 45 Minuten Rühren ist in der DC-Kontrolle ($V_{EE} = 100$; Indikator MPS) überwiegend Glucal (Rf = 0,21) neben wenig Mono-(Rf = 0,32) und Di-*O*-acetylglucal (Rf = 0,54), aber kein Edukt (Rf = 0,82) mehr erkennbar. Durch Zugabe des Ionentauschers wird die Reaktionslösung neutralisiert, anschließend weitere 45 Minuten gerührt und mittels Preßluft über eine trockene Säule (Kieselgel 60; $\emptyset = 4,9$ cm; h = 10 cm) gedrückt. Man spült die Säule portionsweise mit 100 ml Aceton nach und entfernt das Lösungsmittel des Eluats am Rotationsverdampfer. Das hochviskose, farblose Produkt kristallisiert im Hochvakuum innerhalb von 48 Stunden aus bzw. kann mittels Flashchromatographie (Kieselgel 60; $\emptyset = 4,5$ cm; h = 30 cm; $V_{EE} = 100$ - zu Beginn der Elution der Produktfraktion V_{EE} : $V_{MeOH} = 50:50$) weiter aufgereinigt werden.

Ausbeute: 5,66 g (38,73 mmol) 99,8 % der Theorie 2

Eigenschaften: stark hygroskopischer, farbloser, amorpher Festkörper;

Fp.^[9] = 57,5 - 58,5 °C; Rf = 0,21 ($V_{\text{EE}} = 100$)

Die Spektroskopischen Daten sind der Literatur^[9] zu entnehmen.

5.2.1.2 Synthese der 1,6-Anhydro-2,3-dideoxy- β -D-*erythro*-hex-2-enopyranose (3)

Ansatz:	1,46 g	(9,99 mmol)	1,2-Dideoxy-D-arabino-hex-1-enopyranose (Glucal)
	4,83 g	(30,26 mmol)	Kupfersulfat (getrocknet ⁽²⁵⁾)
	7,4 g		Molekularsieb (4 Å = 0.4 nm; aktiviert ⁽²⁵⁾)
	200 ml		Tetrahydrofuran (THF; getrocknet über Natrium; frisch destilliert)

⁽²⁴⁾ Das Molekularsieb (ca. 5 g) wird in einem 250 ml Einhalskolben mit Gasansatz und Siliconseptum fein an der Kolbenwandung verteilt und vier Stunden im Vakuum bei p < 0,2 mbar und einer Temperatur von t > 200 °C mittels Heißluftfön getrocknet.

⁽²⁵⁾ Das Kupfersulfat bzw. das Molekularsieb werden in einem 100 ml Einhalskolben mit Gasansatz und Siliconseptum eine Stunde im Hochvakuum mit dem Heißluftfön erhitzt. Der Heißluftfön sollte eine Temperatur von t > 600 °C erreichen. Der Trocknungsvorgang ist abgeschlossen, sobald die Vakuumanlage ihr Endvakuum, aber mindestens einen Druck von p < 0,2 mbar für eine Zeitspanne von 15 Minuten erreicht.

н Н_е

Durchführung: Die Apparatur besteht aus einem 250 ml Zweihalskolben mit Gasansatz, einem 100 ml *Soxhlet*-Extraktor und einem Rückflußkühler mit Gasableitung über einen Ölblasenzähler mit Rückschlagventil. In den *Soxhlet*-Extraktor wird eine Extraktionshülse ($\emptyset = 33 \text{ mm}$; l = 130 mm) eingebracht, die eine weitere Extraktionshülse mit geringerem Durchmesser ($\emptyset = 22 \text{ mm}$; l = 80 mm) beinhaltet. Die innere Extraktionshülse ist mit 18 g Phosphorpentoxid als Trockenmittel gefüllt.

Das Kupfersulfat und das Molekularsieb werden bei Raumtemperatur unter Inertgas in trockenem THF unter kräftigem Rühren suspendiert und das Glucal hinzugegeben. Anschließend erhitzt man die Reaktionslösung bis zum Sieden. Nach dem Einsetzen der Tropfenbildung im Rückflußkühler wird 45 Minuten kräftig gerührt. Die Reaktionskontrolle mittels DC ($V_{EE} = 100$; Indikator MPS) ergibt eine fast vollständige Umsetzung des Edukts ($R_f = 0,21$) zu einem Haupt- ($R_f = 0,51$) und einem Nebenprodukt ($R_f = 0,59$). Die nach dem Absetzen des heterogenen Festkörpers nahezu farblose Reaktionslösung wird heiß mittels einer Fritte (Por. 4) filtriert, der Rückstand mit 250 ml Essigsäure-ethylester gewaschen und die klare Lösung mit Triethylamin unter Rühren neutralisiert. Nach der Zugabe von etwa 3 g Kieselgel 60 entfernt man das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer. Während der Flashsäulenchromatographie (Kieselgel 60; $\emptyset = 2,9$ cm; h = 35 cm; $V_{EE}:V_{CH_2CL_2} = 1:4$; 5,6 ^{ml}/_{min}) wird zuerst das Produkt (**3**; $R_f = 0,13$; $V_{EE}:V_{CH_2CL_2} = 1:4$) und dann das Nebenprodukt (**4**; $R_f = 0,08$; $V_{EE}:V_{CH_2CL} = 1:4$) eluiert. Nach dem Abdestillieren des Lösungsmittels am Rotationsverdampfer erhält man ein farbloses Öl, das sich im Hochvakuum sublimieren und an einer Teflon-Griffbundhülse in Form kleiner Kristalle resublimieren läßt. Das Öl kristallisiert durch Animpfen oder nach einigen Tagen bei kühler Lagerung.

Ausbeute: 0,56 g (4,37 mmol) 43,7 % der Theorie 3

Eigenschaften: verwachsene, farblose Nadeln bzw. nach Resublimation bei RT und p < 0.5 mbar rautenförmige, farblose, stark lichtbrechende Einkristalle, die der Kristallstrukturanalyse zugänglich sind; Fp.^[9] = 53 - 56 °C; $R_f = 0.51$ ($V_{EE} = 100$; Indikator MPS)

¹H-NMR (250 MHz, CDCl₃):

$$\delta = 6,02 \text{ (dd; } {}^{3}J_{2-H,3-H} = 9,8 \text{ Hz; } {}^{3}J_{2-H,1-H} = 3,5 \text{ Hz; } 1\text{H; } 2-H)$$
5,85 (dddd; ${}^{3}J_{3-H,2-H} = 9,5 \text{ Hz; } {}^{3}J_{3-H,4-H} = 4,3 \text{ Hz;}$
 ${}^{4}J_{3-H,5-H} = 1,9 \text{ Hz; } {}^{4}J_{3-H,0-H} = 0,7 \text{ Hz; } 1\text{H; } 3-H)$
5,52 (d; ${}^{3}J = 3,5 \text{ Hz; } 1\text{H; } 1-H)$
4,66 (ddd; ${}^{3}J_{5-H,6-Hx} = 6,4 \text{ Hz; } {}^{3}J_{5-H,6-He} = 1,8 \text{ Hz; } {}^{3}J_{5-H,4-H} = 1,8 \text{ Hz; } {}^{4}J_{5-H,3-H} = 1,8 \text{ Hz;}$
1H; 5-H)
3,94 (dd; ${}^{2}J = 7,9 \text{ Hz; } {}^{3}J = 6,6 \text{ Hz; } 1\text{H; } 6-H_x)$
3,66 (ddd; ${}^{3}J_{4-H,0-H} = 10,5 \text{ Hz; } {}^{3}J_{4-H,3-H} = 4,2 \text{ Hz; } {}^{3}J_{4-H,5-H} = 0,9 \text{ Hz; } 1\text{H; } 4-H)$
3,46 (dd; ${}^{2}J = 7,9 \text{ Hz; } {}^{3}J = 2,2 \text{ Hz; } 1\text{H; } 6-H_e)$
2,55 (d; ${}^{3}J = 10,4 \text{ Hz; } 1\text{H; } 0-H)$

MS (EI⁺; $C_6H_8O_3$; $M = 128,13 \text{ g/}_{mol}$):

 $m/z (\%) = 128 (16,8) [M]^+; 110 (1,7) [M-H_2O]^+; 99 (18,3) [M-CHO]^+; 81 (79,1) [C_5H_5O]^+;$ $68 (94,5) [C_4H_4O]^+; 57 (100) [C_3H_5O]^+$ ber.: 128,0473gef.: 128,0469

Elementaranalyse:

ber.: H 6,30 % / C 56,23 % / O 37,47 % gef.: H 6,34 % / C 55,54 % / O 38,12 %

Die spektroskopischen Daten des Nebenprodukts 4 sind der Literatur^[9] zu entnehmen.

5.2.1.3 Synthese der 1,6-Anhydro-3,4-dideoxy-β-D-*erythro*-hex-3-enopyranose (5)

Ansatz:	0,19 g	(1,48 mmol)	1,6-Anhydro-2,3-dideoxy-β-D- <i>erythro</i> -hex-
			2-enopyranose
	0,49 g	$(3,04 \text{ mmol} \doteq 0,4 \text{ ml})$	Diethylaminoschwefeltrifluorid (DAST)
	7 ml		Dimethylformamid (DMF; frisch absolutiert)

Durchführung: In einem 25 ml Einhalskolben mit Seitenhahn wird die Pyranose bei t = -55 °C unter Inertgas und Rühren in frisch absolutiertem DMF vorgelegt, innerhalb 10 Minuten DAST mit einer Spritze zugetropft und 45 Minuten nachgerührt. Zur Hydrolyse des intermediär gebildeten Ameisensäureesters und des überschüssigen DASTs werden 1 ml Ethanol und 2 ml Wasser zugetropft. Während 2 Stunden erreicht die Reaktionslösung unter Rühren Raumtemperatur und wird anschließend mit gesättigter, wäßriger Natriumcarbonatlösung neutralisiert. Man entfernt das Reaktionsmedium am Rotationsverdampfer bei einem Druck von $p \approx 6$ mbar und einer Wasserbadtemperatur von $t \approx 40$ °C. Der zurückbleibende Festkörper wird in 20 ml Essigsäureethylester aufgenommen und etwa 10 Minuten im Ultraschallbad behandelt. Den unlöslichen Rückstand filtriert man ab (Fritte; Por. 4) und wäscht mit 140 ml Essigsäureethylester nach. Dem Filtrat werden 2 g Kieselgel 60 zugegeben und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abdestilliert. Die Säulenchromatographie (Kieselgel 60; $\emptyset = 2,3$ cm; h = 24 cm; $V_{\text{EE}}: V_n$ -Hexan = 2:3; 3,8 ^{ml}/_{min}) liefert als erste Fraktion das Produkt **5**. Das Eluat der Produktfraktion kann geringfügig mit dem Nebenprodukt **6** verunreinigt sein. Dies stört die nachfolgenden Synthesen nicht.

Eigenschaften: farbloser, amorpher Festkörper; Fp.^[9] = 56,5 - 58 °C; $R_f = 0.18 (V_{\text{EE}}: V_{n-\text{Hexan}} = 2:3; \text{ Indikator MPS})$

(0.86 mmol)

¹H-NMR (250 MHz, CDCl₃):

0.11 g

Ausbeute:

$$\delta = 6,18 \text{ (ddd; } {}^{3}J_{4\text{-H},3\text{-H}} = 9,8 \text{ Hz; } {}^{3}J_{4\text{-H},5\text{-H}} = 4,7 \text{ Hz; } {}^{4}J_{4\text{-H},2\text{-H}} = 0,9 \text{ Hz; } 1\text{H; } 4\text{-}H)$$

5,82 (ddd; ${}^{3}J_{3\text{-H},4\text{-H}} = 9,7 \text{ Hz; } {}^{3}J_{3\text{-H},2\text{-H}} = 3,9 \text{ Hz; } {}^{4}J_{3\text{-H},1\text{-H}} = 2,0 \text{ Hz; } 1\text{H; } 3\text{-}H)$

58,1 % der Theorie 5
5,52 (dd;
$${}^{3}J$$
 = 1,6 Hz; ${}^{4}J_{1-H,3-H}$ = 1,6 Hz; 1H; 1-*H*)
4,68 (ddd; ${}^{3}J_{5-H,4-H}$ = 4,7 Hz; ${}^{3}J_{5-H,6-Hx}$ = 3,2 Hz;
 ${}^{3}J_{5-H,6-He}$ = 1,5 Hz; 1H; 5-*H*)
3,72 - 3,67 (m; 2H; 6-*H*x/6-*H*e)
3,63 (dddd; ${}^{3}J_{2-H,0-H}$ = 10,8 Hz; ${}^{3}J_{2-H,3-H}$ = 4,0 Hz;
 ${}^{3}J_{2-H,1-H}$ = 1,1 Hz; ${}^{4}J_{2-H,4-H}$ = 0,9 Hz; 1H; 2-*H*)
1,95 (d; ${}^{3}J$ = 10,8 Hz; 1H; O-*H*)



MS (EI⁺; C₆H₈O₃; $M = 128,13 \text{ g/}_{mol}$):

m/z (%) = 128 (0,1) [M]⁺; 110 (0,2) [M-H₂O]⁺; 99 (3,2) [M-CHO]⁺; 81 (100) [C₅H₅O]⁺; 29 (17,3) [CHO]⁺

5.2.1.4 Synthese der 2-O-Tosyl-1,6-anhydro-3,4-dideoxy-β-D-erythro-hex-3-enopyranose (90)

Ansatz:	0,22 g	(1,72 mmol)	1,6-Anhydro-3,4-dideoxy- β -D- <i>erythro</i> -hex-
			3-enopyranose
	0,96 g	(5,04 mmol)	p-Toluolsulfonylchlorid (Tosylchlorid)
	0,40 g	$(5,06 \text{ mmol} \doteq 0,41 \text{ ml})$	Pyridin (trocken)
	5 ml		Acetonitril (trocken; für die DNA-Synthese)

Durchführung: In einem 25 ml Einhalskolben mit Seitenhahn wird die Pyranose in trockenem Acetonitril bei Raumtemperatur unter Inertgas und Rühren gelöst und anschließend Pyridin und Tosylchlorid zugegeben. Nach 30 Minuten Reaktionszeit ist auf dem DC (VEE: Vn-Hexan = 2:3; UV254 nm bzw. Indikator MPS) ein intensiver Produktfleck ($R_f = 0.39$; UV_{254 nm} bzw. MPS) zu erkennen. Der Eduktfleck der Pyranose ($R_f = 0.18$; MPS) wird von Pyridin überlagert. Der Reaktionslösung werden zirka 2 g Kieselgel 60 zugegeben und das Lösungsmittel zunächst am Rotationsverdampfer, danach 1 Stunde im Hochvakuum entfernt. Man reinigt das Produkt 90 flashchromatographisch (Kieselgel 60; $\emptyset = 2,3 \text{ cm}; h = 28 \text{ cm}; V_{\text{EE}}: V_{n-\text{Hexan}} = 2:3; 17 \text{ m}/_{\text{min}}).$

0,34 g (1,20 mmol) 69,8 % der Theorie 90 Ausbeute:

Eigenschaften: farbloses Öl, das zu einem Festkörper erstarrt;

 $R_f = 0.39$ (V_{EE} : $V_{n-\text{Hexan}} = 2:3$; UV_{254 nm} bzw. Indikator MPS)

¹H-NMR (250 MHz, CDCl₃):

(250 MHz, CDCl₃):

$$\delta = 7,85 - 7,78 \text{ (m; 2H; Ts-}H)$$

$$7,39 - 7,31 \text{ (m; 2H; Ts-}H)$$

$$6,30 \text{ (ddd; }^{3}J_{4-H,3-H} = 9,7 \text{ Hz; }^{3}J_{4-H,5-H} = 4,7 \text{ Hz; }$$

$$\overset{H_{x}}{\overset{f}{\overset{}}_{3}} + \overset{H_{0}}{\overset{}}_{0} + \overset{H_{0}}{\overset{H_{0}}} + \overset{H_{0}}{\overset{}_{0} + \overset{H_{0}}{\overset{$$

5,49 (dd; ${}^{4}J_{1-H,3-H} = 1,7$ Hz; ${}^{3}J = 1,4$ Hz; 1H; 1-*H*) 4,73 (ddd; ${}^{3}J_{5-H,4-H} = 4,9$ Hz; ${}^{3}J_{5-H,6-Hx} = 3,7$ Hz; ${}^{3}J_{5-H,6-He} = 1,3$ Hz; 1H; 5-*H*) 4,37 (ddd; ${}^{3}J_{2-H,3-H} = 4,1$ Hz; ${}^{3}J_{2-H,1-H} = 1,0$ Hz; ${}^{4}J_{2-H,4-H} = 1,0$ Hz; 1H; 2-*H*) 3,64 (dd; ${}^{2}J = 7,0$ Hz; ${}^{3}J = 3,9$ Hz; 1H; 6-*H*x) 3,62 (dd; ${}^{2}J = 6,5$ Hz; ${}^{3}J = 1,0$ Hz; 1H; 6-*H*e) 2,45 (s; 3H; Ts-CH₃)

MS (EI⁺; $C_{13}H_{14}O_5S$; $M = 282,31 \text{ g/}_{mol}$):

 $m/z (\%) = 282 (3,6) [M]^+; 266 (3,3) [M-O]^+; 239 (0,5) [M-OCHCH_2]^+; 155 (78,1) [Ts]^+;$ $127 (4,1) [M-Ts]^+; 91 (100) [C_7H_7]^+; 81 (55,3) [C_5H_5O]^+; 43 (3,4) [OCHCH_2]^+$ ber.: 282,0562gef.: 282,0561

5.2.1.5 Synthese der 2-Brom-1,6-anhydro-2,3,4-trideoxy-β-D-*erythro*-hex-3-enopyranose und 4-Brom-1,6-anhydro-2,3,4-trideoxy-β-D-*erythro*-hex-2-enopyranose (91 und 92)

Ansatz:	0,14 g	(0,50 mmol)	2-O-Tosyl-1,6-anhydro-3,4-dideoxy- β -D- <i>erythro</i> -
			hex-3-enopyranose
	0,20 g	(0,53 mmol)	Kryptofix [®] 222 (im Hochvakuum getrocknet)
	0,13 g	(1,09 mmol)	Kaliumbromid (im Hochvakuum getrocknet)
	5 ml		Acetonitril (trocken; für die DNA-Synthese)

Durchführung: In einem 25 ml Einhalskolben mit Seitenhahn löst man die Tosylverbindung in trockenem Acetonitril unter Inertgas und Rühren und gibt Kryptofix[®] 222 und Kaliumbromid zu. Nach 1 Stunde Reaktionszeit unter Rückfluß ist in der DC-Kontrolle ($V_{\text{EE}}: V_{n-\text{Hexan}} = 2:3$; UV_{254 nm} bzw. Indikator MPS) neben dem Eduktfleck ($R_f = 0,39$; UV_{254 nm} bzw. MPS) ein Produktfleck ($R_f = 0,56$; UV_{254 nm} bzw. MPS) zu erkennen. Das Lösungsmittel wird im Inertgasstrom bei Raumtemperatur entfernt, der Rückstand mit etwa 2 ml Diethylether im Ultraschallbad behandelt und nach dem Absetzen der festen Anteile der Überstand mit einer Spritze aufgenommen. Anschließend gibt man *n*-Pentan zu, so daß sich das Mischungsverhältnis der mobilen Phase, $V_{\text{Et},0}: V_{n-\text{Pentan}} = 2:3$, ergibt. Die hierbei entstehende Trübung der Lösung wird mit einem Spritzenfilter (Millex-HV) entfernt und das Solvens am Rotationsverdampfer auf ein Aufgabevolumen von $V \approx 1$ ml eingeengt. Die präparative Trennung erfolgt mittels HPLC⁽²⁶⁾. Hierbei erhält man zwei Produktfleck ($R_f = 0,56$) überlagern. Das Lösungsmittel wird der jeweiligen Fraktion am Rotationsverdampfer bei einer Wasserbadtemperatur von t < 30 °C entzogen.

HPLC-Säule: $Merck^{\mathbb{R}}$; LiChrosorb[®] Si 60 (7 µm); Hibar[®] Fertigsäule RT; 250 × 25 mm mobile Phase: $V_{\text{Et},0}$: $V_{n-Pentan} = 2:3$; isokratisch; 10 ^{ml}/_{min}

Ausbeute:	13,5 mg	(0,07 mmol)	14,0 % der Theorie 91
	7,8 mg	(0,04 mmol)	8,0 % der Theorie 92

Eigenschaften: 91: farbloses Öl; $R_f = 0,56$ (V_{EE} : $V_{n-\text{Hexan}} = 2:3$; Indikator MPS); $T_{\text{R}}^{(26)} = 16,92$ min 92: farbloses Öl; $R_f = 0,56$ (V_{EE} : $V_{n-\text{Hexan}} = 2:3$; Indikator MPS); $T_{\text{R}}^{(26)} = 19,36$ min

¹H-NMR (250 MHz, CDCl₃) von 91:

- $\delta = 6,10 \text{ (ddd; } {}^{3}J_{4\text{-H},3\text{-H}} = 9,6 \text{ Hz; } {}^{3}J_{4\text{-H},5\text{-H}} = 4,8 \text{ Hz;}$ ${}^{4}J_{4\text{-H},2\text{-H}} = 1,2 \text{ Hz; } 1\text{H; } 4\text{-}H)$ 5,90 (ddd; ${}^{3}J_{3\text{-H},4\text{-H}} = 9,7 \text{ Hz; } {}^{3}J_{3\text{-H},2\text{-H}} = 3,7 \text{ Hz;}$ ${}^{4}J = 1,9 \text{ Hz; } 1\text{H; } 3\text{-}H)$ 5,71 (d; ${}^{3}J = 1,6 \text{ Hz; } 1\text{H; } 1\text{-}H)$ 4,77 (ddd; ${}^{3}J_{5\text{-H},4\text{-H}} = 4,6 \text{ Hz; } J_{5\text{-H},6\text{-Hx}} = 3,8 \text{ Hz; } {}^{3}J_{5\text{-H},6\text{-He}} = 0,8 \text{ Hz; } 1\text{H; } 5\text{-}H)$ 4,23 (ddd; ${}^{3}J_{2\text{-H},3\text{-H}} = 3,8 \text{ Hz; } {}^{3}J_{2\text{-H},1\text{-H}} = 1,8 \text{ Hz; } {}^{4}J_{2\text{-H},4\text{-H}} = 1,2 \text{ Hz; } 1\text{H; } 2\text{-}H)$ 3,81 (dd; ${}^{2}J = 6,4 \text{ Hz; } {}^{3}J = 4,0 \text{ Hz; } 1\text{H; } 6\text{-}Hx$)
 - 3,77 (dd; ${}^{2}J = 6,6$ Hz; ${}^{3}J = 1,0$ Hz; 1H; 6-*H*e)

¹³C-NMR (62,9 MHz, CDCl₃) von 91:

 $\delta = 129,36$ (C-4); 125,99 (C-3); 101,95 (C-1); 71,38 (C-6); 70,60 (C-5); 44,18 (C-2)

MS (EI⁺; C₆H₇O₂Br; M = 191,02 g/mol) von 91:

 $m/z (\%) = 192 (3,3) [M+2]^+; 190 (3,5) [M]^+; 163 (13,2) [M-CHO+2]^+; 161 (13,4) [M-CHO]^+;$ $121 (3,0) [M-C_4H_7O+2]^+; 119 (3,0) [M-C_4H_7O]^+; 111 (43,0) [M-Br]^+;$ $81 (100) [C_5H_5O]^+; 29 (5,8) [CHO]^+$

¹H-NMR (250 MHz, CDCl₃) von 92:



¹³C-NMR (62,9 MHz, CDCl₃) von 92:

 $\delta = 128,76 (C-2); 126,09 (C-3); 95,69 (C-1); 76,88 (C-5); 65,59 (C-6); 45,39 (C-4)$

MS (EI⁺; C₆H₇O₂Br; $M = 191,02 \text{ g/}_{mol}$) von 92:

 $m/z (\%) = 192 (8,5) [M+2]^+; 190 (8,7) [M]^+; 163 (3,1) [M-CHO+2]^+; 161 (4,9) [M-CHO]^+;$ $121 (17,8) [M-C_4H_7O+2]^+; 119 (17,8) [M-C_4H_7O]^+; 111 (92,5) [M-Br]^+;$ $81 (100) [C_5H_5O]^+; 29 (16,0) [CHO]^+$ a

- - - 1

5.2.2.1	Synthese der		
	4- <i>0</i> -Tosyl-1,6-an	hydro-2,3-dideoxy-β-D-o	erythro-hex-2-enopyranose (96)
Ansatz:	0,23 g	(1,80 mmol)	1,6-Anhydro-2,3-dideoxy-β-D- <i>erythro</i> -hex-
			2-enopyranose
	1,14 g	(5,98 mmol)	p-Toluolsulfonylchlorid (Tosylchlorid)
	0,49 g	$(6,19 \text{ mmol} \doteq 0,50 \text{ ml})$	Pyridin (trocken)
	5 ml		Acetonitril (trocken; für die DNA-Synthese)

Durchführung: In einem 25 ml Einhalskolben mit Gasansatz werden die Pyranose und das Pyridin in trockenem Acetonitril unter Inertgas und Rühren bei Raumtemperatur gelöst und das Tosylchlorid zugegeben. Nach 30 Minuten Reaktionszeit ist in der DC-Kontrolle (*V*EE: *Vn*-Hexan = 2:3; UV254 nm bzw. Indikator MPS) statt des Eduktflecks ($R_f = 0.13$; MPS) ein intensiver Produktfleck ($R_f = 0.45$; UV_{254 nm} und MPS) neben einem schwachen Nebenproduktfleck ($R_f = 0,25$; UV_{254 nm}) zu erkennen. Der farblosen Reaktionslösung werden 2 g Kieselgel 60 zugegeben und das Lösungsmittel zunächst am Rotationsverdampfer, später im Hochvakuum entfernt. Man isoliert das Produkt 96 mittels Flashchromatographie (Kieselgel 60; $\emptyset = 2,3$ cm; h = 30 cm; V_{EE} : $V_{n-\text{Hexan}} = 2:3; 7$ ^{ml}/_{min}).

58,9 % der Theorie 96

Eigenschaften: farbloses, bei Raumtemperatur und unter Inertgas unbeständiges Öl; $R_f = 0,45$ (V_{EE} : $V_{n-\text{Hexan}} = 2:3$; UV_{254 nm} bzw. Indikator MPS)

(1,06 mmol)

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃):

0,30 g

Ausbeute:

$$\delta = 7,84 - 7,80 \text{ (m; 2H; Ts-}H)$$
7,38 - 7,33 (m; 2H; Ts-H)
6,17 (dd; ³J_{2-H,3-H} = 9,6 Hz; ³J_{2-H,1-H} = 3,5 Hz;
⁴J_{2-H,4-H} = 0,9 Hz; 1H; 2-H)
5,63 (ddd; ³J_{3-H,2-H} = 9,6 Hz; ³J_{3-H,4-H} = 4,4 Hz; ⁴J_{3-H,5-H} = 1,9 Hz; ⁴J_{3-H,1-H} = 0,8 Hz;
1H; 3-H)
5,55 (dddd; ³J_{1-H,2-H} = 3,4 Hz; ⁴J_{1-H,3-H} = 0,7 Hz; ⁴J_{1-H,6-Hx} = 0,3 Hz; ⁴J_{1-H,6-He} = 0,3 Hz;
1H; 1-H)
4,78 (dddd; ³J_{5-H,6-Hx} = 6,6 Hz; ³J_{5-H,6-He} = 2,0 Hz; ⁴J_{5-H,3-H} = 2,0 Hz; ³J_{5-H,4-H} = 1,4 Hz;
1H; 5-H)
4,53 (ddd; ³J_{4-H,3-H} = 4,4 Hz; ³J_{4-H,5-H} = 1,4 Hz; ⁴J_{4-H,2-H} = 0,9 Hz; 1H; 4-H)
3,92 (ddd; ²J = 8,3 Hz; ³J = 6,7 Hz; ⁴J_{6-Hx,1-H} = 0,3 Hz; 1H; 6-Hx)
3,43 (ddd; ²J = 8,3 Hz; ³J = 2,1 Hz; ⁴J_{6-He,1-H} = 0,4 Hz; 1H; 6-He)
2,45 (s; 3H; Ts-CH₃)

MS (EI⁺; $C_{13}H_{14}O_5S$; $M = 282,31 \text{ g/}_{mol}$):

m/z (%) = 282 (13,7) $[M]^+$; 239 (1,3) $[M-OCHCH_2]^+$; 155 (16,5) $[Ts]^+$; 127 (40,0) $[M-Ts]^+$;

91 (48,9) [C₇H₇]⁺; 81 (59,8) [C₅H₅O]⁺; 45 (100) [C₂H₅O]⁺; 43 (19,1) [OCHCH₂]⁺; 29 (6,5) [CHO]⁺ ber.: 282,0562 gef.: 282,0559

5.2.2.2 Synthese der 2-Brom-1,6-anhydro-2,3,4-trideoxy-β-D-*erythro*-hex-3-enopyranose und 4-Brom-1,6-anhydro-2,3,4-trideoxy-β-D-*erythro*-hex-2-enopyranose (91 und 92)

Ansatz:	0,30 g	(1,06 mmol)	4- <i>O</i> -Tosyl-1,6-anhydro-2,3-dideoxy-β-D- <i>erythro</i> -
			hex-2-enopyranose
	0,38 g	(1,01 mmol)	Kryptofix [®] 222 (getrocknet im Hochvakuum)
	0,15 g	(1,26 mmol)	Kaliumbromid (getrocknet im Hochvakuum)
	3 ml		Acetonitril (trocken; für die DNA-Synthese)

Durchführung: In einem 10 ml Einhalskolben mit Seitenhahn werden Kaliumbromid und Kryptofix[®] 222 unter Inertgas vorgelegt und die in trockenem Acetonitril gelöste Tosylverbindung zugegeben. Nach kurzer Behandlung im Ultraschallbad wird die Reaktionslösung 25 Minuten unter Rückfluß und Inertgas gerührt. Auf dem DC (V_{EE} : $V_{n-\text{Hexan}} = 2:3$; Indikator MPS) erkennt man keinen Eduktfleck ($R_f = 0,45$) mehr, hingegen den schwachen Fleck eines Nebenprodukts ($R_f = 0,68$) und einen Produktfleck ($R_f = 0,59$) hoher Intensität. Letzterer entwickelt sich mit dem Indikator Molybdatophosphorsäure im Heißluftstrom in zwei Stufen, was auf zwei sich überlagernde Produkte schließen läßt. Die Aufarbeitung erfolgt wie unter **Kapitel 5.2.1.5** beschrieben. Bei der präparativen Trennung mittels HPLC⁽²⁷⁾ erhält man zwei Produktfraktionen **91** ($T_R = 17,05$ min) und **92** ($T_R = 20,20$ min). Das Lösungsmittel wird der jeweiligen Fraktion am Rotationsverdampfer bei einer Wasserbadtemperatur von t < 30 °C entzogen.

Ausbeute:	76,4 mg	(0,40 mmol)	37,7 % der Theorie 91
	19,1 mg	(0,10 mmol)	9,4 % der Theorie 92

Eigenschaften: 91: farbloses Öl; $R_f = 0,64$ (V_{EE} : $V_{n-Hexan} = 2:3$; Indikator MPS); $T_R^{(27)} = 17,05$ min 92: farbloses Öl; $R_f = 0,59$ (V_{EE} : $V_{n-Hexan} = 2:3$; Indikator MPS); $T_R^{(27)} = 20,20$ min

¹H-NMR (250 MHz, CDCl₃) von 91:

$$\delta = 6,10 \text{ (ddd; } {}^{3}J_{4\text{-H},3\text{-H}} = 9,8 \text{ Hz; } {}^{3}J_{4\text{-H},5\text{-H}} = 4,6 \text{ Hz;}$$

$${}^{4}J_{4\text{-H},2\text{-H}} = 1,0 \text{ Hz; } 1\text{H; } 4\text{-}H)$$

$$5,90 \text{ (ddd; } {}^{3}J_{3\text{-H},4\text{-H}} = 9,6 \text{ Hz; } {}^{3}J_{3\text{-H},2\text{-H}} = 3,8 \text{ Hz;}$$

$$J = 2,1 \text{ Hz; } 1\text{H; } 3\text{-}H)$$

$$5,71 \text{ (d; } {}^{3}J = 1,0 \text{ Hz; } 1\text{H; } 1\text{-}H)$$



⁽²⁷⁾ HPLC-Säule: $Merck^{\text{(B)}}$; LiChrosorb^(B) Si 60 (7 µm); Hibar^(B) Fertigsäule RT; 250 × 25 mm mobile Phase: $V_{\text{Et}_2\text{O}}$: $V_{n-\text{Pentan}} = 2:3$; isokratisch; 10 ^{ml}/_{min}

4,77 (ddd; ${}^{3}J_{5-H,4-H} = 4,8$ Hz; ${}^{3}J_{5-H,6-Hx} = 3,8$ Hz; ${}^{3}J_{5-H,6-He} = 1,0$ Hz; 1H; 5-*H*) 4,23 (ddd; ${}^{3}J_{2-H,3-H} = 3,8$ Hz; ${}^{3}J_{2-H,1-H} = 0,7$ Hz; ${}^{4}J_{2-H,4-H} = 0,7$ Hz; 1H; 2-*H*) 3,81 (dd; ${}^{2}J = 6,5$ Hz; ${}^{3}J = 3,8$ Hz; 1H; 6-*H*x) 3,77 (dd; ${}^{2}J = 6,5$ Hz; ${}^{3}J = 1,0$ Hz; 1H; 6-*H*e)

¹³C-NMR (62,9 MHz, CDCl₃) von 91:

 $\delta = 129,34$ (C-4); 125,98 (C-3); 101,94 (C-1); 71,37 (C-6); 70,59 (C-5); 44,18 (C-2)

MS (EI⁺; C₆H₇O₂Br; $M = 191,02 \text{ g/}_{mol}$) von 91:

 $m/z (\%) = 192 (1,2) [M+2]^+; 190 (1,2) [M]^+; 163 (6,8) [M-CHO+2]^+; 161 (6,8) [M-CHO]^+; 111 (8,8) [M-Br]^+; 81 (100) [C_5H_5O]^+; 29 (32,6) [CHO]^+$

¹H-NMR (250 MHz, CDCl₃) von 92:

$$\delta = 5,97 \text{ (dd; } {}^{3}J_{2-H,3-H} = 9,7 \text{ Hz; } {}^{3}J_{2-H,1-H} = 3,2 \text{ Hz; } 2-H)$$

$$5,92 \text{ (ddd; } {}^{3}J_{3-H,2-H} = 9,4 \text{ Hz; } {}^{3}J_{3-H,4-H} = 3,5 \text{ Hz;}$$

$$J = 1,5 \text{ Hz; } {}^{4}J_{3-H,1-H} = 1,3 \text{ Hz; } 1\text{ H; } 3-H)$$

$$5,61 \text{ (dd; } {}^{3}J = 3,2 \text{ Hz; } {}^{4}J_{1-H,3-H} = 1,2 \text{ Hz; } 1\text{ H; } 1-H)$$

$$4,83 \text{ (ddd; } {}^{3}J_{5-H,6-Hx} = 6,3 \text{ Hz; } {}^{3}J_{5-H,6-He} = 3,2 \text{ Hz; } {}^{3}J_{5-H,4-H} = 1,4 \text{ Hz; } 1\text{ H; } 5-H)$$

$$4,35 \text{ (dd; } {}^{3}J_{4-H,3-H} = 3,2 \text{ Hz; } {}^{3}J_{4-H,5-H} = 1,2 \text{ Hz; } 1\text{ H; } 4-H)$$

$$4,00 \text{ (dd; } {}^{2}J = 8,5 \text{ Hz; } {}^{3}J = 6,5 \text{ Hz; } 1\text{ H; } 6-H_x)$$

$$3,58 \text{ (dd; } {}^{2}J = 8,5 \text{ Hz; } {}^{3}J = 2,0 \text{ Hz; } 1\text{ H; } 6-H_e)$$

¹³C-NMR (62,9 MHz, CDCl₃) von 92:

 $\delta = 128,77 (C-2); 126,11 (C-3); 95,72 (C-1); 76,90 (C-5); 65,61 (C-6); 45,39 (C-4)$

MS (EI⁺; C₆H₇O₂Br; M = 191,02 g/mol) von 92:

 $m/z (\%) = 192 (4,2) [M+2]^+; 190 (4,4) [M]^+; 163 (1,4) [M-CHO+2]^+; 161 (2,0) [M-CHO]^+;$ $121 (7,1) [M-C_4H_7O+2]^+; 119 (7,5) [M-C_4H_7O]^+; 111 (94,1) [M-Br]^+;$ $81 (100) [C_5H_5O]^+; 29 (7,5) [CHO]^+$

5.2.2.3 Synthese der

2-[⁷⁵Br]Brom-1,6-anhydro-2,3,4-trideoxy-β-D-*erythro*-hex-3-enopyranose und 4-[⁷⁵Br]Brom-1,6-anhydro-2,3,4-trideoxy-β-D-*erythro*-hex-2-enopyranose (97 und 98)

Ansatz:	0,1	2 g	(0,43 mmol)	4- <i>O</i> -Tosyl-1,6-anhydro-2,3-dideoxy-β-D- <i>erythro</i> -
				hex-2-enopyranose (Markierungsvorläufer)
	0,4	0 g	(1,06 mmol)	Kryptofix [®] 222
	8	ml		Acetonitril (trocken; für die DNA-Synthese)
	829	MBq	(22,4 mCi)	[⁷⁵ Br]Bromwasserstoff; wäßrig; zum Zeitpunkt To

Durchführung: Die Apparatur besteht aus einem 10 ml Einhalskolben mit Gasansatz, einem Siliconseptum mit Kanüle und Dreiwegeanschluß, einer Membranpumpe mit Arbeitskühlfalle und

H_x H

einem Magnetrührer mit Heizplatte. Zur Durchführung der Reaktion wird die wäßrige Bromidlösung nach der Aktivitätsbestimmung in den Einhalskolben gegeben und das Wasser im Vakuum bei einer Heizbadtemperatur von $t \approx 90$ °C abdestilliert. Die weitere azeotrope Trocknung erfolgt nach kurzer Abkühlung des Reaktionsgefäßes durch Zugabe von 2 ml trockenem Acetonitril und dessen Entfernung bei $t \approx 80$ °C im Vakuum. Die Trocknung wird zweimal wiederholt. Unter Inertgas fügt man bei $t \approx 65$ °C eine Lösung aus Kryptofix[®] 222 in 1 ml trockenem Acetonitril zu, rührt, bis eine klare Lösung entstanden ist, und versetzt diese mit der Lösung des Markierungsvorläufers in 1 ml trockenem Acetonitril. Die Reaktionszeit beträgt 30 Minuten, die Reaktionstemperatur $t \approx 65$ °C. Danach wird das Acetonitril im Inertgasstrom bei $t \approx 55$ °C entfernt und der Rückstand mit 1 ml Diethylether extrahiert. Zu der etherischen Produktlösung gibt man *n*-Pentan, so daß ein Mischungsverhältnis von $V_{\text{Et},0}$: $V_{n-\text{Pentan}} = 2:3$ entsteht, und entfernt den ausfallenden Festkörper mit Hilfe eines Spritzenfilters (Millex-HV). Die klare Lösung wird am Rotationsverdampfer auf $V \approx 1$ ml eingeengt und das Produkt mittels präparativer HPLC⁽²⁸⁾ gereinigt. Hierbei ergeben sich zwei Produktfraktionen **97** ($T_{\text{R}} = 16,98 \text{ min}/T_{\text{R}} = 17,65 \text{ min}$) und **98** ($T_{\text{R}} = 20,31 \text{ min}$). Die Gesamtreaktionszeit von T_0 bis zum Start des HPLC-Laufs beträgt $\Delta T = 105 \text{ min}$.

Ausbeute:	8,66 MBq	(0,234 mCi)	1,0 % der Theorie 97; unkorrigiert;		
			gemessen zum Zeitpunkt $T = 130$ min nach T_0		
			2,7 % der Theorie 97 ; korrigiert auf Zeitpunkt T_0		
	0,59 MBq	(0,016 mCi)	0,1 % der Theorie 98 ; unkorrigiert;		
			gemessen zum Zeitpunkt $T = 130$ min nach T_0		

0,2 % der Theorie **98**; korrigiert auf Zeitpunkt T_0

Eigenschaften:	farb	lose, klare Lösung;
	97 :	$T_{\rm R}^{(28)} = 16,98 \text{ min}/17,65 \text{ min}$
	98 :	$T_{\rm R}^{(28)} = 20,31 {\rm min}$



5.2.2.4 Synthese des

Bis(1,6-anhydro-2,3,4-trideoxy-β-D-erythro-hex-3-enopyranos-2-yl)thioethers (108)

Ansatz:	0,15 g	(0,53 mmol)	4- <i>O</i> -Tosyl-1,6-anhydro-2,3-dideoxy-β-D- <i>erythro</i> -
			hex-2-enopyranose
	0,40 g	(1,06 mmol)	Kryptofix [®] 222 (getrocknet im Hochvakuum)
	0,08 g	(1,43 mmol)	Natriumhydrogensulfid (getrocknet im Hochvakuum)
	5 ml		Acetonitril (trocken; für die DNA-Synthese)

Durchführung: In einem 25 ml Einhalskolben mit Seitenhahn legt man unter Inertgas Kryptofix[®] 222 und Natriumhydrogensulfid ohne Lösungsmittel vor und fügt die in 5 ml trockenem Acetonitril

⁽²⁸⁾ HPLC-Säule: $Merck^{\text{(B)}}$; LiChrosorb^(B) Si 60 (7 µm); Hibar^(B) Fertigsäule RT; 250 × 25 mm mobile Phase: $V_{\text{Et}_2\text{O}}$: $V_{n-\text{Pentan}} = 2:3$; isokratisch; 10 ^{ml}/_{min}

gelöste Tosylverbindung bei Raumtemperatur hinzu. Nach 30 Minuten Reaktionszeit ist auf dem DC (V_{EE} : $V_{n-\text{Hexan}} = 2:3$; UV_{254 nm} bzw. Indikator MPS) der Fleck der Tosylverbindung ($R_f = 0.45$; UV_{254 nm} bzw. MPS) nicht mehr sichtbar. Statt dessen erkennt man den Produktfleck ($R_f = 0.37$; MPS) neben den Flecken des Kryptofix[®]-Natriumhydrogensulfid-Komplexes ($R_f = 0,28$; UV_{254 nm}) und eines nicht identifizierten Nebenprodukts ($R_f = 0.58$; MPS). Der gelben Reaktionslösung werden zirka 2 g Kieselgel 60 zugefügt und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abdestilliert. Die präparative Trennung erfolgt mit Hilfe der Säulenchromatographie (Kieselgel 60; $\emptyset = 2,3$ cm; h = 29 cm; $V_{Et,O}$: $V_{n-Pentan} = 2:1; 4,6 \text{ ml}/_{min}$), bei der das Produkt **108** als dritte von vier Fraktionen eluiert wird. Die zweite und vierte Fraktion stellen Mischfraktionen aus jeweils einer geringen Menge 108 mit einerseits dem Edukt und andererseits dem Kryptofix[®]-Natriumhydrogensulfid-Komplex dar.

Ausbeute: 10 (0.04 mmol)7.5 % der Theorie 108 mg

Eigenschaften: farbloser Festkörper; $R_f = 0.37$ (V_{EE} : $V_{n-\text{Hexan}} = 2:3$)

¹H-NMR (250 MHz, CDCl₃):

50 MHz, CDCl₃):

$$\delta = 6,11 (ddd; {}^{3}J_{4:H,3:H} = 9,5 Hz;$$

 ${}^{3}J_{4:H,5:H} = 4,7 Hz; {}^{4}J_{4:H,2:H} = 1,9 Hz;$
 $1H; 4-H)$
 $5,71 (d; {}^{3}J = 1,3 Hz; 1H; 1-H)$
 $5,62 (ddd; {}^{3}J_{3:H,4:H} = 9,7 Hz; {}^{3}J_{3:H,2:H} = 3,9 Hz; J = 1,9 Hz; 1H; 3-H)$
 $4,68 (ddd; {}^{3}J_{5:H,6:Hx} = 4,5 Hz; {}^{3}J_{5:H,4:H} = 4,2 Hz; {}^{3}J_{5:H,6:He} = 0,3 Hz; 1H; 5-H)$
 $3,84 (dd; {}^{2}J = 6,5 Hz; {}^{3}J = 0,3 Hz; 1H; 6-He)$
 $3,74 (dd; {}^{2}J = 6,5 Hz; {}^{3}J = 4,5 Hz; 1H; 6-Hx)$
 $3,22 (dddd; {}^{3}J_{2:H,3:H} = 3,9 Hz; {}^{3}J_{2:H,1:H} = 1,9 Hz; {}^{4}J_{2:H,4:H} = 1,0 Hz; J = 1,0 Hz; 1H; 2-H)$

¹³C-NMR (62,9 MHz, CDCl₃):

 $\delta = 129,52 (C-4); 125,51 (C-3); 104,36 (C-1); 71,87 (C-6); 70,82 (C-5); 43,71 (C-2)$

MS (EI⁺; $C_{12}H_{14}O_4S$; M = 254,30 g/mol):

m/z (%) = 254 (4,8) [M]⁺; 220 (62,1) [M-H₂S]⁺; 205 (100) [M-H₂S-CH₃]⁺;

97 (21,5)
$$[C_5H_5O_2]^+$$
; 81 (18,1) $[C_5H_5O]^+$

ber.:	254,0613
gef.:	254,0610

5.2.3.1 Synthese der 3,4-Dichlor-1,6-anhydro-3,4-dideoxy-*β*-D-glucopyranose (113)

Ansatz:	0,10 g	(0,78 mmol)	1,6-Anhydro-3,4-dideoxy- β -D- <i>erythro</i> -hex-3-en		
			pyranose		
			Chlorgas		
	10 ml		Chloroform (trocken)		

Н

Durchführung: Die Reaktion wird in einem 100 ml Zweihalskolben mit Seitenhahn und Siliconseptum ausgeführt. Mit Hilfe einer Kapillare, die durch das Septum führt, wird das Chlorgas eingeleitet. Die Gasableitung erfolgt auf die gleiche Weise. Über den Seitenhahn kann die Apparatur evakuiert bzw. mit Inertgas befüllt werden. Die Pyranose wird unter Inertgasatmosphäre bei t = 0 °C in trockenem Chloroform vorgelegt. Unter kräftigem Rühren leitet man für 5 Minuten Chlorgas in die Reaktionslösung ein und verdrängt anschließend die Chlorgasatmosphäre in der Apparatur mit Hilfe des Inertgases. Auf dem DC (V_{EE} : $V_{n-Hexan} = 1:4$; Indikator MPS) ist ein Produktfleck ($R_f = 0,22$) hoher Intensität neben einem schwachen Eduktfleck ($R_f = 0,08$) und wenig Nebenprodukten erkennbar. Der Reaktionslösung werden 60 mg festes Kaliumcarbonat zugefügt und diese kräftig 12 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Nach der Zugabe von etwa 2 g Kieselgel 60 wird das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt und das Produkt **113** mittels Säulenchromatographie (Kieselgel 60; $\emptyset = 2,3$ cm; h = 20 cm; V_{EE} : $V_{n-Hexan} = 1:4$; 5 ^{ml}/_{min}) isoliert.

Die Nebenprodukte ergaben uneinheitliche, milchig-trübe Öle, die nicht identifiziert wurden.

 Ausbeute:
 70 mg
 (0,35 mmol)
 44,9 % der Theorie 113

Eigenschaften: farbloser, faseriger Festkörper geringer Dichte; Fp. = 81,0 - 82,9 °C; $R_f = 0,22 (V_{\text{EE}}: V_{n-\text{Hexan}} = 1:4; \text{ Indikator MPS})$

¹H-NMR (250 MHz, CDCl₃):

 $\delta = 5,56 - 5,52 \text{ (m; 1H; 1-H)}$ $4,67 \text{ (ddd; } {}^{3}J_{5-\text{H,6-Hx}} = 5,6 \text{ Hz; } {}^{3}J_{5-\text{H,6-He}} = 1,3 \text{ Hz;}$ ${}^{3}J_{5-\text{H,4-H}} = 1,3 \text{ Hz; 1H; 5-H}$ $4,37 \text{ (dd; } {}^{2}J = 8,2 \text{ Hz; } {}^{3}J = 0,7 \text{ Hz; 1H; 6-He}$ 4,29 - 4,25 (m; 1H; 4-H) 4,24 - 4,21 (m; 1H; 3-H) $3,87 \text{ (dd; } {}^{2}J = 8,2 \text{ Hz; } {}^{3}J = 5,6 \text{ Hz; 1H; 6-Hx}$ $3,82 \text{ (ddd; } {}^{3}J_{2-\text{H,0-H}} = 11,5 \text{ Hz; } {}^{3}J_{2-\text{H,1-H}} = 3,1 \text{ Hz; } {}^{3}J_{2-\text{H,3-H}} = 1,5 \text{ Hz; 1H; 2-H}$ $2,61 \text{ (d; } {}^{3}J = 11,8 \text{ Hz; 1H; 0-H}$

MS (EI⁺; C₆H₈O₃Cl₂; $M = 199,03 \text{ g/}_{mol}$):

- $m/z (\%) = 199 (1,6) [M-H+2]^+; 197 (2,6) [M-H]^+; 165 (7,8) [M-Cl+2]^+; 164 (1,6) [M-Cl+1]^+;$ $163 (23,7) [M-Cl]^+; 153 (4,7) [M-CHO-OH-H+2]^+; 151 (7,1) [M-CHO-OH-H]^+;$ $120 (2,7) [M-Cl-CHO-H+3]^+; 119 (32,3) [M-Cl-CHO-H+2]^+;$ $118 (6,2) [M-Cl-CHO-H+1]^+; 117 (100) [M-Cl-CHO-H]^+; 81 (38,1) [C_5H_5O]^+;$ $29 (21,8) [CHO]^+$ $ber.: 196,9772 [M-H]^+$
 - gef.: 196,9752 [M-H]⁺

5.2.3.2	Synthese	e der 3,4	4-Dibrom-1,6-anhydro-3	β,4-dideoxy- β -D-glucopyranose (114)
Ansatz:	32	mg	(0,25 mmol)	1,6-Anhydro-3,4-dideoxy-β-D- <i>erythro</i> -hex-
				3-enopyranose
	48	mg	$(0,30 \text{ mmol} \doteq 15 \mu\text{l})$	Brom in 1 ml Dichlormethan (trocken)
	10	ml		Dichlormethan (trocken)

Durchführung: In einem 25 ml Einhalskolben mit Seitenhahn wird die Pyranose unter Inertgas und Rühren bei t = 0 °C in 2 ml trockenem Dichlormethan gelöst und innerhalb 1 Stunde die Bromlösung zugetropft. Bei der DC-Kontrolle (V_{EE} : $V_{n-\text{Hexan}} = 1$:3; Indikator MPS) ist ausschließlich ein Produkt-fleck (Rf = 0,43) zu erkennen. Das saure Reaktionsmedium ($2 \le pH \le 3$) wird mit 30 mg festem Kaliumcarbonat versetzt und kräftig 12 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Nach der Zugabe von 7 ml Dichlormethan wäscht man die organische Phase zweimal mit je 15 ml Wasser und einmal mit 10 ml gesättigter, wäßriger Natriumchloridlösung. Ohne Trocknung wird die organische Phase mit 0,3 g Kieselgel 60 versetzt und das Solvens am Rotationsverdampfer abdestilliert. Man reinigt das Produkt **114** mittels Säulenchromatographie (Kieselgel 60; $\emptyset = 1,5$ cm; h = 19 cm; V_{EE} : $V_{n-\text{Hexan}} = 1$:3; $1,4 \text{ ml}/_{\text{min}}$).

 Ausbeute:
 29 mg
 (0,10 mmol)
 40 % der Theorie 114

Eigenschaften: farbloser, kristalliner Festkörper; $R_f = 0,43$ (V_{EE} : $V_{n-Hexan} = 1:3$; Indikator MPS)

¹H-NMR (250 MHz, CD₂Cl₂):

$$\delta = 5,54 - 5,51 \text{ (m; 1H; 1-H)}$$

$$4,76 \text{ (ddd; } {}^{3}J_{5-H,6-Hx} = 5,3 \text{ Hz; } {}^{3}J_{5-H,4-H} = 2,1 \text{ Hz;} \qquad H_{2}$$

$${}^{3}J_{5-H,6-He} = 1,3 \text{ Hz; 1H; 5-H}$$

$$4,51 \text{ (ddd; } {}^{3}J_{4-H,3-H} = 2,7 \text{ Hz; } {}^{3}J_{4-H,5-H} = 1,8 \text{ Hz;} \qquad H_{2}$$

$${}^{4}J_{4-H,6-Hx} = 0,6 \text{ Hz; 1H; 4-H}$$

$$4,48 \text{ (dd; } {}^{3}J_{3-H,4-H} = 2,9 \text{ Hz; } {}^{3}J_{3-H,2-H} = 1,6 \text{ Hz; 1H; 3-H}$$

$$4,46 \text{ (dd; } {}^{2}J = 8,0 \text{ Hz; } {}^{3}J = 1,0 \text{ Hz; 1H; 6-He}$$

$$4,00 - 3,92 \text{ (m; 1H; 2-H)}$$

$$3,80 \text{ (ddd; } {}^{2}J = 8,3 \text{ Hz; } {}^{3}J = 5,4 \text{ Hz; } {}^{4}J = 0,6 \text{ Hz; 1H; 6-Hx}$$

$$2,72 \text{ (d; } {}^{3}J = 11,5 \text{ Hz; 1H; O-H}$$

MS (EI⁺; C₆H₈O₃Br₂; $M = 287,94 \text{ g/}_{mol}$):

 $m/z (\%) = 209 (1,0) [M-Br+2]^+; 207 (1,0) [M-Br]^+; 164 (5,5) [C_5H_6OBr+3]^+;$ $163 (96,2) [C_5H_6OBr+2]^+; 162 (5,4) [C_5H_6OBr+1]^+; 161 (100) [C_5H_6OBr]^+;$ $81 (68,1) [C_5H_5O]^+; 29 (28,0) [CHO]^+$

0

П П

5.3 Die Synthesevorschriften für 3'-[¹⁸F]Fluor-3'-deoxythymidin und dessen Vorstufen

5.3.1 Die Triphenylmethyl-Reihe

5.3.1.1 Synthese des 5'-O-Tritylthymidins (76)

Ansatz:	5,15 g	(21,26 mmol)	Thymidin
	7,02 g	(25,18 mmol)	Triphenylmethylchlorid (Tritylchlorid)
	100 ml		Pyridin (trocken)

Durchführung: In einem 250 ml Dreihalskolben wird Tritylchlorid unter Inertgas und Rühren in trockenem Pyridin vorgelegt und das Thymidin zugegeben. Nach 30 Minuten Erhitzen auf $t \approx 110$ °C (Heizbadtemperatur) läßt man die schwach gelbe Reaktionslösung abkühlen und gießt diese langsam in 1,5 l kräftig gerührtes Eiswasser. Nach 30 Minuten Rühren wird die milchig-weiße Suspension abgesaugt, der Filterkuchen in Aceton gelöst und die Lösung abermals filtriert. Man entfernt das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer und trocknet den Festkörper 16 Stunden im Hochvakuum. Nach zweimaligem Umkristallisieren aus einem Benzol-Aceton-Gemisch erhält man das Produkt **76**.

Ausbeute: 8,60 g (17,75 mmol) 83,5 % der Theorie 76

Eigenschaften: faseriger, schwach gelber Festkörper;

Fp. = 133,0 - 136,9 °C; $R_f = 0,29 (V_{\text{MeOH}}: V_{\text{CH}_2\text{Cl}_2} = 1:19)$

¹H-NMR (250 MHz, CDCl₃):

$$\delta = 9,36 \text{ (s; 1H; N-}H)$$
7,56 (q; ⁴J = 1,1 Hz; 1H; 6-H)
7,44 - 7,19 (m; 15H; Tr-H)
6,42 (dd; ³J_{1'-H,2'-Hx} = 8,1 Hz;
³J_{1'-H,2'-He} = 5,9 Hz; 1H; 1'-H)
4,62 - 4,51 (m; 1H; 3'-H)
4,07 (ddd; ³J_{4'-H,5'-H} = 2,9 Hz; ³J_{4'-H,5'-H} = 2,9 Hz; ³J_{4'-H,3'-H} = 2,9 Hz; 1H; 4'-H)
3,45 (dd; ²J = 10,3 Hz; ³J = 2,9 Hz; 1H; 5'-H)
3,36 (dd; ²J = 10,5 Hz; ³J = 3,1 Hz; 1H; 5'-H)
3,07 (d; ³J = 4,4 Hz; 1H; 3'-O-H)
2,44 (ddd; ²J = 13,5 Hz; ³J_{2'-He,1'-H} = 5,8 Hz; ³J_{2'-He,3'-H} = 2,8 Hz; 1H; 2'-He)
2,29 (ddd; ²J = 13,7 Hz; ³J_{2'-Hx,1'-H} = 7,6 Hz; ³J_{2'-Hx,3'-H} = 6,2 Hz; 1H; 2'-Hx)
1,47 (d; ⁴J = 1,1 Hz; 3H; 5-CH₃)

MS (FAB⁺; *m*-NBA; $C_{29}H_{28}O_5N_2$; $M = 484,55 \text{ g/}_{mol}$): $m/z \ (\%) = 507 \ (12,3) \ [M+Na]^+$; $485 \ (10,8) \ [M+H]^+$; $484 \ (3,3) \ [M]^+$; $243 \ (100) \ [Tr]^+$

	<i>J</i>			
Ansatz:	0,9	6 g	(1,98 mmol)	5'-O-Tritylthymidin
	0,34	4 g	$(2,97 \text{ mmol} \doteq 0,23 \text{ ml})$	Methansulfonylchlorid (Mesylchlorid)
	0,5	0 g	$(4,94 \text{ mmol} \doteq 0,68 \text{ ml})$	Triethylamin
	15	ml		Tetrahydrofuran (getrocknet über Natrium; frisch destilliert)
	5	ml		Ethanol
	5	ml		1 M NaOH (aq)
	3,4	ml		10 M NaOH (aq)

5.3.1.2 Synthese des 1-(5-*O*-Trityl-2-deoxy-β-D-lyxofuranosyl)thymins (78)

Durchführung: In einem 50 ml Einhalskolben mit Seitenhahn werden 5'-*O*-Tritylthymidin und Triethylamin bei t = 0 °C unter Inertgas und Rühren in THF vorgelegt. Aus einer Spritze tropft man Mesylchlorid zu. Die zuvor farblose Lösung wird schwach gelb und trüb. Innerhalb von 30 Minuten läßt man die Reaktionslösung unter Rühren auf Raumtemperatur erwärmen. Statt des Eduktflecks ($R_f = 0,29$) ist im DC (V_{MeOH} : $V_{CH,CL_2} = 1:19$) der Fleck der mesylierten Verbindung ($R_f = 0,45$) zu erkennen. Anschließend werden der Reaktionslösung je 5 ml Wasser, Ethanol und 1 M Natronlauge zugesetzt und 1 Stunde unter Rückfluß gerührt. In der DC-Kontrolle (V_{MeOH} : $V_{CH,CL_2} = 1:19$) ist ausschließlich der Fleck der Anhydroverbindung ($R_f = 0,15$) sichtbar. Im Anschluß an die Zugabe von 3,4 ml 10 M Natronlauge wird 30 Minuten unter Rückfluß gerührt. Hierbei können sich zwei Phasen ausbilden. Auf der DC-Platte (V_{MeOH} : $V_{CH_2CL_2} = 1:19$) ist statt des Flecks der Anhydroverbindung ($R_f = 0,15$) der Produktfleck ($R_f = 0,33$) zu erkennen. Die Reaktionslösung wird mit zirka 6 g Kieselgel 60 versetzt und das Lösungsmittelgemisch am Rotationsverdampfer abdestilliert. Die folgende Säulenchromatographie unter Flashbedingungen (Kieselgel 60; $\emptyset = 2,9$ cm; h = 32 cm; V_{MeOH} : $V_{CH_2CL_2} = 1:19 + 0,1$ % Triethylamin; 8,5 ^{ml}/_{min}) liefert das Produkt **78**.

Bei Ansätzen, die Produktmengen von $m \ge 2,5$ g erwarten lassen, kann statt Säulenchromatographie nach folgender Vorschrift aufgearbeitet werden:

Das Lösungsmittelgemisch wird am Rotationsverdampfer eingeengt, bis ein weiß-flockiger Festkörper ausfällt. Man verdünnt die zurückbleibende wäßrige Phase mit 400 ml Wasser und extrahiert dreimal mit je 400 ml Essigsäureethylester. Die vereinigten organischen Phasen werden mit Magnesiumsulfat getrocknet und das Solvens zunächst am Rotationsverdampfer, später mehrere Stunden im Hochvakuum entfernt, wobei das Produkt **78** in ausreichender Reinheit erhalten wird. Die vollständige Abtrennung der Natronlauge kann durch Messung des pH-Werts einer Lösung aus **78** in Aceton/Wasser (V_{Aceton} : $V_{H_2O} \approx 1:1$) bestätigt werden.

Ausbeute: 0,51 g (1,05 mmol) 53,0 % der Theorie 78

Eigenschaften: farbloser, amorpher Festkörper;

Fp.⁽²⁹⁾ = 246 - 248 °C; $R_f = 0.33$ (V_{MeOH} : $V_{\text{CH}_2\text{Cl}_2} = 1:19$)

(29)

н

0

¹H-NMR (250 MHz, CDCl₃):

$$\delta = 9,09 \text{ (s; b; 1H; N-H)}$$
7,61 (q; ⁴*J* = 0,8 Hz; 1H; 6-H)
7,51 - 7,20 (m; 15H; Tr-H)
6,18 (dd; ³*J*_{1'-H,2'-Hx} = 8,3 Hz;
³*J*_{1'-H,2'-He} = 2,3 Hz; 1H; 1'-H)
4,48 - 4,40 (m; 1H; 3'-H)
4,03 (ddd; ³*J*_{4'-H,5'-H} = 5,3 Hz; ³*J*_{4'-H,5'-H} = 5,3 Hz; ³*J*_{4'-H,3'-H} = 3,2 Hz; 1H; 4'-H)
3,64 (dd; ²*J* = 10,2 Hz; ³*J* = 5,1 Hz; 1H; 5'-H)
3,49 (dd; ²*J* = 10,2 Hz; ³*J* = 5,5 Hz; 1H; 5'-H)
3,10 (s; b; 1H; 3'-O-H)
2,56 (ddd; ²*J* = 14,9 Hz; ³*J*_{2'-Hx,1'-H} = 8,4 Hz; ³*J*_{2'-Hx,3'-H} = 5,4 Hz; 1H; 2'-Hx)
2,17 (dd; ²*J* = 15,3 Hz; ³*J*_{2'-He,1'-H} = 2,1 Hz; 1H; 2'-He)
1,76 (d; ⁴*J* = 1,3 Hz; 3H; 5-CH₃)

MS (FAB⁺; *m*-NBA;
$$C_{29}H_{28}O_5N_2$$
; $M = 484,55 \text{ g/}_{mol}$):

m/z (%) = 507 (3,7) [M+Na]⁺; 485 (3,5) [M+H]⁺; 484 (0,8) [M]⁺; 243 (100) [Tr]⁺

5.3.1.3 Synthese des 1-(3-O-Mesyl-5-O-trityl-2-deoxy- β -D-lyxofuranosyl)thymins (80)

Ansatz:	0,50 g	(1,03 mmol)	$1-(5-O-Trityl-2-deoxy-\beta-D-lyxofuranosyl)-$
			thymin
	0,59 g	$(5,15 \text{ mmol} \stackrel{\scriptscriptstyle \triangle}{=} 0,40 \text{ ml})$	Methansulfonylchlorid (Mesylchlorid)
	0,53 g	$(5,24 \text{ mmol} \doteq 0,73 \text{ ml})$	Triethylamin
	20 ml		Dichlormethan (trocken)

Durchführung: In einem 25 ml Einhalskolben mit Seitenhahn wird das 1-(5-*O*-Trityl-2-deoxy- β -D-lyxofuranosyl)thymin bei Raumtemperatur unter Inertgas und Rühren in trockenem Dichlormethan vorgelegt und danach Triethylamin zugegeben. Aus einer Spritze tropft man das Mesylchlorid zu. Innerhalb 30 Minuten wechselt die Farbe der Reaktionslösung von farblos zu gelb. Bei der anschließenden DC-Kontrolle (V_{MeOH} : $V_{CH_2Cl_2} = 1:19$) ist kein Eduktfleck ($R_f = 0,33$) mehr sichtbar. Der Reaktionslösung werden etwa 3 g Kieselgel 60 zugefügt und das Solvens am Rotationsverdampfer entfernt. Das Produkt **80** wird flashchromatographisch (Kieselgel 60; $\emptyset = 2,9$ cm; h = 30 cm; V_{MeOH} : $V_{CH_2Cl_2} = 1:19 + 0,1$ % Triethylamin) isoliert.

Ausbeute: 0,51 g (0,91 mmol) 88,3 % der Theorie 80

Eigenschaften: farbloser, amorpher Festkörper;

Fp. = 99,8 - 102,0 °C; $R_f = 0,41$ (V_{MeOH} : $V_{\text{CH}_2\text{Cl}_2} = 1:19$)

¹H-NMR (250 MHz, $CDCl_3$):



MS (FAB⁺; *m*-NBA; $C_{30}H_{30}O_7N_2S$; $M = 562,64 \text{ g/}_{mol}$): m/z (%) = 585 (2,5) [M+Na]⁺; 563 (7,7) [M+H]⁺; 562 (1,0) [M]⁺; 243 (100) [Tr]⁺

5.3.1.4 Synthese des 3-*N*-Boc-1-(3-*O*-mesyl-5-*O*-trityl-2-deoxy- β -D-lyxofuranosyl)thymins (121)

Ansatz:	0,53 g	(0,94 mmol)	$1-(3-O-Mesyl-5-O-trityl-2-deoxy-\beta-D-lyxo-$
			furanosyl)thymin
	0,62 g	$(2,84 \text{ mmol} \doteq 0,65 \text{ ml})$	Pyrokohlensäure-di- <i>tert</i> -butylester (Boc ₂ O)
	10 ml		Pyridin (trocken)

Durchführung: In einem 25 ml Einhalskolben mit Seitenhahn wird unter Inertgas eine Lösung aus 1-(3-*O*-Mesyl-5-*O*-trityl-2-deoxy- β -D-lyxofuranosyl)thymin in trockenem Pyridin bereitet und bei Raumtemperatur unter Rühren Boc₂O zugetropft. Nach 60 Stunden ist die Umsetzung laut DC-Kontrolle ($V_{Et_2O} = 100$) fast vollständig, da nur noch ein schwacher Eduktfleck ($R_f = 0,10$) erkennbar ist. Der orangebraunen Reaktionslösung werden zirka 3 g Kieselgel 60 zugesetzt und das Lösungsmittel unter Verwendung eines Rotationsverdampfers abdestilliert. Zur vollständigen Entfernung des Pyridins wird das Rohprodukt 16 Stunden im Hochvakuum getrocknet. Mittels Flashchromatographie (Kieselgel 60; $\emptyset = 2,3$ cm; h = 28 cm; $V_{Et_2O} = 100 + 0,1$ % Triethylamin; 6,3 ^{ml}/_{min}) reinigt man das Produkt **121**.

Ausbeute: 0,42 g (0,63 mmol) 67,0 % der Theorie 121

Eigenschaften: farbloser, amorpher Festkörper;

Fp. = 157,1 - 158,7 °C (Zersetzung); $R_f = 0,50$ ($V_{Et_2O} = 100$)

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃):

 $\delta = 7,44 - 7,29$ (m; 13H; Tr-*H*) 7,28 (q; ${}^{4}J$ = 1,3 Hz; 1H; 6-H) 7,28 - 7,25 (m; 2H; Tr-*H*) CH₃ $6,24 (dd; {}^{3}J_{1'-H,2'-Hx} = 8,0 Hz;$ ${}^{3}J_{1'-H,2'-He} = 3,3$ Hz; 1H; 1'-H) 5,25 (ddd; ${}^{3}J_{3'-H,2'-Hx} = 5,2$ Hz; 121 ${}^{3}J_{3'-H 4'-H} = 3,6$ Hz; ${}^{3}J_{3'-H} = 1,4$ Hz; 1H; 3'-H) 4,20 (ddd; ${}^{3}J_{4'-H,5'-H} = 5,9$ Hz; ${}^{3}J_{4'-H,5'-H} = 5,9$ Hz; ${}^{3}J_{4'-H,3'-H} = 3,5$ Hz; 1H; 4'-*H*) 3,64 (dd; ${}^{2}J = 9,9$ Hz; ${}^{3}J = 5,9$ Hz; 1H; 5'-H) $3,37 \text{ (dd; } {}^{2}J = 9,9 \text{ Hz; } {}^{3}J = 6,0 \text{ Hz; } 1\text{H; } 5'-H)$ 2,79 (ddd; ${}^{2}J = 15,9$ Hz; ${}^{3}J_{2'+Hx,1'-H} = 8,0$ Hz; ${}^{3}J_{2'-Hx,3'-H} = 5,5$ Hz; 1H; 2'-Hx) 2,77 (s; 3H; SO_2CH_3) 2,46 (ddd; ${}^{2}J = 15,8$ Hz; ${}^{3}J_{2'-\text{He }1'-\text{H}} = 3,3$ Hz; ${}^{3}J_{2'-\text{He }3'-\text{H}} = 1,3$ Hz; 1H; 2'-He) 1,80 (d; ${}^{4}J$ = 1,3 Hz; 3H; 5-CH₃) 1,60 (s; 9H; Boc-CH₃)

MS (FAB⁺; *m*-NBA; $C_{35}H_{38}O_9N_2S$; $M = 662,75 \text{ g/}{mol}$):

 $m/z (\%) = 685 (0,7) [M+Na]^{+}; 663 (0,4) [M+H]^{+}; 662 (0,2) [M]^{+}; 243 (100) [Tr]^{+}$ ber.: 685,2196 / 663,2376 / 662,2298 gef.: 685,2233 / 663,2369 / 662,2325

5.3.1.5 Synthese des 1-(3-*O*-Tosyl-5-*O*-trityl-2-deoxy-β-D-lyxofuranosyl)thymins (116)

Ansatz:	0,88 g	(1,82 mmol)	$1-(5-O-\text{Trity}l-2-\text{deoxy}-\beta-D-\text{lyxofuranosyl})$ thymin
	1,06 g	(5,56 mmol)	p-Toluolsulfonylchlorid (Tosylchlorid)
	15 ml		Pyridin (trocken)

Durchführung: In einem 25 ml Einhalskolben mit Seitenhahn wird 1-(5-*O*-Trityl-2-deoxy- β -D-lyxofuranosyl)thymin bei Raumtemperatur unter Inertgas und Rühren in trockenem Pyridin vorgelegt und das Tosylchlorid zugegeben. Die nach 2 Stunden rosa-, später orangefarbene Reaktionslösung wird 60 Stunden gerührt. In der DC-Kontrolle (V_{MeOH} : $V_{CH_2Cl_2} = 1:19$) ist eine deutliche, aber nicht vollständige Umsetzung anhand des Eduktflecks ($R_f = 0,33$) zu erkennen. Anschließend werden der Reaktionslösung zirka 3 g Kieselgel 60 zugesetzt und das Lösungsmittel zunächst am Rotationsverdampfer, später 16 Stunden im Hochvakuum entfernt. Das Produkt **116** isoliert man mittels Flash-chromatographie (Kieselgel 60; $\emptyset = 4,9$ cm; h = 30 cm; V_{MeOH} : $V_{CH_2Cl_2} = 1:19 + 0,1$ % Triethylamin; 5 ^{ml}/_{min}).

Eigenschaften: farbloser, amorpher Festkörper;

Fp. = 100,5 - 109,0 °C; $R_f = 0,52$ ($V_{\text{MeOH}}: V_{\text{CH}_2\text{Cl}_2} = 1:19$)

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃):



MS (FAB⁺; *m*-NBA; $C_{36}H_{34}O_7N_2S$; $M = 638,74 \text{ g/}_{mol}$):

m/z (%) = 661 (2,1) [M+Na]⁺; 639 (5,3) [M+H]⁺; 638 (0,8) [M]⁺; 243 (100) [Tr]⁺

5.3.1.6 Synthese des 3-*N*-Boc-1-(3-*O*-tosyl-5-*O*-trityl-2-deoxy-β-D-lyxofuranosyl)thymins (122)

Ansatz:	0,47 g	(0,74 mmol)	$1-(3-O-Tosyl-5-O-trityl-2-deoxy-\beta-D-lyxo-$
			furanosyl)thymin
	0,48 mg	$(2,20 \text{ mmol} \doteq 0,51 \text{ ml})$	Pyrokohlensäure-di- <i>tert</i> -butylester (Boc ₂ O)
	10 ml		Pyridin (trocken)

Durchführung: In einem 25 ml Einhalskolben mit Gasansatz wird eine Lösung aus 1-(3-*O*-Tosyl-5-*O*-trityl-2-deoxy- β -D-lyxofuranosyl)thymin in trockenem Pyridin bei Raumtemperatur unter Inertgas und Rühren vorgelegt und Boc₂O zugetropft. Nach 3¹/₂ Tagen Rühren der zunächst blaßgelben, später orangefarbenen Reaktionslösung ist im DC ($V_{Et_2O} = 100$) nur noch ein Eduktfleck ($R_f = 0,30$) geringer Intensität erkennbar. Man fügt etwa 3 g Kieselgel 60 zu und entfernt das Lösungsmittel zuerst am Rotationsverdampfer, dann 16 Stunden im Hochvakuum. Das Produkt **122** wird flashchromatographisch (Kieselgel 60; $\emptyset = 4,9$ cm; h = 32 cm; $V_{Et_2O} = 100 + 0,1$ % Triethylamin) gewonnen, wobei **122** während der Entfernung des Eluenten auskristallisiert.

Ausbeute: 0,32 g (0,43 mmol) 58,1 % der Theorie 122

Eigenschaften: farbloser, amorpher Festkörper;



MS (FAB⁺; *m*-NBA; $C_{41}H_{42}O_9N_2S$; *M* = 738,85 ^g/_{mol}):

 $m/z (\%) = 761 (1,0) [M+Na]^+; 739 (0,5) [M+H]^+; 738 (0,3) [M]^+; 243 (100) [Tr]^+$ ber.: 761,2509 / 739,2689 / 738,2611 gef.: 761,2520 / 739,2705 / 738,2583

5.3.1.7 Synthese des 1-(3-*O*-Nosyl-5-*O*-trityl-2-deoxy-β-D-lyxofuranosyl)thymins (117)

Ansatz:	0,80 g	(1,65 mmol)	$1-(5-O-\text{Trity}l-2-\text{deoxy}-\beta-D-\text{lyxofuranosyl})$ thymin
	1,09 g	(4,92 mmol)	4-Nitrophenylsulfonylchlorid (Nosylchlorid)
	15 ml		Pyridin (trocken)

Durchführung: In einem 50 ml Einhalskolben mit Seitenhahn wird 1-(5-*O*-Trityl-2-deoxy- β -D-lyxofuranosyl)thymin bei Raumtemperatur unter Inertgas und Rühren in 10 ml trockenem Pyridin vorgelegt. Das Nosylchlorid wird in 5 ml trockenem Pyridin gelöst und der Reaktionslösung zugegeben. Nach 6 Tagen Rühren ist das Reaktionsmedium braunfarben, wobei die DC-Kontrolle (V_{MeOH} : $V_{CH_2Cl_2} = 1$:19) überwiegend das Produkt ($R_f = 0,59$) neben wenig Edukt ($R_f = 0,33$) und Nebenprodukten erkennen läßt. Man fügt zirka 3 g Kieselgel 60 zu und entfernt das Lösungsmittel zuerst am Rotationsverdampfer, schließlich 16 Stunden im Hochvakuum. Das Produkt **117** wird säulenchromatographisch (Kieselgel 60; $\emptyset = 4,9$ cm; h = 31 cm; V_{MeOH} : $V_{CH_2Cl_2} = 1$:19 + 0,1 % Triethylamin; 6,7 bis 10 ^{ml}/_{min}) gereinigt.

Ausbeute:

(1,48 mmol) 0,99 g

89,7 % der Theorie 117

Eigenschaften: schwach beigefarbener, amorpher Festkörper;

Fp. = 119,8 - 126,0 °C; $R_f = 0,59 (V_{\text{MeOH}}: V_{\text{CH}_2\text{Cl}_2} = 1:19)$

¹H-NMR (250 MHz, CDCl₃):

δ

MHz, CDCl₃):
= 8,87 (s; 1H; N-H)
8,24 - 8,18 (m; 2H; Ns-H)
7,89 - 7,83 (m; 2H; Ns-H)
7,43 - 7,26 (m; 15H; Tr-H)
7,22 (q;
$${}^{4}J$$
 = 1,3 Hz; 1H; 6-H)
6,20 (dd; ${}^{3}J_{1'-H,2'-Hx} = 7,6$ Hz;
 ${}^{3}J_{1'-H,2'-Hx} = 2,9$ Hz; 1H; 1'-H)
5,20 (dd; ${}^{3}J_{3'-H,2'-Hx} = 5,1$ Hz; ${}^{3}J_{3'-H,4'-H} = 3,4$ Hz; ${}^{3}J_{3'-H,2'-He} = 1,3$ Hz; 1H; 3'-H)
4,18 (ddd; ${}^{3}J_{4'-H,5'-H} = 6,1$ Hz; ${}^{3}J_{4'-H,5'-H} = 5,3$ Hz; ${}^{3}J_{4'-H,3'-H} = 3,4$ Hz; 1H; 3'-H)
3,55 (dd; ${}^{2}J = 10,1$ Hz; ${}^{3}J = 6,3$ Hz; 1H; 5'-H)
3,20 (dd; ${}^{2}J = 10,1$ Hz; ${}^{3}J = 5,1$ Hz; 1H; 5'-H)
2,75 (ddd; ${}^{2}J = 16,0$ Hz; ${}^{3}J_{2'-Hx,1'-H} = 7,6$ Hz; ${}^{3}J_{2'-Hx,3'-H} = 5,1$ Hz; 1H; 2'-Hx)
2,46 (ddd; ${}^{2}J = 15,9$ Hz; ${}^{3}J_{2'-Hx,1'-H} = 3,1$ Hz; ${}^{3}J_{2'-He,3'-H} = 1,2$ Hz; 1H; 2'-He)
1,76 (d; ${}^{4}J = 1,3$ Hz; 3H; 5-CH₃)

MS (FAB⁺; *m*-NBA; $C_{35}H_{31}O_9N_3S$; $M = 669,71 \text{ g/}_{mol}$):

m/z (%) = 692 (1,3) $[M+Na]^+$; 670 (4,3) $[M+H]^+$; 669 (0,6) $[M]^+$; 243 (100) $[Tr]^+$

5.3.1.8 Synthese des 3-*N*-Boc-1-(3-*O*-nosyl-5-*O*-trityl-2-deoxy-β-D-lyxofuranosyl)thymins (123)

Ansatz:	0,21 g	(0,31 mmol)	$1-(3-O-Nosyl-5-O-trityl-2-deoxy-\beta-D-lyxo-$
			furanosyl)thymin
	0,22 g	$(1,01 \text{ mmol} \doteq 0,23 \text{ ml})$	Pyrokohlensäure-di- <i>tert</i> -butylester (Boc ₂ O)
	5 ml		Pyridin (trocken)

Durchführung: In einem 25 ml Einhalskolben mit Seitenhahn legt man 1-(3-O-Nosyl-5-O-trityl-2-deoxy- β -D-lyxofuranosyl)thymin bei Raumtemperatur unter Inertgas und Rühren in trockenem Pyridin vor und tropft zu der blaßgelben Lösung Boc₂O zu. Bei der DC-Reaktionskontrolle ($V_{Et,O} = 100$) ist nach 3 Tagen nur noch ein schwacher Eduktfleck ($R_f = 0.28$) erkennbar. Die orangefarbene Reaktionslösung wird mit etwa 1 g Kieselgel 60 versetzt und das Solvens zunächst am Rotationsverdampfer, später 16 Stunden im Hochvakuum entfernt. Das Produkt 123 wird mittels Säulenchromatographie (Kieselgel 60; $\emptyset = 2.9$ cm; h = 36 cm; $V_{Et_2O} = 100 + 0.1$ % Triethylamin; 4.6 ^{ml}/_{min}) isoliert. In Diethylether lassen sich Einkristalle der Verbindung 123 gewinnen, die einer kristallographischen Untersuchung zugeführt werden können.

0

Ausbeute: 0,14 g (0,18 mmol)

58,1 % der Theorie **123**

Eigenschaften: farbloser, amorpher Festkörper bzw.

farblose Einkristalle, die der Kristallstrukturanalyse zugänglich sind;

Fp. = 115,2 - 124,0 °C; $R_f = 0,65 (V_{Et_2O} = 100)$

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃):

$$\delta = 8,26 - 8,22 \text{ (m; 2H; Ns-}H)$$
7,87 - 7,83 (m; 2H; Ns-}H)
7,39 - 7,25 (m; 15H; Tr-H)
7,18 (q; ⁴J = 1,3 Hz; 1H; 6-H)
6,14 (dd; ³J_{1'-H,2'-Hx} = 7,7 Hz;
³J_{1'-H,2'-Hz} = 3,0 Hz; 1H; 1'-H)
5,20 (ddd; ³J_{3'-H,2'-Hz} = 4,9 Hz;
³J_{3'-H,4'-H} = 3,6 Hz;
³J_{3'-H,4'-H} = 3,6 Hz;
³J_{3'-H,4'-H} = 3,6 Hz;
³J_{3'-H,4'-H} = 6,2 Hz; ³J_{4'-H,5'-H} = 5,0 Hz; ³J_{4'-H,3'-H} = 3,5 Hz; 1H; 4'-H)
3,55 (dd; ²J = 10,4 Hz; ³J = 6,4 Hz; 1H; 5'-H)
3,24 (dd; ²J = 10,4 Hz; ³J = 5,0 Hz; 1H; 5'-H)
2,71 (ddd; ²J = 15,9 Hz; ³J_{2'-Hz,1'-H} = 7,5 Hz; ³J_{2'-Hz,3'-H} = 5,0 Hz; 1H; 2'-Hx)
2,43 (ddd; ²J = 15,9 Hz; ³J_{2'-Hz,1'-H} = 2,9 Hz; ³J_{2'-Hz,3'-H} = 1,2 Hz; 1H; 2'-Hz)
1,73 (d; ⁴J = 1,3 Hz; 3H; 5-CH₃)
1,60 (s; 9H; Boc-CH₃)

MS (FAB⁺; *m*-NBA; $C_{40}H_{39}O_{11}N_3S$; *M* = 769,82 ^g/_{mol}):

 $m/z (\%) = 792 (0,4) [M+Na]^+; 770 (0,4) [M+H]^+; 769 (0,2) [M]^+; 243 (100) [Tr]^+$ ber.: 792,2203 / 770,2384 / 769,2305 gef.: 792,2219 / 770,2397 / 769,2285

5.3.2 Die 4,4'-Dimethoxytriphenylmethyl-Reihe

5.3.2.1 Synthese des 5'-*O*-(4,4'-Dimethoxytrityl)thymidins (87)

Ansatz:	5,12 g	(21,14 mmol)	Thymidin
	8,56 g	(25,26 mmol)	4,4'-Dimethoxytriphenylmethylchlorid
			(Dimethoxytritylchlorid)
	100 ml		Pyridin (trocken)

Durchführung: In einem 250 ml Dreihalskolben werden nacheinander Thymidin und Dimethoxytritylchlorid in trockenes Pyridin unter Inertgas eingetragen und 2 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Die DC-Reaktionskontrolle (V_{MeOH} : $V_{CH_2CI_2} = 1:19$) zeigt als Hauptprodukt die 5'-O-geschützte Verbindung **87** ($R_f = 0,26$) sowie je einen schwachen Fleck des Edukts ($R_f = 0,00$) und des zweifach geschützten Nebenprodukts 3',5'-Bis-*O*-(4,4'-dimethoxytrityl)thymidin ($R_f = 0,71$). Danach wird die Reaktionslösung langsam in 1,5 l kräftig gerührtes Eiswasser gegossen. Nach 30 Minuten Rühren wird die gelbe Suspension abgesaugt und dem Festkörper die Restfeuchte am Rotationsverdampfer durch zweimalige azeotrope Destillation mit Ethanol entzogen. Das Rohprodukt wird alternativ aus einem Benzol-Aceton-Gemisch umkristallisiert oder mittels Säulenchromatographie (Kieselgel 60; $\emptyset = 6 \text{ cm}; h = 45 \text{ cm}; V_{MeOH}: V_{CH_2Cl_2} = 1:19 + 0,1 \%$ Triethylamin; auf ungefähr 20 g Kieselgel 60 aufgezogen) aufgereinigt. Nach der Trocknung im Hochvakuum wird das Produkt **87** erhalten.

Ausbeute: 10,54 g (19,35 mmol) 91,5 % der Theorie 87

Eigenschaften: beigefarbener, amorpher Festkörper;

Fp.⁽³⁰⁾ = 114 - 116 °C (Sublimation); $R_f = 0,26 (V_{MeOH}: V_{CH_2Cl_2} = 1:19)$

H₃CO

¹H-NMR (250 MHz, CDCl₃):

$$\delta = 9,31 \text{ (s; 1H; N-H)}$$
7,58 (s; b; 1H; 6-H)
7,46 - 7,15 (m; 10H; DMTr-H)
6,90 - 6,75 (m; 3H; DMTr-H)
6,42 (dd; ${}^{3}J_{1'-H,2'-Hx} = 7,3 \text{ Hz;}$
 ${}^{3}J_{1'-H,2'-Hx} = 6,0 \text{ Hz; 1H; 1'-H}$
4,61 - 4,51 (m; 1H; 3'-H)
4,12 - 4,03 (m; 1H; 4'-H)
3,77 (s; 6H; OCH₃)
3,46 (dd; ${}^{2}J = 10,6 \text{ Hz; }{}^{3}J = 2,8 \text{ Hz; 1H; 5'-H}$
3,36 (dd; ${}^{2}J = 10,6 \text{ Hz; }{}^{3}J = 2,8 \text{ Hz; 1H; 5'-H}$
3,00 (d; ${}^{3}J = 3,2 \text{ Hz; 1H; 3'-O-H}$
2,43 (ddd; ${}^{2}J = 13,3 \text{ Hz; }{}^{3}J_{2'-He,1'-H} = 6,0 \text{ Hz; }{}^{3}J_{2'-He,3'-H} = 2,8 \text{ Hz; 1H; 2'-He}$
2,30 (ddd; ${}^{2}J = 13,8 \text{ Hz; }{}^{3}J_{2'-Hx,1'-H} = 7,3 \text{ Hz; }{}^{3}J_{2'-Hx,3'-H} = 6,4 \text{ Hz; 1H; 2'-Hx}$
1,47 (s; b; 1H; 5-CH₃)

MS (FAB⁺; *m*-NBA; $C_{31}H_{32}O_7N_2$; *M* = 544,60 ^g/_{mol}):

m/z (%) = 567 (0,9) [M+Na]⁺; 545 (3,5) [M+H]⁺; 544 (5,0) [M]⁺; 303 (100) [DMTr]⁺

5.3.2.2 Synthese des 1-[5-O-(4,4'-Dimethoxytrityl)-2-deoxy-β-D-lyxofuranosyl]thymins (115)

Ansatz:	10,04 g	(18,44 mmol)	5'-O-(4,4'-Dimethoxytrityl)thymidin
	3,26 g	$(28,46 \text{ mmol} \doteq 2,2 \text{ ml})$	Methansulfonylchlorid (Mesylchlorid)
	4,82 g	$(47,63 \text{ mmol} \doteq 6,6 \text{ ml})$	Triethylamin

(30)

160	ml	Tetrahydrofuran (getrocknet über Natrium; frisch destilliert)
53	ml	Ethanol
53	ml	1 M NaOH (aq)
37	ml	10 M NaOH (aq)

Durchführung: In einem 500 ml Einhalskolben mit Gasansatz werden 5'-O-(4,4'-Dimethoxytrityl)thymidin und Triethylamin unter Inertgas und Rühren in trockenem Tetrahydrofuran gelöst und auf eine Temperatur zwischen $t \approx -8$ bis 0 °C (Eis/Ethanol) gekühlt. Zu der Reaktionslösung tropft man langsam Mesylchlorid und rührt 30 Minuten nach. Statt des Eduktflecks ($R_f = 0,26$) ist auf der DC-Platte (V_{MeOH} : $V_{CH_2Cl_2} = 1:19$) der Fleck der mesylierten Verbindung ($R_f = 0,39$) zu erkennen. Das Eisbad wird entfernt, der trüben, gelben Reaktionsmischung je 53 ml Wasser, Ethanol und 1 M Natronlauge zugefügt und 90 Minuten unter Rückfluß gerührt. Auf dem DC (*V*_{MeOH}:*V*_{CH,CL} = 1:19) ist ausschließlich der Fleck der Anhydroverbindung ($R_f = 0.20$) sichtbar. Anschließend werden 37 ml 10 M Natronlauge zugegeben, wobei die intensiv gelbe Reaktionslösung zwei Phasen ausbildet. Nach 45 Minuten Rühren bei einer Heizbadtemperatur von $t \approx 85$ bis 90 °C läßt man die Reaktion bei Raumtemperatur während 16 Stunden vervollständigen. Die DC-Kontrolle (V_{MeOH} : $V_{CH,CL} = 1:19$) zeigt die Bildung des gewünschten Produkts ($R_f = 0.31$). Am Rotationsverdampfer wird das THF weitgehend aus dem Reaktionsgemisch entfernt, die zurückbleibende wäßrige Phase mit Wasser auf 400 ml verdünnt und dreimal mit je 400 ml Essigsäureethylester extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Magnesiumsulfat getrocknet und das Solvens zunächst am Rotationsverdampfer, später im Hochvakuum entfernt, wobei das Produkt 115 in ausreichender Reinheit erhalten wird. Die vollständige Abtrennung der Natronlauge kann durch Messung des pH-Werts einer Lösung aus 115 in Aceton/Wasser (V_{Aceton} : $V_{H_2O} \approx 1:1$) bestätigt werden.

Ausbeute: 9,32 g (17,11 mmol)

92,8 % der Theorie 115

H₃CO

Eigenschaften: farbloser, amorpher Festkörper; $R_f = 0.31$ (V_{MeOH} : $V_{CH_2Cl_2} = 1:19$)

¹H-NMR (250 MHz, CDCl₃):

$$\delta = 8,92 \text{ (s; b; 1H; N-H)}$$
7,66 (q; ⁴J = 1,2 Hz; 1H; 6-H)
7,47 - 7,19 (m; 9H; DMTr-H)
6,88 - 6,80 (m; 4H; DMTr-H)
6,19 (dd; ³J_{1'-H,2'-Hx} = 8,1 Hz;
³J_{1'-H,2'-He} = 2,4 Hz; 1H; 1'-H)
4,49 - 4,43 (m; 1H; 3'-H)
4,01 (ddd; ³J_{4'-H,5'-H} = 5,2 Hz; ³J_{4'-H,5'-H} = 5,2 Hz; ³J_{4'-H,3'-H} = 3,0 Hz; 1H; 4'-H)
3,79 (s; 6H; OCH₃)
3,62 (dd; ²J = 10,2 Hz; ³J = 5,3 Hz; 1H; 5'-H)
3,51 (dd; ²J = 10,2 Hz; ³J = 5,7 Hz; 1H; 5'-H)

3,16 (d; ${}^{3}J = 2,0$ Hz; 1H; 3'-O-*H*) 2,57 (ddd; ${}^{2}J = 15,0$ Hz; ${}^{3}J_{2'-Hx,1'-H} = 8,2$ Hz; ${}^{3}J_{2'-Hx,3'-H} = 5,4$ Hz; 1H; 2'-*H*_x) 2,14 (dd; ${}^{2}J = 15,1$ Hz; ${}^{3}J_{2'-He,1'-H} = 2,0$ Hz; 1H; 2'-*H*_e) 1,78 (d; ${}^{4}J = 0,8$ Hz; 3H; 5-CH₃)

MS (FAB⁺; *m*-NBA; $C_{31}H_{32}O_7N_2$; *M* = 544,60 g/mol):

m/z (%) = 567 (1,8) [M+Na]⁺; 545 (4,3) [M+H]⁺; 544 (4,8) [M]⁺; 303 (100) [DMTr]⁺

5.3.2.3 Synthese des

1-[5-O-(4,4'-Dimethoxytrityl)-3-O-mesyl-2-deoxy-β-D-lyxofuranosyl]thymins (118)

Ansatz:	1,97 g	(3,62 mmol)	1-[5- O -(4,4'-Dimethoxytrityl)-2-deoxy- β -D-
			lyxofuranosyl]thymin
	0,83 g	$(7,25 \text{ mmol} \doteq 0,56 \text{ ml})$	Methansulfonylchlorid (Mesylchlorid)
	1,10 g	$(10,82 \text{ mmol} \doteq 1,51 \text{ ml})$	Triethylamin
	25 ml		Dichlormethan (trocken)

Durchführung: In einem 50 ml Einhalskolben mit Gasansatz wird unter Inertgas und Rühren das 1-[5-*O*-(4,4'-Dimethoxytrityl)-2-deoxy- β -D-lyxofuranosyl]thymin und das Triethylamin in trockenem Dichlormethan vorgelegt und bei t = 0 °C das Mesylchlorid langsam zugetropft. Nach 45 Minuten Rühren hat die gelblich-trübe Reaktionslösung Raumtemperatur erreicht. Bei der anschließenden DC-Kontrolle (V_{MeOH} : $V_{CH_2Cl_2} = 1$:19) ist kein Eduktfleck ($R_f = 0,31$) mehr sichtbar. Man fügt zirka 4 g Kieselgel 60 zu und entfernt das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer. Das Produkt **118** wird mittels Säulenchromatographie (Kieselgel 60; $\emptyset = 4,5$ cm; h = 25 cm; V_{MeOH} : $V_{CH_2Cl_2} = 1$:19 + 1 % Triethylamin) isoliert.

Ausbeute: 1,83 g (2,94 mmol) 81,2 % der Theorie 118

Eigenschaften: farbloser, amorpher Festkörper; $R_f = 0,43$ (V_{MeOH} : $V_{CH_2Cl_2} = 1:19$)

¹H-NMR (250 MHz, CDCl₃):

$$\delta = 8,81 (s; 1H; N-H)$$

 $7,45 - 7,24 (m; 10H; DMTr-H/6-H)$
 $6,88 - 6,79 (m; 4H; DMTr-H)$
 $6,27 (dd; {}^{3}J_{1'-H,2'-Hx} = 7,9 Hz;$
 ${}^{3}J_{1'-H,2'-He} = 3,4 Hz; 1H; 1'-H)$
 $5,27 (ddd; {}^{3}J_{3'-H,2'-Hx} = 4,9 Hz;$
 ${}^{3}J_{3'-H,2'-He} = 1,1 Hz; 1H; 3'-H)$
 $4,18 (ddd; {}^{3}J_{4'-H,5'-H} = 6,0 Hz; {}^{3}J_{4'-H,5'-H} = 6,0 Hz; {}^{3}J_{4'-H,3'-H} = 3,4 Hz; 1H; 4'-H)$
 $3,79 (s; 6H; OCH_{3})$

3,63 (dd;
$${}^{2}J = 10,2$$
 Hz; ${}^{3}J = 5,7$ Hz; 1H; 5'-*H*)
3,37 (dd; ${}^{2}J = 9,8$ Hz; ${}^{3}J = 6,4$ Hz; 1H; 5'-*H*)
2,80 (ddd; ${}^{2}J = 15,8$ Hz; ${}^{3}J_{2'-\text{Hx},1'-\text{H}} = 8,3$ Hz; ${}^{3}J_{2'-\text{Hx},3'-\text{H}} = 5,7$ Hz; 1H; 2'-*H*x)
2,79 (s; 3H; SO₂CH₃)
2,46 (ddd; ${}^{2}J = 15,8$ Hz; ${}^{3}J_{2'-\text{He},1'-\text{H}} = 3,4$ Hz; ${}^{3}J_{2'-\text{He},3'-\text{H}} = 1,1$ Hz; 1H; 2'-*H*e)
1,81 (d; ${}^{4}J = 1,1$ Hz; 3H; 5-CH₃)

MS (FAB⁺; *m*-NBA; $C_{32}H_{34}O_9N_2S$; $M = 622,69 \text{ g/}_{mol}$):

```
m/z (%) = 645 (0,4) [M+Na]<sup>+</sup>; 623 (1,7) [M+H]<sup>+</sup>; 622 (1,4) [M]<sup>+</sup>; 303 (27,9) [DMTr]<sup>+</sup>;
154 (100) Fragment aus m-NBA-Matrix
```

5.3.2.4 Synthese des 3-*N*-Boc-1-[5-*O*-(4,4'-dimethoxytrityl)-3-*O*-mesyl-2-deoxy-β-D-lyxofuranosyl]thymins (124)

Ansatz:	1,65 g	(2,65 mmol)	1-[5-O-(4,4'-Dimethoxytrityl)-3-O-mesyl-
			2-deoxy- β -D-lyxofuranosyl]thymin
	3,52 g	$(16,13 \text{ mmol} \doteq 3,7 \text{ ml})$	Pyrokohlensäure-di- <i>tert</i> -butylester (Boc ₂ O)
	30 ml		Pyridin (trocken)

Durchführung: In einem 100 ml Einhalskolben mit Gasansatz wird das 1-[5-*O*-(4,4'-Dimethoxy-trityl)-3-*O*-mesyl-2-deoxy- β -D-lyxofuranosyl]thymin in trockenem Pyridin unter Inertgas vorgelegt, Boc₂O zugegeben und die Reaktionslösung bei Raumtemperatur gerührt. Nach mehrmaliger DC-Kontrolle ($V_{Et_2O} = 100$) innerhalb von 48 Stunden ist keine weitere Umsetzung mehr erkennbar. Neben dem Fleck des Edukts ($R_f = 0,07$) wird ein Fleck ($R_f = 0,44$) beobachtet, der eine Überlagerung eines nicht identifizierten Nebenprodukts ($R_f = 0,93$; V_{MeOH} : $V_{CH_2CL_2} = 1:19$; Merck[®] DC-Platte) mit dem gewünschten Produkt ($R_f = 0,84$; V_{MeOH} : $V_{CH_2CL_2} = 1:19$; Merck[®] DC-Platte) darstellt. Der dunkelbraunen Reaktionslösung werden etwa 6 g Kieselgel 60 zugefügt und das Lösungsmittel zunächst am Rotationsverdampfer, danach 16 Stunden im Hochvakuum entfernt. Die Säulenchromatographie (Kieselgel 60; $\emptyset = 5$ cm; h = 30 cm; $V_{Et_2O} = 100 + 0,1$ % Triethylamin) liefert das Produkt **124** als zweite Fraktion.

Ausbeute: 0,32 g (0,44 mmol)	16,6 % der Theorie 12 4
-------------------------------------	--------------------------------

Eigenschaften: gelber, amorpher Festkörper;

Fp. = 79,0 - 85,5 °C (Zersetzung); $R_f = 0,44$ ($V_{Et_2O} = 100$)

¹H-NMR (250 MHz, CDCl₃):

 $\delta = 7,45 - 7,24 \text{ (m; 10H; DMTr-}H/6-H)$ 6,88 - 6,80 (m; 4H; DMTr-H) 6,24 (dd; ³J_{1'-H,2'-Hx} = 8,0 Hz; ³J_{1'-H,2'-He} = 3,3 Hz; 1H; 1'-H) 5,26 (ddd; ³J_{3'-H,2'-Hx} = 5,2 Hz; ³J_{3'-H,4'-H} = 3,6 Hz; ³J_{3'-H,2'-He} = 1,5 Hz; 1H; 3'-H)



MS (FAB⁺; *m*-NBA;
$$C_{37}H_{42}O_{11}N_2S$$
; *M* = 722,81 ^g/_{mol}):

m/z (%) = 745 (0,6) [M+Na]⁺; 723 (1,7) [M+H]⁺; 722 (3,0) [M]⁺; 303 (100) [DMTr]⁺ ber.: 722,2509 gef.: 722,2532

5.3.2.5 Synthese des 1-[5-*O*-(4,4'-Dimethoxytrityl)-3-*O*-tosyl-2-deoxy-β-D-lyxofuranosyl]thymins (119)

Ansatz:	2,00 g	(3,67 mmol)	1-[5- O -(4,4'-Dimethoxytrityl)-2-deoxy- β -D-lyxo-
			furanosyl]thymin
	3,50 g	(18,36 mmol)	p-Toluolsulfonylchlorid (Tosylchlorid)
	30 ml		Pyridin (trocken)

Durchführung: In einem 100 ml Dreihalskolben mit Gasansatz werden in trockenem Pyridin bei Raumtemperatur unter Inertgas und Rühren nacheinander 1-[5-*O*-(4,4'-Dimethoxytrityl)-2-deoxy- β -D-lyxofuranosyl]thymin und Tosylchlorid gelöst und 7 Tage gerührt. In der DC-Reaktionskontrolle (V_{MeOH} : $V_{CH_2CL_2} = 1:19$) läßt sich der Ablauf der Umsetzung nur bedingt beurteilen, da der Eduktfleck ($R_f = 0,31$) von den Flecken des Tosylchlorids und des Pyridins überlagert wird. Über dem Produktfleck ($R_f = 0,50$) sind mehrere Nebenproduktflecken zu erkennen. Zu der orangeroten Reaktionslösung gibt man zirka 5 g Kieselgel 60 und entfernt das Lösungsmittel zunächst am Rotationsverdampfer, später 16 Stunden im Hochvakuum. Das Produkt **119** wird säulenchromatographisch (Kieselgel 60; $\emptyset = 4,5$ cm; h = 33 cm; V_{MeOH} : $V_{CH_2CL_2} = 1:19 + 0,1$ % Triethylamin) gereinigt.

 Ausbeute:
 0,83 g
 (1,19 mmol)
 32,4 % der Theorie 119

Eigenschaften: beigefarbener, amorpher Festkörper; $R_f = 0.50$ (V_{MeOH} : $V_{CH_2Cl_2} = 1:19$)

¹H-NMR (250 MHz, CDCl₃):



MS (FAB⁺; *m*-NBA; $C_{38}H_{38}O_9N_2S$; *M* = 698,79 g/_{mol}):

m/z (%) = 721 (0,8) [M+Na]⁺; 699 (2,5) [M+H]⁺; 698 (2,1) [M]⁺; 303 (86,2) [DMTr]⁺; 154 (100) Fragment aus *m*-NBA-Matrix

5.3.2.6	Synthese des		
	3-N-Boc-1-[5-0-(4	4,4'-dimethoxytrityl)-3- <i>0</i> -	tosyl-2-deoxy- $meta$ -D-lyxofuranosyl]thymins (125)
Ansatz:	0,70 g	(1,00 mmol)	1-[5-O-(4,4'-Dimethoxytrityl)-3-O-tosyl-
			2-deoxy- β -D-lyxofuranosyl]thymin
	0,67 g	$(3,07 \text{ mmol} \doteq 0,71 \text{ ml})$	Pyrokohlensäure-di- <i>tert</i> -butylester (Boc ₂ O)
	25 ml		Pyridin (trocken)

Durchführung: In einem 50 ml Einhalskolben mit Seitenhahn wird 1-[5-*O*-(4,4'-Dimethoxytrityl)-3-*O*-tosyl-2-deoxy- β -D-lyxofuranosyl]thymin bei Raumtemperatur unter Inertgas und Rühren in trockenem Pyridin gelöst, mit Boc₂O versetzt und 6 Tage gerührt. Auf dem DC ($V_{Et_2O} = 100$) sind sowohl der Edukt- ($R_f = 0,21$) als auch der Produktfleck ($R_f = 0,67$) sichtbar. Der braunen Reaktionslösung werden 5 g Kieselgel 60 zugegeben, das Pyridin zunächst am Rotationsverdampfer und danach 16 Stunden im Hochvakuum entfernt. Die Säulenchromatographie (Kieselgel 60; $\emptyset = 4,0$ cm; h = 30 cm; $V_{Et_2O} = 100 + 0,1$ % Triethylamin) liefert das Produkt 125.

Ausbeute: 0,50 g (0,63 mmol) 63,0 % der Theorie 125

Eigenschaften: blaßgelber, amorpher Festkörper; Fp. = 87,0 - 93,0 °C; $R_f = 0.67 (V_{Et,O} = 100)$ ¹H-NMR (250 MHz, CDCl₃): $\delta = 7,59 - 7,21$ (m; 13H; H₃CC DMTr-*H*/Ts-*H*) 7,16 (q; ${}^{4}J$ = 1,2 Hz; 1H; 6-*H*) H₂CO CH_3 6,87 - 6,79 (m; 4H; DMTr-H) DMTr 6,11 (dd; ${}^{3}J_{1'-\text{H.2'-Hx}} = 7,6$ Hz; 0 ${}^{3}J_{1'-H,2'-He} = 2,7$ Hz; 1H; 1'-H) 125 5,08 (ddd; ${}^{3}J_{3'-H^{2'}-H^{2}} = 5,0$ Hz; Ts ${}^{3}J_{3'-\text{H.4'-H}} = 3,5 \text{ Hz};$ ${}^{3}J_{3'-H,2'-He} = 1,1$ Hz; 1H; 3'-*H*) 4,13 (ddd; ${}^{3}J_{4'-H,5'-H} = 6,6$ Hz; ${}^{3}J_{4'-H,5'-H} = 4,4$ Hz; ${}^{3}J_{4'-H,3'-H} = 3,5$ Hz; 1H; 4'-*H*) 3,80 (s; 6H; OCH_3) 3,53 (dd; ${}^{2}J = 10,3$ Hz; ${}^{3}J = 6,7$ Hz; 1H; 5'-H) 3,30 (dd; ${}^{2}J = 10,3$ Hz; ${}^{3}J = 4,3$ Hz; 1H; 5'-H) 2,59 (ddd; ${}^{2}J = 15,8$ Hz; ${}^{3}J_{2'-Hx} = 7,6$ Hz; ${}^{3}J_{2'-Hx} = 5,0$ Hz; 1H; 2'-Hx) 2,42 (s; 3H; Ts- CH_3) 2,30 (ddd; ${}^{2}J = 15,8$ Hz; ${}^{3}J_{2'-\text{He }1'-\text{H}} = 2,7$ Hz; ${}^{3}J_{2'-\text{He }3'-\text{H}} = 1,1$ Hz; 1H; 2'-He) 1,69 (d; ${}^{4}J$ = 1,1 Hz; 3H; 5-CH₃) 1,60 (s; 9H; Boc-CH₃)

MS (FAB⁺; *m*-NBA; $C_{43}H_{46}O_{11}N_2S$; *M* = 798,91 ^g/_{mol}):

 $m/z (\%) = 821 (0,4) [M+Na]^+; 799 (1,3) [M+H]^+; 798 (2,4) [M]^+; 303 (100) [DMTr]^+$ ber.: 799,2901 / 798,2822 gef.: 799,2888 / 798,2841

5.3.2.7 Synthese des

1-[5-O-(4,4'-Dimethoxytrityl)-3-O-nosyl-2-deoxy-β-D-lyxofuranosyl]thymins (120)

Ansatz:	0,58 g	(1,07 mmol)	$1-[5-O-(4,4'-Dimethoxytrityl)-2-deoxy-\beta-D-lyxo-$
			furanosyl]thymin
	0,72 g	(3,25 mmol)	4-Nitrophenylsulfonylchlorid (Nosylchlorid)
	15 ml		Pyridin (trocken)

Durchführung: In einem 25 ml Einhalskolben mit Gasansatz werden das 1-[5-*O*-(4,4'-Dimethoxy-trityl)-2-deoxy- β -D-lyxofuranosyl]thymin und Nosylchlorid bei Raumtemperatur unter Inertgas und Rühren in trockenes Pyridin eingebracht und 6 Tage gerührt. Bei der anschließenden DC-Kontrolle (V_{MeOH} : $V_{\text{CH}_2\text{Cl}_2} = 1$:19) ist nur noch ein schwacher Eduktfleck (Rf = 0,31) sichtbar. Die braune

Reaktionslösung wird mit zirka 3 g Kieselgel 60 versetzt, das Pyridin zunächst am Rotationsverdampfer, anschließend 16 Stunden im Hochvakuum entfernt. Man isoliert das Produkt 120 mittels Säulenchromatographie (Kieselgel 60; $\emptyset = 2,9$ cm; h = 36 cm; V_{MeOH} : $V_{CH,CL} = 1:19 + 0,1$ % Triethylamin). Ausbeute: 0,48 g (0,66 mmol) 61,7 % der Theorie 120 Eigenschaften: blaßgelber, amorpher Festkörper; Fp. = 85.9 - 93.4 °C; $R_f = 0.53$ (V_{MeOH} : $V_{\text{CH,CL}} = 1:19$) ¹H-NMR (250 MHz, CDCl₃): H₂CO $\delta = 9.03$ (s; 1H; N-*H*) 8.26 - 8,19 (m; 2H; Ns-H) CH₃ 7,90 - 7,83 (m; 2H; Ns-H) DMTr 7,42 - 7,18 (m; 10H; DMTr-H/6-H) 6,88 - 6,78 (m; 4H; DMTr-H) 6,19 (dd; ${}^{3}J_{1'-H,2'-Hx} = 7,6$ Hz; 120 ò Ns ${}^{3}J_{1'-H} = 3,0$ Hz; 1H; 1'-H) 5,20 (ddd; ${}^{3}J_{3'-H2'-Hx} = 5,0$ Hz; ${}^{3}J_{3'+4'+H} = 3,7$ Hz; ${}^{3}J_{3'+4'+H} = 1,4$ Hz; 1H; 3'-H) 4,18 (ddd; ${}^{3}J_{4'\text{-H},5'\text{-H}} = 5,6 \text{ Hz}; {}^{3}J_{4'\text{-H},5'\text{-H}} = 5,6 \text{ Hz}; {}^{3}J_{4'\text{-H},3'\text{-H}} = 3,6 \text{ Hz}; 1\text{H}; 4'\text{-H}$) 3,81 (s; 6H; OCH₃) 3,54 (dd; ${}^{2}J = 10,1$ Hz; ${}^{3}J = 6,0$ Hz; 1H; 5'-H) 3,22 (dd; ${}^{2}J = 10,3$ Hz; ${}^{3}J = 5,3$ Hz; 1H; 5'-H) 2,76 (ddd; ${}^{2}J = 15,8$ Hz; ${}^{3}J_{2'-\text{Hx,1'-H}} = 7,6$ Hz; ${}^{3}J_{2'-\text{Hx,3'-H}} = 5,3$ Hz; 1H; 2'-Hx) 2,47 (ddd; ${}^{2}J = 15,9$ Hz; ${}^{3}J_{2'-\text{He},1'-\text{H}} = 3,1$ Hz; ${}^{3}J_{2'-\text{He},3'-\text{H}} = 1,3$ Hz; 1H; 2'-*H*e) 1,75 (d; ${}^{4}J$ = 1,4 Hz; 3H; 5-CH₃)

MS (FAB⁺; *m*-NBA; $C_{37}H_{35}O_{11}N_3S$; $M = 729,76 \text{ g/}_{mol}$): $m/z (\%) = 752 (0,3) [M+Na]^+$; 730 (1,2) $[M+H]^+$; 729 (1,1) $[M]^+$; 303 (66,2) $[DMTr]^+$; 154 (100) Fragment aus *m*-NBA-Matrix

5.3.2.8Synthese des
3-N-Boc-1-[5-O-(4,4'-dimethoxytrityl)-3-O-nosyl-2-deoxy- β -D-lyxofuranosyl]thymins (126)Ansatz:0,57 g(0,78 mmol)1-[5-O-(4,4'-Dimethoxytrityl)-3-O-nosyl-2-deoxy- β -D-lyxofuranosyl]thymin
2-deoxy- β -D-lyxofuranosyl]thymin
0,51 g(2,34 mmol $\stackrel{\circ}{=}$ 0,54 ml)Pyrokohlensäure-di-*tert*-butylester (Boc₂O)
Pyridin (trocken)

Durchführung: In einem 25 ml Einhalskolben mit Gasansatz legt man bei Raumtemperatur unter Inertgas und Rühren 1-[5-O-(4,4'-Dimethoxytrityl)-3-O-nosyl-2-deoxy- β -D-lyxofuranosyl]thymin in

trockenem Pyridin vor und tropft Boc₂O zu. Nach 60 Stunden ist in der DC-Kontrolle ($V_{Et_2O} = 100$) statt des Eduktflecks ($R_f = 0,19$) ein Produktfleck ($R_f = 0,62$) sichtbar. Zu der orangebraunen Reaktionslösung werden 3 g Kieselgel 60 gegeben und das Lösungsmittel zuerst am Rotationsverdampfer und danach 16 Stunden im Hochvakuum entfernt. Das Produkt 126 wird säulenchromatographisch (Kieselgel 60; $\emptyset = 2.9$ cm; h = 33 cm; $V_{Et,0} = 100 + 0.1$ % Triethylamin) isoliert.

Eigenschaften: blaßgelber, amorpher Festkörper;

Fp. = 118,8 - 120,6 °C; $R_f = 0,62$ ($V_{Et,O} = 100$)

¹H-NMR (250 MHz, CDCl₃):

50 MHz, CDCl₃):

$$\delta = 8,28 - 8,21 \text{ (m; 2H; Ns-}H)$$

 $7,89 - 7,82 \text{ (m; 2H; Ns-}H)$
 $7,40 - 7,21 \text{ (m; 9H; DMTr-}H)$
 $6,86 - 6,79 \text{ (m; 4H; DMTr-}H)$
 $6,14 \text{ (dd; }^{3}J_{1'-H,2'-Hx} = 7,4 \text{ Hz;}$
 $^{3}J_{1'-H,2'-He} = 2,9 \text{ Hz; 1H; 1'-}H)$
 $5,20 \text{ (ddd; }^{3}J_{3'-H,2'-Hx} = 5,1 \text{ Hz;}$
 $^{3}J_{3'-H,4'-H} = 3,5 \text{ Hz; }^{3}J_{3'-H,2'-He} = 1,4 \text{ Hz; 1H; 3'-}H)$
 $4,19 \text{ (ddd; }^{3}J_{4'-H,5'-H} = 6,1 \text{ Hz; }^{3}J_{4'-H,5'-H} = 5,3 \text{ Hz; }^{3}J_{4'-H,3'-H} = 3,4 \text{ Hz; 1H; 4'-}H)$
 $3,54 \text{ (dd; }^{2}J = 10,3 \text{ Hz; }^{3}J = 6,1 \text{ Hz; 1H; 5'-}H)$
 $3,25 \text{ (dd; }^{2}J = 10,1 \text{ Hz; }^{3}J = 5,1 \text{ Hz; 1H; 5'-}H)$
 $2,72 \text{ (ddd; }^{2}J = 15,9 \text{ Hz; }^{3}J_{2'-Hx,1'-H} = 7,5 \text{ Hz; }^{3}J_{2'-Hx,3'-H} = 5,1 \text{ Hz; 1H; 2'-}H_{s})$
 $2,44 \text{ (ddd; }^{2}J = 15,8 \text{ Hz; }^{3}J_{2'-He,1'-H} = 2,9 \text{ Hz; }^{3}J_{2'-He,3'-H} = 1,1 \text{ Hz; 1H; 2'-}H_{s})$
 $1,60 \text{ (s; 9H; Boc-}CH_{3})$

MS (FAB⁺; *m*-NBA; $C_{42}H_{43}O_{13}N_3S$; *M* = 829,88 g/mol):

m/z (%) = 852 (0,5) [M+Na]⁺; 830 (1,7) [M+H]⁺; 829 (2,5) [M]⁺; 303 (84,9) [DMTr]⁺; 154 (100) Fragment aus *m*-NBA-Matrix 830,2595 / 829,2517 ber.:

gef.: 830,2564 / 829,2509

5.3.3.1 Synthese des 3'-[¹⁸F]Fluor-3'-deoxythymidins - des [¹⁸F]FLTs (82)

Ansatz:	10,6 mg	(0,014 mmol)	3-N-Boc-1-(3-O-nosyl-5-O-trityl-2-deoxy-	
			lyxofuranosyl)thymin (Markierungsvorläufer)	
	7,8 mg	(0,021 mmol)	Kryptofix [®] 222	

2,3	ml		Acetonitril (trocken; für die DNA-Synthese)
0,15	ml		1 M Salzsäure
0,15	ml		1 M Natronlauge
0,2	ml	(0,020 mmol K^{\oplus})	0,05 M Kaliumcarbonat (aq)
15392	MBq	(416 mCi)	[¹⁸ F]Fluorid zum Zeitpunkt To

Durchführung: In der in Kapitel 5.1.1 beschriebenen Apparatur (Abb. 65; Seite 91) wird [¹⁸F]FLT synthetisiert. Hierzu befüllt man den Reaktor mit einer Lösung aus Kryptofix[®] 222 in 1 ml trockenem Acetonitril, das Vorlagegefäß 2 mit 1 ml Acetonitril zur azeotropen Trocknung, das Vorlagegefäß 3 mit einer Lösung des Markierungsvorläufers in 300 µl trockenem Acetonitril und die Vorlagegefäße 4 und 5 mit je 150 µl 1 M Salzsäure zur Hydrolyse bzw. 1 M Natronlauge zur Neutralisation der Reaktionslösung. Ein Spitzbodenglas mit Septum und Belüftungskanüle, das sich in einer Bleiabschirmung befindet, wird mit der [¹⁸F]Fluorid-haltigen, wäßrigen Kaliumcarbonatlösung befüllt und an der Apparatur als Vorlagegefäß 1 angeschlossen, nachdem man die Aktivität AOA zur Zeit To bestimmt hat. Im ersten Schritt wird die basische [¹⁸F]Fluoridlösung in den Reaktor überführt, anschließend die Restaktivität im Spitzbodenglas bestimmt und das sich im Reaktor befindende Azeotrop im Heliumstrom bei einer Heizbadtemperatur von $t \approx 115$ °C abdestilliert. Etwa 14 Minuten nach T_0 erreicht die Innentemperatur des Reaktors $t \ge 110$ °C. Nach 2 Minuten läßt man den Reaktor auf $t \le 90$ °C abkühlen, befüllt diesen mit 1 ml Acetonitril und wiederholt den azeotropen Trocknungsschritt. Zirka 1 Minute nachdem sich die Reaktorinnentemperatur erneut bei $t \ge 110$ °C eingestellt hat, läßt man auf $t \le 75$ °C abkühlen und überführt die Lösung des Markierungsvorläufers in Acetonitril in den Reaktor. Etwa 28 Minuten nach To beginnt die Synthese der [¹⁸F]Fluor-markierten Zwischenstufe. Die Synthesezeit beträgt 10 Minuten bei einer Heizbadtemperatur von $t \approx 115$ °C unter Reaktorabschluß. Nachdem die Temperatur der Reaktionslösung t = 105 °C überschritten hat - dies wird etwa 3 Minuten nach Synthesebeginn erreicht, läßt man die Reaktorinnentemperatur innerhalb 3 Minuten auf $t \le 80$ °C absinken und erhitzt anschließend bis zum Ende der Synthesezeit auf $t \approx 110$ °C. Nach Abkühlung auf $t \le 75$ °C wird der Reaktionslösung Salzsäure zugesetzt. Ungefähr 42 Minuten nach T₀ beginnt die Hydrolyse der markierten Zwischenstufe zu [¹⁸F]FLT, wobei hierfür die Arbeitsschritte der

Synthese der Zwischenstufe wiederholt werden. Die auf $t \le 75$ °C abgekühlte, orangebraune, schwach trübe Reaktionslösung wird mit Natronlauge neutralisiert, etwa 20 Sekunden gerührt und in die Aufgabeschleife der HPLC überführt. Der Start des HPLC-Laufs erfolgt etwa 58 Minuten nach T_0 . Das [¹⁸F]FLT (**82**) wird bei einer Retentionszeit⁽³¹⁾ von etwa $T_R \approx 34$ bis 41 min in einer ethanolischwäßrigen Lösung (V_{EtOH} : $V_{H_2O} = 7,5:92,5$) in hoher Reinheit eluiert.



(31)

HPLC-Säule: *Phenomenex*; LUNA; 5 μ m; 250 × 21 mm mobile Phase: *V*_{EtOH}: *V*_{H₂O} = 7,5:92,5; isokratisch; 10 ^{ml}/_{min}

Ausbeute:	1106	MBq (29	9,9 mCi)	9,3 % der Theorie ⁽³²⁾ 82; unkorrigiert;
				gemessen zum Zeitpunkt $T = 97:20$ min nach T_0
	2042	MBq (55	5,2 mCi)	17,2 % der Theorie ⁽³²⁾ 82;
				korrigiert auf Zeitpunkt To;
				(Zerfallskorrektur vgl. Kap. 6.3.1)

Eigenschaften: farblose, klare, ethanolisch-wäßrige Lösung; pH 5,5; [¹⁸F]Fluorid-frei; $T_{R}^{(31)} = 36,4$ min; $T_{R}^{(33)} = 16,6$ min; Aktivitätskonzentration einer Teilfraktion: $31,1 \text{ }^{\text{MBq}/}_{\text{ml}} (0,84 \text{ }^{\text{mCi}/}_{\text{ml}})$

5.3.3.2 Synthese des 3'-[¹⁹F]Fluor-3'-deoxythymidins - des [¹⁹F]FLTs (54)

Ansatz:	10,2	mg	(0,013 mmol)	$3-N$ -Boc-1-($3-O$ -nosyl- $5-O$ -trityl- 2 -deoxy- β -D-
				lyxofuranosyl)thymin (Markierungsvorläufer)
	9,2	mg	(0,024 mmol)	Kryptofix [®] 222
	2,3	ml		Acetonitril (trocken; für die DNA-Synthese)
	155	μl		1 M Salzsäure
	155	μl		1 M Natronlauge
	200	μl	(0,020 mmol K^{\oplus})	0,05 M Kaliumcarbonat (aq)
	0,8	mg	(0,014 mmol)	Kaliumfluorid

Durchführung: Synthesevorschrift siehe Kapitel 5.3.3.1

Ausbeute:	1,4 mg	(5,7 µmol)	43,3 % der

Theorie 54

Eigenschaften: farbloser Festkörper;

 $R_f = 0,71 \ (V_{\text{MeOH}}: V_{\text{CH}_2\text{CI}_2} = 3:17);$ $T_{\text{R}}^{(31)} = 29.7 \text{ min}: T_{\text{R}}^{(33)} = 17.1 \text{ min}$



⁽³²⁾ Die prozentuale Ausbeute bezieht sich auf eine Anfangsaktivität von $A_0 = 11892$ MBq, die man erhält, wenn von der im Ansatz beschriebenen Anfangsaktivität $A_{0A} = 15392$ MBq die im Spitzglas verbliebene Restaktivität $A_{0R} = 1228$ MBq und der auf T_0 korrigierte Aktivitätsverlust in der Kühlfalle $A_{0K} = 2272$ MBq abgezogen wird. Die Berücksichtigung von A_{0K} ist nur dann notwendig, wenn sich eine ungewöhnlich hohe Aktivität am Ende der Synthese in der Kühlfalle befindet. Ursache hierfür kann z. B. eine Verstopfung im Abluftsystem der Apparatur und die daraus resultierenden Siedeverzüge während der azeotropen Trocknung sein.

⁽³³⁾ HPLC-Säule: *Phenomenex*; LUNA; 5 μ m; 250 × 4,6 mm mobile Phase: V_{EtOH} : $V_{\text{H}_2\text{O}}$ = 7,5:92,5; isokratisch; 1 ^{ml}/_{min}

6 Anhang

6.1 Die Strukturdaten der 1,6-Anhydro-2,3-dideoxy-β-D-*erythro*-hex-2-enopyranose

6.1.1 Die Kristalldaten und Strukturverfeinerung

Identification code	stma		
Empirical formula	$C_6H_8O_3$		
Formula weight	128,12		
Temperature	203(2) K		
Wavelength	0,71070 Å		
Crystal system	orthorhombic		
Space group	$P2_{1}2_{1}2_{1}$		
Unit cell dimensions	a = 6,395(3) Å	$\alpha = 90^{\circ}$	
	b = 9,643(5) Å	$\beta = 90^{\circ}$	
	c = 9,741(5) Å	$\gamma = 90^{\circ}$	
Volume	600,7(5) Å ³		
Z	4		
Density (calculated)	$1,417 \text{ Mg/m}^3$		
Absorption coefficient	0,114 mm ⁻¹		
F(000)	272		
Crystal size	$0,\!65\times0,\!55\times0,\!30~mm^3$		
Theta range for data collection	2,97 to 34,98°		
Index ranges	$0 \le h \le 10; 0 \le k \le 15; 0 \le l \le 15$		
Reflections collected	1 1535		
Independent reflections	1535 [R(int) = 0,00	000]	
Completeness to $\theta = 34,98^{\circ}$	99,9 %		
Absorption correction	Psi-scan		
Max. and min. transmission	0,999 and 0,915		
Refinement method	Full-matrix least-squares on F ²		
Data / restraints / parameters	ata / restraints / parameters 1535 / 0 / 115		
Goodness-of-fit on F ²	odness-of-fit on F ² 1,044		
Final R indices $[I > 2 \times \sigma_I]$	R1 = 0,0371; wR2 = 0,1011		
R indices (all data)	R1 = 0,0581; wR2 = 0,1098		
Absolute structure parameter 1,4(13)			
Extinction coefficient	0,42(3)		
Largest diff. peak and hole	0,222 and -0,152 e × Å ⁻³		

6.1.2 Die Bindungslängen

O(1)-C(1)	1,435(2)
O(1)-C(6)	1,442(2)
O(2)-C(1)	1,4066(18)
O(2)-C(5)	1,4410(18)
O(3)-C(4)	1,432(2)
O(3)-H(3O)	0,78(4)
C(1)-C(2)	1,508(2)
C(1)-H(1)	0,98(2)
C(2)-C(3)	1,326(2)

6.1.3 Die Bindungswinkel

C(1)-O(1)-C(6)	103,68(11)
C(1)-O(2)-C(5)	100,95(11)
C(4)-O(3)-H(3O)	106,0(20)
O(2)-C(1)-O(1)	103,69(12)
O(2)-C(1)-C(2)	110,49(12)
O(1)-C(1)-C(2)	110,21(13)
O(2)-C(1)-H(1)	108,8(13)
O(1)-C(1)-H(1)	107,0(13)
C(2)-C(1)-H(1)	115,9(13)
C(3)-C(2)-C(1)	119,39(13)
C(3)-C(2)-H(2)	120,3(14)
C(1)-C(2)-H(2)	120,3(14)
C(2)-C(3)-C(4)	120,83(13)
C(2)-C(3)-H(3)	124,3(15)
C(4)-C(3)-H(3)	114,9(15)
O(3)-C(4)-C(3)	111,76(13)
O(3)-C(4)-C(5)	111,98(14)

C(2)-H(2)	0,89(2)
C(3)-C(4)	1,507(2)
C(3)-H(3)	0,96(2)
C(4)-C(5)	1,524(2)
C(4)-H(4)	0,99(2)
C(5)-C(6)	1,547(2)
C(5)-H(5)	1,00(2)
C(6)-H(6B)	0,98(3)
C(6)-H(6A)	0,95(2)

C(3)-C(4)-C(5)	108,73(12)
O(3)-C(4)-H(4)	105,3(13)
C(3)-C(4)-H(4)	109,7(13)
C(5)-C(4)-H(4)	109,3(13)
O(2)-C(5)-C(4)	108,53(11)
O(2)-C(5)-C(6)	102,48(13)
C(4)-C(5)-C(6)	111,68(13)
O(2)-C(5)-H(5)	108,2(12)
C(4)-C(5)-H(5)	111,9(12)
C(6)-C(5)-H(5)	113,5(12)
O(1)-C(6)-C(5)	104,03(12)
O(1)-C(6)-H(6B)	105,8(14)
C(5)-C(6)-H(6B)	113,7(14)
O(1)-C(6)-H(6A)	109,1(14)
C(5)-C(6)-H(6A)	109,7(14)
H(6B)-C(6)-H(6A)	114,0(20)

6.2 Die Strukturdaten des 3-*N*-Boc-1-(3-*O*-nosyl-5-*O*-trityl-β-D-lyxofuranosyl)thymins

6.2.1 Die Kristalldaten und Strukturverfeinerung

Identification code	stef01	
Empirical formula	$C_{40}H_{39}N_3O_{11}S$	
Formula weight	769,80	
Temperature	173(2) K	
Wavelength	0,71073 Å	
Crystal system	monoclinic	
Space group	<i>P</i> 2 ₁	
Unit cell dimensions	a = 10,8786(2) Å	$\alpha = 90^{\circ}$
	b = 12,6474(2) Å	$\beta = 103,3560(10)^{\circ}$
	c = 13,7054(2) Å	$\gamma = 90^{\circ}$
Volume	1834,67(5) Å ³	
Z	2	
Density (calculated)	$1,393 \text{ Mg/}_{m^3}$	
Absorption coefficient	0,156 mm ⁻¹	
F(000)	808	
Crystal size	$0,58 \times 0,26 \times 0,17 \text{ mm}$	3
Theta range for data collection	1,92 to 28,30°	
Index ranges	$\textbf{-14} \leq h \leq 14 \textbf{;} \textbf{-16} \leq k \leq 16 \textbf{;} \textbf{ 0} \leq l \leq 18$	
Reflections collected	24226	
Independent reflections	8786 [R(int) = 0,0264]	
Completeness to $\theta = 28,30^{\circ}$	99,4 %	
Absorption correction	Semi-empirical from e	quivalents
Max. and min. transmission	1,0000 and 0,8869	
Refinement method	Full-matrix least-squares on F ²	
Data / restraints / parameters	8786 / 1 / 652	
Goodness-of-fit on F ²	1,021	
Final R indices $[I > 2 \times \sigma_1]$	R1 = 0,0313; wR2 = 0,0795	
R indices (all data)	R1 = 0,0341; wR2 = 0,0819	
Absolute structure parameter	-0,01(4)	
Largest diff. peak and hole	st diff. peak and hole $0,342 \text{ and } -0,219 \text{ e} \times \text{\AA}^{-3}$	

6.2.2 Die Bindungslängen

S(1)-O(8)	1,4258(13)	C(7)-C(8)	1,5123(19)
S(1)-O(9)	1,4284(12)	C(7)-H(7)	0,922(18)
S(1)-O(4)	1,5733(10)	C(8)-C(9)	1,5108(18)
S(1)-C(16)	1,7654(15)	C(8)-H(8)	0,98(2)
O(1)-C(1)	1,2176(18)	C(9)-H(9A)	0,99(2)
O(2)-C(2)	1,2200(18)	C(9)-H(9B)	1,018(19)
O(3)-C(5)	1,4105(17)	C(11)-C(12)	1,516(3)
O(3)-C(8)	1,4417(16)	C(11)-C(13)	1,524(3)
O(4)-C(7)	1,4690(17)	C(11)-C(14)	1,524(3)
O(5)-C(9)	1,4260(17)	C(12)-H(12A)	1,01(3)
O(5)-C(22)	1,4466(16)	C(12)-H(12B)	0,96(3)
O(6)-C(10)	1,1923(19)	C(12)-H(12C)	0,98(3)
O(7)-C(10)	1,3157(18)	C(13)-H(13A)	1,02(2)
O(7)-C(11)	1,4962(18)	C(13)-H(13B)	0,94(3)
O(10)-N(3)	1,217(2)	C(13)-H(13C)	0,97(3)
O(11)-N(3)	1,229(2)	C(14)-H(14D)	0,99(3)
N(1)-C(4)	1,3764(18)	C(14)-H(14A)	1,03(3)
N(1)-C(1)	1,3783(18)	C(14)-H(14B)	0,94(3)
N(1)-C(5)	1,4926(18)	C(15)-H(15A)	0,94(2)
N(2)-C(1)	1,3889(19)	C(15)-H(15B)	0,90(2)
N(2)-C(2)	1,4077(19)	C(15)-H(15C)	1,00(3)
N(2)-C(10)	1,4596(18)	C(16)-C(21)	1,390(2)
N(3)-C(19)	1,476(2)	C(16)-C(17)	1,394(2)
C(2)-C(3)	1,454(2)	C(17)-C(18)	1,385(3)
C(3)-C(4)	1,346(2)	C(17)-H(17)	0,95(2)
C(3)-C(15)	1,501(2)	C(18)-C(19)	1,383(3)
C(4)-H(4)	0,942(18)	C(18)-H(18)	0,94(2)
C(5)-C(6)	1,5377(19)	C(19)-C(20)	1,387(2)
C(5)-H(5)	0,96(2)	C(20)-C(21)	1,392(2)
C(6)-C(7)	1,5191(18)	С(20)-Н(20)	0,94(2)
C(6)-H(6A)	0,956(19)	C(21)-H(21)	0,88(2)
C(6)-H(6B)	0,901(19)	C(22)-C(29)	1,5315(19)
		•	

132			6 ANHANG
C(22)-C(23)	1,5363(19)	C(31)-H(31)	0,92(2)
C(22)-C(35)	1,5404(18)	C(32)-C(33)	1,392(2)
C(23)-C(24)	1,393(2)	С(32)-Н(32)	0,93(2)
C(23)-C(28)	1,399(2)	C(33)-C(34)	1,389(2)
C(24)-C(25)	1,406(2)	С(33)-Н(33)	1,02(3)
C(24)-H(24)	0,93(2)	C(34)-H(34)	0,97(2)
C(25)-C(26)	1,380(2)	C(35)-C(40)	1,3978(19)
C(25)-H(25)	0,99(2)	C(35)-C(36)	1,4030(19)
C(26)-C(27)	1,388(3)	C(36)-C(37)	1,395(2)
C(26)-H(26)	0,95(2)	С(36)-Н(36)	0,965(19)
C(27)-C(28)	1,389(2)	C(37)-C(38)	1,386(2)
C(27)-H(27)	0,95(2)	С(37)-Н(37)	0,91(2)
C(28)-H(28)	0,95(2)	C(38)-C(39)	1,384(2)
C(29)-C(34)	1,392(2)	C(38)-H(38)	0,97(2)
C(29)-C(30)	1,401(2)	C(39)-C(40)	1,397(2)
C(30)-C(31)	1,386(2)	C(39)-H(39)	0,960(19)
C(30)-H(30)	0,93(2)	C(40)-H(40)	0,899(19)
C(31)-C(32)	1,385(3)		

Die Bindungswinkel 6.2.3

O(8)-S(1)-O(9)	119,99(8)	C(1)-N(2)-C(10)	115,49(12)
O(8)-S(1)-O(4)	107,04(7)	C(2)-N(2)-C(10)	116,99(12)
O(9)-S(1)-O(4)	110,17(6)	O(10)-N(3)-O(11)	124,62(17)
O(8)-S(1)-C(16)	108,46(8)	O(10)-N(3)-C(19)	117,37(17)
O(9)-S(1)-C(16)	109,54(7)	O(11)-N(3)-C(19)	118,00(15)
O(4)-S(1)-C(16)	99,72(6)	O(1)-C(1)-N(1)	123,74(13)
C(5)-O(3)-C(8)	109,42(10)	O(1)-C(1)-N(2)	122,06(13)
C(7)-O(4)-S(1)	121,21(9)	N(1)-C(1)-N(2)	114,18(12)
C(9)-O(5)-C(22)	114,05(10)	O(2)-C(2)-N(2)	119,08(13)
C(10)-O(7)-C(11)	118,98(12)	O(2)-C(2)-C(3)	126,65(14)
C(4)-N(1)-C(1)	122,27(12)	N(2)-C(2)-C(3)	114,27(12)
C(4)-N(1)-C(5)	123,24(11)	C(4)-C(3)-C(2)	118,85(13)
C(1)-N(1)-C(5)	114,38(12)	C(4)-C(3)-C(15)	123,76(13)
C(1)-N(2)-C(2)	127,10(12)	C(2)-C(3)-C(15)	117,33(13)

6 ANHANG

C(3)-C(4)-N(1)	123,31(13)
C(3)-C(4)-H(4)	122,5(12)
N(1)-C(4)-H(4)	114,1(11)
O(3)-C(5)-N(1)	108,73(11)
O(3)-C(5)-C(6)	106,95(11)
N(1)-C(5)-C(6)	111,90(11)
O(3)-C(5)-H(5)	110,4(11)
N(1)-C(5)-H(5)	104,7(11)
C(6)-C(5)-H(5)	114,0(11)
C(7)-C(6)-C(5)	103,17(11)
C(7)-C(6)-H(6A)	109,8(10)
C(5)-C(6)-H(6A)	108,1(11)
C(7)-C(6)-H(6B)	111,8(11)
C(5)-C(6)-H(6B)	113,0(11)
H(6A)-C(6)-H(6B)	110,6(15)
O(4)-C(7)-C(8)	107,59(11)
O(4)-C(7)-C(6)	110,86(11)
C(8)-C(7)-C(6)	101,21(11)
O(4)-C(7)-H(7)	108,8(12)
C(8)-C(7)-H(7)	113,1(11)
C(6)-C(7)-H(7)	115,0(11)
O(3)-C(8)-C(9)	110,52(11)
O(3)-C(8)-C(7)	105,26(10)
C(9)-C(8)-C(7)	120,97(12)
O(3)-C(8)-H(8)	107,7(11)
C(9)-C(8)-H(8)	105,5(11)
C(7)-C(8)-H(8)	106,2(11)
O(5)-C(9)-C(8)	112,50(11)
O(5)-C(9)-H(9A)	110,0(12)
C(8)-C(9)-H(9A)	107,2(11)
O(5)-C(9)-H(9B)	110,8(12)
C(8)-C(9)-H(9B)	105,5(11)
H(9A)-C(9)-H(9B)	110,6(16)
O(6)-C(10)-O(7)	129,56(14)

O(6)-C(10)-N(2)	121,43(13)		
O(7)-C(10)-N(2)	109,00(12)		
O(7)-C(11)-C(12)	108,87(16)		
O(7)-C(11)-C(13)	108,95(14)		
C(12)-C(11)-C(13)	114,34(16)		
O(7)-C(11)-C(14)	102,14(14)		
C(12)-C(11)-C(14)	111,2(2)		
C(13)-C(11)-C(14)	110,6(2)		
C(11)-C(12)-H(12A)	107,5(17)		
C(11)-C(12)-H(12B)	113,0(16)		
H(12A)-C(12)-H(12B)	108,0(20)		
С(11)-С(12)-Н(12С)	115,0(18)		
H(12A)-C(12)-H(12C)	108,0(20)		
H(12B)-C(12)-H(12C)	106,0(20)		
C(11)-C(13)-H(13A)	112,2(14)		
С(11)-С(13)-Н(13В)	112,0(16)		
H(13A)-C(13)-H(13B)	111,0(20)		
С(11)-С(13)-Н(13С)	107,7(17)		
H(13A)-C(13)-H(13C)	109,0(20)		
H(13B)-C(13)-H(13C)	104,0(20)		
C(11)-C(14)-H(14D)	107,7(19)		
C(11)-C(14)-H(14A)	109,3(17)		
H(14D)-C(14)-H(14A)	113,0(30)		
C(11)-C(14)-H(14B)	110,1(19)		
H(14D)-C(14)-H(14B)	109,0(30)		
H(14A)-C(14)-H(14B)	108,0(30)		
C(3)-C(15)-H(15A)	107,9(15)		
C(3)-C(15)-H(15B)	109,7(16)		
H(15A)-C(15)-H(15B)	116,0(20)		
C(3)-C(15)-H(15C)	109,7(14)		
Н(15А)-С(15)-Н(15С)	106,0(20)		
H(15B)-C(15)-H(15C)	108,0(20)		
C(21)-C(16)-C(17)	121,88(14)		
C(21)-C(16)-S(1)	119,09(12)		
C(17)-C(16)-S(1)	118,96(12)	C(26)-C(27)-C(28)	119,84(15)
-------------------	------------	-------------------	------------
C(18)-C(17)-C(16)	119,50(15)	C(26)-C(27)-H(27)	119,4(14)
C(18)-C(17)-H(17)	121,9(13)	C(28)-C(27)-H(27)	120,7(14)
C(16)-C(17)-H(17)	118,6(13)	C(27)-C(28)-C(23)	120,94(15)
C(19)-C(18)-C(17)	117,89(15)	C(27)-C(28)-H(28)	119,5(13)
C(19)-C(18)-H(18)	120,7(11)	C(23)-C(28)-H(28)	119,5(13)
C(17)-C(18)-H(18)	121,4(11)	C(34)-C(29)-C(30)	118,11(13)
C(18)-C(19)-C(20)	123,64(16)	C(34)-C(29)-C(22)	122,71(12)
C(18)-C(19)-N(3)	117,82(15)	C(30)-C(29)-C(22)	118,63(13)
C(20)-C(19)-N(3)	118,54(15)	C(31)-C(30)-C(29)	120,75(15)
C(19)-C(20)-C(21)	118,15(15)	C(31)-C(30)-H(30)	122,2(12)
C(19)-C(20)-H(20)	122,2(14)	C(29)-C(30)-H(30)	117,0(12)
C(21)-C(20)-H(20)	119,6(14)	C(32)-C(31)-C(30)	120,46(15)
C(16)-C(21)-C(20)	118,93(14)	C(32)-C(31)-H(31)	118,1(16)
C(16)-C(21)-H(21)	119,9(13)	C(30)-C(31)-H(31)	121,5(16)
C(20)-C(21)-H(21)	121,1(13)	C(31)-C(32)-C(33)	119,56(15)
O(5)-C(22)-C(29)	107,75(11)	C(31)-C(32)-H(32)	122,9(12)
O(5)-C(22)-C(23)	105,44(10)	C(33)-C(32)-H(32)	117,5(12)
C(29)-C(22)-C(23)	111,51(11)	C(34)-C(33)-C(32)	119,81(15)
O(5)-C(22)-C(35)	110,97(10)	C(34)-C(33)-H(33)	118,3(13)
C(29)-C(22)-C(35)	115,69(11)	C(32)-C(33)-H(33)	121,8(13)
C(23)-C(22)-C(35)	105,04(11)	C(33)-C(34)-C(29)	121,31(14)
C(24)-C(23)-C(28)	118,89(14)	C(33)-C(34)-H(34)	119,4(12)
C(24)-C(23)-C(22)	121,89(13)	C(29)-C(34)-H(34)	119,2(12)
C(28)-C(23)-C(22)	119,18(13)	C(40)-C(35)-C(36)	118,62(13)
C(23)-C(24)-C(25)	119,93(15)	C(40)-C(35)-C(22)	122,14(12)
C(23)-C(24)-H(24)	120,0(12)	C(36)-C(35)-C(22)	118,72(12)
C(25)-C(24)-H(24)	119,9(12)	C(37)-C(36)-C(35)	120,43(14)
C(26)-C(25)-C(24)	120,36(16)	C(37)-C(36)-H(36)	121,4(11)
C(26)-C(25)-H(25)	118,4(14)	C(35)-C(36)-H(36)	118,2(11)
C(24)-C(25)-H(25)	121,2(14)	C(38)-C(37)-C(36)	120,52(14)
C(25)-C(26)-C(27)	120,03(15)	C(38)-C(37)-H(37)	119,3(12)
C(25)-C(26)-H(26)	121,0(12)	C(36)-C(37)-H(37)	120,2(12)
C(27)-C(26)-H(26)	119,0(12)	C(39)-C(38)-C(37)	119,40(14)

6	ANHANG	Ĵ
---	--------	---

C(39)-C(38)-H(38)	120,7(12)	C(40)-C(39)-H(39)	116,3(11)
C(37)-C(38)-H(38)	119,9(12)	C(39)-C(40)-C(35)	120,26(14)
C(38)-C(39)-C(40)	120,76(15)	C(39)-C(40)-H(40)	116,5(12)
C(38)-C(39)-H(39)	123,0(11)	C(35)-C(40)-H(40)	123,1(11)

6.3 Formeln

6.3.1 Die Zerfallskorrektur

Mit Hilfe der linken Formel, dem Zerfallsgesetz, kann die verbleibende Restaktivität A zu jedem beliebigen Zeitpunkt nach T_0 berechnet werden, wenn sowohl die Anfangsaktivität A_0 , die zum Zeitpunkt T_0 gemessen wurde, als auch die Halbwertszeit T_{V_2} des zerfallenden Nuklids bekannt sind. Die rechte Formel ermöglicht die Berechnung der Anfangsaktivität A_0 zum Zeitpunkt T_0 ausgehend von der aktuellen Aktivität A. Diese Berechnung wird Zerfallskorrektur genannt und wird zur Bestimmung von korrigierten radiochemischen Ausbeuten benötigt.

$$A = A_0 \times e^{-\ln 2 \times \frac{\Delta T}{T_{y_i}}} \qquad A_0 = \frac{A}{e^{-\ln 2 \times \frac{\Delta T}{T_{y_i}}}}$$

A =Aktivität zu einem beliebigen Zeitpunkt T

 A_0 = Anfangsaktivität zum Zeitpunkt T_0

 ΔT = beliebige Zeitspanne, die mit dem Zeitpunkt T₀ beginnt;

 ΔT und $T_{\frac{1}{2}}$ müssen in der gleichen Zeiteinheit vorliegen

 $T_{\frac{1}{2}}$ = Halbwertszeit eines Nuklids

 $ln \ 2 \approx 0,69314718$

6.3.2 Die relative Geschwindigkeit einer S_N2-Reaktion bei der Umsetzung mit Hydrogensulfid bzw. Bromid

Nach C.G. SWAIN und C.B. SCOTT^[84] kann die relative Umsetzungsrate einer S $_{N2}$ -Reaktion in Abhängigkeit des verwendeten Nukleophils berechnet werden, wobei als Maß für die Nukleophilie eines Teilchens die Bezugsgröße *n* eingeführt wurde. Als Bezugspunkt dient die Nukleophilie von Wassermolekülen mit dem Wert $n_{H_{2}O} = 0$. Demnach ergibt sich für ein Substrat, das einen stoffabhängigen Proportionalitätsfaktor nahe dem Wert $s \approx 1$ aufweist, eine etwa 40-fach höhere Umsetzungsrate, wenn unter sonst gleichen Reaktionsbedingungen Hydrogensulfidionen statt Bromidionen als Nukleophile eingesetzt werden. Im folgenden ist diese Berechnung näherungsweise aufgezeigt:

$$\log \frac{k_{\rm HS^0}}{k_0} = s \times n_{\rm HS^0} \qquad \log \frac{k_{\rm Bs^0}}{k_0} = s \times n_{\rm B^0}$$

$$\log \frac{k_{\rm HS^0}}{k_0} - s \times n_{\rm HS^0} = \log \frac{k_{\rm Bs^0}}{k_0} - s \times n_{\rm Bs^0}$$

$$\log \frac{k_{\rm HS^0}}{k_0} - \log \frac{k_{\rm Bs^0}}{k_0} = s \times n_{\rm HS^0} - s \times n_{\rm Bs^0}$$

$$\log \frac{k_{\rm HS^0}}{k_{\rm Bs^0}} = s \times (n_{\rm HS^0} - n_{\rm Bs^0}) \qquad \text{für } n_{\rm HS^0} = 5,1$$

$$n_{\rm Bs^0} = 3,5$$

$$s \approx 1$$

$$\log \frac{k_{\rm HS^0}}{k_{\rm Bs^0}} \approx 1,6$$

$$\frac{k_{\rm HS^0}}{k_{\rm Bs^0}} \approx 40$$

 $n_{\rm HS^{\odot}}$ = Nukleophilie der Eintrittsgruppe Hydrogensulfid

 $n_{\rm Br^{\odot}}$ = Nukleophilie der Eintrittsgruppe Bromid

s = Proportionalitätsfaktor, der die Eigenschaften des Substrats berücksichtigt;

für Methylbromid ist *s* auf den Wert s = 1 definiert

- $k_{\text{HS}^{\ominus}}$ = Geschwindigkeitskonstante der S_N2-Reaktion mit Hydrogensulfidionen als Nukleophil
- $k_{Br^{\ominus}}$ = Geschwindigkeitskonstante der S_N2-Reaktion mit Bromidionen als Nukleophil
- k_0 = Geschwindigkeitskonstante der S_N2-Reaktion mit Wasser als Nukleophil

7 Literaturverzeichnis

- Keller, C.; *Grundlagen der Radiochemie*; Salle + Sauerländer Aarau; 1993;
 vollständig neu bearbeitete Auflage.
- [2] Recommendations of the International Commission on Radiological Protection; ICRP Publication 60; *Annals of the ICRP* **1991**; *21*; Nr. 1-3.
- [3] Ostertag, H.; *EANM* Congress **1991**, Wien; Technologists Sessions I; PET Instrumentation.
- [4] Haeckel, R.; *Inaugural dissertation*; Universität Heidelberg; **1996**.
- [5] Karp, J.S.; Adam, L.E.; Freifelder, R.; Muehllehner, G.; Liu, F. und Surti, S.;
 Nuclear Science Symposium and Medical Imaging Conference in Seattle, Washington, USA;
 IEEE 1999; M4-8.
- [6] Schmand, M.; Wienhard, K.; Casey, M.E.; Eriksson, L.; Jones, W.F.; Reed, J.H.; Treffert, J.; Lenox, M.; Luk, P.; Bao, J.; Young, J.W.; Baker, K.; Miller, S.D.; Knoess, C.; Vollmar, S.; Richerzhagen, N.; Flügge, G.; Heiss, W.D. und Nutt, R.; Nuclear Science Symposium and Medical Imaging Conference in Seattle, Washington, USA; *IEEE* 1999; M4-2.
- Shields, A.F.; Mankoff, D.A.; Link, J.M.; Graham, M.M.; Eary, J.F.; Kozawa, S.M.;
 Zheng, M.; Lewellen, B.; Lewellen, T.K.; Grierson, J.R. und Krohn, K.A.; *J. Nucl. Med.* 1998; 39; 1757-1762.
- [8] Stöcklin, G. und Pike, V.W.; *Radiopharmaceuticals for Positron Emission Tomography*;
 Kluwer Academic Publishers Dordrecht; **1993**; *24*.
- [9] Lauer, G.; *Inaugural dissertation*; Universität Heidelberg; **1995**.
- [10] Hamacher, K.; Coenen, H.H. und Stöcklin, G.; J. Nucl. Med. 1986; 27; 235-238.
- [11] Straatmann, M.G. und Welch, M.J.; J. Nucl. Med. 1977; 18; 151-158.
- [12] Namavari, M.; Bishop, A.; Satyamurthy, N.; Bida, G. und Barrio, J.R.; *Appl. Radiat. Isot.* **1992**; *43(8)*; 989-996.
- [13] Jewett, D.M.; Potocki, J.F. und Ehrenkaufer; *Synth. Commun.* **1984**; *14*; 45.
- [14] Jewett, D.M.; Potocki, J.F. und Ehrenkaufer; J. Fluorine Chem. 1984; 24; 477.
- [15] Varagnolo, L.; Stokkel, M.P.M.; Mazzi, U. und Pauwels, E.K.J.; *Nuclear Medicine & Biology* 2000; *27*; 103-112.
- [16] Haeckel, R.; Lauer, G. und Oberdorfer, F.; *Synlett* **1996**; 21-23.

[17]	Ogawa, S. und Aso, D.; Carbohydr. Res. 1993; 250; 177-184.
[18]	Chon, C.; Heisler, A.; Junot, N.; Levayer, F. und Rabiller, C.; <i>Tetrahedron Asymm.</i> 1993; 4; 2441-2444.
[19]	Roth, W. und Pigman, W.; Methods Carbohydr. Chem. 1963; 2; 405-408.
[20]	Lauer, G. und Oberdorfer, F.; Angew. Chem. 1993; 105; 271-272.
[21]	Ferrier, R.J.; J. Chem. Soc. 1964; 5443-5449.
[22]	Černý, M. und Staněk Jr., J.; Adv. Carbohydr. Chem. Biol. 1977; 34; 38.
[23]	Sweet, F. und Brown, R.K.; Can. J. Chem. 1968; 46; 2289-2298.
[24]	Murray, T.P.; Williams, C.S. und Brown, R.K.; J. Org. Chem. 1971; 36; 1311-1314.
[25]	Ranganayakulu, K.; Singh, U.P.; Murray, T.P. und Brown, R.K.; <i>Can. J. Chem.</i> 1974 ; <i>52</i> ; 988-992.
[26]	Singh, U.P. und Brown, R.K.; Can. J. Chem. 1970; 48; 1791-1792.
[27]	Oberdorfer, F.; Haeckel, R. und Lauer, G.; Synthesis 1997; 1-6.
[28]	Gorzynski Smith, J.; Synthesis 1984; 629-656.
[29]	Černý, M.; Trnka, T.; Beran, P. und Pacák, J.; Coll. Czechoslov. Chem. Commun. 1969; 34; 3377-3382.
[30]	Staněk Jr., J. und Černý, M.; Synthesis 1972; 698-699.
[31]	Pacák, J.; Podešva, J.; Točík, Z. und Černý, M.; Coll. Czechoslov. Chem. Commun. 1972; 37; 2589-2599.
[32]	Grindley, T.B.; Reimer, G.J.; Kralovec, J.; Brown, R.G. und Anderson, M.; <i>Can. J. Chem.</i> 1987 ; <i>65</i> ; 1065-1071.
[33]	Grün, B.R.; Berger, U.; Oberdorfer, F.; Hull, W.E.; Ostertag, H.; Friedrich, E.; Lehmann, J. und Keppler, D.; <i>Eur. J. Biochem.</i> 1990 ; <i>190</i> ; 11-19.
[34]	Geilen, C.C.; Loch, N.; Reutter, W.; Seppelt, K. und Oberdorfer, F.; <i>Tetrahedron Lett.</i> 1992 ; <i>33</i> ; 2435-2438.
[35]	Markovskij, L.N.; Pashinnik, V.E. und Kirsanov, A.V.; Synthesis 1973; 787-789.
[36]	Card, P.J.; J. Carbohydr. Chem. 1985; 4; 451-487.
[37]	Middleton, W.J.; J. Org. Chem. 1975; 40; 574-578.
[38]	Kováč, P.; Carbohydr. Res. 1986; 153; 168-170.

[39] Motawia, M.S. und Pedersen, E.B.; *Liebigs Ann. Chem.* **1990**; *11*; 1137-1139.

138

[40]	Stryer, L.; <i>Biochemie</i> ; Spektrum Akademischer Verlag - Heidelberg; 1996; 4. Auflage.
[41]	Kong, X.B.; Zhu, Q.Y.; Vidal, P.M.; Watanabe, K.A.; Polsky, B.; Armstrong, D.; Ostrander, M.; Lang Jr., S.A.; Muchmore, E. und Chou, T.C.; <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> 1992 ; <i>36</i> ; 808-818.
[42]	Ibelgaufts, H.; <i>Gentechnologie von A bis Z</i> ; Verlag Chemie - Weinheim; 1990 ; Erweiterte Auflage.
[43]	Chidgeavadze, Z.G.; Scamrov, A.V.; Beabealashvilli, R.S.; Kvasyuk, E.I.; Zaitseva, G.V.; Mikhailopulo, I.A.; Kowollik, G. und Langen, P.; <i>FEBS</i> 1985 ; <i>183</i> ; 275-278.
[44]	Herdewijn, P.; Balazarini, J.; De Clercq, E.; Pauwels, R.; Baba, M.; Broder, S. und Vanderhaeghe, H.; <i>J. Med. Chem.</i> 1987 ; <i>30</i> ; 1270-1278.
[45]	De Clercq, E.; AIDS Research Human Retroviruses 1992; 8; 119-134.
[46]	Hartmann, H.; Vogt, M.W.; Durno, A.G.; Hirsch, M.S.; Hunsmann, G. und Eckstein, F.; <i>AIDS Research Human Retroviruses</i> 1988 ; <i>4</i> ; 457-466.
[47]	Sherley, J.L. und Kelly, T.J.; J. Biol. Chem. 1988; 263; 8350-8358.
[48]	Shields, A.F.; Grierson, J.R.; Muzik, O., Stayanoff, J.C.; Lawhorn-Crews, H.M.; Obradovich, J.E. und Mangner, T.J.; <i>J. Nucl. Med.</i> 1999 ; <i>40</i> ; 25P.
[49]	Grierson, J.R. und Shields, A.F.; Nucl. Med. Biol. 2000; 27; 143-156.
[50]	Seelmann-Eggebert, W.; Pfennig, G.; Münzel, H. und Klewe-Nebenius; <i>Nuklidkarte des Kernforschungszentrums Karlsruhe</i> 1981 .
[51]	Rasey, J.S.; Grierson, J.R.; Wiens, L.W. und Kolb, P.E.; 47 th Annual Meeting in St. Louis; <i>Society of Nuclear Medicine</i> 2000 ; Abstract Nr. 142.
[52]	Rasey, J.S. und Grierson J.R.; J. Nucl. Med. 1999; 40; 25P.
[53]	Dohmen, B.M.; Shields, A.F.; Grierson, J.R.; Kuntzsch, M.; Reimold, M.; Sloan, A.; Machulla, HJ. und Bares, R.; 47 th Annual Meeting in St. Louis; <i>Society of Nuclear Medicine</i> 2000 ; Abstract Nr. 966.
[54]	 Shields, A.F.; Grierson, J.R.; Dohmen, B.M.; Machulla, HJ.; Stayanoff, J.C.; Lawhorn-Crews, J.M.; Obradovich, J.E.; Muzik, O. und Mangner, T.J.; <i>Nature Medicine</i> 1998; 4; 1334-1336 und Shields, A.F.; Grierson, J.R.; Stayanoff, J.C.; Lawhorn-Crews, J.M.; Obradovich, J.E.; Muzik, O. und Mangner, T.J.; J. Nucl. Med. 1998; 39; 228P.

[55]	 Shields, A.F.; Dohmen, B.M.; Mangner, T.J.; Kuntzsch, M.; Bares, R.; Stayanoff, J.C.; Muzik, O. und Machulla, HJ.; 47th Annual Meeting in St. Louis; <i>Society of Nuclear Medicine</i> 2000; Abstract Nr. 141.
[56]	 Shields, A.F.; Dohmen, B.M.; Mangner, T.J.; Lawhorn-Crews, J.M.; Machulla, HJ.; Muzik, O. und Bares, R.; 47th Annual Meeting in St. Louis; <i>Society of Nuclear Medicine</i> 2000; Abstract Nr. 290.
[57]	Shields, A.F.; Dohmen, B.M.; Grierson, J.R.; Kuntzsch, M.; Machulla, HJ. und Bares, R.; <i>J. Nucl. Med.</i> 1999 ; <i>40</i> ; 61P.
[58]	Dohmen, B.M.; Dittmann, H.; Wei, R.; Thelen, M.; Bilger, K.; Machulla, HJ. und Bares, R.; 47 th Annual Meeting in St. Louis; <i>Society of Nuclear Medicine</i> 2000 ; Abstract Nr. 291.
[59]	Etzold, G.; Hintsche, R.; Kowollik, G. und Langen, P.; Tetrahedron 1971; 27; 2463-2472.
[60]	Kowollik, G.; Etzold, G.; von Janta-Lipinski, M.; Gaertner, K. und Langen, P.; J. Prakt. Chem. 1973 ; 315; 895-900.
[61]	Green, K. und Blum, M.; Tetrahedron Lett. 1991; 32; 2091-2094.
[62]	Vorbrüggen, H.; Krolikiewicz, K. und Bennua, B.; Chem. Ber. 1981; 114, 1234-1255.
[63]	Inagaki, J.; Sakamoto, H.; Nakajima, M.; Nakamura, S. und Hashimoto, S.; <i>Synlett</i> 1999 ; <i>8</i> ; 1274-1276.
[64]	Sujino, K. und Sugimura, H.; Tetrahedron Lett. 1994; 35; 1883-1886.
[65]	Sugimura, H.; Osumi, K.; Yamazaki, T. und Yamaya, T.; <i>Tetrahedron Lett.</i> 1991; 32; 1809-1812.
[66]	Wilson, I.K.; Chatterjee, S. und Wolf, W.; J. Fluorine Chem. 1991; 55; 283-289.
[67]	Blocher, A.; Wei, R.; Ehrlichmann, W.; Kuntzsch, M. und Machulla, HJ.; <i>Nuclear Medicine</i> 2000 ; <i>39</i> ; P143.
[68]	Wodarski, C.; Eisenbarth, J.; Weber, K.; Gerlach, L.; Henze, M.; Haberkorn, U. und Eisenhut, M.; <i>Nuclear Medicine</i> 2000 ; <i>39</i> ; P145.
[69]	Wodarski, C.; Eisenbarth, J.; Weber, K.; Henze, M.; Haberkorn, U. und Eisenhut, M.; <i>J. Labelled Cpd. Radiopharm.</i> 2000 ;43; 1211-1218.
[70]	Machulla, HJ.; Blocher, A.; Kuntzsch, M.; Piert, M.; Wei, R. und Grierson, J.R.; <i>J. Radioanal. Nucl. Chem.</i> 2000 ; <i>243</i> ; 843-846.
[71]	<i>Organikum</i> ; VEB Deutscher Verlag der Wissenschaften - Berlin; 1988 ; 17. durchgesehene Auflage.

[72]	Hesse, M.; Meier, H. und Zeeh, B.; <i>Spektroskopische Methoden in der organischen Chemie</i> ; Georg Thieme Verlag - Stuttgart; 1991 ; 4. überarbeitete Auflage.
[73]	Spiteller, G.; <i>Massenspektrometrische Strukturanalyse organischer Verbindungen</i> ; Verlag Chemie - Weinheim; 1966 .
[74]	Christen, H.R. und Vögtle, F.; <i>Organische Chemie</i> Band I und II; Salle + Sauerländer - Aarau; 1988 ; 1. Auflage.
[75]	Ranganayakulu, K. und Brown, R.K.; J. Org. Chem. 1974; 39; 3941-3943.
[76]	Zeisler, S.K. und Gasper, H.; 8 th Workshop on Targetry and Target Chemistry in St. Louis; 1999 .
[77]	Meyer, V.R.; Pitfalls and Errors of HPLC in Pictures; Hüthig Verlag - Heidelberg; 1997.
[78]	Meyer, V.R.; <i>Praxis der Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie</i> ; Salle + Sauerländer - Aarau; 1992 ; 7. durchgesehene Auflage.
[79]	Vonk, N.; Baars, B.G.J. und Schaller, H.; <i>Troubleshooting in der HPLC</i> ; Birkhäuser Verlag - Basel; 1990 .
[80]	Fietz, T.; Dissertation; Technische Universität Dresden; 1996.
[81]	Spies, H.; Fietz, T.; Leibnitz, P. und Scheller, D.; persönliche Mitteilung; 1998.
[82]	Huheey, J.E.; Anorganische Chemie; Walter de Gruyter - Berlin; 1988.
[83]	Edwards, J.O. und Pearson, R.G.; J. Am. Chem. Soc. 1962; 84; 16-24.
[84]	Swain, C.G. und Scott, C.B.; J. Am. Chem. Soc. 1953; 75; 141-147.
[85]	March, J.; Advanced Organic Chemistry; John Wiley & Sons - New York; 1985.
[86]	Sykes, P.; <i>Reaktionsmechanismen der Organischen Chemie</i> ; Verlag Chemie - Weinheim; 1988 ; 9. überarbeitete Auflage.
[87]	Köll, P.; Schultek, T. und Rennecke, RW.; Chem. Ber. 1976; 109; 337-344.
[88]	Augustin, M.; Köhler, M. und Kazandji, S.; Tetrahedron 1984; 40; 3499-3502.
[89]	Thomsen, I.; Clausen, K.; Scheibye, S. und Lawesson, SO.; Org. Synth. Coll. 1990; 7; 372-375.
[90]	Testa, B.; Grundlagen der Organischen Stereochemie; Verlag Chemie - Weinheim; 1983.
[91]	Grierson, J.R.; Shields, A.F. und Eary, J.F.; J. Labelled Cpd. Radiopharm. 1997; 40; 60-62.
[92]	CD Römpp; <i>Chemielexikon</i> ; Georg Thieme Verlag - Stuttgart; 1995 ; 9. erweiterte und überarbeitete Auflage; Version 1.0.

/ LITERATUR

[93]	Weast, R.C. und Astle, M.J.; <i>CRC Handbook of Chemistry and Physics</i> ; CRC Press -	
[94]	Swain C G \cdot Swain M S \cdot Powell A L und Alunni S \cdot L Am Chem Soc 1983 \cdot 105 \cdot	
[די]	502-513.	
[95]	Michelson, A.M. und Todd, A.R.; J. Chem. Soc. [London] 1955; 816-823.	
[96]	Horwitz, J.P.; Urbanski, J.A. und Chua, J.; J. Org. Chem. 1962; 27; 3300-3302.	
[97]	Grierson, J.R. und Shields, A.F.; 46 th Annual Meeting in Los Angeles; <i>Society of Nuclear Medicine</i> 1999 ; Abstract Nr. 335.	
[98]	Strasser, M. und Ugi, I.; Acta Chem. Scand. 1993; 47; 125-130.	
[99]	Kocienski, P.J.; Protecting Groups; Georg Thieme Verlag - Stuttgart; 1994.	
[100]	Myers, A.G.; Gin, D.Y. und Rogers, D.H.; J. Am. Chem. Soc. 1994; 116; 4697-4718.	
[101]	Greene, T.W. und Wuts, P.G.M.; <i>Protective Groups in Organic Synthesis</i> ; John Wiley & Sons - New York; Second Edition.	
[102]	Kliem, HC.; Inauguraldissertation; Universität Heidelberg; 1993.	
[103]	Fox, J.J. und Miller, N.C.; J. Org. Chem. 1963; 28; 936-941.	
[104]	Horwitz, J.P.; Chua, J.; Urbanski, J.A. und Noel, M.; J. Org. Chem. 1963; 28; 942-944.	

Die Ergebnisse in **Kapitel 3.2** bzw. **5.2** ([¹⁸F]FLT) wurden zur Patentanmeldung eingereicht. The investigations of **chapter 3.2** or **5.2**, respectively, were submitted to the patent office.

Weitere Informationen erhalten Sie:/For further information please contact: Stefan.Martin@ePost.de